UNIVERSITÉ DE RENNES 1

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE DE RENNES 1

ECOLE DOCTORALE N° 605
Biologie Santé
Spécialité : Cancérologie

Par M. Idir OUZAID

« Exploration biologique de la progression du cancer du rein à haut risque : analyse ancillaire de la cohorte française de l'essai S-TRAC»

Thèse présentée et soutenue à Rennes, le 10/02/2021
Unité de recherche : Inserm UMR1085

Rapporteurs avant soutenance :

Nadine HOUEDE PUPH, CHU Nîmes
Pierre Blanchard, Praticien des CLCC, Institut Gustave Roussy

Composition du Jury :

Gabriel Malouf, PUPH, CHU de Strasbourg
Président
Evanguelos Xylinas, MCU-PH, CHU Bichat Université de Paris
Xavier TILLOU, PUPH, CHU Caen
Géraldine PIGNOT, Praticien des CLCC, Institut Paoli Calmette
Nathalie RIOUX-LECLERCQ, PUPH, Université de Rennes 1
Directrice de thèse
Karim BENSALAH, PUPH, Université Rennes 1
Co-directeur de thèse

Remerciements

A Madame la Professeure Nathalie Rioux-Leclercq,

Merci d'avoir accepté de m'encadrer pour ce travail et de m'avoir tendu la main pour m'aider à avancer dans mon projet universitaire.

C'est un honneur pour moi de travailler avec vous : « la meilleure » comme dirait Karim. Je garderai, entre autres, que le plus difficile a été finalement de trouver quelqu'un en France qui n'a pas publié au moins un article avec vous sur le cancer du rein.

A Monsieur le Professeur Karim Bensalah,

Je vous appelle « patron » même si je n'ai jamais été votre interne. Notre rencontre à Cleveland en 2012 a été un moment important dans ma vie. Je vous ai imposé le rôle de mentor si cher aux américains. Vous le remplissez avec la plus grande des bienveillances. Je vous considère comme ce grand frère que je n'ai jamais eu, un ami. Je vous remercie pour ces discussions interminables sur l'urologie et surtout sur le reste des choses de la vie. Vos collaborateurs à Rennes ont la chance de vous avoir comme chef de service.

A Messieurs les membres du Jury, mes rapporteurs

Merci aux Professeurs Nadine Houédé et Pierre Blanchard d'avoir accepté d'être rapporteurs.

Merci au Professeur Gabriel Malouf pour ses conseils bienveillants et sa clairvoyance.

Merci à au Dr. Géraldine Pignot d'avoir accepté d'être membre de mon Jury. Vous savez le respect que je vous dois à plusieurs égards.

A Madame le Dr Solène-Florence Krammer-Jacquet,

Merci de vos conseils, votre bienveillance et votre patience à mon égard. Nathalie a trouvé en vous une élève digne et l'uropathologie française ne peut qu'être que plus ravie.

A Monsieur le Professeur Jean-François Hermieu,

Merci pour les enseignements et le conseil sur la gestion des relations humaines en général des patients au quotidien. Notre relation a été toujours été franche, amicale et de confiance. Je suis ravi de poursuivre l'aventure hospitalo-universitaire à vos côtés dans la « Team Bichat »

A Monsieur le Dr Evanguelos Xylinas,

Notre chemin commence à faire date depuis l'internat, l'AFUF, le master à Mondor et les congrès d'urologie, les USA…

J'admire en toi le sens de l'organisation, le travail acharné, l'expertise médicale et les valeurs familiales. Nous ne sommes pas d'accord sur tout ; on se complète mais nous partageons le plus important : la vision. Merci de croire encore en notre duo malgré les tourments.

A la famille urologique rennaise, Gregory, Romain, Benoit, Zine-Eddine et les autres

Merci pour votre accueil toujours chaleureux et amical et l'exemple que vous donnez à tous les services d'urologie de France.

A Ghani et Nordin,

Merci d'être là pendant toutes ces années. On est lié à jamais… c'est la famille. La décence voudrait que je m'arrête là vous concernant !

A Dounia

Merci d'accepter mon emploi du temps chargé et mes horaires interminables. Merci de me soutenir dans les épreuves difficiles et d'avoir accepté de faire partie de mon équipe.

A Ma mère,

Aucun mot ne saurait décrire ce que je te dois. J'espère un jour être digne de tes sacrifices. Je t'aime plus que tout !

Mots clés en français :

Carcinome à Cellules Rénales, Néphrectomie Totale, Néphrectomie Partielle, VEGF, Pronostic, Progression, Angiogenèse, Sunitinib, Inhibiteurs de contrôle immunitaire, Immunothérapie, PD1, PD-L1, Anti-CTLA4, Biomarqueurs

Keywords in English :

Renal Cell Carcinoma, Radical Nephrectomy, Partial Nephrectomy, VEGF, Prognosis, Progression, Angiogenesis, Sunitinib, Immune Check Inhibitors, Immunotherapy, PD1, PDL-1, Anti-CTLA4, Biomarkers

Table des matières

1 État de l'art de la problématique 15

1.1 Épidémiologie du cancer du rein 15

1.2 Prise en charge du cancer du rein localisé 19

1.2.1 Néphrectomie partielle (NP) 19
1.2.2 Néphrectomie totale (NT) 21
1.2.3 Autres traitements à visée curative 22
1.2.4 La surveillance active : une alternative au traitement actif 23

1.3 Problématique du cancer du rein à haut risque 25

1.3.1 L'intérêt de l'évaluation du risque de récidive ou de progression 25
1.3.2 Facteurs pronostiques cliniques et anatomiques 25
1.3.3 Facteurs pronostiques anatomopathologiques 28
1.3.4 Facteurs pronostiques biologiques 29
1.3.5 Scores pronostiques dans le cancer du rein localisé 31
1.3.6 Besoin non couvert dans le cancer du rein localisé à haut risque de progression 32

1.4 Amélioration du risque de récidive avec les anti-angiogéniques 34

1.4.1 Essais évaluant les traitements néoadjuvants 34
1.4.2 Essais évaluant les traitements adjuvants (en dehors de l'essai S-TRAC) 34
1.4.3 Essai STRAC 35
1.4.4 Problématiques soulevées par les essais adjuvants avec les antiangiogéniques 37

1.5 Amélioration du risque de récidive et de progression avec les nouvelles immunothérapies .. 40

1.5.1 Essais évaluant les traitements néoadjuvants 40
1.5.2 Essais évaluant les traitements adjuvants 40

2 Objectif du travail 45

3 Exploration biologique de la progression du cancer du rein à haut risque 46

3.1 Exploration des facteurs biologiques prédictifs de la progression après chirurgie dans le carcinome rénal à haut risque : résultats de la cohorte française des patients de l'essai randomisé S-TRAC 46

3.1.1 Résumé de l'article en français 46
3.1.2 Manuscrit publié 49

3.2 Perspectives de recherche en utilisant les données obtenues du cancer rein métastatique (revue des modèles biologiques) 74

3.2.1 Résumé de l'article en français 74
3.2.2 Manuscrit soumis 79

3.3 Synthèse et perspectives 103

4 Conclusion 105

5 Annexes 106

5.1 Analyses d'immunohistochimie 106

6 Bibliographie 108

1 État de l'art de la problématique

1.1 Épidémiologie du cancer du rein

Le carcinome des cellules rénales (CCR) représente environ 3 % de tous les cancers avec une incidence plus élevée dans les pays occidentaux [1]. En général, au cours des deux dernières décennies et jusqu'à récemment, il y a eu une augmentation annuelle d'environ 2 % d'incidence à la fois dans le monde et en Europe, soit environ 99 200 nouveaux cas de CCR et 39 100 décès liés au cancer du rein dans l'Union Européenne en 2018 [1]. En Europe, les taux de mortalité globaux pour le CCR a augmenté jusqu'au début des années 1990, puis les taux se sont généralement stabilisés avant de diminuer par la suite [2]. Il y a eu une diminution de la mortalité depuis les années 1980 dans les pays scandinaves et depuis le début des années 1990 en France, en Allemagne, l'Autriche, les Pays-Bas et l'Italie. Cependant, dans certains pays européens (Croatie, Estonie, Grèce, Irlande, Slovaquie), les taux de mortalité sont toujours en hausse [1,2].

Selon la dernière version (2019) du registre Francim qui comporte les dernières évolutions épidémiologiques du CCR en France [3]. Le nombre de nouveaux cas de cancer du rein en France métropolitaine en 2018 est estimé à 15 323, dont 67 % chez l'homme. Les taux d'incidence standardisés de mortalité sont de 17,1 cas pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 7,1 cas pour 100 000 personnes-années chez la femme (rapport hommes/ femmes égal à 2,4). On estime à 5 589 le nombre de décès annuel par cancer du rein, dont 68 % surviennent chez l'homme. Les taux standardisés de mortalité (TSM) sont de 5,0 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 1,5 chez la femme (rapport hommes/femmes égal à 3,3).

Les taux d'incidence selon la classe d'âge en 2018 progressent à partir de l'âge de 30 ans dans les deux sexes. L'incidence est maximale entre 80 et 84 ans, où elle

atteint la valeur de 135,4 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 58,1 chez la femme. L'âge médian au diagnostic est respectivement de 67 et 70 ans.
Les taux de mortalité selon la classe d'âge en 2018 progressent à partir de l'âge de 50 ans dans les deux sexes et sont les plus élevés entre 90 et 94 ans. L'âge médian des décès par cancer du rein est de 74 ans chez l'homme et de 80 ans chez la femme.

Il y a deux principaux facteurs de risque modifiables du cancer du rein : le tabagisme et l'obésité [4,5]. L'hypertension artérielle a également été identifiée comme pouvant favoriser le cancer du rein et le contrôle de la tension des patients hypertendus pourrait être bénéfique [5]. L'activité physique pourrait réduire le risque de cancer du rein, notamment en réduisant l'obésité et l'hypertension artérielle [6]. Les patients qui ont une insuffisance rénale chronique ont un risque augmenté de développer un cancer du rein (jusqu'à dix fois supérieur à celui de la population générale), avec des atteintes fréquemment bilatérales et/ou multifocales [7].

Les associations française et européenne d'urologie recommandent fortement une activité physique régulière, la perte de poids et l'arrêt du tabac pour diminuer le risque du cancer du rein [8,9].

Cinq à huit pour cent des CCR sont héréditaires. A ce jour, il existe dix syndromes CCR héréditaires associés à des mutations germinales spécifiques, à des histologies particulières et à des comorbidités. Les syndromes CCR héréditaires sont à suspecter chez des patients avec des antécédents familiaux (surtout sans saut de génération), l'âge jeune du diagnostic et la présence d'autres lésions typiques pour les syndromes respectifs. L'âge médian pour le CCR héréditaire est de 37 ans [10]. La majorité des tumeurs rénales héréditaires sont résumés dans le **tableau 1.**

Les patients atteints de syndromes de cancer du rein héréditaire peuvent nécessiter des interventions chirurgicales répétées [11,12]. Dans la plupart des CCR héréditaires, il est recommandé d'adopter une approche de préservation néphronique

(préférer une tumorectomie ou thérapies ablatives à la néphrectomie totale). Les exceptions sont les syndromes de Leïomyomatose cutanéo-utérine héréditaire avec cancer du rein (*Hereditary Leiomyomatosis and Renal Cell Carcinoma, HLRCC*) et la mutation de la succinate deshydrogénase (SDH) pour lesquels une intervention chirurgicale immédiate est recommandée en raison de la nature agressive de ces tumeurs. Pour d'autres syndromes héréditaires tels que le syndrome de Von Hipple Lindau(VHL) et le Birt-Hogg-Dubé (BHD), une surveillance est recommandée jusqu'à ce que la plus grosse tumeur atteigne 3 cm de diamètre maximal, afin de réduire le nombre d'interventions [13]. La surveillance active (SA) pour la VHL, le BHD et le HLRCC devrait, chez les patients individuels, suivre la cinétique de croissance, la taille et la localisation des tumeurs, plutôt que d'appliquer un intervalle de suivi standardisé. Le dépistage régulier des lésions rénales et extra-rénales doit suivre les recommandations internationales pour ces syndromes. Des soins multidisciplinaires et coordonnés devraient être proposés, le cas échéant [14].

Bien que non héréditaires, les translocations de fusion somatique du TFE3 et du TFEB peuvent affecter 15 % des patients atteints d'un CCR de moins de 45 ans et 20 à 45 % des enfants et des jeunes adultes chez qui un CCR a été diagnostiqué [15].

La complexité de la prise en charge de ces maladies héréditaires rares a conduit à mettre en place une organisation spécifique pour prendre en charge les patients concernés. Elle repose sur le réseau national PREDIR (prédispositions aux tumeurs du rein) qui se compose d'un centre expert national et de 25 centres experts régionaux [16]. Ainsi, chaque patient concerné par un cancer du rein héréditaire – ou suspecté de l'être – peut être pris en charge par une équipe spécialisée qui confirmera le diagnostic et déterminera le traitement le mieux adapté. Dans ce cadre, l'équipe proposera au patient et aux membres de sa famille une consultation d'oncogénétique.

Tableau 1 : Syndromes génétiques avec un carcinomes à cellules rénales.

Syndrome	Gene	Types de tumeurs	Autres particularités	Ref.
Syndrome de Von Hippel Lindau	VHL 3p25-26	Carcinomes à cellules claires (40-70%)	Hémangioblastome du SNC Et de la rétine, tumeur endocrine du pancréas, phéochromocytome tumeurs du sac endolymphatique, cystadénome de l'épididyme	[17]
Syndrome de cancer papillaire héréditaire	MET 7p31	Carcinomes papillaires (50-67%)		[18]
Syndrome de Birt-Hogg-Dubé	BHD 17p11.2	Cancers chromophobes, tumeurs hybrides, carcinomes des tubes collecteurs	Fibrofolliculomes cutanés, kystes pulmonaires	[19]
Leïomyomatose cutanéo-utérine héréditaire avec cancer du rein	FH 1q42-43	Carcinomes papillaires de type 2	Léiomyomes cutanées et utérins (100% des femmes)	[20]
Mutation de la succinate déshydrogénase germinale (SDH)	1p36.13	Tumeurs oncocytiques		[21]
Sclérose Tubéreuse de Bourneville				
Syndrome d'hyperparathyroïdie-tumeur mandibulaire	CDC73 (HRPT2) 1q25 - q31	Tumeurs de Wilms Tumeurs papillaires Néphroblastomes	Autosomique dominant	[22]
Syndrome des hamartomes par mutation du gène PTEN	PTEN 10q23	Carcinome a cellules claires	Autosomique dominant Tumeur de la thyroïde, du sein et de l'endomètre	[23]
Cancer du rein par translocation du chromosome 3	t(3;8)(p14;q24)	Carcinomes à cellules claires	Autosomique dominant	[24]
Carcinome à cellule rénale familial non syndromique	inconnu	Carcinomes à cellules claires	Autosomique dominant	[25]

1.2 Prise en charge du cancer du rein localisé

L'objectif du traitement du cancer du rein localisé est la guérison. Le traitement chirurgical, par néphrectomie totale ou partielle, reste le traitement standard. Dans certaines situations, notamment chez les personnes fragiles avec des comorbidités, un traitement alternatif par des thérapies ablatives (cryothérapie ou radiofréquence) peut être proposé pour les petites masses rénales (<4 cm). L'option de la surveillance active est de plus en plus étudiée car beaucoup de masses rénales sont de découverte fortuite, à des stades précoces et dont le potentiel de létalité est minime surtout chez des personnes âgées.

1.2.1 Néphrectomie partielle (NP)

La NP est la technique chirurgicale de référence des petites masses rénales (cT1 soit ≤ 7cm). Elle doit répondre à trois impératifs : le contrôle oncologique, la préservation de la fonction rénale et la limitation des complications périopératoires.

Contrôle oncologique

La NP permet un contrôle oncologique identique à la NT. Après NP pour tumeur T1a, la survie sans récidive à 5 ans est > 95% [26] .

Une marge chirurgicale positive augmente le risque de récidive locale mais ne semble pas avoir d'impact sur la survie spécifique [27,28]

En cas de marge chirurgicale positive, il est recommandé de faire une simple surveillance par des examens d'imagerie réguliers. La totalisation immédiate par néphrectomie n'est pas nécessaire [29]. En cas de tumeur agressive de haut grade et/ou de marge positive importante, il peut être discuté en RCP de faire une totalisation.

Le traitement d'une récidive locale a été peu évalué. On peut faire une néphrectomie élargie, une seconde NP ou un traitement ablatif en fonction du délai d'apparition de la récidive, du type histologique et du grade [28].

Préservation néphronique

La NP permet une préservation optimale du parenchyme rénal ce qui limite l'altération de la fonction rénale [30]. Cette préservation fonctionnelle permet de diminuer le risque d'évènements cardiovasculaires et pourrait augmenter la survie globale par rapport à la NT [31–34]. La préservation rénale est également associée à un impact psychologique positif et à une meilleure qualité de vie [35].

L'impact de la durée d'ischémie sur la dégradation de la fonction rénale est discuté. L'ischémie rénale pourrait avoir un effet plus délétère chez les patients atteints d'insuffisance rénale préexistante [36]. Les données de la littérature sont contradictoires mais il est conseillé de limiter la durée de clampage du pédicule rénal à moins de 25 min [37]. Les techniques sans clampage ou avec clampage sélectif n'ont pas fait la preuve d'une meilleure préservation rénale par rapport à un clampage total <25 minutes [35,38].

La préservation du parenchyme rénal sain apparait être le facteur le plus important du maintien de la fonction rénale [39]. Les techniques d'énucléation tumorale conservant une marge minimale de tissu sain ne semblent pas accroître le taux de récidive locale mais leur apport pour préserver la fonction rénale est incertain [40].

Morbidité

La NP a une morbidité significative qui est d'environ 20% dans la littérature. Les deux complications les plus redoutées sont le saignement secondaire (faux-anévrysme) et la fistule urinaire. Le taux de complications graves après NP peut atteindre 11 %. Le risque de complications est influencé par de nombreux facteurs : la complexité tumorale, l'âge, les comorbidités, l'expérience du chirurgien, le volume du centre, la voie d'abord [41,42].

1.2.2 Néphrectomie totale (NT)

La NT est indiquée lorsque la NP n'est pas réalisable techniquement (complexité tumorale, volume tumoral trop important, expertise chirurgicale insuffisante) ou lorsque le rein n'est plus fonctionnel.

Il n'est pas nécessaire de faire une surrénalectomie sauf en cas d'envahissement de contiguïté décelé lors de l'intervention ou d'anomalie évocatrice de lésion secondaire sur l'imagerie préopératoire [43,44]. Le curage ganglionnaire chez les patients cN0 n'est pas recommandé. Si certaines études rétrospectives ont suggéré un éventuel bénéfice en terme de survie, une étude randomisée de l'EORTC n'a pas montré de bénéfice [45,46].

Sur le plan de la technique chirurgicale, aucune différence n'a été rapportée quant au contrôle oncologique entre la NT laparoscopique et la NT par voie ouverte. La laparoscopie permet une diminution des pertes sanguines, de la douleur post-opératoire de la durée d'hospitalisation et de la convalescence [47,48]. La laparoscopie avec assistance robotique a des résultats oncologiques et fonctionnels strictement comparables à la laparoscopie standard [49,50]. Il n'a pas été mis en évidence de différence oncologique entre la voie d'abord rétropéritonéale et la voie trans-péritonéale [51,52].

La NT est particulièrement indiquée dans les traitements des CCR localement avancés. Ceux-ci sont ceux qui ne sont ni intra-capsulaires (pT1, pT2), ni métastatiques (M1). La chirurgie dans cette situation est en intention curative de traiter. L'objectif principal, quelle que soit la technique, est d'obtenir des marges chirurgicales négatives [53]. La voie d'abord standard pour les tumeurs du rein localement avancées est la voie ouverte. Plusieurs séries rapportent la faisabilité de la voie d'abord laparoscopique ou

laparoscopique robot assistée qui peuvent être utilisées sous réserve que l'on puisse obtenir des marges d'exérèse macroscopiquement saines [54–56].

L'envahissement des organes de voisinage est difficile à prédire [57]. De nombreux patients cT4 sont sur-stadifiés et peuvent bénéficier d'une résection chirurgicale. La survie à ce stade est inférieure à 10 % à 5 ans, et l'existence de marges négatives est un facteur pronostique important [54,58,59].

En cas d'un thrombus tumoral dans la veine rénale ou la veine cave inférieure, Il est recommandé de pratiquer une néphrectomie élargie associée à une thrombectomie cave [55]. La réalisation d'une IRM préopératoire peut prédire l'invasion de la paroi veineuse [60]. La thrombectomie est associée à une mortalité (5-15 %) et une morbidité élevées (35-70%*)* qui se majorent avec le niveau du thrombus [56]. Un plateau technique suffisant incluant la possibilité de circulation extracorporelle et de cardioplégie, et une équipe chirurgicale entraînée pluridisciplinaire sont indispensables pour la prise en charge optimale des tumeurs T3b et surtout T3c [61]. Les taux de survie à 5 ans sont de 40 à 65 % et de 0 à 17 % en cas de métastases. Les facteurs de mauvais pronostic sont : la résection tumorale incomplète, l'envahissement de la graisse péri-rénale, les métastases ganglionnaires et l'envahissement de la paroi veineuse [62].

1.2.3 Autres traitements à visée curative

Les traitements actifs alternatifs à la chirurgie incluent les traitements ablatifs (TA) par :

- Radiofréquence et microondes
- Cryothérapie
- Électroporation irréversible ou radiothérapie stéréotaxique

Ces traitements ont été plutôt proposés aux patients qui ont des petites tumeurs rénales. Il est recommandé de faire une biopsie diagnostique auparavant.

La TA peut être proposée comme une option aux patients dont la tumeur peut être traitée de façon complète. Les résultats techniques et fonctionnels à long terme des TA sont bons [26,63,64]. Il n'existe pas d'étude randomisée comparant TA vs. NP et les études rétrospectives publiées présentent de nombreux biais. Il semble cependant que le contrôle oncologique local après TA soit inférieur à celui de la NP [63–66]. Certaines études rétrospectives mettent en avant une meilleure préservation de la fonction rénale comparé à la NP [67,68]. Le taux de complications globales ou majeures semble inférieur pour les TA par rapport à la NP [69,70].

Aujourd'hui, il n'y a pas de place pour ces traitements dans le cancer du rein localement avancé. Les indications habituelles sont : les petites tumeurs rénales de moins de 4 cm chez des patients âgés avec des comorbidités, les récidives locales après néphrectomie partielle, les tumeurs du rein multiples notamment dans le cadre de syndromes héréditaires et les patients qui ont une insuffisance rénale chronique.

1.2.4 La surveillance active : une alternative au traitement actif

La surveillance active (SA) se définit comme la surveillance régulière de la taille d'une tumeur du rein par des examens d'imagerie répétées (échographie, scanner ou IRM). Un traitement (différé) peut être proposé si la tumeur augmente de volume [71].

Les indications préférentielles sont : les patients âgés avec des comorbidités importantes (plus menaçante que la tumeur) porteurs de petites tumeurs du rein (< 4 cm).

Il n'existe pas d'essai randomisé de SA chez des patients avec une petite masse rénale. En revanche, plusieurs registres prospectifs sont en cours. Le principal registre

multicentrique du DISSRM a étudié la faisabilité de la SA pour les tumeurs < 4 cm et a rapporté des survies globale (92 vs 75 % ; p=0,06) et spécifique (99% vs 100% ; p=0,3) à 5 ans similaires entre les patients traités d'emblée (par NP ou TA) et ceux initialement surveillés [72]. Une étude prospective non contrôlée du MD Anderson rapportait cependant une diminution de la survie globale à 2 ans pour les tumeurs de plus de 3 cm surveillées (versus chirurgie), évoquant ainsi un seuil de 3 cm pour la SA [73]. En termes de qualité de vie, comparés aux patients pris en charge par une intervention immédiate (chirurgie ou traitement ablatif), les patients sous SA sont en moins bon état de santé physique (mais ce sont des patients plus âgés avec des comorbidités) et montrent plus d'anxiété [74].

La SA ne semble pas être indiquée dans les tumeurs du rein avec des masses importantes (> T1 soit > à 7cm). Dans une population inopérable, la SA est possible pour les tumeurs T1b [75].

1.3 Problématique du cancer du rein à haut risque

1.3.1 L'intérêt de l'évaluation du risque de récidive ou de progression

L'exérèse chirurgicale complète est le seul traitement curatif pour le CCR localisé. La NP est le traitement standard pour les tumeurs cliniques T1a (<4cm) dès lors qu'elle est techniquement réalisable. Ce traitement permet un excellent contrôle oncologique avec une conservation optimale de la fonction rénale [9]. Pour les tumeurs T1b-T4, la plupart des patients sont traités par une néphrectomie totale. Cependant, après un traitement curatif pour les CCR localisés, environ un tiers des patients vont avoir une récidive [76–78]. Une prédiction précise de la récidive pour un patient donné est utile pour : une information claire et loyale, une personnalisation de la surveillance après traitement et sélectionner les patients pour des essais cliniques adjuvants. En l'absence de thérapies adjuvantes approuvées permettant un gain en survie globale (SG), le paradigme actuel est celui d'une surveillance étroite pour détecter les maladies à un stade plus précoce de la récidive [79]. Toutefois, si cette option de traitement adjuvant devient disponible (nouveaux essais en cours utilisant des immunothérapies), un système pronostique précis disponible garantira une sélection des patients qui pourront bénéficier du traitement adjuvant (patients à haut risque) tout en évitant une toxicité liée aux traitements chez les patients à faible risque.

1.3.2 Facteurs pronostiques cliniques et anatomiques

TNM

La classification TNM **(tableau 2)** est le facteur pronostique anatomique le plus utilisé depuis plusieurs décennies [80]. TNM comprend plusieurs caractéristiques pronostiques, telles que taille de la tumeur, l'invasion du système veineux ou du système de collecteur, l'extension à la glande surrénale ou au-delà du fascia péri-rénal ou du fascia de Gerota (classification T), et se propager aux ganglions lymphatiques

régionaux ou à des sites éloignés (classification N et M). Dans tous les sous-types de CCR le pronostic s'aggrave avec l'augmentation de la classification TNM [81].

Autres facteurs cliniques

De nombreux facteurs pronostiques cliniques ont été étudiés parmi lesquels : l'état de performance (PS), la présentation des symptômes, les syndromes paranéoplasiques, et les valeurs de laboratoire comme le calcium, l'albumine, l'hémoglobine la numération plaquettaire, rapport neutrophiles/lymphocytes et la protéine C réactive (CRP). Même si l'obésité est un facteur étiologique pour le CCR, elle peut également apporter des informations pronostiques. Dans une étude coréenne l'obésité semble être un facteur de pronostic favorable chez les hommes, mais pas chez les femmes, qui souffrent de CCR non métastatique [82]. Ces éléments ont un niveau de preuve faible ne sont pas utilisés dans les soins de routine [83,84].

A ce jour seul le PS fait partie d'un des scores pronostiques utilisés en pratique courante (Score UISS) [85].

Tableau 2 : AJCC/UICC pTNM classification 2017 des tumeurs malignes, 8e édition

AJCC/UICC (2017)		**Statut**
Tumeur (T)	Tx	Le statut tumoral ne peut être défini
	T1a	Tumeur ≤ à 4 cm localisée au rein
	T1b	Tumeur > à 4 cm et ≤ 7 cm localisée au rein
	T2a	Tumeur localisée au rein de > 7 à ≤ 10 cm
	T2b	Tumeur localisée au rein > 10 cm
	T3a	Envahissement du tissu adipeux péri rénal et/ou du tissu adipeux hilaire mais pas le fascia de Gerota et/ou thrombus macroscopique dans la veine rénale ou dans l'une de ses branches et/ou infiltration des cavités pyélo-calicielles
	T3b	Thrombus dans la veine cave sous le diaphragme
	T3c	Tumeur s'étendant dans la veine cave au-dessus du diaphragme ou envahissant la paroi musculaire de la veine cave
	T4	Tumeur infiltrant au-delà du fascia de Gerota et/ou envahissement par contiguïté de la surrénale
Métastase ganglionnaire (N)	Nx	Pas d'évaluation du statut GG
	N0	Pas de métastases GG
	N1	Métastase régionale GG dans 1 seul GG
	N2	Métastase régionale GG dans plus d'1 GG
Métastase à distance (M)	Mx	Pas d'évaluation du statut métastatique
	M0	Pas de métastase
	M1	Métastase tissulaire à distance

1.3.3 Facteurs pronostiques anatomopathologiques

Plusieurs facteurs anatomopathologiques pronostiques ont été rapportés : le sous-type histologique, le grade tumoral, la présence de contingents sarcomatoïdes ou rhabdoïdes, l'invasion micro-vasculaire (IMV) et la nécrose tumorale.

Le classification Fuhrman à quatre niveaux [15] était le système pronostique le plus largement accepté et validé [86,87]. Sa valeur pronostique, sa variabilité inter- et intra-observateurs, et donc son applicabilité se sont révélées sous-optimaux. C'est pourquoi un nouveau système de classement a été proposé par la Société Internationale de Pathologie Urologique (ISUP) en 2012 et recommandé par la suite pour les utilisations clinique par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [88]. Dans ce système de notation ISUP, les grades 1 à 3 sont définis sur la base la proéminence nucléolaire, tandis que le pléomorphisme nucléaire extrême, la différenciation sarcomatoïde ou rhabdoïde se rapporte au grade 4. Elle a été proposée pour une utilisation dans les carcinomes à cellules claires et les carcinomes papilles, alors que la CCR à cellules chromophobe ne doit pas être classé selon à ce système [88].

Le CCR est maintenant reconnu comme une grande famille de cancers qui résultent des anomalies génétiques avec des caractéristiques morphologiques uniques, mais qui sont tous dérivés de l'épithélium tubulaire rénal. Il y a eu des changements importants dans la classification la plus récente de l'OMS avec plusieurs tumeurs à cellules rénales nouvellement définies. Cependant, le rôle pronostique de ces rares entités n'est pas encore connu [89].

Pour les carcinomes à cellules claires, papillaires et chromophobe, des études indiquent que les patients avec un CCR à cellules claires traités par chirurgie ont un pronostic plus défavorable sur l'analyse univariée, mais cette différence disparaît après ajustement pour les stade et grade tumoraux [90,91].

La propagation métastatique du CCR se produit par les veines et les voies lymphatiques. Alors que l'invasion veineuse macroscopique des grandes veines a été reconnue comme un facteur pronostique dans le système TNM depuis quelques décennies, l'IMV n'a pas encore été reconnue.

L'IMV fait référence à la présence de cellules tumorales dans les veines microscopiques ou les vaisseaux lymphatiques. Plusieurs études rétrospectives ont associé l'IMV à un pronostic péjoratif [92]. Une récente méta-analyse sur 14 946 patients a montré un risque 2 à 3 fois plus élevé de récidive, de propagation métastatique et de mortalité spécifique les patients atteint d'un CCR avec une IMV [93]. La définition de "micro" et le chevauchement entre l'invasion micro et macro vasculaire reste à définir et nécessite une standardisation.

La nécrose tumorale se produit lorsque la croissance tumorale dépasse sa capacité d'approvisionnement en sang, reflétant une biologie agressive, une prolifération rapide, et un risque plus élevé de progression. Elle est évaluée au microscope et estimée visuellement par tranches de 5 %. La présence de la nécrose tumorale a été associée à des tumeurs de plus grande taille, des stades TNM plus élevés, une invasion veineuse, des grades tumoraux plus élevés, et une plus faible survie [94]. La gradation de la nécrose en pourcentage selon son étendue semble être supérieure à une classification binaire de présence/absence [95].

1.3.4 Facteurs pronostiques biologiques

De nombreux marqueurs moléculaires tels que l'anhydrase carbonique IX (CaIX), le VEGF, le facteur hypoxique inductible (HIF), Ki67 (prolifération), p53, p21, cycle cellulaire de la PTEN (*phosphatase and tensin homolog*), E-cadhérine, ostéopontine, CD44 (adhésion cellulaire), CXCR4, et d'autres marqueurs du cycle cellulaire et de la prolifération ont été rapportés [96–99]. Des concentrations plasmatiques élevées de la

molécule 1 (KIM-1) ont permis de prédire l'apparition d'un CCR jusqu'à cinq ans avant le diagnostic et ont été associée à une durée de survie plus courte. La KIM-1 est une protéine qui est exprimée à de faibles niveaux dans un rein [100].

Jusqu'à présent, aucun de ces marqueurs ne s'est révélé capable d'améliorer l'exactitude des systèmes pronostiques actuels et, jusqu'à présent, aucun n'a été validé de manière externe. Leur utilisation en routine dans la pratique clinique n'est, à l'heure actuelle, pas recommandée.

Plusieurs études rétrospectives et d'importants programmes de criblage moléculaire ont permis d'identifier des gènes mutés dans le CCR à cellules claires avec des résultats cliniques distincts. L'expression des gènes BAP1 et PBRM1, situés sur le chromosome 3p dans une région qui a une délétion dans plus de 90 % des CCR à cellules claires, se sont révélés être des facteurs pronostiques indépendants pour récidive de la tumorale [101–103]. Une signature génétique de 16 gènes a été développée avec des données rétrospectives [104]. Cette signature, si elle est validée prospectivement, pourrait être utilisé dans le cadre d'essais cliniques. Cependant, elle manque de valeur prédictive de réponse au traitement systémique actuellement utilisé dans le CCR.

L'utilisation de l'immunothérapie est un fait établi avec un niveau de preuve suffisant dans le CCR métastatique. Une méta-analyse a établi une corrélation entre l'expression de la PD-L1, le mauvais pronostic et les caractéristiques clinico-pathologiques plus avancées du RCC [105].

Des altérations génétiques et épigénétiques avec une valeur pronostiques ont également été identifiées à l'aide des études de génome à large échelle : *Genome Wide Association Studies (GWAS)*. Un certain nombre d'études ont confirmé l'apport

pronostiques des informations basées sur le gain des régions chromosomiques 7q, 8q et 20q, et les pertes chromosomiques des régions 9p, 9q et 14q, qui sont associés à une faible survie. Les tests basés sur la méthylation de la CpG prédisent également de manière indépendante survie dans la CCR [106,107].

1.3.5 Scores pronostiques dans le cancer du rein localisé

Des scores pronostiques postopératoires et des nomogrammes combinant des facteurs pronostiques indépendants ont été développés et validés de manière externe [108–114]. Ils sont plus précis que le stade TNM ou le grade de Fuhrman/ISUP seuls pour prédire la survie (survie sans métastases, survie spécifique).

L'avantage des nomogrammes est la possibilité d'évaluer leur précision prédictive, permettant ainsi d'évaluer objectivement de nouveaux paramètres prédictifs pouvant intégrer le nomogramme. Avant d'être adoptés, les nouveaux systèmes ou variables pronostiques doivent démontrer que leur précision prédictive est supérieure à celle des outils pronostiques postopératoires classiques déjà existants (valeur ajoutée) [115].

Pour le CCR localisé, l'EAU recommande 3 systèmes pronostiques : le score de Leibovich *(Mayo Clinic Score)[111]*, le score de l'université de Californie (*University of California Intergrated Staging System : UISS)[109]* et le nomogramme de prédiction de la récidive postopératoire de Karakiewicz [113].

Le score de Leibovich a inclus tous les patients pT1-4, N+, M0. Les paramètres pertinents sont : le stade T, et le stade N, la taille de la tumeur (> ou < à 10 cm), la p présence de nécrose tumorale. L'UISS a inclus le stade T, le grade tumoral et l'état général évalué par le l'ECOG. L'IUSS considère les patient N+ comme métastatique. A

noter que le score IUSS modifié a été utilisé dans l'essai adjuvant ASSURE (cf. infra) où des patients pT1-4N1M0 étaient inclus [116].

L'AFU recommande le système UISS qui est simple d'utilisation et est applicable aux trois sous-types histologiques les plus fréquents **(tableau3)** [8].Ce système est également celui utilisé majoritairement dans les essais qui ont évalué des thérapeutiques adjuvantes dans le CCR à haut risque de progression.

Tableau 3 : Algorithme de classification du cancer du rein localisé et localement avancé selon l'UISS.

Stade T	**T1**			**T2**	**T3**			**T4**
Fuhrman	1-2		3-4	1-4	1	2-4		1-4
ECOG	0	1-3	0-3			0	1-3	0-3
Risque	**Faible**	**Intermédiaire**					**Élevé**	

1.3.6 Besoin non couvert dans le cancer du rein localisé à haut risque de progression

Malgré un traitement local satisfaisant (exérèse complète, marges chirurgicales négatives), la récidive locale, voire métastatique n'est pas rare et le décès par CCR est quasi inéluctable lorsque la maladie est au stade métastatique. Pour montrer tous les besoins non couverts dans cette situation, prenons l'exemple suivant qui illustre un cas patient.

Exemple (Figure 1)

Un homme de 58 ans qui a été adressé suite à une douleur lombaire et une hématurie. Une tumeur de de 8 cm est diagnostiquée et traitée par une néphrectomie totale. L'analyse anatomopathologique a montré un carcinome à cellule claire, de grade

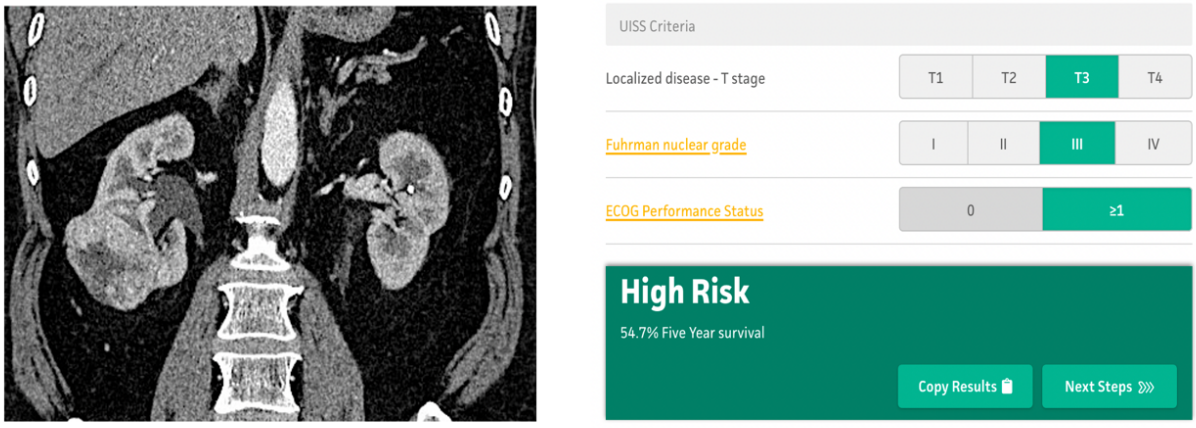
3 selon la classification de l'ISUP. La graisse périrénale était envahie. Selon le modèle de l'UISS, la survie spécifique à 5 ans de ce patient est estimé à 54%.

En l'état actuel des choses ce patient pose plusieurs besoins :

- Il ne peut bénéficier d'aucun traitement pour améliorer sa survie.
- Aucun marqueur biologique ne peut être utilisé pour mieux individualiser son risque de récidive et individualiser la surveillance.
- La surveillance actuellement recommandée n'est pas fondée sur un protocole de surveillance établi sur un niveau de preuve élevé. Il s'agit donc d'une surveillance empirique.
- Il n'est pas clair si le traitement systémique immédiat du cancer à haut risque de progression (adjuvant) fait mieux que le traitement à la récidive en termes de survie.

Figure 1 : Exemple d'estimation de la survie spécifique à 5 ans avec le score pronostique IUSS

(Source : medcalc.com)



Survie à 5 ans : 54,7%

1.4 Amélioration du risque de récidive avec les antiangiogéniques

1.4.1 Essais évaluant les traitements néoadjuvants

La molécule la mieux évaluée dans cette situation est l'axitinib [117–119]. Les essais de phase 2 qui ont été rapportés ont permis d'apporter les principales informations suivantes :

- Il est observé une réponse limitée au niveau de la tumeur primitive (réduction du diamètre maximal de 9 à 28%).
- Il peut y avoir un intérêt marginal chez les patients avec un rein unique ou une insuffisance rénale chronique pour permettre une NP (impérative) au lieu d'une NT après réduction de la taille tumorale.
- L'imprégnation préopératoire par un antiangiogénique n'est pas associée à une morbidité supplémentaire du geste opératoire.

Aujourd'hui, l'utilisation d'un traitement néoadjuvant avant un traitement chirurgical d'un CCR n'est pas une stratégie recommandée en dehors de cas particuliers à discuter en RCP ou dans le cadre d'essais cliniques [8,9].

1.4.2 Essais évaluant les traitements adjuvants (en dehors de l'essai S-TRAC)

Depuis l'avènement des antiangiogéniques dans le traitement du CCR métastatique, la question de leur utilisation pour prévenir la récidive du CCR localisé à haut risque de progression s'est posée.

L'objectif de ces essais était l'augmentation significative de la survie sans récidive et espérer, par conséquent, un retentissement positif sur la survie globale. La survie sans récidive a été utilisée dans ce cas comme un critère de substitution pour la survie globale. Les raisons évidentes étaient la survenue d'évènements (ici la récidive) et

l'obtention de réponses dans des délais raisonnables pour les promoteurs des essais cliniques.

Toutes les molécules utilisées avaient obtenu l'AMM dans le CCR métastatique en première ou en deuxième ligne: sunitinib [116,120], pazopanib [121], axitinib [122], sorafénib [116,123]. Les patients inclus devaient avoir un CCR conventionnel ou majorité conventionnel (carcinome à cellules claires) et les durées de traitement étaient majoritairement d'un an. Les tumeurs étaient localisées ou localement avancées. Le critère de jugement principal était identique dans tous les essais : la survie sans progression. **Le tableau 4** résume les critères d'inclusion, les anti angiogéniques utilisés et les résultats rapportés des essais.

Seul l'essai S-TRAC était positif pour son critère de jugement principal en augmentant significativement la survie sans récidive (cf. infra). L'essai PROTECT était négatif sur la population générale analysée en intention de traiter mais a montré un bénéfice en survie sans récidive pour les patients qui ont reçu la dosse de 800 mg par jour de pazopanib (analyse en per protocole). Les autres essais étaient négatifs pour le critère de jugement principal.

1.4.3 Essai STRAC

Dans cet essai de phase 3 randomisé et en double aveugle, 615 patients avec un CCR à cellules claires à haut risque de récidive ont été randomisés pour recevoir soit le sunitinib (50 mg par jour) ou un placebo sur pendant 4 semaines suivies de 2 semaines de repos pendant 1 an ou jusqu'à la réapparition de la maladie, une toxicité inacceptable ou le retrait du consentement [120].

Le critère de jugement principal était la survie sans récidive, selon un examen par un comité indépendant de relecture de l'imagerie. Les critères de jugement

secondaires comprenaient la survie sans maladie évaluée par les investigateurs, la survie globale et la toxicité.

La durée médiane de la survie sans récidive était de 6,8 ans (intervalle de confiance de 95 %IC] :5,8- non atteint) dans le groupe sunitinib et 5,6 ans (95 % IC : 3,8-6,6) dans le groupe placebo (HR :0,76 ; IC95% :0,59-0,98 ; p = 0,03). Les données de survie globale n'étaient pas matures au moment de la publication de l'essai. Les réductions de dose à cause des effets indésirables étaient plus fréquentes dans le groupe sunitinib que dans le groupe placebo (34,3 % vs. 2 %), tout comme les interruptions de dose (46,4 % vs. 13,2 %) et les suspensions (28,1 % vs. 5,6 %). Les événements indésirables (EI) de grade 3 ou 4 étaient plus fréquents dans le groupe sunitinib (48,4% et 12,1% pour les EI de grade 3 et 4 respectivement) que dans le groupe placebo (15,8 % et 3,6 %, respectivement). L'incidence des EI graves dans les deux groupes (21,9 % pour le sunitinib contre 17,1 % pour le placebo) n'ont conduit à aucun décès.

Une analyse de sous-groupe a été publiée en 2018 qui a montré un gain plus important en survie sans récidive dans le sous-groupe à très haut risque défini comme : pT3, Nx, grade de Fuhrman ≥2 , ECOG PS≥1 ou pT4 et/ou pN+. Selon cette sous-analyse, il y avait un gain médian de 2,2 ans avec le sunitinib 6,2 (4,9-non atteint) vs. 4 (2,6-6,0) ans ; (HR : 0,74 ; IC95% :0,55-0,99, p=0,04) [124].

L'essai S-TRAC était positif en ce sens que les résultats étaient favorables au regard du critère de jugement principal. En effet, la durée médiane de survie sans maladie a été sensiblement plus longue dans le groupe sunitinib que dans le groupe placebo. Ce gain en survie sans maladie pouvait atteindre 2 ans au prix d'un taux plus élevé d'événements toxiques.

1.4.4 Problématiques soulevées par les essais adjuvants avec les antiangiogéniques

Sur les 5 essais qui ont évalué l'intérêt du traitement par des antiangiogéniques dans le CCR, seul l'essai S-TRAC a été positif en répondant positivement à la question de la réduction de la survie sans maladie. La FDA après moult débats a fini par approuver l'extension de l'AMM du sunitinib en adjuvant dans le CCR à cellules claires dans le cancer du rein localisé à haut risque de récidive [125]. Fondé sur une méta-analyse des données disponibles [126] qui a mis évidence; d'une part ; un gain inconsistant en survie de la maladie et aucun bénéfice en survie globale et une toxicité indiscutable, d'autre part ; les sociétés savantes française et européenne n'ont pas retenu le sunitinib en traitement adjuvant dans le CCR localisé [8,127].

Nous sommes donc en droit de s'interroger sur la sélection des patients dans ces essais. L'analyse des différents essais a mis en évidence quelques problématiques pouvant expliquer les résultats négatifs de la plupart d'entre eux.

La sélection de la population étudiée et l'évaluation du risque

Les populations étudiées étaient différentes. La **figure 2** illustre les différences entre les essais STRAC et ASSURE à titre d'exemple. L'IUSS était le score le plus utilisé mais le risque a été sans doute surestimé. En effet, l'inclusion de tumeur pT1 et pT2 avait mécaniquement pour conséquence d'écraser un potentiel effet qu'on aurait pu voir pour des tumeurs pT3, pT4. Il est estimé à 55% des patients inclus dans ASSURE qui ne serait pas incluables dans STRAC [77,120,124].

Les tumeurs incluses

Seuls le sous-type histologique et grade de Fuhrman/ISUP ont été considérés. Aucun élément de biologie moléculaire n'a été prêt à l'utilisation. Or il a été rapporté que la sensibilité des tumeurs aux antiangiogéniques et leur comportement biologique

varie en fonction des évènements moléculaires qui les caractérisent [128,129]. L'utilisation d'un marqueur d'agressivité biologique complémentaire aurait pu identifier des sous-groupes de patients pouvant bénéficier davantage de ces approches adjuvantes.

Le critère de jugement principal

L'ensemble des essais énumérés qui ont eu comme objectif d'évaluer le traitement par des antiangiogéniques se sont fixé la survie sans maladie comme objectif principal **(tableau 4).** Or, l'objectif du traitement de la maladie localisée est la guérison. Si l'objectif est d'augmenter la survie globale, il aurait fallu démontrer que la survie sans maladie était un critère de substitution valide de la survie globale. Dans l'analyse post hoc de la population la plus à risque de l'essai STRAC, un retard d'apparition de la maladie de de 2,2 ans dans le bras sunitinib n'a pas été suffisant pour se refléter sur la survie globale [124].

Figure 2 : Caractéristiques des patients inclus dans les essais STRAC et ASSURE

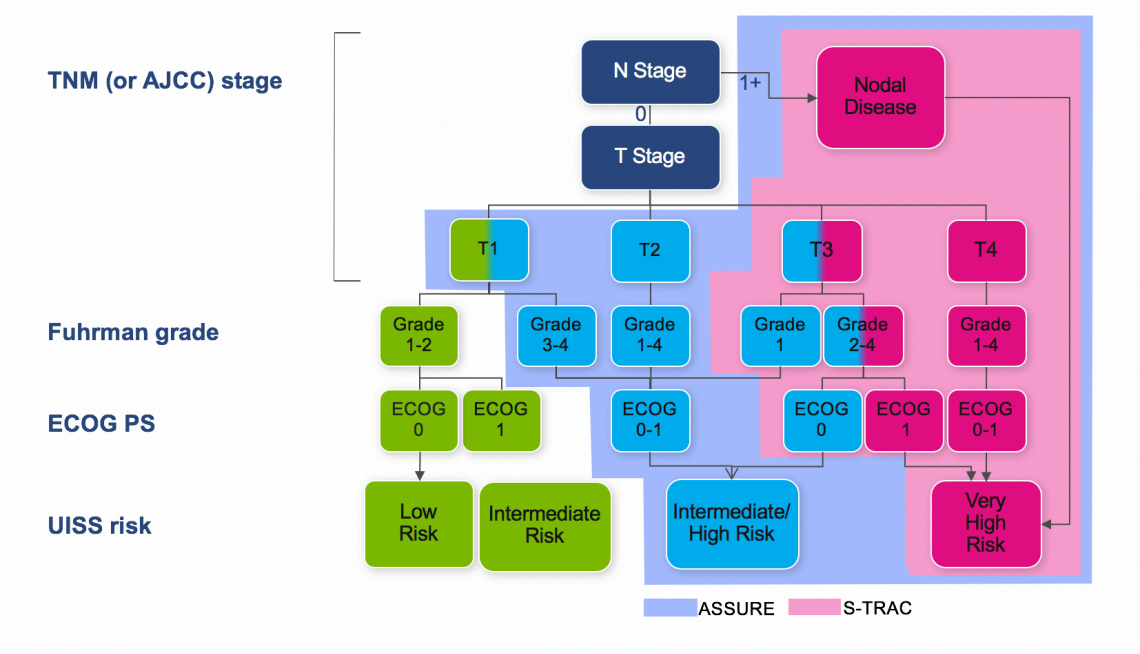


Tableau 4 : Tableau récapitulatif des essais de traitement adjuvants par thérapie ciblées

	Critères d'inclusion	**Molécule vs Placebo**	**Durée d'administration**	**Survie sans récidive**	**Survie sans récidive (HR IC95%, p)**
ASSURE (Sunitinb) [116]	pT1b haut grade N0M0 ou N+M0, CCR conventionnel et non conventionnel	Sunitinib 50 mg/Sorafenib 800mg	1 an	47 vs 50% à 5 ans	1.02 [0.85-1.22], p=0.89
ASSURE (Sorafenib) [116]	pT1b haut grade N0M0 ou N+M0, CCR conventionnel et non conventionnel	Sunitinib 50 mg/Sorafenib 800mg	1 an	49 vs 50% à 5 ans	0.99 [0.80-1.17], p=0.72
S-TRAC [120]	Stade III-IV UISS, CCR conventionnel	Sunitinib 50mg	1 an	59 vs 51% à 5 ans	0.76 [0.59-0.98], p=0.03
PROTECT (600mg) [121]	pT2 haut grade, pT3-4 N0M0 ou N+M0, CCR conventionnel	Pazopanib 600mg	1 an	67 vs 64% à 3 ans	0.94 [0.77-1.15], p=0.51
PROTECT (800mg) [121]	pT2 haut grade, pT3-4 N0M0 ou N+M0, CCR conventionnel	Pazopanib 400mg ×2/jour	1 an	66 vs 56% à 3 ans	0.66 [0.49-0.90], p=0.01
ATLAS [122]	≥pT2 et/ou N+	Axitinib 5 mg ×2/jour	3 ans	65 vs 69% à 3 ans	0.870 [0.66–1.14], p=0.32
SORCE [123]	Score de Leibovitch 3-11, CCR conventionnel et non conventionnel	Sorafenib 400mg ×2/jour	1 an	54 vs 53% à 5 ans	1.01 [0.82-1.23], p=0.95

1.5 Amélioration du risque de récidive et de progression avec les nouvelles immunothérapies

1.5.1 Essais évaluant les traitements néoadjuvants

La place des immunothérapies en néoadjuvant est en cours d'évaluation et leur usage ne doit se faire que dans le cadre d'essais cliniques ou discuté en RCP au cas par cas [130]. Elles doivent être envisagées avec prudence car pourraient être associées à une majoration des difficultés chirurgicales liées aux remaniements inflammatoires péri-tumoraux post immunothérapie [131] .

1.5.2 Essais évaluant les traitements adjuvants

Le développement de nouvelles immunothérapie (IO) par des molécules inhibitrices du contrôle immunitaire (anti-PD1 et anti-PDL1, anti-CTLA4) a transformé le paradigme de traitement des patients atteints d'un CCR avancé et métastatique et a modifié la place des antiangiogéniques [132]. Les mécanismes d'action des inhibiteurs de contrôle immunitaires dans le CCR ont été décrits et peuvent être résumés comme un échappement au blocage de l'inhibition de la réponse immunitaire induit par les cellules tumorales (échappement avec un état d'immunotolérance) [133].

L'efficacité des anti-PD-1, anti PD-L1 et anti-CTLA4 dans le CCR avancé et métastatique [134], a suscité un regain d'enthousiasme pour les tester dans le cadre d'un traitement adjuvant, dans l'espoir que les réponses durables observées dans la maladie avancée se traduisent par un bénéfice curatif dans le CCR localisé à haut risque de progression [135]. En effet, l'élimination des cellules tumorales circulantes ou des dépôts micro-métastatiques par l'amélioration de la réponse immunitaire tumorale T1 (obtenue par le blocage du récepteur PD-1 et de la PDL-1) pourrait représenter une voie thérapeutique plus efficace que les antiangiogéniques, comme cela a été montré précédemment dans le CCR métastatique [133,136].

Cinq essais contrôlés randomisés (ECR) de phase III explorent actuellement le bénéfice des inhibiteurs de contrôle immunitaires dans le cadre d'un traitement adjuvant pour les CCR à haut risque **(Tableau 5)**. L'expérience extrapolée des autres tumeurs solides telles que le mélanome suggère que cette stratégie pourrait être prometteuse également pour les patients atteints d'un CCR [26,27].

L'essai IMmotion010 (NCT03024996) explore l'efficacité de l'atézolizumab par rapport au placebo chez des patients atteints d'un CCR à risque intermédiaire et élevé avec des histologies à cellules claires ou sarcomatoïdes, tandis que l'essai KEYNOTE-564 (NCT03142334) explore l'efficacité du pembrolizumab par rapport au placebo chez des patients atteints d'un CCR à cellules claires à risque intermédiaire et élevé. Les deux essais permettent d'inclure des patients qui présentent des métastases isolées des tissus mous qui ont été complètement réséqués au moment de la néphrectomie (synchrone) ou ≤ 1 an après la néphrectomie (métachrone). L'objectif principal des deux ECR IMmotion010 et KEYNOTE-564 est la survie sans maladie (SSM).

L'essai RAMPART (NCT03288532) est une étude de phase III à plusieurs bras qui évalue l'efficacité du durvalumab adjuvant, seul ou en combinaison avec le trémélimumab, par rapport à l'observation, chez des patients présentant une maladie à risque intermédiaire ou élevé sur la base du score de Leibovich. Les principaux critères d'évaluation de cet ECR sont la SSM et la survie globale (SG).

Visant à reproduire le succès de l'inhibition de deux points (anti-PD1 et anti-CTLA4) constaté dans le CCR métastatique [137], l'étude CheckMate 914 (NCT03138512) évalue la capacité du nivolumab adjuvant plus l'ipilimumab à augmenter la SSM par rapport au placebo chez les patients atteints d'un CCR à risque intermédiaire ou élevé avec un sous-type histologique à prédominance de cellules claires.

Enfin, l'étude PROSPER RCC (ECOG-ACRIN 8143 ; NCT03055013) évalue le rôle du blocage combiné néoadjuvant plus adjuvant avec le nivolumab chez les patients présentant un risque modéré ou élevé de CCR à cellules claires ou non claires. Le bras contrôle étant la chirurgie puis une surveillance simple *(standard of care)* . Les patients atteints d'une maladie oligométastatique qui peut être réséquée chirurgicalement dans un délai de 12 semaines sont considérés comme éligibles pour l'essai. La conception spécifique de l'essai PROSPER permettra, espérons-le, de répondre à la question de savoir si les néoantigènes de tumeurs primaires intactes sont importants pour l'amorçage efficace des lymphocytes T par un traitement par inhibiteur de point de contrôle immunitaire [135]. En outre, la composante néoadjuvante de cet essai offrira également une occasion unique d'effectuer des analyses prédictives de biomarqueurs.

Il convient de noter que les critères d'inclusion de ces 5 ECR sont différents **(tableau 5)**. En utilisant la base de données SEER, une récente étude en population a évalué l'effet du stade, du grade et du type histologique sur la mortalité spécifique du cancer (CSM) après une opération chez des patients atteints d'un CCR qui pourraient être candidats aux quatre essais en cours en Amérique du Nord (PROSPER RCC, CheckMate 914, KEYNOTE-564, IMmotion010) [136]. Dans l'ensemble, 15,9 % des patients ayant subi une chirurgie pour un CCR non métastatique ont rempli les critères d'inclusion dans ces études, dont 100 %, 85,2 %, 69,3 % et 43,3 % qui auraient pu être inclus dans les essais PROSPER RCC, CheckMate 914, KEYNOTE-564 et IMmotion010, respectivement. Les essais IMmotion010 et KEYNOTE-564 incluent des de risque élevé et donc plus agressifs alors que les essais PROSPER RCC et CheckMate 914 permettent l'inclusion de patients présentant un phénotype moins agressif.

La mortalité la plus élevée a été enregistrée chez les patients atteints d'une CCR présentant des caractéristiques sarcomatoïdes, suivis de ceux qui présentent un stade N1 et/ou T4N0. Les auteurs ont simulé les taux de CSM pour les essais cliniques en cours mentionnés ci-dessus en utilisant un échantillonnage aléatoire au sein d'une cohorte de 18 559 patients, et ont constaté que les différences dans les critères d'inclusion qualifiants se traduisaient par des taux de survie différents. Le taux CSM spécifique à 10 ans serait le plus élevé serait dans IMmotion010 (survie spécifique à 10 ans : 57,1 % ; HR :1,71), suivi de KEYNOTE-564 (survie spécifique à 10 ans : 61,9 % ; RH, 1,21), CheckMate 914 (survie spécifique à 10 ans :67,3 % ; RH, 1,12) et PROSPER RCC (survie spécifique à 10 ans : 69,6 % ; RH, 1,0, référent). Ainsi, l'inclusion de patients présentant une maladie plus agressive pourrait permettre des différences de CSM plus significatives entre le groupe de traitement et le groupe placebo [20]. Enfin, il convient également de tenir compte de la toxicité des schémas thérapeutiques dans chacun des essais en cours avec des IO.

Tableau 5 : Les essais de phase III évaluant les immunothérapies en adjuvant dans le cancer du rein.

Essai (ClinicalTrial.Gov)	**Patients**	**ICI**	**Bras control**	**Durée de traitement**	**Type histologique**	**Critères d'inclusion**	**Critère de jugement principal**
Immotion 010 (NCT03024996)	664	Atezolizumab (anti PD-L1)	Placebo	1 an	CCR conventionnel et non conventionnel + contingent sarcomatoïde requis	pT2G4; pT3aG3-4; pT3b-T4(tout grade); pT0-4N1(tout grade); *M1(traité sans masse résiduelle)*	SSM*
Keynote-564 (NCT03142334)	1000	Pembrolizumab (anti-PD-1)	Placebo	1 an	CCR conventionnel et non conventionnel sans contingent sarcomatoïde	pT2G4 (sarcomatoide)N0; pT3G3-4N0; pT4 tout grade)N0; pTanyN1 (tout grade); *M1 (traité sans masse résiduelle)*	SSM**
RAMPART (NCT03288532)	1750	a) Durvalumab (anti-PD-L1); b) Durvalumab + Tremelimumab (anti-CTLA4)	Observation	1 an	Tous sous-type sauf oncocytome pure, carcinome des tubes collecteurs, médullaire ou transitionnel	Score de Leibovich 3-11 (début de traitement)	SSM* et SG
CheckMate 914 (NCT03138512)	800	Nivolumab (anti-PD1) + Ipilimumab (anti-CTLA4)	Placebo	2 ans	CCR conventionnel prédominant +/- contingent sarcomatoïde	pT2aG3-4N0; pT2b/pT3/pT4 (tout grade)N0;pT0-4 (tout grade)N1	SSM*
PROSPER (NCT03055013)	766	*Nivolumab néoadjuvant* > chirurgie > Nivolumab adjuvant	Observation	10 mois (1 mois néoadjuvant + 9 mois adjuvant)	Tout type de CCR	> cT2aN0M0; cT0-4N1M0; *M1 (traité sans masse résiduelle)*	SSM**

SSM : survie sans maladie ; SG : survie globale

* : évalué par les investigateurs, ** : évalué par un comité indépendant

2 Objectif du travail

L'objectif principal de ce travail était d'utiliser les échantillons de tumeurs collectées dans les centres français dans le cadre de l'essais S-TRAC pour explorer sur des analyses à plusieurs niveau les facteurs de progression après traitement par sunitinib.

Les facteurs suivants ont été particulièrement étudiés.

- Statut VHL (présence de mutations, délétions, d'hyperméthylation du promoteur)
- Taux circulants ou expression intra-tumorale de molécules impliquées dans la voie VHL/HIF/VEGF.
- Déterminer si les facteurs listés ci-dessus sont pronostiques de la survie sans progression
- Déterminer l'association entre le statut VHL et les biomarqueurs de la voie VHL/HIF/VEGF

Compte-tenu que la plupart des études qui ont évalué des modèles biologiques prédictifs de la réponse aux antiangiogéniques ont été réalisées dans le CCR métastatique, le deuxième objectif était de faire une revue des modèles biologiques rapportés pour tenter de :

- Dégager des groupes pronostiques prédictifs de réponses aux antiangiogéniques et plus récemment à l'immunothérapie pour aider à la sélection du meilleur traitement dans le CCR métastatique parmi les différentes options disponibles.
- Discuter leur application potentielle dans le CCR localisé à haut risque pour une meilleure sélection des patients pour un traitement adjuvant à venir, l'inclusion dans les essais cliniques ou le choix du traitement à la récidive.

3 Exploration biologique de la progression du cancer du rein à haut risque

3.1 Exploration des facteurs biologiques prédictifs de la progression après chirurgie dans le carcinome rénal à haut risque : résultats de la cohorte française des patients de l'essai randomisé S-TRAC.

3.1.1 Résumé de l'article en français

Contexte et objectif

L'objectif de cette étude était d'explorer les facteurs biologiques prédictifs de la progression après néphrectomie pour un carcinome à cellules rénales (CCR) à haut risque non métastatique en utilisant les tumeurs des patients inclus en France dans l'essai randomisé S-TRAC (NCT00375674).

Patients et méthodes

Nous avons analysé les tumeurs de la cohorte française du S-TRAC qui comprenait 44 cas de CCR qui ont été recueillis dans six centres.

L'objectif principal était d'explorer les facteurs biologiques prédictifs de la progression (définis comme SSP) au sunitinib. Ce critère était le critère de jugement principal dans l'essai S-TRAC.

L'analyse à large spectre incluant : l'immunohistochimie, la fluorescence in situ d'hybridation (FISH), l'hybridation génomique comparative (CGH) et une analyse transcriptomique ont été effectuées sur les tumeurs collectées.

L'immunohistochimie a été réalisée selon les protocoles habituels sur les blocs de paraffine. Les tissus sains sont choisis comme témoins pour éviter l'hétérogénéité des marquages immunologique des tumeurs. L'immuno-marquage a ensuite été effectué soit manuellement (CXCR4), soit avec un kit Discovery XT (Ventana, Tucson, AZ, USA) pour

une meilleure reproductibilité. La liste des marqueurs et les interprétations pertinentes sont énumérées dans le tableau d'annexe 1 (cf. infra).

La technique d'hybridation fluorescente in situ en interphase (FISH) a été réalisée sur des sections de 4µm d'épaisseur. Après déparaffinage, un traitement enzymatique à la pepsine a permis de séparer l'ADN des histones, ce qui facilite l'extraction de

la pénétration des sondes. Une fois que l'ADN double brin dénaturé, les sondes pouvaient s'hybrider spécifiquement à la région d'intérêt des gènes notamment : VHL, MYC, MET.

La technique d'hybridation génomique comparative (CGH) a été réalisée en utilisant l'ADN de la tumeur à partir d'échantillons de tumeur congelés pour évaluer les différences en termes de gains ou de pertes de des chromosomes entiers ou des régions sous-chromosomiques. Tous les échantillons ont fait l'objet d'un contrôle histologique pour détecter la présence de plus de 50 % des cellules tumorales. L'ADN commercial a été choisi comme ADN de contrôle. Après une extraction (DNeasy® Blood & Tissue Qiagen® kit), l'ADN a été traité avec la RNase (SureTag DNA Labelling Kit, Agilent®), puis purifié et quantifié (spectrophotometer, Nanodrop®). Après une étape de digestion par deux enzymes de restriction pour obtenir des fragments d'ADN de 100 à 500 pb (SureTag DNA Labelling Kit, Agilent®). L'ADN de la tumeur et l'ADN de contrôle ont été marqués avec deux fluorochromes distincts (Cy5 et Cy3). Ils ont été co-hybridés sur des oligonucléotides séquences fixées sur un support solide (4x180k chip, Agilent® with a resolution of 13kb). Les puces ont été lues sur un scanner (G2565CA, Agilent Technologies) qui mesure la fluorescence pour chaque lieu. L'interprétation des données a été réalisée en utilisant Logiciel de cytogénomique (version 2.0.6.0, Agilent Technologies).

Des analyses transcriptomiques ont été effectuées pour évaluer l'impact d'altérations génomiques. L'ARN total a été extrait des échantillons utilisant le mini kit ADN/ARN AllPrep (Qiagen, Hilden, Allemagne). Les tissus ont été homogénéisés dans le tampon RLT en utilisant le TissueLyser (Qiagen), puis en passant le lysat à travers une aiguille émoussée de calibre 23 gauge. L'isolation de l'ARN a été effectuée conformément aux instructions du fabricant. La digestion à l'aide de la DNase a également été effectuée pour l'ARN et son intégrité a été vérifiée en utilisant des NanoChips à ARN 6000 avec le bio analyseur Agilent 2100 (Agilent, Diegem, Belgique). Seules les préparations d'ARN avec un nombre d'intégrité de l'ARN (RIN) > 6,9 ont été retenues pour l'analyse des puces à ADN.

Résultats

L'essentiel des résultats sont résumés comme suit : L'analyse de la densité vasculaire a montré qu'une densité vasculaire élevée a été associée à une progression ($p < 0,034$). La perte de poly bromo-1 a montré un profil distinct : une tumeur agressive hautement avec un profil angiogénique marqué (surexpression du facteur de croissance endothélial vasculaire et stroma vasculaire immature de type 2), pas d'expression PD1 ou PDL1, et statut de type sauvage (WT) du gène VHL. Il y avait 27 gains de régions chromosomiques chez les patients présentant une progression (sur les chromosomes 7 et 16, et dans une moindre mesure 8, 12, 17, 19, 20 correspondants à 605 gènes associés) et 10 pertes chromosomiques chez ces mêmes patients sur les chromosomes 8 et 9, et dans une moindre mesure 2 et 21 correspondant à 25 gènes associés.

Discussion et conclusion

Nous avons constaté qu'un phénotype angiogénique défini par une forte densité vasculaire était un facteur prédictif de la résistance au sunitnib.

Quel que soit le traitement reçu (sunitinib ou placebo) les gains et de pertes chromosomiques et les altérations génomiques, y compris la perte de PBRM1 étaient associées à un plus mauvais pronostic.

Les résultats obtenus dans cette étude résident en grande partie dans la limite d'accès aux échantillons collectés dans le cadre de l'essai STRAC. Seuls les échantillons collectés en France étaient accessibles. En effet, il n'a pas été possible d'accéder aux tumeurs collectées dans d'autres pays. Une piste particulièrement intéressante était la perte de PBRM1. Sa valeur pronostique a été rapportée dans plusieurs travaux mais sa valeur prédictive dans les formes localisées est moins connue.

Dans la perspective d'utilisation des travaux biologiques plus robustes pour comprendre le rôle prédictif des caractéristiques biologiques des tumeurs, l'utilisation des travaux réalisés dans le cancer métastatique était une piste que nous avions voulu explorer. En effet, la plupart des modèles biologiques rapportés était de meilleure qualité car les données ont été collectées prospectivement Une extrapolation des résultats du métastatique vers le cancer localisé peut être envisagé pour avancer dans la compréhension de l'impact de la biologie sur les résultats cliniques (cf.infra).

3.1.2 Manuscrit publié

Exploring Biological Predictive Factors of Progression After Surgery in High-Risk Renal Cell Carcinoma: Results From the French Cohort of the Randomized S-TRAC Trial Patients.

Ouzaid I, Kammerer-Jacquet SF, Khene Z, Ravaud A, Patard JJ, Bensalah K, Rioux-Leclercq N. Front Surg. 2020 Jun 5;7:26. doi: 10.3389/fsurg.2020.00026. eCollection 2020. PMID: 32582758

Exploring biological predictive factors of progression after surgery in high-risk renal cell carcinoma: results from the French cohort of the randomized S-TRAC trial patients.

Idir Ouzaid[1,2], Solène Florence Kammerer-Jacquet[1], Zineddine Khene[3], Alain Ravaud[4], Jean-Jacques Patard[5], Karim Bensalah[3], Nathalie Rioux-Leclercq[1]

[1]: Department of Pathology, University of Rennes, CHU de Rennes, France

[2]: Department of Urology, Bichat Claude Bernard Hospital, University of Paris, Paris, France

[3]: Department of Urology, University of Rennes, CHU de Rennes, France

[4]: Department of Medical Oncology, CHU de Bordeaux, France

[5]: Department of Urology, CH Mont de Marsan, France

Corresponding author:

Idir OUZAID, MD

Department of Urology, Bichat Claude Bernard Hospital, University of Paris, Paris, France Phone: +331 40 25 89 35

Mail: idir.ouzaid@free.fr

Key words: Renal Cell Carcinoma, VEGF, Prognosis, Progression, Angiogenesis, Sunitinib

Abstract

Objective:

We aimed to explore biological predictive factors of progression after surgery in non-metastatic RCC using the collected tumors in the French cohort of the randomized S-TRAC trial patients.

Patients and methods

We analyzed the tumors of the French cohort of STRAC that included 44 cases of ccRCC that were collected from 6 centers. The main objective was to explore biological predictive factors of progression (defined as PFS) to sunitinib.

Aboard spectrum analysis including immunohistochemistry, FISH, CGH-Array, Transcriptomic analyses were performed on the tumors.

Results

Analysis of vascular density showed type 1 vascular stroma corresponding to high vascular density was associated with progression ($p<0.034$). Loss of PBRM1 (Poly bromo-1) expression showed a distinct profile: a highly histopathological aggressive tumor with a marked angiogenic profile (VEGF overexpression and immature vascular stroma type 2), no PD1 or PDL1 expression and WT status of the VHL gene. There were 27 chromosome regions gained in patients with progression (on chromosomes 7 and 16, and to a lesser extent 8, 12, 17, 17, 19, 20 corresponding to 605 associated genes) and 10 regions lost in these same patients on chromosomes 8 and 9, and to a lesser extent 2 and 21 corresponding to 25 associated genes.

Conclusion

We found that an angiogenic phenotype defined by a high vascular density with a vascular type 2 stroma was a predictive factor of sunitinib resistance. Regardless of adjuvant treatment, chromosomal gains and losses and genomic alterations including *PBRM1* loss were associated with worse outcomes.

Introduction

Renal cell carcinoma (RCC) is the most lethal urologic cancer with an estimated 143 000 annual deaths (91 000 in men, 52 000 in women) [1]. Surgical extirpation is the standard treatment of localized and locally advanced non-metastatic disease (nmRCC) [2]. However, up to 60 % of non-metastatic locally advanced patients will experience recurrence at 5 years and a majority of these patients will die from the disease [3].

Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) targeting vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors have the ability to block the angiogenic pathway, and can impair tumor cell growth [4,5]. TKIs have been investigated in RCTs in the adjuvant setting to prevent progression in high-risk nmRCC after nephrectomy [6].

To date, the results of 3 of 5 of these trials have been reported [7–9] . The S-TRAC trial was the only RCT to show a benefit of sunitinib in terms of progression free survival [10]. The two other trials (PROTECT and ASSURE) did not show any survival advantage in patients receiving adjuvant TKIs. These conflicting results might be related to the heterogeneity of study designs and patient selection, and there might be a potential benefit in a subgroup of high-risk nmRCC that has yet to be defined.

Our objective was to explore biological predictive factors of progression after surgery in nmRCC using the collected tumors in the French cohort of the randomized S-TRAC trial patients.

Materials and methods

Patients

This ancillary study of S-TRAC trial (ClinicalTrials.gov number, NCT00375674) included patients from six centers. Eligible patients were at least 18 year-old and had a locoregional RCC (tumor stage 3 or higher, regional lymph-node metastasis, or both) on the basis of modified UISS criteria [11]. Other eligibility criteria included histologic confirmation of clear-cell renal-cell carcinoma, and no previous systemic treatment.

Treatment and oncological outcomes

After nephrectomy, patients were randomized in a 1:1 ratio to receive either sunitinib (50 mg per day) or placebo on a 4-weeks-on, 2-weeks-off schedule for 1 year. Dose interruptions or dose reductions to 37.5 mg per day were allowed, depending on the type and severity of toxicity. Treatment was pursued until disease recurrence, diagnosis of a secondary cancer, unacceptable toxic effects, or consent withdrawal.

The primary endpoint was disease-free survival, which was defined as the interval between randomization and first tumor recurrence, the occurrence of metastasis or a secondary cancer (as assessed by blinded independent central review), or death. Secondary end points included overall survival, safety, and health-related quality of life.

Study objectives

The main objective of this project was to explore biological predictive factors of progression (defined as PFS) to sunitinib.

Immunohistochemistry

The immunohistochemical study was performed on 4µm thick sections of the addressed inclusion block. The main immunohistochemistry steps were dewaxing, rehydration, antigen detection,

endogenous peroxidase neutralization, non-specific site saturation, primary antibody, secondary antibody, amplification, revelation and counter staining. For the development of research antibodies, primary antibodies concentrations, unmasking solutions and amplification techniques were adapted to each antibody to define the most specific and sensitive labeling. Positive controls were obtained by referring to www.proteinatlas.org. Healthy tissues were chosen as controls over tumor tissues to avoid heterogeneity of immunological labeling on tumors. For the other antibodies, used routinely, the usual protocols were followed. Immunolabeling was then performed either manually (CXCR4) or on the Discovery XT® (Ventana, Tucson, USA) controller for the other antibodies for better reproducibility. The markers list and relevant interpretation are listed in **appendix1**. Vascular density was defined and evaluated as previously described [12].

FISH analysis

The interphase fluorescent *in situ* hybridization (FISH) technique was performed on 4µm thick sections. After dewaxing, an enzymatic treatment with pepsin from the sections was carried out, separating the DNA from the histones and thus facilitating the penetration of the probes. Once the double-stranded DNA was denatured, the probes could hybridize specifically to the region of interest. The ZytoLight® SPEC VHL/CEN 3 probe (Zytovision, Clinisciences, Nanterre, France) Dual Color Probe was used for VHL (locus deletion detection of the VHL gene to establish its status), the break-apart LSI MYC probe (Abbott, Rungis, France) for MYC (targeting the 8q region of interest) and the ZytoLight® SPEC MET/ CEN 7 probe (Zytovision, Bremerhaven, Germany) for MET (completing the MET status).

The test probe was marked by the fluorochrome emitting in the green and by the control probe on the centromere marked by a fluorochrome emitting in the orange. The fluorescent signal generated by the probe when it was hybridized was visualized with an epifluorescence microscope. The nuclei were counter-colored with DAPI (Di-Amino-Phenyl-Indol).

CGH Array analysis

The CGH-array technique was performed using tumor DNA from frozen tumor samples in order to assess differences in terms of either gains or losses of either whole chromosomes or sub chromosomal regions. All samples were histologically checked for the presence of more than 50% tumor cells. Commercial DNA was chosen as the control DNA. After a DNA extraction (DNeasy® Blood & Tissue Qiagen® kit), the DNA was treated with the RNase enzyme, then purified and quantified (spectrophotometer, Nanodrop®). After a digestion step by 2 restriction enzymes to obtain DNA fragments from 100 to 500 bp (SureTag DNA Labelling Kit, Agilent®), the tumor DNA and control DNA were labelled with 2 distinct fluorochromes (Cy5 and Cy3). They were co-hybrided on oligonucleotide sequences fixed on a solid support (4x180k chip, Agilent® with a resolution of 13kb). The chips were read on a scanner (G2565CA, Agilent Technologies) that measures the fluorescence ratio for each locus. Data interpretation was performed using Cytogenomics software (version 2.0.6.0, Agilent Technologies), Hg19 database.

Transcriptomic analysis

Transcriptomic analyses were performed to evaluate the impact of genomic alterations. Total RNA was extracted from biological samples using AllPrep DNA/RNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instructions with a maximum of 30 mg frozen tissue. Tissues were homogenized in RLT buffer using TissueLyser (Qiagen) followed by passing the lysate through a blunt 23-gauge. RNA isolation was performed according to the manufacturer's instructions. DNase digestion done also for RNA and integrity was checked using RNA 6000 NanoChips with the Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent, Diegem, Belgium). Only RNA preparations with a RNA integrity number (RIN) >6.9 were considered for further microarray analysis.

Statistical analysis

Differences between patients treated respectively with placebo and sunitinib were compared using the Chi-square or Fisher tests for categorical variables (presented as proportions) and a non-parametric Wilcoxon rank sum test for continuous variables (presented as mean ± standard deviation,

SD). Bonferroni correction was used for multiple comparisons. A univariate logistic regression model was constructed including pertinent variables. Significant variables on the univariate as well as significant differences on baseline characteristics were used to construct a multivariate analysis model to predict progression and progression under sunitinib. Statistical analysis was performed using R 3.0.0 (www.r-project.org) and p-values were two-sided and statistical significance was defined as a $p<0.05$.

Results

Patients and treatment

The French cohort of STRAC included 44 cases of ccRCC that were collected from 6 centers. Overall, 40 patients were exploitable and frozen tissue was available in 25 patients. Baseline clinical and pathological findings were similar in both groups and are summarized in **table 1**.

Seventeen patients were included in the Sunitinib arm (43%) of whom 10 patients had a dose reduction (25%). At the time of data collection, 11 (52.3%) and 10 (47.7%) patients had progressed in the placebo and sunitinib arms, respectively. Overall, 8 had lung metastases, 4 lymph node invasion, and 8 had various metastatic locations. Progression was similar in both arms.

Immunohistochemical findings

Immunohistochemically, 23% and 63.4% of tumors had an overexpression of CXCR4 and CAIX. Most tumors (65%) had a type 2 vascular stroma corresponding to a low vascular density and 35% had a mature type 1 stroma with a high vascular density **(Figure 1).** The mean expression of intra-tumoral VEGF was 36.8%. There was no significant difference for these biomarkers between the sunitinib group and the placebo group.

Tumors showed a higher peripheral lymphocyte infiltration (42%) than central infiltration (26%). There was no difference in immune phenotype as well as *VHL* status (deletion, mutation or hypermethylation) in both sunitinib and placebo groups **(Table 2).**

There was no loss of expression of *BAP1* or *PBRM1* except for one male patient who had a loss of expression of *PBRM1* reflecting an epigenetic mutation of *PBRM1*. This patient, presented with a 10cm tumor, was ISUP grade 3 without any sarcomatoid or rhabdoïd components. The tumor invaded the hilar and perirenal fatty tissue with a renal vein thrombus (pT3b) and necrotic alterations. Despite a massive lymphocyte infiltration in both the periphery and center of the tumor, there was no PD1 or PDL1 overexpression. VEGF was overexpressed in 100% of tumor cells with an immature type 2 stroma. He was

WT for VHL status. All these criteria are known to be poor prognostic factors [13]. This patient developed lymph node and pulmonary metastases while he was included in the sunitinib arm (progression under treatment).

When comparing the two subpopulations of patients based on progression status, only the mature type 1 vascular stroma corresponding to high vascular density was associated with progression within the sunitinib arm ($p<0.034$) (**table 3).**

CGH array

Subgroup comparison including patients (no treatment, no progression) vs (no treatment progression) vs (treatment, no progression) vs (treatment, progression) no differential gained or lost chromosomal regions were noticed. However, comparing patients according to their progression status only, there were 27 chromosome regions gained in patients with progression (on chromosomes 7 and 16, and to a lesser extent 8, 12, 17, 17, 19, 20 corresponding to 605 associated genes) and 10 regions lost in these same patients on chromosomes 8 and 9, and to a lesser extent 2 and 21 corresponding to 25 associated genes **(Figure 2).**

Transcriptomic and Fish analyses

Transcriptomic and Fish findings did show any significant differences between both groups and their respective sub-groups (TKI versus placebo and progression versus no progression).

Discussion

Recent publications of three randomized trials rose controversy regarding the utility of adjuvant TKI treatment after nephrectomy for high-risk RCC [14]. S-TRAC was the only trial that showed a potential benefit in delaying progression in patients treated with sunitinib for one year after surgery [10]. For this reason, we wanted to explore this specific cohort on a molecular perspective to provide some insights regarding predictive factors of progression in high-risk RCC patients.

We performed a large spectrum of analyses in the French cohort of the prospectively collected specimen of the S-TRAC trial including immunohistochemistry, FISH and CGH arrays analyses.

Despite, the limited sample size that could have impacted the results, three major findings emerged:

1. There was no histopathological phenotype, chromosomal or transcriptomic difference between the sunitinib and placebo groups. In addition, patients in both arms showed similar progression rate in contrast with the whole population of the trial where there was a PFS benefit in the sunitinib arm. The absence of survival difference is mostly related to the small sample size that accounts for 6.5% of the whole trial.

Regardless of treatment arm, patients who progressed had more chromosomal gains and losses than those who did not. Recently, the TRACERx Renal Consortium published a comprehensive study picturing the genetic underpinnings and the evolutionary patterns of metastasis. Specifically, the hallmark genomic drivers of ccRCC metastasis are loss of 9p and 14q, which is in accordance with our findings [15].

Selection of the best candidates for adjuvant treatment should probably take into account molecular patterns of the tumors besides macroscopic and pathological findings after nephrectomy. Different subtypes of primary tumors harbor different courses after radical treatment. For example, primary tumors with low intratumor heterogeneity (ITH) and a low fraction of the tumor genome affected by somatic copy-number alterations (SCNAs) have a low metastatic potential [16]. Primary tumors with

high ITH are associated with a low risk of progression, whereas primary tumors with low ITH but elevated SCNAs are associated with rapid and multilocular dissemination [16].

2. The only patient in the cohort with loss of PBRM1 (Poly bromo-1) expression showed a distinct profile: a highly histopathological aggressive tumor with a marked angiogenic profile (VEGF overexpression and immature vascular stroma type 2), no PD1 or PDL1 expression and WT status of the VHL gene. Despite the randomization in the sunitinib arm, the patient developed early metastases.

Loss of PBRM1 requires special attention because it is the most frequently mutated gene after VHL [17]. PBRM1(chromosome 3p21) encodes the BAF180 protein, which is a subunit of the ATP-dependent chromatin remodeling complex called SWI/SNF (SWItch/Sucrose Non-Fermentable). In ccRCC, most PBRM1 mutations lead to the loss of the protein [18]. As shown here, clinical data suggest that negative expression of PBRM1 is correlated with advanced tumor stage, low differentiation grade, and worse patient outcome [19,20]. In addition, PBRM1 patients express neither PD1 nor PDL1. Therefore, they might also be resistant to check point inhibitors.

3. The only significant predictive factor for progression in patients treated with sunitinib, was the presence of a subtype 1 vascular stroma corresponding to a high vascular density. We are aware of the limited sample size of our cohort, but we think this finding can raise hypothesis. Micro vessel density (MVD), which is a surrogate of angiogenesis, has been suggested to predict prognosis of patients with RCC, but its ability to predict survival of patients with RCC remains controversial [21]. A recent meta-analysis suggested MVD was not reliably associated with survival, which may reflect the need to consider whether the microvasculature is differentiated or not. A study showed two distinct types of microvessels can be identified in ccRCC: undifferentiated (CD31+/CD34-) and differentiated (CD34+) vessels. Differentiated MVD was significantly correlated with lower tumor grade and longer survival [22]. Vessel density measurement can predict response to therapy with high sensitivity and specificity [23]. The exact significance of MVD remains to be investigated in larger cohorts.

Our exploratory and hypotheses generating study aims to biologically identify, among all patients with hig-risk localized RCC based on the UISS grading system, who might derive more benefit from adjuvant sunitinib. Accordingly, a recent study assessed the correlations between 11 SNPs (including specific SNPs in VEGFA, VEGFR1, and VEGFR3) and DFS and OS were assessed in another sub-subset of S-TRAC trial patients. Three of the 11 SNPs demonstrated improved DFS with sunitinib treatment over placebo with HRs between 0.44 and 0.56, compared to 0.76 for the overall population. This improvement in HR supports a predictive value for this biomarker defined subset of patients receiving sunitinib treatment. In particular, the genotypes C/C for VEGFR1 rs9554320, T/T for VEGFR2 rs2071559, and T/T for eNOS rs2070744 were associated with a longer DFS with sunitinib versus placebo treatment [24].

Selecting patients with biological features of worst outcomes could be combined with recurrence assessment tools such as the 16-gene signature recurrence score [25]. This score has been validated on the S-TRAC trial subgroup population and showed significance in both arms with the strongest results in the placebo arms [26].

The major limitation of our study was sample size. In fact, the study could not be conducted on the whole S-Trac population but only on patients accrued in French centers. This limited sample size had an impact on the results by decreasing the strength of statistical modeling. In addition, comparison within each group (treatment arm versus placebo arm) were limited. However, despite the sample size, performing a comprehensive analysis with various molecular analyses allowed a thorough exploitation of the prospectively acquired clinical data and biological samples. We should acknowledge this can only be hypotheses generating to show directions of future research in the field of patient treated for a non-metastatic RCC with high risk of progression.

Finally, our findings could be extrapolated to the metastatic setting for treatment selection. TKIs, now combined with immunotherapy (anti-PD1), have been shown to be effective in the first line treatment of metastatic RCC in recently published phase III trials [27–29]. This suggests a remaining role of angiogenesis targeting therapies in the immunotherapy era. Updated EAU guidelines recommend the

use of either IO-IO (Ipilimumab and Nivolumab) or IO-TKI (Pembrolizumab and Axitinib or Avelumab and Axitinib) combinations in the first-line treatment of mRCC [30]. These options were all reported to show a survival benefit compared to the conventional sunitinib alone. However, there is no clinical direct comparison between the two combination strategies. Therefore, treatment plan could rely on tumor biological profiling based on biopsy or nephrectomy specimen analyses. In fact, an immunologic tumor type (high PDL1 expression, CD8 T-cell infiltration, sarcomatoid features) is thought to benefit more from IO-IO combination while IO-TKI would be more suited to an angiogenic type (high vascular density) [31,32]. As shown here, vascular phenotype (type 1 versus type 2) using MVD analysis could help treatment selection of one or the other approach (IO-IO versus IO-TKI).

Conclusion

In a population of patients who had nephrectomy for a high risk RCC, we found that a angiogenic phenotype defined by a high vascular density with a vascular type 2 stroma was a predictive factor of sunitinib resistance. Regardless of adjuvant treatment, chromosomal gains and losses and genomic alterations including *PBRM1* loss were associated with worse outcomes. These findings reinforce the role of tumor biology in treatment selection in the management of RCC.

Author's Contribution' statement

Idir Ouzaid: Drafting of the manuscript, data analysis

Solène Florence Kammerer-Jacquet : Data acquisition, drafting of the manuscript

Zineddine Khene : Data acquisition, statistical analysis, editing,

Alain Ravaud : Study design, editing and review of the manuscript

Jean-Jacques Patard : Study design, editing and review of the manuscript

Karim Bensalah: Study supervision, revision of the manuscript

Nathalie Rioux-Leclercq: Study supervision, revision of the manuscript

Disclosures :

Idir Ouzaid: None

Solène Florence Kammerer-Jacquet : None

Zineddine Khene : None

Alain Ravaud : reports receiving fees for serving on advisory boards from Pfizer, Novartis, GlaxoSmithKline, Bristol-Myers Squibb, and Roche, lecture fees from Pfizer, Novartis, and Glaxo-SmithKline, travel support from Pfizer, Novartis, GlaxoSmith- Kline, Bristol-Myers Squibb, and Merck Sharp & Dohme, and grant support from Pfizer and Novartis;

Jean-Jacques Patard : None

Karim Bensalah: Research grant and consultancy for Pfizer, Intuitive Surgical

Nathalie Rioux-Leclercq: None

Research involving Human Participants and/or Animals:

Yes (ClinicalTrials.gov number, NCT00375674)

Informed consent

Yes

References

[1] International Variations and Trends in Renal Cell Carcinoma Incidence and Mortality. Eur Urol 2015;67:519–30. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.10.002.

[2] Bex A, Albiges L, Ljungberg B, Bensalah K, Dabestani S, Giles RH, et al. Updated European Association of Urology Guidelines Regarding Adjuvant Therapy for Renal Cell Carcinoma. Eur Urol 2017;71:719–22. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.11.034.

[3] Lam JS, Shvarts O, Leppert JT, Pantuck AJ, Figlin RA, Belldegrun AS. Postoperative surveillance protocol for patients with localized and locally advanced renal cell carcinoma based on a validated prognostic nomogram and risk group stratification system. J Urol 2005;174:466–72. https://doi.org/10.1097/01.ju.0000165572.38887.da.

[4] Renal cell carcinoma with an emphasis on drug therapy of advanced disease, part 1 | American Journal of Health-System Pharmacy n.d. http://www.ajhp.org/content/66/17/1525?sso-checked=true (accessed August 23, 2018).

[5] Cersosimo RJ. Renal cell carcinoma with an emphasis on drug therapy of advanced disease, part 2. Am J Health Syst Pharm 2009;66:1625–33. https://doi.org/10.2146/ajhp080387.p2.

[6] Bandini M, Smith A, Marchioni M, Pompe RS, Martel TF, Cindolo L, et al. Adjuvant Therapies in Nonmetastatic Renal-Cell Carcinoma: A Review of the Literature. Clin Genitourin Cancer 2018;16:176–83. https://doi.org/10.1016/j.clgc.2018.01.003.

[7] Motzer RJ, Haas NB, Donskov F, Gross-Goupil M, Varlamov S, Kopyltsov E, et al. Randomized Phase III Trial of Adjuvant Pazopanib Versus Placebo After Nephrectomy in Patients With Localized or Locally Advanced Renal Cell Carcinoma. J Clin Oncol 2017;35:3916–23. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.73.5324.

[8] Adjuvant sunitinib or sorafenib for high-risk, non-metastatic renal-cell carcinoma (ECOG-ACRIN E2805): a double-blind, placebo-controlled, randomised, phase 3 trial. The Lancet 2016;387:2008–16. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00559-6.

[9] Adjuvant Sunitinib in High-Risk Renal-Cell Carcinoma after Nephrectomy | NEJM n.d. https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1611406 (accessed August 23, 2018).

[10] Ravaud A, Motzer RJ, Pandha HS, George DJ, Pantuck AJ, Patel A, et al. Adjuvant Sunitinib in High-Risk Renal-Cell Carcinoma after Nephrectomy. N Engl J Med 2016;375:2246–54. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1611406.

[11] Patard J-J, Kim HL, Lam JS, Dorey FJ, Pantuck AJ, Zisman A, et al. Use of the University of California Los Angeles integrated staging system to predict survival in renal cell carcinoma: an international multicenter study. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol 2004;22:3316–22. https://doi.org/10.1200/JCO.2004.09.104.

[12] Rioux-Leclercq N, Epstein JI, Bansard JY, Turlin B, Patard JJ, Manunta A, et al. Clinical significance of cell proliferation, microvessel density, and CD44 adhesion molecule expression in renal cell carcinoma. Hum Pathol 2001;32:1209–15. https://doi.org/10.1053/hupa.2001.28957.

[13] Dagher J, Kammerer-Jacquet S-F, Brunot A, Pladys A, Patard J-J, Bensalah K, et al. Wild-type VHL Clear Cell Renal Cell Carcinomas Are a Distinct Clinical and Histologic Entity: A 10-Year Follow-up. Eur Urol Focus 2016;1:284–90. https://doi.org/10.1016/j.euf.2015.06.001.

[14] Massari F, Di Nunno V, Mollica V, Graham J, Gatto L, Heng D. Adjuvant Tyrosine Kinase Inhibitors in Treatment of Renal Cell Carcinoma: A Meta-Analysis of Available Clinical Trials. Clin Genitourin Cancer 2019. https://doi.org/10.1016/j.clgc.2018.12.011.

[15] Turajlic S, Xu H, Litchfield K, Rowan A, Chambers T, Lopez JI, et al. Tracking Cancer Evolution Reveals Constrained Routes to Metastases: TRACERx Renal. Cell 2018;173:581–94.e12. https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.057.

[16] Turajlic S, Xu H, Litchfield K, Rowan A, Horswell S, Chambers T, et al. Deterministic Evolutionary Trajectories Influence Primary Tumor Growth: TRACERx Renal. Cell 2018;173:595–610.e11. https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.043.

[17] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of clear cell renal cell carcinoma. Nature 2013;499:43–9. https://doi.org/10.1038/nature12222.

[18] Varela I, Tarpey P, Raine K, Huang D, Ong CK, Stephens P, et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma. Nature 2011;469:539–42. https://doi.org/10.1038/nature09639.

[19] da Costa WH, Rezende M, Carneiro FC, Rocha RM, da Cunha IW, Carraro DM, et al. Polybromo-1 (PBRM1), a SWI/SNF complex subunit is a prognostic marker in clear cell renal cell carcinoma. BJU Int 2014;113:E157–63. https://doi.org/10.1111/bju.12426.

[20] Pawłowski R, Mühl SM, Sulser T, Krek W, Moch H, Schraml P. Loss of PBRM1 expression is associated with renal cell carcinoma progression. Int J Cancer 2013;132:E11–7. https://doi.org/10.1002/ijc.27822.

[21] Qian C-N, Huang D, Wondergem B, Teh BT. Complexity of tumor vasculature in clear cell renal cell carcinoma. Cancer 2009;115:2282–9. https://doi.org/10.1002/cncr.24238.

[22] Yao X, Qian C-N, Zhang Z-F, Tan M-H, Kort EJ, Yang XJ, et al. Two distinct types of blood vessels in clear cell renal cell carcinoma have contrasting prognostic implications. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res 2007;13:161–9. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-0774.

[23] Rojas JD, Papadopoulou V, Czernuszewicz TJ, Rajamahendiran RM, Chytil A, Chiang Y-C, et al. Ultrasound Measurement of Vascular Density to Evaluate Response to Anti-Angiogenic Therapy in Renal Cell Carcinoma. IEEE Trans Biomed Eng 2019;66:873–80. https://doi.org/10.1109/TBME.2018.2860932.

[24] George DJ, Martini J-F, Staehler M, Motzer RJ, Magheli A, Donskov F, et al. Phase III Trial of Adjuvant Sunitinib in Patients with High-Risk Renal Cell Carcinoma: Exploratory Pharmacogenomic Analysis. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res 2019;25:1165–73. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1724.

[25] Rini B, Goddard A, Knezevic D, Maddala T, Zhou M, Aydin H, et al. A 16-gene assay to predict recurrence after surgery in localised renal cell carcinoma: development and validation studies. Lancet Oncol 2015;16:676–85. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70167-1.

[26] Rini BI, Escudier B, Martini J-F, Magheli A, Svedman C, Lopatin M, et al. Validation of the 16-Gene Recurrence Score in Patients with Locoregional, High-Risk Renal Cell Carcinoma from a Phase III Trial of Adjuvant Sunitinib. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res 2018;24:4407–15. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-0323.

[27] Rini BI, Powles T, Atkins MB, Escudier B, McDermott DF, Suarez C, et al. Atezolizumab plus bevacizumab versus sunitinib in patients with previously untreated metastatic renal cell carcinoma (IMmotion151): a multicentre, open-label, phase 3, randomised controlled trial. Lancet Lond Engl 2019;393:2404–15. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30723-8.

[28] Rini BI, Plimack ER, Stus V, Gafanov R, Hawkins R, Nosov D, et al. Pembrolizumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma. N Engl J Med 2019;380:1116–27. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1816714.

[29] Motzer RJ, Penkov K, Haanen J, Rini B, Albiges L, Campbell MT, et al. Avelumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma. N Engl J Med 2019;380:1103–15. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1816047.

[30] Albiges L, Powles T, Staehler M, Bensalah K, Giles RH, Hora M, et al. Updated European Association of Urology Guidelines on Renal Cell Carcinoma: Immune Checkpoint Inhibition Is the New Backbone in First-line Treatment of Metastatic Clear-cell Renal Cell Carcinoma. Eur Urol 2019;76:151–6. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.05.022.

[31] Beuselinck B, Job S, Becht E, Karadimou A, Verkarre V, Couchy G, et al. Molecular subtypes of clear cell renal cell carcinoma are associated with sunitinib response in the metastatic setting. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res 2015;21:1329–39. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1128.

[32] McDermott DF, Huseni MA, Atkins MB, Motzer RJ, Rini BI, Escudier B, et al. Clinical activity and molecular correlates of response to atezolizumab alone or in combination with bevacizumab versus sunitinib in renal cell carcinoma. Nat Med 2018;24:749–57. https://doi.org/10.1038/s41591-018-0053-3.

Tables

Table1: Baseline patients' characteristics and pathological findings

Baseline patients' characteristics	n	%
Age at diagnosis (years, mean ± SD)	56,6	± 4,6
Gender		
Male	31	(75%)
Female	10	(25%)
High blood pressure	16	(40%)
Baseline performans status		
ECOG 0	28	(67%)
ECOG 1	13	(33%)
Tumor size, mean ± SD (cm)	8,6	± 2.1
Nucleolar ISUP grade		
Grade 2	6	(16%)
Grade 3	23	(61%)
Grade 4	9	(24%)
Sarcomatoid component	5	(13%)
TNM staging		
pT3a	10	(26%)
pT3b	28	(74%)
pN1	1	(10%)
Specific pathological features		
Rhabdoïd component	1	(3%)
Tumor Necrosis	23	(61%)
Vascular Emboli	14	(37%)
Perirenal fat invasion	19	(50%)
Hilar fat invasion	21	(55%)
Renal vein thrombus	10	(26%)
Pyelocaliceal cavities invasion	3	(8%)

Table 2 : Immunohistochemical findings**.**

Immunohistochemical findings	n	(%)
CXCR4 (%, mean ± SD)	23	± 27
CAIX (%, mean ± SD)	63	± 29
VEGF (%, mean ± SD	36	± 28
PD1 (2+3+)	7	(19%)
PDL1 (>1%)	5	(14%)
Mature stroma	13	(35%)
BAP1	37	(100%)
PBRM1	36	(97%)
TIL center (2+3+)	10	(26%)
TIL peripheral (2+3+)	16	(42%)
VHL status		
Mutation	25	(63%)
Deletion	5	(13%)

Table 3: Multivariate analysis of predictive factors of progression and progression after sunitinib

	Progression	Progression sunitinib
Tumor size (cm)	0.056	0.827
Fuhrman grade 2 vs 3-4	0.378	0.375
Sarcomatoid features	0.355	1
Rhabdoïd features	0.447	1
Tumor necrosis	0.126	0.518
pT3a vs 3b	1	1
pN	0.222	0.400
VHL Mutation	0.567	1
VHL Methylation	0.172	0.537
mCXCR4	0.668	0.826
nCXCR4	0.941	0.284
PD1	0.675	1
PDL1 (%)	0.393	0.473
VEGF (%)	0.933	0.169
CD31	0.173	**0.034**
BAP1	1	1
PBRM1	1	1
CAIX	0.778	0.686
TIL center	0.727	1
TIL peripheral	0.917	1

Figures:

Figure 1: A: Type 2 (low density), B: Type 1 (high density) vascular stoma defined as DMV>40/HPF

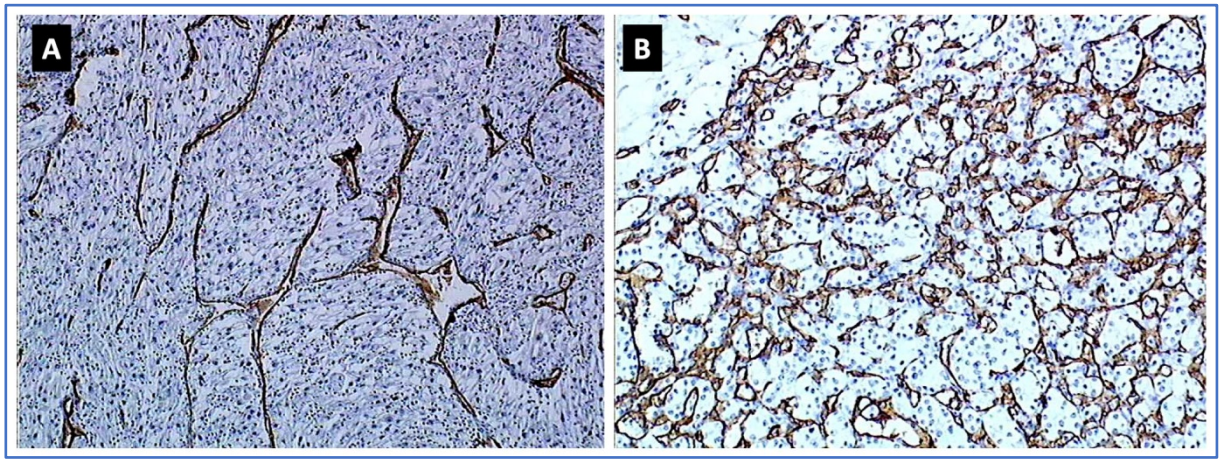
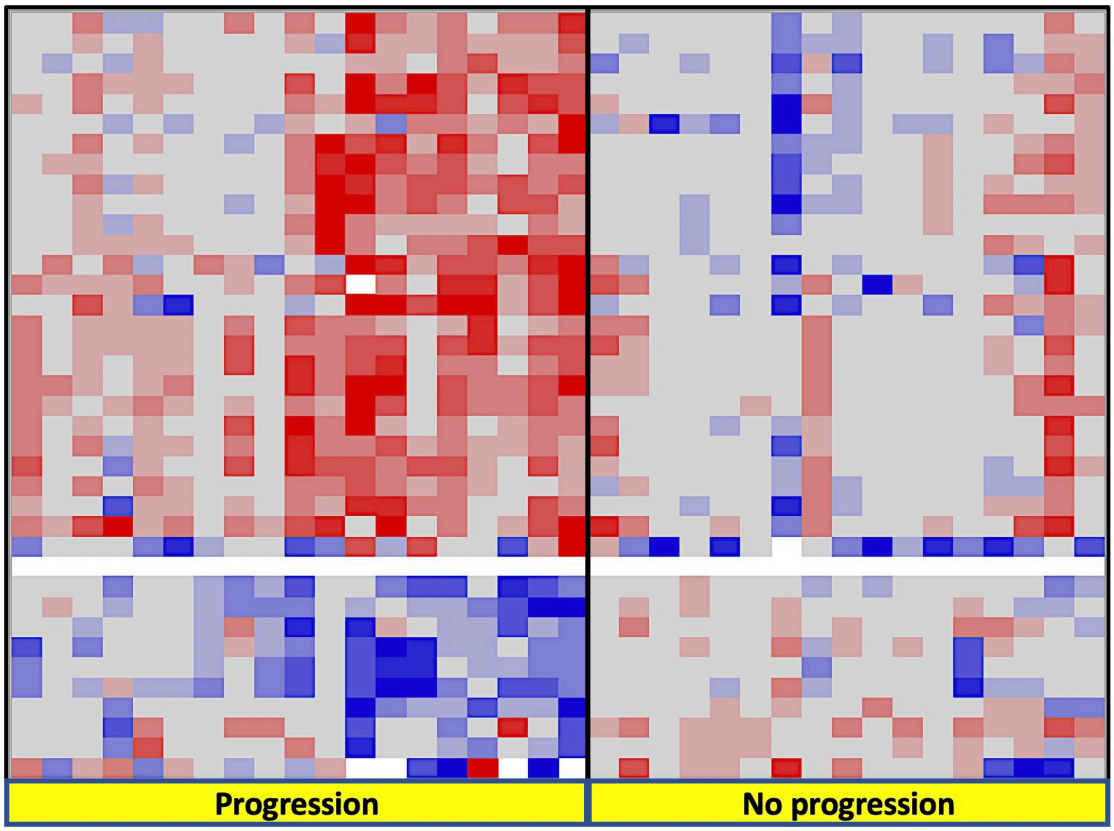


Figure 2: CGH arrays findings according to progression status during the follow-up after radical nephrectomy.



3.2 Perspectives de recherche en utilisant les données obtenues du cancer rein métastatique (revue des modèles biologiques)

3.2.1 Résumé de l'article en français

Contexte et rationnel

La plupart des travaux de biologie moléculaire et l'étude des biomarqueurs ont été réalisées dans le cancer du rein métastatique. En effet, les essais cliniques des nouvelles thérapeutiques ont été l'occasion de réaliser des études de biomarqueurs sur les échantillons de tumeurs inclues permettant de générer des données biologiques et cliniques de qualité dans le cadre des différents essais.

L'avènement des ICIs notamment les anti-PL1, anti-PDL1 et anti-CTLA4, a considérablement modifié le pronostic du carcinome rénal métastatique, ajoutant un avantage substantiel en termes de survie globale par rapport aux antiangiogéniques connus depuis plus de vingt ans. Ces molécules pourraient être administrées seules ou en combinaison avec des thérapies anti-VEGF (axitinib ou cabozantinib).

Malgré des améliorations significatives des résultats cliniques, de nombreux patients semblent moins en bénéficier que d'autres. En outre, certains patients réagissent encore mieux lorsqu'ils sont traités par une monothérapie à base TKI seuls. Bien que l'expression de la PD-L1 par immunohistochimie (IHC) se soit révélée prometteuse dans quelques essais cliniques, elle n'a pas été reproductible ni validée par un tiers. Les analyses de biomarqueurs, y compris la signature de l'expression génétique, qui visaient à déterminer le profil des patients les plus susceptibles de bénéficier des thérapies disponibles se sont révélées prometteuses mais n'ont pas encore eu d'incidence sur la pratique clinique.

L'objectif de ce deuxième travail est de recenser l'ensemble des modèles biologiques qui ont été rapportés dans le cancer du rein métastatique qui ont été traités par les antiangiogéniques ou de des inhibiteurs du contrôle immunitaire (ICI). Dans un deuxième temps, nous pourrons évaluer l'usage de ces mêmes modèles dans le cancer du rein localisé à haut risque afin de mieux guider les thérapeutiques adjuvantes, néoadjuvantes ou périopératoires.

Matériel et méthodes

Ici, nous avons effectué une revue systématique dans PUBMED et les compte-rendus de congrès pour les travaux non encore publiés pour identifier des modèles moléculaires développés dans la première ligne de traitement du carcinome rénal métastatique traité avec des anti-VEGF ou des ICI (anti-PDL1, anti-CTLA4). Les intérêts pronostique et prédictif des différentes classifications sont rapportés. Des perspectives de leur usage en pratique clinique et en recherche sont ensuite discutées.

Résultats

L'analyse de la littérature a permis d'identifier 4 classifications moléculaires dans ce contexte.

Le modèle de Beuselinck a été développé sur des données rétrospectives de patients traités par du sunitinib en première ligne métastatique. Une analyse transcriptomique globale (RT-PCR). Les aberrations du nombre de copies chromosomiques, le statut de méthylation et les mutations des gènes de Von Hippel-Lindau (VHL) et PBRM1 ont été déterminés. Les données moléculaires ont été analysées en relation avec le taux de réponse (RR), la survie sans progression (PFS) et la survie globale (OS). Quatre sous-types ont été décrits. Ils sont caractérisés par un pronostic et des caractéristiques biologiques distincts. Les sous-types Ccrcc2 (classique) et ccrcc3

(normal-like) ont montré un meilleur RR, PFS comme OS par rapport aux sous-types ccrcc1(myc-up) et ccrcc4(immun-up/myc-up).

La classification de Mc Dermott a été développé avec des données qui ont été acquises de manière prospective dans le cadre de l'étude IMmotion150. Il s'agit d'une étude randomisée de phase 2 qui a évalué l'atézolizumab (anti-PD-L1) seul ou combiné avec le bevacizumab (anti-VEGF) par rapport au sunitinib chez 305 patients atteints d'un cancer du rein naf de tout traitement systémique. De multiples analyses ont été effectuées, notamment des profils du transcriptome entier (TruSeqRNA™) et le séquençage de l'exome entier (208 patients, tumeurs et sang périphérique). Trois groupes ont été identifiés, montrant une réponse distincte au traitement : le profil angiogénique (VEGFA, KDR, ESM1, PECAM1, ANGPTL4 et CD34), le profil lymphocytaire (CD8A, EOMES, PRF1, IFNG et CD274) et le profil myélode (IL-6, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL8 et PTGS2). Le profil angiogénique caractérisé par une densité vasculaire élevée a montré la meilleure réponse au sunitinib. Le profil lymphocytaire a montré une expression élevée de PD1 et les infiltrats de CD8 ont eu les meilleurs résultats avec l'association d'atézolizumab et de bevacizumab tandis que le profil myélode a été moins sensible à l'atézolizumab en monothérapie**.**

La classification de Hakimi a été mise au point après une analyse génomique et transcriptomique intégrée de patients traités (par pazopanib ou sunitinib) dans le cadre de l'essai de phase III COMPARZ (N=409 ; n=212 sunitinib, n=197 pazopanib). L'étude a conclu que le pazopanib n'était pas inférieur au sunitinib en ce qui concerne la PFS et la OS en première ligne métastatique. L'immunohistochimie, le séquençage du génome entier (Next Generation Seq), le Microarray et le RNA-seq ont été réalisés sur des échantillons de tumeurs (N=409 ; n= 212 sunitinib, n=197 pazopanib). Les signatures de gènes comprenaient le profil angiogénique (FLT4, FLT1, VEGFB, ENG, KDR et BAI) et

le profil pro-inflammatoire (Macrophage, PDL1, IFNγ, IFNα, réponse inflammatoire, signalisation IL6 et TNFα). Dans l'ensemble, 4 groupes ont été identifiés, dont 3 (groupes 1, 2, 3) ont montré des résultats similaires, tandis que le groupe 4 ($TP53^{high}$, $BAP1^{high}$, $PBRM1^{low}$, $IFN\gamma^{high}$, MYC^{high}, $PDL1^{high}$ 60%, $Immune^{High}$) a eu les pires PFS et OS.

La classification de Javelin RENAL 101 Le modèle a été développé après l'analyse d'échantillons de tumeurs de patients inclus dans l'essai Javelin Renal 101. Cet essai randomisé de phase 3 a démontré une PFS prolongée avec la combinaison d'avelumab (anti-PD-L1) + axitinib (TKI, ciblant les récepteurs VEGF 1, 2 et 3) contre le sunitinib (TKI) en première ligne métastatique. Les analyses ont porté sur le séquençage de l'exome entier, le profil de l'expression des gènes et l'immunohistochimie (IHC).

Deux profils principaux sont ressortis des analyses de la signature génétique, qui ont montré des caractéristiques et des résultats différents. Le profil "101 Immuno rénal" comprenait les régulateurs des réponses immunitaires adaptatives et innées (cellule T et NK), du trafic cellulaire et de l'inflammation. Les patients dont l'expression génique était supérieure à la médiane présentaient une PFS plus longue que ceux dont l'expression était inférieure à la médiane dans le groupe avelumab + axitinib (HR 0,60 ; 95% CI 0,439, 0,834 ; P = 0,0019), mais la signature ne différenciait pas la PFS dans le groupe sunitinib (HR :0,89 ; 95% CI 0,670, 1,172 ; P = 0,3973). De même, le profil "Angio 101 rénal" a identifié une angiogenèse de 26 gènes qui a différencié de manière significative la PFS dans le bras du sunitinib (HR 0,56 ; 95% CI 0,420, 0,741 ; P < 0,0001) mais pas dans le bras avelumab + axitinib (HR 0,98 ; 95% CI 0,711, 1,340 ; P = 0,8819).

Discussion

Cette revue la littérature suggère que la biologie moléculaire donne certaines clés de réponses aux résultats cliniques observés chez des patients atteints de cancer du rein pris en charge par des traitements systémiques. Elle identifie des facteurs pronostiques et prédictifs plus discriminant que les classifications de l'IMDC.

Les études convergent de plus en plus vers une classification biologique qui a fait émerger deux profils principaux : le profil angiogénique et le profil inflammatoire (immunogénique). Le profil angiogénique semble bénéficier davantage d'antiangiogéniques alors que le profil inflammatoire semble tirer plus de bénéfice du traitement associant une immunothérapie (seule ou en association). Ces classifications pourraient donc, en cas de validation à grande échelle, avoir une valeur prédictive.

Pour être plus concluantes, les classifications moléculaires devraient être testées dans des essais cliniques avec de nouveaux modèles. Le traitement devrait être alloué sur la base des caractéristiques biologiques de la tumeur et non pas seulement sur la base du groupe de stratification du risque clinique telle la classification de l'IMDC. Ce nouveau modèle est utilisé dans l'essai BIONIKK (NCT02960906) basé sur le modèle rapporté par Beuselinck. Bionikk est un essai de phase 2 qui a émis l'hypothèse que le nivolumab seul devrait donner de bons résultats dans le ccrcc4, l'association nivolumab+ipilimumab devrait être nécessaire pour améliorer les résultats dans le ccrcc1, et l'angiogénique (sunitinib ou pazopanib) devrait donner de bons résultats dans le ccrcc2 et 3. C'est pourquoi les points ccrcc1,4 et ccrcc2,3 ont été randomisés pour recevoir respectivement le nivolumab versus nivolumab+ipilimumab et le nivolumab+ipilimumab versus un antiangiogénique. Les résultats préliminaires de cet essai sont prometteurs

mais ne sont pas encore assez matures notamment sur la survie globale pour en tirer des conclusions.

Enfin, au-delà des signatures génétiques issues des analyses transcriptomiques, l'exploration de la biologie tumorale dans le but d'adapter le traitement doit inclure d'autres aspects, notamment : les variations HLA, la charge mutationnelle, le microbiote gastro-intestinal et le microenvironnement tumoral et la biologie différentielle entre les tumeurs primitives et les métastases.

3.2.2 Manuscrit soumis

Can Molecular Classifications Help Tailoring First-Line Treatment of Metastatic Renal Cell Carcinoma? A Systematic Review of Available Models

Idir Ouzaid[1,2], Nathalie Rioux-Leclercq[1], Zine-Eddine Khene[3], Karim Bensalah[3], Solène-Florence Kammerer-Jacquet[1]

[1]: Department of Pathology, Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de Recherche en santé, environnement et travail) - UMR_S1085, F-35000 Rennes, France

[2]: Department of Urology, Bichat Claude Bernard Hospital, Paris-Diderot University, Paris, France

[3]: Department of Urology, CHU de Rennes, France

Corresponding author:

Idir OUZAID, MD

Department of Urology, Bichat Claude Bernard Hospital, University of Paris

46 rue Henri Huchard

75018 Paris

Mail: idir.ouzaid@free.fr

Keywords : Renal Cell Carcinoma, Metastases, Tyrosine Kinase Inhibitor, Immune Check Inhibitors, Angiogenesis, Immunotherapy, PDL-1, Biomarkers

Abstract

The advent of immune check inhibitors (ICIs) including anti-PL1, anti-PDL1, and anti-CTLA4 agents has tremendously changed the prognosis of metastatic renal cell carcinoma adding an unseen substantial overall survival benefit. These agents could be administered alone or in combination with anti-VEGF therapies. Despite significant improvements in clinical outcomes, many patients do not experience deep or lasting benefits. In addition, some patients still show better response when treated with TKI monotherapy. Although PD-L1 expression via immunohistochemistry has shown promise in a few clinical trials, it failed reproducibility and external validation. Biomarker analyses including gene expression signature that aimed to determine patients profile more likely to benefit from available therapies have shown promise but have not yet affected clinical practice.

Here in we performed a systematic review of molecular models developed in the first line of treatment of metastatic renal cell carcinoma treated with anti-VEGF or ICIs.

Introduction

Approximately 85% of kidney tumors are renal cell carcinoma (RCC), and approximately 70% are of clear cell histology [1,2]. Patients with organ confined disease harbor excellent 5-year survival rate exceeding 92.5% while only 12% patients with metastatic RCC (mRCC) are alive at 5 years [3].

For more than a decade, anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) agents were the cornerstone of the management of mRCC. Recently, several RCT confirmed the life prolonging effect (compared to sunitinib) of immune check inhibitors (ICIs) agents including anti-CTLA4 and anti-PDL1 given in combination or associated with tyrosine-kinase inhibitors (TKI) as a first-line treatment in mRCC bearing patients [4,5].Therefore, different guideline panels introduced the combination of either a doublet of ICIs (ipilimumab+nivolumab) or TKI/IO (pembrolizumab+axitinib; avelumab+axitinib) combinations in the first line of mRCC [6–8].

Currently, treatment choice is only based on IMDC risk stratification criteria [9]. Hence, some overlapping may be encountered since intermediate and poor risk patients can be offered ICIs doublets or ICIs/TKI combinations while favorable risk group patients can only be offered IO/TKI [6]. To help the understand underlying biology and determine predictive factors of response to TKI and now TKI and ICIs many molecular classifications have been reported [10]. Ultimately, predicting disease course and response to treatment would guide select a tailored treatment strategy for every patient in a personalized approach [11].

Herein, our objective was to perform a systematic review of the different molecular classification models reported in the first-line treatment of mRCC and discuss the awaited clinical implications.

Material and Methods

Embase® and Medline® databases as well as ESMO, ASCO conference proceedings were searched to identify reports of interest according to the guidelines of "the preferred reporting items for systematic reviews and meta-analysis" (PRISMA) statement. The following MESH search terms were used alone or in combination: "renal cell carcinoma", "kidney cancer", "genomics", "transcriptomics", "therapeutics", "molecular classification", "biomarkers", "precision medicine", "immune check inhibitors", "tyrosine-kinase inhibitors" , and "anti-VEGF".

Inclusion criteria comprised randomized and non-randomized controlled clinical trials that included: patients treated in the first line of metastatic setting, metastatic clear cell renal cell carcinoma histology, biological modeling and survival outcomes.

To ensure consistency with inclusion criteria, titles and abstracts were reviewed by two authors (IO and ZK). Retained articles after this first screening were then thoroughly studied. Given the non-comparative design of the identified studies, evidence synthesis was performed in a descriptive and narrative manner.

Evidence Synthesis

Four majors models have been described [12–15]. Of these, 3 were ancillary studies of Phase 2 or 3 clinical trials and the data of one model were acquired retrospectively [12]. The main findings of these classifications are summarized in Table 1 (detailed summary is enclosed in the appendix).

Beuselinck et al model [12]

A global transcriptome analyses on 53 primary resected ccRCC tumors from patients who developed mRCC and were treated with first-line sunitinib. A chromosome copy-number aberrations, methylation status, and gene mutations in von Hippel–Lindau (VHL) and PBRM1 were determined. Molecular data were analyzed in relation with response rate (RR), progression-free survival (PFS), and overall survival (OS). An internal validation study using qRT-PCR was performed on 47 additional ccRCC samples treated within the same setting.

Four subtypes have been described with respect to prognosis and biological behavior (Table1). The Ccrcc2 (classical) and ccrcc3 (normal-like) subtype showed better RR, PFS as OS compared to ccrcc1(myc-up) and ccrcc4(immune-up/myc-up) subtypes. Myc-up tumors showed high levels of Stem cell poly- comb signature and CpG hypermethylation while immune-up showed a T-Cell helper 1 (Th1) oriented tumor microenvironment harboring high levels of PDA expression and pro inflammatory mediators (TNF, IRF family, IL12). This molecular classification was initially based on tumors treated with sunitinib, has also been validated in patients treated with pazopanib [16].

Mc Dermott et al (IMmotion 150) model [13]

Data were prospectively acquired within the IMmotion150 study, a randomized phase 2 study that evaluated atezolizumab (anti-PD-L1) alone or combined with bevacizumab (anti-VEGF) versus sunitinib in 305 patients with treatment-naïve clear cell mRCC [13].

Multiple analyses including whole-transcriptome profiles (TruSeqRNA™), indels calling, and whole-exome sequencing (208 patients' tumors and peripheral blood) were performed. Gene signature profiles were defined as Angiogenic (VEGFA, KDR, ESM1, PECAM1, ANGPTL4, and

CD34), T-Cell effective (CD8A, EOMES, PRF1, IFNG, and CD274), or Myeloid inflammation (IL-6, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL8, and PTGS2).

Three clusters were identified showing distinct response to treatment (Table 1). The Angiogenic profile characterized with high vascular density showed the best response to sunitinib. The T-cell effective profile showed high PD1 expression and CD8 infiltrates had the best outcomes to the atezolizumab and bevacizumab combination while the myeloid profile was less responsive to atezolizumab monotherapy.

Hakimi and al model [14]

The model was developed after an integrated genomic and transcriptomic analyses of patients with clear cell mRCC treated with TKI therapy (sunitinib or pazopanib) within and the COMPARZ phase III trial (N=409; n= 212 sunitinib, n=197 pazopanib). The Study concluded pazopanib was noninferior to sunitinib with respect to PFS and OS in the first line treatment of clear cell mRCC [17].

Immunohistochemistry, whole genome sequencing (Next Generation Seq) and Microarray and RNA-seq were performed on tumor specimens (N=409; n= 212 sunitinib, n=197 pazopanib). Gene signatures included angiogenesis profile (FLT4, FLT1, VEGFB, ENG, KDR, and BAI) and proinflammatory profile (Macrophage, PDL1, IFNγ, IFNα, inflammatory response, IL6, and TNFα signaling).

Overall, 4 clusters have been identified of which 3 (Cluster 1, 2, 3) showed similar outcomes while cluster 4 (-TP53 ^{high}, BAP1^{high}, PBRM1^{low}, IFNγ high, MYC^{high}, PDL1^{high} 60%, Immune^{High}) had the worse PFS and OS (Table1). In addition, patients in the IMDC poor risk group were enriched with cluster 4 (45.7%) compared to clusters 1-3 (Fisher's Exact test, p=0.009).

Javelin 101 Renal Model [15]

The model was developed after the analyses of tumor samples (n=886, 63% nephrectomy and 37% metastatic sites) of patients included in the Javelin 101 renal trial. This randomized phase 3 trial (NCT02684006) demonstrated prolonged PFS with the combination of avelumab (anti-PD-L1)+

axitinib (TKI, targeting VEGF receptors 1, 2 and 3) versus sunitinib (TKI) in previously untreated mRCC patients with clear cell component [18,19].

Analyses included whole-exome sequencing (WES), gene expression profiling and immunohistochemistry (IHC). Two major profiles emerged from the gene signature analyses that showed different features and outcomes. The "renal 101 Immuno" profile comprised regulators of both adaptive and innate immune responses (T cell and natural killer cell), cell trafficking and inflammation (Table1). Patients with gene expression higher than the median had longer PFS than those with less than the median expression in the avelumab + axitinib arm (HR 0.60; 95% CI 0.439, 0.834; P = 0.0019), but the signature did not differentiate PFS in the sunitinib arm (HR:0.89; 95% CI 0.670, 1.172; P = 0.3973). Similarly, "Renal 101 Angio" profile identified a 26-gene angiogenesis that significantly differentiated PFS in the sunitinib arm (HR 0.56; 95% CI 0.420, 0.741; P < 0.0001) but not the avelumab + axitinib arm (HR 0.98; 95% CI 0.711, 1.340; P = 0.8819).

Discussion

Recently treatment of mRCC paradigm has shifted from anti-VEGF to anti-PD1/PDL1; anti-CTLA4 agents either alone or in combination with anti-TKI [6] based on survival benefit in the first-line setting [4,5]. However, the clinical practice demonstrated that "one treatment fits all" strategy might not be the best approach to optimize treatment outcomes. In fact, recent studies showed the addition of IO agents will not benefit equally for all mRCC patients and some still respond either equally or better to TKI alone [4].

Clinical and basic biologic criteria included in the IMDC risk stratification failed to demonstrate a tailored approach for treatment. For example, combination therapy with ipilimumab and nivolumab seemed to offer the best outcomes in patient with mRCC with sarcomatoid features with, unprecedented, complete response in up to 20% of the patients [20]. In addition, PD1 expression alone does not seem to deeply impact response to treatment with anti-PD1/Anti-PDL1 agents [21]. It's then legitimate to identify biological markers to help decision-making and patient counseling for the best approach.

Current clinical practice questions the remaining role of TKI agents in the front line of mRCC. Evidence reported here suggest mRCC biological spectrum: the highly angiogenic and the pro-inflammatory profiles at the borders and a mixed/ normal-like profile in the center of the spectrum. The angiogenic profile included the ccrcc2 of Beuselinck model, the cluster 2 and 3 in the Hakimi model and the $Angio^{High}$ in the Mc Dermott model. These tumor groups showed best response to sunitinib. The pro-inflammatory / $Immune^{High}$ profile included the ccrcc4 in the Beuselinck model, cluster 4 in the Hakimi model and $Teff^{High}$ in the Mc Dermott Model more likely to respond to ICIs agents either alone or in combination.

Biological features doesn't always mirrors clinical features such as IMDC classification [22]. Tumor profiling might then explain the controversial outcomes reported in clinical trials. In the Checkmate 214 trial that evaluated nivolumab+ipilimumab versus sunitinib in previously untreated clear cell mRCC patients, ICIs agents showed a survival benefit in intermediate and

unfavorable but not in favorable IMDC risk groups [4]. In accordance with the data reported by Hakimi et al, the The pro-inflammatory / Immune^{High} could be more represented in the unfavorable IMDC risk group [14].

In the center of the spectrum, ccRCC, cluster 1 and Myeloïd^{High} in the Beuselinck, Hakimi and Mc Dermott models respectively, showed good response to sunitinib as well. This subgroup is very heterogenous and could be treated by TKI alone or TKI + ICIs therapy although the gold standard in the first line-treatment according to different recommendation panels is currently TKI+ICIs [6,23]. Based on these findings, we hypothesized a graphic representation of the different models and their potential response to current therapies are represented in figure 1.

Herein, we reported 4 majors molecular classifications that have been reported so far. The Beuselinck model based on limited specimens (n=53) from patients bearing mRCC and survival data were collected retrospectively which constitute a major limitation [12] unlike the classifications by Hakimi et al which was adjunct to a phase 3 comparative trial with sufficient data quantity/quality-wise [24]. In addition, Beuselinck model lacked external validation while Hakimi was validated in 2 external cohorts MSKCC and Beuselinck. Most importantly, TKI alone is not the recommended regimen in the first-line treatment of mRCC anymore since Checkmate 214, Keynote 426 and Javelin 101 Renal trials [4,5,18]. Therefore, the use of the conclusions of these models is currently limited.

The biological models in Immotion150 and Javelin 101 are part of the ancillary biomarker studies adjunct to clinical these trials evaluating new drugs including atezolizumab and avelumab in the treatment of kidney cancers [13,15]. Biomarkers are prospectively collected, and such data is more robust than models build on retrospective data. In fact , the predictive value of Javelin 101 signature was validated in independent datasets (the phase 1b Javelin Renal 1006 and phase 1b Javelin Solid Tumor trials) supports its relevance and robustness as a potential indicator of PFS benefit following combination immunotherapy [25,26].

The application of the IMmotion150 gene expression signature (GES) to the JAVELIN Renal 101 dataset enriched for PFS in the sunitinib arm but had no effect on the combination arm. Renal 101Angio was significantly associated with prolonged PFS in the sunitinib arm but did not differentiate PFS in the combination arm. Despite both studies using sunitinib as a comparator, Immotion Angio^{High} and Javelin Angio had limited overlap with published GESs: only CD34 and KDR are present in both the JAVELIN Renal 101 Angio and IMmotion 150 angiogenesis GESs, and only ECSCR, KDR, PTPRB and TEK are present in both the JAVELIN Renal 101 Angio and an angiogenesis core signature identified in multiple tumor types [13,15,27].

The Javelin 101 trial failing to demonstrate an overall survival benefit could limit the impact and use of the signature. Therefore, these GES were evaluated in the Checkmate 214 trial data set and presented recently [28]. The trial demonstrated the benefit of nivolumab (anti-PD1)+ ipilimumab (anti-CTLA4) in prolonging overall survival in the first-line setting in IMDC intermediate/high risk mRCC patients [4]. While Angio^{High} score (as per IMmotion150) was significantly associated with improved PFS within the sunitinib arm, no other observed significant differences were observed between the remaining gene expression signatures. Specifically, overall survival in patients treated with nivolumab and ipilimumab was similar regardless of gene signature profile (as per IMmotion 150 or Javelin 101) [28]. The use of anti-CTLA-4 agent in combination with anti-PD-1 in this trial and the percentage of patients with tumor evaluable for testing (109/550 and 104/546 of patients in the nivolumab+ipilimumab and sunitinib arms respectively) could be the potential issues for this study failing to externally validate the previously reported Javelin classification.

To be more conclusive, molecular classifications should be tested in clinical trials with new designs. Treatment should be allocated on the basis of tumor biological characteristics and not only on clinical risk stratification group such IMDC. This new design is featured in the BIONIKK trial (NCT02960906) based on the model reported by Beuselinck et al [12]. This model revealed 4 groups of patients (ccrcc1 to 4) with distinct TME composition and distinct outcomes with

sunitinib : ccrcc1 “immune-low” and ccrcc4 “immune-high” tumors were associated with poorest outcome and ccrcc2 “angio-high” and ccrcc3 “normal-like” tumors were associated with best outcomes [12]. Consequently, a 35-gene signature (frozen samples, qRT-PCR) was constructed to classify pts by pts in the 4 groups [29].

Bionikk is a phase 2 trial that hypothesized nivolumab alone should provide good outcomes in ccrcc4, nivolumab+ipilimumab combination should be necessary to improve outcomes in ccrcc1, and TKI (sunitinib or pazopanib) should provide good outcomes in ccrcc2 and 3. Therefore, ccrcc1,4 and ccrcc2,3 pts were randomized to receive nivolumab vs. nivolumab+ipilimumab and nivolumab+ipilimumab vs. TKI respectively [30]. Primary endpoint was objective response rate (ORR) per treatment and group. Secondary endpoints included progression-free survival (PFS), overall survival (OS) and tolerability. Interestingly, there was not any correlation between No correlation between ccrcc1-4 and IMDC risk groups (p=0.14). In addition, ORR doubled with nivolumab alone in pts with ccrcc4 tumors as compared to ccrcc1 with durable responses. The poor prognosis of these highly infiltrated tumors seemed to be reversed by anti-PD-1 agents. In ccrcc1 tumors combination of ipilimumab and nivolumab was needed to ensure a best outcome. Finally, ccrcc2 tumors showed a very high response rate (53.8%) and a non-reached mPFS after 16 months of FU [22]. The ORR to sunitinib historically ranged between 27% and 35% when patients were stratified according to MSKCC and IMDC models [4,5,31]. This first in class biomarker-based trial provided a preliminary insight of differential response when treatment is allocated based on tumor biology. Bionikk trial could be the first trial to assess the power of a biological model to predict outcomes because patients were randomized to receive treatment based on biological tumor group. The result of this trial are preliminary and survival data are not mature [22].

Despite its appealing aspects, the model has some limitations. First, unlike the other reported classifications, the molecular subtypes reported by Beuselinck et al. has been developed based on retrospective data in a limited set of patients. This model has not yet been validated prospectively

and externally. Second, the feasibility of such approach outside a clinical trial remains questionable. Of note, determination of molecular group (qRT-PCR + gene signature) was performed within 15 days after tumor biopsy in this experienced and trained platform which could considered an acceptable delay before treatment allocation.

Another drawback of the current molecular modeling is related to the tumor specimen. Transcriptomic data were generated from the analyses of tumors harvested during surgical excision (nephrectomy). The delay between surgery and the metastatic progression is variable and tumor characteristics might change during evolution. After exome sequencing, chromosome aberration analysis, and ploidy profiling on multiple spatially separated samples obtained from primary RCC and associated metastatic sites, Gerlinger et al reported different types of mutations[32]. Some mutations are shared between primary tumors or metastatic sites only. Others are ubiquitous (primary and metastases) or private (unique). Although adding complexity, this distinct patterns of metastatic evolution and the spatio-temporal branched mutations has recently been considered a major breakthrough in the understanding of RCC biology [33].

Finally, beyond gene signatures and transcriptomic analyses, exploring tumor biology to tailor treatment should include others aspects including : HLA variations, tumor mutational burden, gastrointestinal microbiome, and tumor microenvironment [21]. External validation is mandatory for every tool before its use in clinical practice.

Conclusion

Recent studies showed the use of molecular classification as a predictive tool in the treatment of mRCC is promising. Gene signatures are gaining popularity and biomarker analyses are now systematically included in phase 3 trials. Recent tumor profiling into “angiogenic signature” more sensitive to TKI versus “immune signature” more likely to achieve best response with ICIs should be validated before routine use in clinical practice. Biology based clinical trials for treatment allocation could be the new design for the ultimate validation.

References

[1] Leibovich BC, Lohse CM, Crispen PL, Boorjian SA, Thompson RH, Blute ML, et al. Histological subtype is an independent predictor of outcome for patients with renal cell carcinoma. J Urol 2010;183:1309–15. https://doi.org/10.1016/j.juro.2009.12.035.
[2] Lipworth L, Morgans AK, Edwards TL, Barocas DA, Chang SS, Herrell SD, et al. Renal cell cancer histological subtype distribution differs by race and sex. BJU Int 2016;117:260–5. https://doi.org/10.1111/bju.12950.
[3] Cancer of the Kidney and Renal Pelvis - Cancer Stat Facts. SEER n.d. https://seer.cancer.gov/statfacts/html/kidrp.html (accessed January 23, 2020).
[4] Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, Arén Frontera O, Melichar B, Choueiri TK, et al. Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma. N Engl J Med 2018;378:1277–90. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1712126.
[5] Rini BI, Plimack ER, Stus V, Gafanov R, Hawkins R, Nosov D, et al. Pembrolizumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma. N Engl J Med 2019;380:1116–27. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1816714.
[6] Albiges L, Powles T, Staehler M, Bensalah K, Giles RH, Hora M, et al. Updated European Association of Urology Guidelines on Renal Cell Carcinoma: Immune Checkpoint Inhibition Is the New Backbone in First-line Treatment of Metastatic Clear-cell Renal Cell Carcinoma. Eur Urol 2019;76:151–6. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.05.022.
[7] Escudier B, Porta C, Schmidinger M, Rioux-Leclercq N, Bex A, Khoo V, et al. Renal cell carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol 2019;30:706–20. https://doi.org/10.1093/annonc/mdz056.
[8] Motzer RJ, Jonasch E, Michaelson MD, Nandagopal L, Gore JL, George S, et al. NCCN Guidelines Insights: Kidney Cancer, Version 2.2020. J Natl Compr Cancer Netw JNCCN 2019;17:1278–85. https://doi.org/10.6004/jnccn.2019.0054.
[9] 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 2009;27:5794–9. https://doi.org/10.1200/JCO.2008.21.4809.
[10] Casuscelli J, Vano Y-A, Fridman WH, Hsieh JJ. Molecular Classification of Renal Cell Carcinoma and Its Implication in Future Clinical Practice. Kidney Cancer 2017;1:3–13. https://doi.org/10.3233/KCA-170008.
[11] Turajlic S, Xu H, Litchfield K, Rowan A, Horswell S, Chambers T, et al. Deterministic Evolutionary Trajectories Influence Primary Tumor Growth: TRACERx Renal. Cell 2018;173:595-610.e11. https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.043.
[12] Beuselinck B, Job S, Becht E, Karadimou A, Verkarre V, Couchy G, et al. Molecular subtypes of clear cell renal cell carcinoma are associated with sunitinib response in the metastatic setting. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res 2015;21:1329–39. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1128.
[13] McDermott DF, Huseni MA, Atkins MB, Motzer RJ, Rini BI, Escudier B, et al. Clinical activity and molecular correlates of response to atezolizumab alone or in combination with bevacizumab versus sunitinib in renal cell carcinoma. Nat Med 2018;24:749–57. https://doi.org/10.1038/s41591-018-0053-3.
[14] Hakimi AA, Voss MH, Kuo F, Sanchez A, Liu M, Nixon BG, et al. Transcriptomic Profiling of the Tumor Microenvironment Reveals Distinct Subgroups of Clear Cell Renal Cell Cancer: Data from a Randomized Phase III Trial. Cancer Discov 2019;9:510–25. https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-0957.
[15] Motzer RJ, Robbins PB, Powles T, Albiges L, Haanen JB, Larkin J, et al. Avelumab plus axitinib versus sunitinib in advanced renal cell carcinoma: biomarker analysis of the phase 3 JAVELIN Renal 101 trial. Nat Med 2020. https://doi.org/10.1038/s41591-020-1044-8.

[16] Verbiest A, Couchy G, Job S, Zucman-Rossi J, Caruana L, Lerut E, et al. Molecular Subtypes of Clear Cell Renal Cell Carcinoma Are Associated With Outcome During Pazopanib Therapy in the Metastatic Setting. Clin Genitourin Cancer 2018;16:e605–12. https://doi.org/10.1016/j.clgc.2017.10.017.
[17] Pazopanib versus Sunitinib in Metastatic Renal-Cell Carcinoma | NEJM n.d. https://www-nejm-org.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/doi/10.1056/NEJMoa1303989?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200www.ncbi.nlm.nih.gov (accessed August 27, 2020).
[18] Motzer RJ, Penkov K, Haanen J, Rini B, Albiges L, Campbell MT, et al. Avelumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma. N Engl J Med 2019;380:1103–15. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1816047.
[19] Choueiri TK, Motzer RJ, Rini BI, Haanen J, Campbell MT, Venugopal B, et al. Updated efficacy results from the JAVELIN Renal 101 trial: first-line avelumab plus axitinib versus sunitinib in patients with advanced renal cell carcinoma. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol 2020;31:1030–9. https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.04.010.
[20] Tannir NM, Signoretti S, Choueiri TK, McDermott DF, Motzer RJ, Flaifel A, et al. Efficacy and Safety of Nivolumab Plus Ipilimumab versus Sunitinib in First-Line Treatment of Patients with Advanced Sarcomatoid Renal Cell Carcinoma. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res 2020. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2063.
[21] Tucker MD, Rini BI. Predicting Response to Immunotherapy in Metastatic Renal Cell Carcinoma. Cancers 2020;12. https://doi.org/10.3390/cancers12092662.
[22] Vano Y, Elaidi RT, Bennamoun M, Chevreau CM, Borchiellini D, Pannier D, et al. LBA25 Results from the phase II biomarker driven trial with nivolumab (N) and ipilimumab or VEGFR tyrosine kinase inhibitor (TKI) in naïve metastatic kidney cancer (m-ccRCC) patients (pts): The BIONIKK trial. Ann Oncol 2020;31:S1157. https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.2254.
[23] Escudier B, Porta C, Schmidinger M, Rioux-Leclercq N, Bex A, Khoo V, et al. Renal cell carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol 2019;30:706–20. https://doi.org/10.1093/annonc/mdz056.
[24] Hakimi AA, Reznik E, Lee C-H, Creighton CJ, Brannon AR, Luna A, et al. An Integrated Metabolic Atlas of Clear Cell Renal Cell Carcinoma. Cancer Cell 2016;29:104–16. https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.12.004.
[25] Choueiri TK, Larkin J, Oya M, Thistlethwaite F, Martignoni M, Nathan P, et al. Preliminary results for avelumab plus axitinib as first-line therapy in patients with advanced clear-cell renal-cell carcinoma (JAVELIN Renal 100): an open-label, dose-finding and dose-expansion, phase 1b trial. Lancet Oncol 2018;19:451–60. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30107-4.
[26] Avelumab in Metastatic or Locally Advanced Solid Tumors (JAVELIN Solid Tumor) - Full Text View - ClinicalTrials.gov n.d. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01772004 (accessed November 5, 2020).
[27] Masiero M, Simões FC, Han HD, Snell C, Peterkin T, Bridges E, et al. A Core Human Primary Tumor Angiogenesis Signature Identifies the Endothelial Orphan Receptor ELTD1 as a Key Regulator of Angiogenesis. Cancer Cell 2013;24:229–41. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.06.004.
[28] Motzer RJ, Choueiri TK, McDermott DF, Powles T, Yao J, Ammar R, et al. Biomarker analyses from the phase III CheckMate 214 trial of nivolumab plus ipilimumab (N+I) or sunitinib (S) in advanced renal cell carcinoma (aRCC). J Clin Oncol 2020;38:5009–5009. https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.5009.
[29] Becht E, Giraldo NA, Beuselinck B, Job S, Marisa L, Vano Y, et al. Prognostic and theranostic impact of molecular subtypes and immune classifications in renal cell cancer (RCC) and colorectal cancer (CRC). Oncoimmunology 2015;4:e1049804. https://doi.org/10.1080/2162402X.2015.1049804.

[30] Epaillard N, Simonaggio A, Elaidi R, Azzouz F, Braychenko E, Thibault C, et al. BIONIKK: A phase 2 biomarker driven trial with nivolumab and ipilimumab or VEGFR tyrosine kinase inhibitor (TKI) in naïve metastatic kidney cancer. Bull Cancer (Paris) 2020;107:eS22–7. https://doi.org/10.1016/S0007-4551(20)30283-6.
[31] 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 2007;356:115–24. https://doi.org/10.1056/NEJMoa065044.
[32] Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Math M, Larkin J, Endesfelder D, et al. Intratumor Heterogeneity and Branched Evolution Revealed by Multiregion Sequencing. N Engl J Med 2012;366:883–92. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1113205.
[33] Turajlic S, Xu H, Litchfield K, Rowan A, Horswell S, Chambers T, et al. Deterministic Evolutionary Trajectories Influence Primary Tumor Growth: TRACERx Renal. Cell 2018;173:595-610.e11. https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.043.

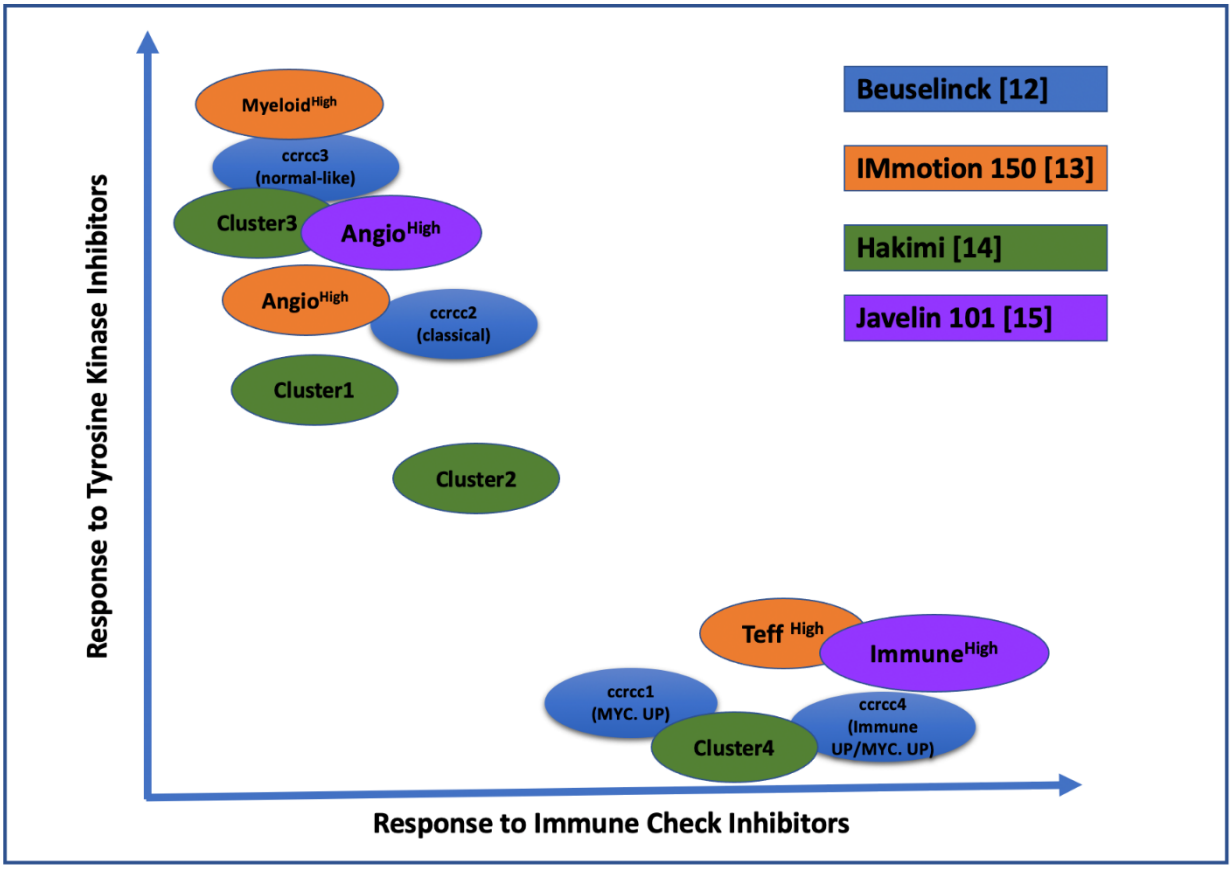
Tables and figures

Table 1 : Molecular classification, features and outcomes of metastatic renal cell carcinoma

Molecular subtypes					
Beuselinck 2015	Classification	ccrcc1 (MYC.UP)	ccrcc2 (Classical)	ccrcc3 (Normal like)	ccrcc4 (Immune UP/MYC. UP)
	Features	Stem cell poly- comb signature and CpG hypermethylation+ VHL mutation =46.7% PBRM1 mutation=46.7%	VHL mutation =62.5% PBRM1 mutation=37.5%	Transcriptomic signature close to normal samples VHL mutation =20% PBRM1 mutation=20%	Stem cell poly- comb signature and CpG hypermethylation++ Th1 oriented TME (PD1high, TNF, IRF families, IFNg IL12) VHL mutation =20% PBRM1 mutation=0%
	Outcomes	Low RR, PFS, OS	Better RR, PFS, OS		Low RR, PFS, OS
		PD=22% PR/CR=41%	PD=3% PR/CR=53%	PD=0% PR/CR= 70%	Sarcomatoid features PD=27%, PR/CR= 21%
Molecular subtypes					
McDermott 2018	Classification	$Angio^{High}$	T_{eff}^{High}		$Myeloid^{High}$
	Features	- High vascular density - CD131 high	-PDL1 -CD8 T-cell infiltration		-*IL-6*, prostaglandins, and the *CXCL8* family -MDSCs
	Outcomes	-High response de sunitinib	-High response de bevacizumab + atezolizumab		- Best response to sunitinib - Worse response to Atezolizumab monotherapy
Molecular subtypes					
Hakimi 2019	Classification	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4
	Features	$-Angio^{low}$ $-Immune^{Low}$	$-Angio^{High}$ $Immune^{Low}$	- $Angio^{high}$ - Clearcode34(ccA^{high}) =89% - $PBRM1^{high}$ (54%) - PDL^{low} (30%) $-Immune^{Low}$	$-TP53^{high}$, $BAP1^{high}$ $-PBRM1^{low}$ -IFNγ high $-MYC^{high}$ $-PDL1^{high}$ (60%) $-Immune^{High}$

	Outcomes	- Similar OS and PFS in Cluster 1-3 - No difference between Sunitinib and Pazopanib	-Worse PFS, OS than 1-3
Molecular subtype			
Motzer 2020	Classification	Javelin 101 Angio Signature	Javelin 101 Immuno Signature
	Features	NRARP, RAMP2, ARHGEF15, VIP NRXN3, KDR, SMAD6, KCNAB1 CALCRL, NOTCH4, AQP1, RAMP3 TEK, FLT1, GATA2, CACNB2 ECSCR , GJA5, ENPP2, CASQ2 PTPRB, TBX2, ATP1A2 CD34, HEY2, EDNRB	CD3G, CD3E, CD8B, THEMIS, TRAT1, GRAP2, CD247 CD2, CD96, PRF1, CD6, IL7R, ITK, GPR18, EOMES, SIT1, NLRC3 CD244, KLRD1, SH2D1A CCL5, XCL2 CST7, GFI1, KCNA3, PSTPIP1
	Outcomes	Javelin Angio^{high} longer PFS with sunitinib No difference with Avelumab+axitinib	Javelin Immuno^{high} longer PFS with Avelumab+axitinib No difference with sunitinib

Figure : Hypothetic representation of the response to tyrosine kinase inhibitors and Immune Check Inhibitors according to molecular classification in every model.



Appendix

Summary of the reported models

Study	Beuselinck (2015)			
Patients	53			
Clinical trial	None			
Validation	Internal validation on 47 patients			
Treatment	First-line Sunitinib			
Outcomes	RR, PFS, OS			
Analyses	-Global transcriptome analysis -Copy-number aberrations, methylation status, and -Gene mutations in VHL/PBRM1			
Classification	ccrcc1 (MYC.UP)	ccrcc2 (Classical)	ccrcc3 (Normal like)	ccrcc4 (Immune UP/MYC. UP)
Molecular and biological characteristics	Stem cell poly-comb signature and CpG hypermethylation+ VHL mutation =46.7% PBRM1 mutation=46.7%	VHL mutation =62.5% PBRM1 mutation=37.5%	Transcriptomic signature close to normal samples VHL mutation =20% PBRM1 mutation=20%	Stem cell poly-comb signature and CpG hypermethylation++ Th1 oriented TME (PD1high, TNF, IRF families, IFNg IL12) VHL mutation =20% PBRM1 mutation=0%
Clinical outcomes	Low RR, PFS, OS PD=22% PR/CR=41%	Better RR, PFS, OS PD=3% PR/CR=53%	Better RR, PFS, OS PD=0% PR/CR= 70%	Low RR, PFS, OS Sarcomatoid features PD=27% PR/CR= 21%

RR: Response Rate
PFS: Progression-Free Survival
OS: Overall Survival
TME : tumor microenvironment
PD: Progressive disease

Study	McDermott (2018)		
Patients	305		
Clinical trial	Phase II (Immotion 150)		
Validation	None		
Treatment	bevacizumab + atezolizumab vs sunitinib		
Outcomes	PFS, RR in the ITT and the PDL1 + (PD-L1 on ≥ 1% of IC by IHC) population		
Analyses	- Gene expression -Whole-transcriptome profiles (TruSeq RNA) -Gene signatures: • Angio: *VEGFA, KDR, ESM1, PECAM1, ANGPTL4*, and *CD34*; • T_{eff}: *CD8A, EOMES, PRF1, IFNG*, and *CD274*; • Myeloid inflammation: *IL-6, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL8*, and *PTGS2* - Indels calling - Whole-exome sequencing (208 patients tumors and peripheral blood)		
Classification	$Angio^{High}$	T_{eff}^{High}	$Myeloid^{High}$
Molecular and biological characteristics	- High vascular density - CD131 high	-PDL1 -CD8 T-cell infiltration	-*IL-6*, prostaglandins, and the *CXCL8* family -MDSCs
Clinical outcomes	-High response de sunitinib	-High response de Bevacizumab + atezolizumab	- Best response to sunitinib - Worse response to Atezolizumab monotherapy

MDSC: Myeloid derived suppressive cells

Study	Hakimi (2019)			
Patients	409 (n= 212 sunitinib, n=197 pazopanib)			
Clinical trial	Phase III (Comparz)			
Validation	Beuselinck and MSKCC validation cohorts			
Treatment	Pazopanib vs sunitinib			
Outcomes	OS, PFS			
Analyses	-Immunohistochemistry -Whole genome sequencing (Next generation Seq) -Microarray and RNA-seq -Gene signatures: - Angiogenesis profile : FLT4, FLT1, VEGFB, ENG, KDR, and BAI - Proinflammatory profile : Macrophage, PDL1, IFNγ, IFNα, inflammatory response, IL6, and TNFα signaling			
Classification	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4
Molecular and biological characteristics	-Angio^{low} -Immune^{Low}	-Angio^{High} Immune ^{Low}	- Angio^{high} - Clearcode34(ccA^{high}) =89% - PBRM1^{high} (54%) - PDL ^{low} (30%) -Immune^{Low}	-TP53 ^{high}, BAP1^{high} -PBRM1^{low} -IFNγ high -MYC^{high} -PDL1^{high} (60%) -Immune^{High}
Clinical outcomes	- Similar OS and PFS in Cluster 1-3 - No difference between Sunitinib and Pazopanib			Worse PFS, OS than 1-3

Study	Javelin Renal 101 (2020)	
Patients	886	
Clinical trial	Phase III	
Validation	Yes	
Treatment	avelumab+ axitinib vs sunitinib	
Outcomes	PFS, ORR,	
Analyses	- IHC (PDL1, CD8+) - Gene expression -Whole-transcriptome profiles (TruSeq RNA) -Gene Signatures -HLA typing -Whole genome sequencing	
Classification	Javelin 101 Angio Signature	Javelin 101 Immuno Signature
Molecular and biological characteristics	NRARP, RAMP2, ARHGEF15, VIP NRXN3, KDR, SMAD6, KCNAB1 CALCRL, NOTCH4, AQP1, RAMP3 TEK, FLT1, GATA2, CACNB2 ECSCR, GJA5, ENPP2, CASQ2 PTPRB, TBX2, ATP1A2 CD34, HEY2, EDNRB	CD3G, CD3E, CD8B, THEMIS, TRAT1, GRAP2, CD247 CD2, CD96, PRF1, CD6, IL7R, ITK, GPR18, EOMES, SIT1, NLRC3 CD244, KLRD1, SH2D1A CCL5, XCL2 CST7, GFI1, KCNA3, PSTPIP1
Clinical outcomes	longer PFS with sunitinib No difference with Avelumab+axitinib	Longer PFS with Avelumab+axitinib No difference with sunitinib

3.3 Synthèse et perspectives

Ce travail s'intègre dans la démarche d'amélioration du besoin non couvert (de récidive et de progression) dans le cancer du rein localisé à haut risque. Il vient dans le sillage des multiples essais cliniques qui ont évalué l'intérêt du traitement adjuvant par des antiangiogéniques chez des patients à haut risque de récidive selon les modèles anciennement décrits (UISS…).

A part l'essai STRAC, l'ensemble de ces essais n'a pas rempli l'objectif principal qui était la prolongation de la survie sans récidive. A noter que cette prolongation de survie sans récidive retrouvée dans STRAC ne s'est pas traduite en un gain de survie globale. Compte-tenu de ces résultats, une analyse biologique globale des échantillons recueillis lors de l'essai STRAC était légitime pour explorer des facteurs prédictifs de récidive avec des données cliniques de survie de qualité sur une population traitée par du sunitinib.

Pour des raisons liées au promoteur, seules les tumeurs de la cohorte française ont été analysées. Cette taille limitée de la population étudiée mise à part, seule la densité du stroma vasculaire s'est révélée prédictive de la récidive chez les patients traités par sunitinib. D'autres pistes déjà connues dans le cancer du rein métastatique tel que le perte de PBRM1 pouvaient être d'un intérêt particulier mais la taille de l'échantillon a limité l'exploration de ce signal.

Pendant ce temps, le traitement des cancers du rein métastatique a radicalement changé avec l'avènement des ICIs. D'autres essais à l'image de STRAC ont été lancés pour répondre au besoin toujours non couvert du cancer du rein localisé à haut risque de progression en utilisant ces nouveaux traitements.

Dans l'objectif de mieux comprendre si les concepts biologiques connus dans le cancer du rein métastatique s'appliquent dans le cancer du rein localisé nous avons entamé un travail en deux temps.

D'abord faire une revue de la littérature sur les modèles biologiques déjà connus dans le métastatique. Ces modèles aujourd'hui au nombre de 4 se distinguent par une hétérogénéité et un manque de validation externe pour la plupart d'entre eux. La tendance récente est de décrire deux profils principaux : un profil angiogénique de meilleur pronostic, plus sensible aux antiangiogéniques et un profil inflammatoire (immunologique) de pronostic plus sévère, plus susceptible de répondre à l'immunothérapie.

La biologie des cancers métastasiques n'est pas forcément celle des tumeurs localisées et les enseignements récoltés sur le comportement biologique des tumeurs avancées doivent être validés (en dehors du travail de cette thèse) sur des tumeurs localisées.

Une perspective pour avancer dans ce sens a déjà été entamée. Les étapes sont les suivantes :

- La collection prospective de tumeurs du rein à cellules claires a été entamé afin vérifier si les deux profils moléculaires cités plus haut s'appliquent lorsque la tumeur est localisée (Laboratoire de Vassili Soumelis à Saint-Louis).
- En cas de validation, ces constatations pourraient être vérifiées sur une cohorte de patients avec des données de survie disponibles (exemple l'utilisation de données sélectionnée dans UroCCR ou base de néphrectomie du CHU de Rennes).

Si les signatures (profil angiogénique versus profil inflammatoire/immunologique par exemple) sont validées, une vérification clinique est nécessaire pour générer des hypothèses sur la sélection des patients qui pourraient bénéficier des traitements adjuvants, néoadjuvants ou périopératoires afin d'améliorer le pronostic des patients à haut risque de progression. Ceci s'intègre dans un nouveau modèle d'essais cliniques à l'image de Bionikk.

4 Conclusion

Ce travail exploratoire des facteurs prédictifs de progression dans le cancer du rein à haut risque dans le cadre de l'essai STRAC n'a pas montré d'éléments significatifs en dehors de la densité du stroma vasculaire.

La plupart des études de biomarqueurs dans le cancer du rein ont été réalisées chez des patients métastatiques. Ces études montraient plusieurs signatures moléculaires. Les dernières études ayant évalué les nouvelles immunothérapies s'orientent vers une dichotomisation en profil angiogénique et profil inflammatoire. Il n'est pas encore certain que ces signatures s'appliquent au cancer du rein localisé.

Dans cette perspective, compte-tenu de l'échec des antiangiogéniques à apporter un bénéfice en adjuvant, les caractéristiques moléculaires des tumeurs peuvent être utilisées pour guider le traitement néoadjuvant ou adjuvant des cancers du rein localisés en sélectionnant : les patients chez qui la chirurgie seule est suffisante et les autres qui nécessitent un traitement adjuvant soit par un antiangiogénique seul ou en association avec un inhibiteurs de contrôle immunitaire ou une immunothérapie seule.

5 Annexes

5.1 Analyses d'immunohistochimie

Used antibodies

CAIX: EDTA pH 8, polyclonal rabbit antibody, ab15086, Abcam® 1/1500-60mn Kit DAB Map

PD-1: EDTA pH 8, monoclonal mouse antibody, ab 52587, Abcam® 1/400-32mn Kit Omni Map

PD-L1 R&D: EDTA pH 8 Ac monoclonal mouse clone 130021, R&D systems 1/400-60mn Kit Omni Map

PD-L1 sp142: EDTA pH 8, monoclonal rabbit antibody, sp142, Optiview kit®, Spring Bioscience®.

VEGFA: EDTA pH 8, monoclonal rabbit antibody sp28, DAB Map Kit®, Spring Bioscience®

CD31: Monoclonal antibody, clone JC70A, Dako®

BAP1: sc-28383 antibody BAP1 (C-4), Santa Cruz Biotechnology®

SETD2: SETD2 antibody, Clone HPA042451, Sigma-Aldrich®

PBRM1: A301-591A rabbit anti-PB1/BAF180, Euromedex®

CXCR4: Polyclonal rabbit antibody, ab2074, Abcam®

Immunochemistry marker interpretation

CAIX: Cytoplasmic or membrane tumor positivity % of cells low to intense (0-3) >85% (Patard JJ, Int J Cancer 2008)

MET: Cytoplasmic or membrane tumor positivity % of cells low to intense (0-3) (Shin SJ, Oncologist 2015)

PAR3: Cytoplasmic or membrane tumors % of cells low to intense (0-3) (Dugay F, Int J Cancer. 2014)

PD-1: Cytoplasmic immune absent to dense (0-3) low to intense (0-3) (Thompson RH, Clin Cancer Res 2007)

PD-L1 R&D cytoplasmic or membrane tumor positivity % of cells low to intense (0-3) Expression >5% Intensity 2-3 (Thompson RH Cancer Res 2006, Shin, Shin SJ, Oncologist 2015)

PD-L1 sp142: Cytoplasmic or membrane tumor positivity % of cells low to intense (0-3) Expression >5% Intensity 2-3 (Thompson RH Cancer Res 2006, Shin, Shin SJ, Oncologist 2015)

VEGFA: Cytoplasmic or membrane tumor positivity % of cells low to intense (0-3) >30% (Patard JJ, Br j Cancer 2009).

CXCR4: Marking was membrane or cytoplasmic, sometimes nuclear. The percentage of marked tumor cells was reported (Wang L, World J Surg Oncol, 2012)

CD31: The labelling of endothelial cells was membranous. It allowed assessment of microscopic vascular density (MVD) and vascular phenotype. To determine the MVD, the 3 highest density areas were defined and the number of vessels was counted per mm^2. The MVD was obtained by averaging these 3 accounts. The angiogenic phenotype was considered mature, noted 1, when it was like the vascularization of the normal kidney. It shows small, round, numerous and frequently anastomosed vessels within the tumor. These vessels maintained normal development and form few branches. The angiogenic phenotype was immature, noted 2, when it differed significantly from the vascularization of the normal kidney. The vessels were elongated, stretched and large. They were rarer in the tumor. It showed an aberrant development with many ramifications

BAP1, SETD2 and PBRM1: loss of expression or not of tumor cells >1%.

6 Bibliographie

[1] Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. Eur J Cancer 2013;49:1374–403. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.12.027.

[2] Levi F, Ferlay J, Galeone C, Lucchini F, Negri E, Boyle P, et al. The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe. BJU Int 2008;101:949–58. https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2008.07451.x.

[3] Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, Grosclaude P, Colonna M, Dantony E, et al. Defossez G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, Grosclaude P, Colonna M, Dantony E, et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Synthèse. Saint-Maurice : Santé publique France, 2019. 20 p. Disponible à partir des URL : http://www.santepubliquefrance.fr/ ; https://geodes.santepubliquefrance.fr/ #c=home ; http://lesdonnees.e-cancer.fr/ ; https://www.e-cancer.fr/. n.d.

[4] Capitanio U, Bensalah K, Bex A, Boorjian SA, Bray F, Coleman J, et al. Epidemiology of Renal Cell Carcinoma. Eur Urol 2019;75:74–84. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.08.036.

[5] Sanfilippo KM, McTigue KM, Fidler CJ, Neaton JD, Chang Y, Fried LF, et al. Hypertension and obesity and the risk of kidney cancer in 2 large cohorts of US men and women. Hypertension 2014;63:934–41. https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02953.

[6] Hora M, Hes O, Reischig T, Urge T, Klecka J, Ferda J, et al. Tumours in end-stage kidney. Transplant Proc 2008;40:3354–8. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.08.135.

[7] Pan H-C, Sun C-Y, Wu I-W, Tsai T-L, Sun C-C, Lee C-C. Higher risk of malignant neoplasms in young adults with end-stage renal disease receiving haemodialysis: A nationwide population-based study. Nephrology (Carlton) 2019;24:1165–71. https://doi.org/10.1111/nep.13555.

[8] Bensalah K, Albiges L, Bernhard J-C, Bigot P, Bodin T, Boissier R, et al. [French ccAFU guidelines - Update 2018-2020: Management of kidney cancer]. Prog Urol 2018;28 Suppl 1:R5–33. https://doi.org/10.1016/j.purol.2019.01.004.

[9] Ljungberg B, Bensalah K, Canfield S, Dabestani S, Hofmann F, Hora M, et al. EAU guidelines on renal cell carcinoma: 2014 update. Eur Urol 2015;67:913–24. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.01.005.

[10] Shuch B, Vourganti S, Ricketts CJ, Middleton L, Peterson J, Merino MJ, et al. Defining early-onset kidney cancer: implications for germline and somatic mutation testing and clinical management. J Clin Oncol 2014;32:431–7. https://doi.org/10.1200/JCO.2013.50.8192.

[11] Shuch B, Singer EA, Bratslavsky G. The surgical approach to multifocal renal cancers: hereditary syndromes, ipsilateral multifocality, and bilateral tumors. Urol Clin North Am 2012;39:133–48, v. https://doi.org/10.1016/j.ucl.2012.01.006.

[12] Salvage Partial Nephrectomy for Hereditary Renal Cancer: Feasibility and Outcomes | Journal of Urology n.d. https://www.auajournals.org/doi/10.1016/j.juro.2007.08.150 (accessed October 1, 2020).

[13] Grubb RL, Franks ME, Toro J, Middelton L, Choyke L, Fowler S, et al. Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer: a syndrome associated with an aggressive form of inherited renal cancer. J Urol 2007;177:2074–9; discussion 2079-2080. https://doi.org/10.1016/j.juro.2007.01.155.

[14] 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 2016;34:2172–81. https://doi.org/10.1200/JCO.2015.65.6140.

[15] Kauffman EC, Ricketts CJ, Rais-Bahrami S, Yang Y, Merino M, Bottaro D, et al. Molecular Genetics and Cellular Characteristics of TFE3 and TFEB Translocation Renal Cell Carcinomas. Nat Rev Urol 2014;11:465–75. https://doi.org/10.1038/nrurol.2014.162.

[16] Le Réseau National de Référence pour Cancers Rares de l'Adulte PREDIR (PREDIspositions aux tumeurs du Rein) n.d.

[17] Lonser RR, Glenn GM, Walther M, Chew EY, Libutti SK, Linehan WM, et al. von Hippel-Lindau disease. Lancet 2003;361:2059–67. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13643-4.

[18] Zbar Berton, Tory Kalman, Merino Maria, Schmidt Laura, Glenn Gladys, Choyke Peter, et al. Hereditary Papillary Renal Cell Carcinoma. Journal of Urology 1994;151:561–6. https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)35015-2.

[19] Pavlovich CP, Walther MM, Eyler RA, Hewitt SM, Zbar B, Linehan WM, et al. Renal tumors in the Birt-Hogg-Dubé syndrome. Am J Surg Pathol 2002;26:1542–52. https://doi.org/10.1097/00000478-200212000-00002.

[20] Alam NA, Rowan AJ, Wortham NC, Pollard PJ, Mitchell M, Tyrer JP, et al. Genetic and functional analyses of FH mutations in multiple cutaneous and uterine leiomyomatosis, hereditary leiomyomatosis and renal cancer, and fumarate hydratase deficiency. Hum Mol Genet 2003;12:1241–52. https://doi.org/10.1093/hmg/ddg148.

[21] Ricketts CJ, Shuch B, Vocke CD, Metwalli AR, Bratslavsky G, Middelton L, et al. Succinate Dehydrogenase Kidney Cancer (SDH-RCC): An Aggressive Example of the Warburg Effect in Cancer. J Urol 2012;188. https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.08.030.

[22] du Preez H, Adams A, Richards P, Whitley S. Hyperparathyroidism jaw tumour syndrome: a pictoral review. Insights Imaging 2016;7:793–800. https://doi.org/10.1007/s13244-016-0519-0.

[23] Hobert JA, Eng C. PTEN hamartoma tumor syndrome: An overview. Genetics in Medicine 2009;11:687–94. https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3181ac9aea.

[24] van Kessel AG, Wijnhoven H, Bodmer D, Eleveld M, Kiemeney L, Mulders P, et al. Renal Cell Cancer: Chromosome 3 Translocations as Risk Factors. J Natl Cancer Inst 1999;91:1159–60. https://doi.org/10.1093/jnci/91.13.1159.

[25] Tollefson MK, Boorjian SA, Lohse CM, Blute ML, Leibovich BC. The impact of family history on pathological and clinical outcomes in non-syndromic clear cell renal cell carcinoma. BJU International 2010;106:1638–42. https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2010.09441.x.

[26] Talenfeld AD, Gennarelli RL, Elkin EB, Atoria CL, Durack JC, Huang WC, et al. Percutaneous Ablation Versus Partial and Radical Nephrectomy for T1a Renal Cancer: A Population-Based Analysis. Ann Intern Med 2018;169:69–77. https://doi.org/10.7326/M17-0585.

[27] Kryvenko ON. Positive Surgical Margins Increase Risk of Recurrence after Partial Nephrectomy for High Risk Renal Tumors. Shah PH, Moreira DM, Okhunov Z, Patel VR, Chopra S, Razmaria AA, Alom M, George AK, Yaskiv O, Schwartz MJ, Desai M, Vira MA, Richstone L, Landman J, Shalhav AL, Gill I, Kavoussi LR. J Urol. 2016 Aug;196(2):327-34. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations 2017;35:449–50. https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2017.03.013.

[28] Positive surgical margin appears to have negligible impact on survival of renal cell carcinomas treated by nephron-sparing surgery - PubMed n.d. https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/19359089/ (accessed October 2, 2020).

[29] Wood EL, Adibi M, Qiao W, Brandt J, Zhang M, Tamboli P, et al. Local Tumor Bed Recurrence Following Partial Nephrectomy in Patients with Small Renal Masses. J Urol 2018;199:393–400. https://doi.org/10.1016/j.juro.2017.09.072.

[30] Bernhard J-C, Pantuck AJ, Wallerand H, Crepel M, Ferrière J-M, Bellec L, et al. Predictive factors for ipsilateral recurrence after nephron-sparing surgery in renal cell carcinoma. Eur Urol 2010;57:1080–6. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2010.02.019.

[31] Zhang L, Wu B, Zha Z, Qu W, Zhao H, Yuan J. The Clinicopathological Risk Factors in Renal Cell Cancer for the Oncological Outcomes Following Nephron-Sparing Surgery: A PRISMA Systematic Review and Meta-Analysis. Front Oncol 2020;10. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00286.

[32] Scosyrev E, Messing EM, Sylvester R, Campbell S, Van Poppel H. Renal function after nephron-sparing surgery versus radical nephrectomy: results from EORTC randomized trial 30904. Eur Urol 2014;65:372–7. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2013.06.044.

[33] Capitanio U, Terrone C, Antonelli A, Minervini A, Volpe A, Furlan M, et al. Nephron-sparing techniques independently decrease the risk of cardiovascular events relative to radical nephrectomy in patients with a T1a-T1b renal mass and normal preoperative renal function. Eur Urol 2015;67:683–9. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.09.027.

[34] Miller DC, Schonlau M, Litwin MS, Lai J, Saigal CS, Urologic Diseases in America Project. Renal and cardiovascular morbidity after partial or radical nephrectomy. Cancer 2008;112:511–20. https://doi.org/10.1002/cncr.23218.

[35] Volpe A, Blute ML, Ficarra V, Gill IS, Kutikov A, Porpiglia F, et al. Renal Ischemia and Function After Partial Nephrectomy: A Collaborative Review of the Literature. Eur Urol 2015;68:61–74. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.01.025.

[36] Chronic Kidney Disease and Kidney Cancer Surgery: New Perspectives - PubMed n.d. https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/31063051/ (accessed October 2, 2020).

[37] Volpe A, Blute ML, Ficarra V, Gill IS, Kutikov A, Porpiglia F, et al. Renal Ischemia and Function After Partial Nephrectomy: A Collaborative Review of the Literature. Eur Urol 2015;68:61–74. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.01.025.

[38] Rais-Bahrami S, George AK, Herati AS, Srinivasan AK, Richstone L, Kavoussi LR. Off-clamp versus complete hilar control laparoscopic partial nephrectomy: comparison by clinical stage. BJU Int 2012;109:1376–81. https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2011.10592.x.

[39] Greco F, Autorino R, Altieri V, Campbell S, Ficarra V, Gill I, et al. Ischemia Techniques in Nephron-sparing Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis of Surgical, Oncological, and Functional Outcomes. Eur Urol 2019;75:477–91. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.10.005.

[40] Lane BR, Russo P, Uzzo RG, Hernandez AV, Boorjian SA, Thompson RH, et al. Comparison of cold and warm ischemia during partial nephrectomy in 660 solitary kidneys reveals predominant role of nonmodifiable factors in determining ultimate renal function. J Urol 2011;185:421–7. https://doi.org/10.1016/j.juro.2010.09.131.

[41] Anastasiadis E, O'Brien T, Fernando A. Open partial nephrectomy in renal cell cancer – Essential or obsolete? International Journal of Surgery 2016;36:541–7. https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2016.05.031.

[42] Cao D-H, Liu L-R, Fang Y, Tang P, Li T, Bai Y, et al. Simple tumor enucleation may not decrease oncologic outcomes for T1 renal cell carcinoma: A systematic review and meta-analysis. Urol Oncol 2017;35:661.e15-661.e21. https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2017.07.007.

[43] Management of the adrenal gland during partial nephrectomy - PubMed n.d. https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/19371896/ (accessed October 2, 2020).

[44] Bekema HJ, MacLennan S, Imamura M, Lam TBL, Stewart F, Scott N, et al. Systematic review of adrenalectomy and lymph node dissection in locally advanced renal cell carcinoma. Eur Urol 2013;64:799–810. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2013.04.033.

[45] John NT, Blum KA, Hakimi AA. Role of lymph node dissection in renal cell cancer. Urol Oncol 2019;37:187–92. https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2018.03.006.

[46] Radical nephrectomy with and without lymph-node dissection: final results of European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) randomized phase 3 trial 30881 - PubMed n.d. https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/18848382/ (accessed October 2, 2020).

[47] Laparoscopic Versus Open Radical Nephrectomy for Renal Cell Carcinoma: a Systematic Review and Meta-Analysis - PubMed n.d. https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/28550770/ (accessed October 2, 2020).

[48] Liu G, Ma Y, Wang S, Han X, Gao D. Laparoscopic Versus Open Radical Nephrectomy for Renal Cell Carcinoma: a Systematic Review and Meta-Analysis. Transl Oncol 2017;10:501–10. https://doi.org/10.1016/j.tranon.2017.03.004.

[49] Robotic radical nephrectomy for renal cell carcinoma: a systematic review n.d. https://www-ncbi-nlm-nih-gov.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/pmc/articles/PMC4171399/ (accessed October 2, 2020).

[50] Anele UA, Marchioni M, Yang B, Simone G, Uzzo RG, Lau C, et al. Robotic versus laparoscopic radical nephrectomy: a large multi-institutional analysis (ROSULA Collaborative Group). World J Urol 2019;37:2439–50. https://doi.org/10.1007/s00345-019-02657-2.

[51] Nambirajan T, Jeschke S, Al-Zahrani H, Vrabec G, Leeb K, Janetschek G. Prospective, randomized controlled study: transperitoneal laparoscopic versus retroperitoneoscopic radical nephrectomy. Urology 2004;64:919–24. https://doi.org/10.1016/j.urology.2004.06.057.

[52] Desai MM, Strzempkowski B, Matin SF, Steinberg AP, Ng C, Meraney AM, et al. Prospective randomized comparison of transperitoneal versus retroperitoneal laparoscopic radical nephrectomy. J Urol 2005;173:38–41. https://doi.org/10.1097/01.ju.0000145886.26719.73.

[53] Nephrectomy improves the survival of patients with locally advanced renal cell carcinoma - PubMed n.d. https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/18710442/ (accessed October 2, 2020).

[54] Margulis V, Sánchez-Ortiz RF, Tamboli P, Cohen DD, Swanson DA, Wood CG. Renal cell carcinoma clinically involving adjacent organs: experience with aggressive surgical management. Cancer 2007;109:2025–30. https://doi.org/10.1002/cncr.22629.

[55] Kirkali Z, Van Poppel H. A critical analysis of surgery for kidney cancer with vena cava invasion. Eur Urol 2007;52:658–62. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2007.05.009.

[56] Adams LC, Ralla B, Bender Y-NY, Bressem K, Hamm B, Busch J, et al. Renal cell carcinoma with venous extension: prediction of inferior vena cava wall invasion by MRI. Cancer Imaging 2018;18:17. https://doi.org/10.1186/s40644-018-0150-z.

[57] Tanaka H, Ding X, Ye Y, Wang Y, Campbell RA, DeWitt-Foy ME, et al. Infiltrative Renal Masses: Clinical Significance and Fidelity of Documentation. Eur Urol Oncol 2019. https://doi.org/10.1016/j.euo.2019.07.015.

[58] Borregales LD, Kim DY, Staller AL, Qiao W, Thomas AZ, Adibi M, et al. Prognosticators and outcomes of patients with renal cell carcinoma and adjacent organ invasion treated with radical nephrectomy. Urol Oncol 2016;34:237.e19-26. https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2015.11.020.

[59] Nephrectomy improves survival in patients with invasion of adjacent viscera and absence of nodal metastases (stage T4N0 renal cell carcinoma) - Capitanio - 2009 - BJU International - Wiley Online Library n.d. https://bjui-journals-onlinelibrary-wiley-com.rproxy.sc.univ-paris-diderot.fr/doi/full/10.1111/j.1464-410X.2009.08484.x (accessed October 2, 2020).

[60] Adams LC, Ralla B, Bender Y-NY, Bressem K, Hamm B, Busch J, et al. Renal cell carcinoma with venous extension: prediction of inferior vena cava wall invasion by MRI. Cancer Imaging 2018;18:17. https://doi.org/10.1186/s40644-018-0150-z.

[61] Nini A, Capitanio U, Larcher A, Dell'Oglio P, Dehò F, Suardi N, et al. Perioperative and Oncologic Outcomes of Nephrectomy and Caval Thrombectomy Using Extracorporeal Circulation and Deep Hypothermic Circulatory Arrest for Renal Cell Carcinoma Invading the Supradiaphragmatic Inferior Vena Cava and/or Right Atrium. Eur Urol 2018;73:793–9. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.08.019.

[62] Gu L, Li H, Wang Z, Wang B, Huang Q, Lyu X, et al. A systematic review and meta-analysis of clinicopathologic factors linked to oncologic outcomes for renal cell carcinoma with tumor thrombus treated by radical nephrectomy with thrombectomy. Cancer Treatment Reviews 2018;69:112–20. https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.06.014.

[63] Andrews JR, Atwell T, Schmit G, Lohse CM, Kurup AN, Weisbrod A, et al. Oncologic Outcomes Following Partial Nephrectomy and Percutaneous Ablation for cT1 Renal Masses. European Urology 2019;76:244–51. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.04.026.

[64] Uhlig J, Strauss A, Rücker G, Seif Amir Hosseini A, Lotz J, Trojan L, et al. Partial

nephrectomy versus ablative techniques for small renal masses: a systematic review and network meta-analysis. European Radiology 2019;29:1293–307. https://doi.org/10.1007/s00330-018-5660-3.

[65] Thompson RH, Atwell T, Schmit G, Lohse CM, Kurup AN, Weisbrod A, et al. Comparison of partial nephrectomy and percutaneous ablation for cT1 renal masses. European Urology 2015;67:252–9. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.07.021.

[66] Abu-Ghanem Y, Fernández-Pello S, Bex A, Ljungberg B, Albiges L, Dabestani S, et al. Limitations of Available Studies Prevent Reliable Comparison Between Tumour Ablation and Partial Nephrectomy for Patients with Localised Renal Masses: A Systematic Review from the European Association of Urology Renal Cell Cancer Guideline Panel. European Urology Oncology 2020;3:433–52. https://doi.org/10.1016/j.euo.2020.02.001.

[67] Pantelidou M, Challacombe B, McGrath A, Brown M, Ilyas S, Katsanos K, et al. Percutaneous Radiofrequency Ablation Versus Robotic-Assisted Partial Nephrectomy for the Treatment of Small Renal Cell Carcinoma. Cardiovasc Intervent Radiol 2016;39:1595–603. https://doi.org/10.1007/s00270-016-1417-z.

[68] Patel HD, Pierorazio PM, Johnson MH, Sharma R, Iyoha E, Allaf ME, et al. Renal Functional Outcomes after Surgery, Ablation, and Active Surveillance of Localized Renal Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis. Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN 2017;12:1057–69. https://doi.org/10.2215/CJN.11941116.

[69] Ahmed M, Solbiati L, Brace CL, Breen DJ, Callstrom MR, Charboneau JW, et al. Image-guided tumor ablation: standardization of terminology and reporting criteria--a 10-year update. Radiology 2014;273:241–60. https://doi.org/10.1148/radiol.14132958.

[70] Krokidis ME, Orsi F, Katsanos K, Helmberger T, Adam A. CIRSE Guidelines on Percutaneous Ablation of Small Renal Cell Carcinoma. Cardiovascular and Interventional Radiology 2017;40:177–91. https://doi.org/10.1007/s00270-016-1531-y.

[71] Mir MC, Capitanio U, Bertolo R, Ouzaid I, Salagierski M, Kriegmair M, et al. Role of Active Surveillance for Localized Small Renal Masses. European Urology Oncology 2018;1:177–87. https://doi.org/10.1016/j.euo.2018.05.001.

[72] McIntosh AG, Ristau BT, Ruth K, Jennings R, Ross E, Smaldone MC, et al. Active Surveillance for Localized Renal Masses: Tumor Growth, Delayed Intervention Rates, and >5-yr Clinical Outcomes. European Urology 2018;74:157–64. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.03.011.

[73] Petros FG, Venkatesan AM, Kaya D, Ng CS, Fellman BM, Karam JA, et al. Conditional survival of patients with small renal masses undergoing active surveillance. BJU International 2019;123:447–55. https://doi.org/10.1111/bju.14486.

[74] Parker PA, Alba F, Fellman B, Urbauer DL, Li Y, Karam JA, et al. Illness uncertainty and quality of life of patients with small renal tumors undergoing watchful waiting: a 2-year prospective study. European Urology 2013;63:1122–7. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2013.01.034.

[75] Marzouk K, Tin A, Liu N, Sjoberg D, Hakimi AA, Russo P, et al. The natural history of large renal masses followed on observation. Urologic Oncology 2018;36:362.e17-362.e21. https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2018.05.002.

[76] Lucca I, de Martino M, Hofbauer SL, Zamani N, Shariat SF, Klatte T. Comparison of the prognostic value of pretreatment measurements of systemic inflammatory response in patients undergoing curative resection of clear cell renal cell carcinoma. World Journal of Urology 2015;33:2045–52. https://doi.org/10.1007/s00345-015-1559-7.

[77] Haas NB, Manola J, Uzzo RG, Flaherty KT, Wood CG, Kane C, et al. Adjuvant sunitinib or sorafenib for high-risk, non-metastatic renal-cell carcinoma (ECOG-ACRIN E2805): a double-blind, placebo-controlled, randomised, phase 3 trial. Lancet (London, England) 2016;387:2008–16. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00559-6.

[78] Lam JS, Shvarts O, Leppert JT, Pantuck AJ, Figlin RA, Belldegrun AS. Postoperative surveillance protocol for patients with localized and locally advanced renal cell carcinoma based on a validated prognostic nomogram and risk group stratification system. The Journal of Urology 2005;174:466–72; discussion 472; quiz 801. https://doi.org/10.1097/01.ju.0000165572.38887.da.

[79] Bex A, Albiges L, Ljungberg B, Bensalah K, Dabestani S, Giles RH, et al. Updated European Association of Urology Guidelines Regarding Adjuvant Therapy for Renal Cell Carcinoma. European Urology 2017;71:719–22. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.11.034.

[80] Sun M, Shariat SF, Cheng C, Ficarra V, Murai M, Oudard S, et al. Prognostic factors and predictive models in renal cell carcinoma: a contemporary review. European Urology 2011;60:644–61. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2011.06.041.

[81] Keegan KA, Schupp CW, Chamie K, Hellenthal NJ, Evans CP, Koppie TM. Histopathology of surgically treated renal cell carcinoma: survival differences by subtype and stage. The Journal of Urology 2012;188:391–7. https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.04.006.

[82] Byun S-S, Hwang EC, Kang SH, Hong S-H, Chung J, Kwon TG, et al. Sex-Specific Prognostic Significance of Obesity in Nonmetastatic Clear-Cell Renal-Cell Carcinoma in Korea: A Large Multicenter Cohort Analysis. Clinical Genitourinary Cancer 2017. https://doi.org/10.1016/j.clgc.2017.08.015.

[83] Pichler M, Hutterer GC, Stoeckigt C, Chromecki TF, Stojakovic T, Golbeck S, et al. Validation of the pre-treatment neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in a large European cohort of renal cell carcinoma patients. British Journal of Cancer 2013;108:901–7. https://doi.org/10.1038/bjc.2013.28.

[84] de Martino M, Klatte T, Seemann C, Waldert M, Haitel A, Schatzl G, et al. Validation of serum C-reactive protein (CRP) as an independent prognostic factor for disease-free survival in patients with localised renal cell carcinoma (RCC). BJU International 2013;111:E348-353. https://doi.org/10.1111/bju.12067.

[85] Zisman A, Pantuck AJ, Wieder J, Chao DH, Dorey F, Said JW, et al. Risk group assessment and clinical outcome algorithm to predict the natural history of patients with surgically resected renal cell carcinoma. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 2002;20:4559–66. https://doi.org/10.1200/JCO.2002.05.111.

[86] Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. The American Journal of Surgical Pathology 1982;6:655–63. https://doi.org/10.1097/00000478-198210000-00007.

[87] Ficarra V, Martignoni G, Maffei N, Brunelli M, Novara G, Zanolla L, et al. Original and reviewed nuclear grading according to the Fuhrman system: a multivariate analysis of 388 patients

with conventional renal cell carcinoma. Cancer 2005;103:68–75. https://doi.org/10.1002/cncr.20749.

[88] Delahunt B, Cheville JC, Martignoni G, Humphrey PA, Magi-Galluzzi C, McKenney J, et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for renal cell carcinoma and other prognostic parameters. The American Journal of Surgical Pathology 2013;37:1490–504. https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e318299f0fb.

[89] Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. European Urology 2016;70:93–105. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.029.

[90] Patard J-J, Leray E, Rioux-Leclercq N, Cindolo L, Ficarra V, Zisman A, et al. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 2005;23:2763–71. https://doi.org/10.1200/JCO.2005.07.055.

[91] Klatte T, Han K, Said JW, Böhm M, Allhoff EP, Kabbinavar FF, et al. Pathobiology and prognosis of chromophobe renal cell carcinoma. Urologic Oncology 2008;26:604–9. https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2007.07.015.

[92] Bedke J, Heide J, Ribback S, Rausch S, de Martino M, Scharpf M, et al. Microvascular and lymphovascular tumour invasion are associated with poor prognosis and metastatic spread in renal cell carcinoma: a validation study in clinical practice. BJU International 2018;121:84–92. https://doi.org/10.1111/bju.13984.

[93] Huang H, Pan X-W, Huang Y, Xu D-F, Cui X-G, Li L, et al. Microvascular invasion as a prognostic indicator in renal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. Int J Clin Exp Med 2015;8:10779–92.

[94] Sengupta S, Lohse CM, Leibovich BC, Frank I, Thompson RH, Webster WS, et al. Histologic coagulative tumor necrosis as a prognostic indicator of renal cell carcinoma aggressiveness. Cancer 2005;104:511–20. https://doi.org/10.1002/cncr.21206.

[95] Klatte T, Said JW, de Martino M, Larochelle J, Shuch B, Rao JY, et al. Presence of tumor necrosis is not a significant predictor of survival in clear cell renal cell carcinoma: higher prognostic accuracy of extent based rather than presence/absence classification. The Journal of Urology 2009;181:1558–64; discussion 1563-1564. https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.11.098.

[96] Sim SH, Messenger MP, Gregory WM, Wind TC, Vasudev NS, Cartledge J, et al. Prognostic utility of pre-operative circulating osteopontin, carbonic anhydrase IX and CRP in renal cell carcinoma. British Journal of Cancer 2012;107:1131–7. https://doi.org/10.1038/bjc.2012.360.

[97] Sabatino M, Kim-Schulze S, Panelli MC, Stroncek D, Wang E, Taback B, et al. Serum vascular endothelial growth factor and fibronectin predict clinical response to high-dose interleukin-2 therapy. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 2009;27:2645–52. https://doi.org/10.1200/JCO.2008.19.1106.

[98] Li G, Feng G, Gentil-Perret A, Genin C, Tostain J. Serum carbonic anhydrase 9 level is associated with postoperative recurrence of conventional renal cell cancer. The Journal of Urology 2008;180:510–3; discussion 513-514. https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.04.024.

[99] Si X, Ma J, Yu F, Zhao H, Huang H, Sun Y-W. Clinicopathological and prognostic

significance of CXCR4 high expression in renal cell carcinoma: A meta-analysis and literature review. International Journal of Surgery (London, England) 2019;71:12–8. https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2019.08.021.

[100] Scelo G, Muller DC, Riboli E, Johansson M, Cross AJ, Vineis P, et al. KIM-1 as a Blood-Based Marker for Early Detection of Kidney Cancer: A Prospective Nested Case-Control Study. Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research 2018;24:5594–601. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-1496.

[101] Minardi D, Lucarini G, Milanese G, Di Primio R, Montironi R, Muzzonigro G. Loss of nuclear BAP1 protein expression is a marker of poor prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma. Urologic Oncology 2016;34:338.e11-18. https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2016.03.006.

[102] 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. The Lancet Oncology 2013;14:159–67. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70584-3.

[103] 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. The Journal of Urology 2016;195:180–7. https://doi.org/10.1016/j.juro.2015.07.113.

[104] Rini B, Goddard A, Knezevic D, Maddala T, Zhou M, Aydin H, et al. A 16-gene assay to predict recurrence after surgery in localised renal cell carcinoma: development and validation studies. The Lancet Oncology 2015;16:676–85. https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70167-1.

[105] Wang Z, Peng S, Xie H, Guo L, Cai Q, Shang Z, et al. Prognostic and clinicopathological significance of PD-L1 in patients with renal cell carcinoma: a meta-analysis based on 1863 individuals. Clinical and Experimental Medicine 2018;18:165–75. https://doi.org/10.1007/s10238-018-0488-3.

[106] Köhn L, Svenson U, Ljungberg B, Roos G. Specific genomic aberrations predict survival, but low mutation rate in cancer hot spots, in clear cell renal cell carcinoma. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology: AIMM 2015;23:334–42. https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000087.

[107] Wei J-H, Haddad A, Wu K-J, Zhao H-W, Kapur P, Zhang Z-L, et al. A CpG-methylation-based assay to predict survival in clear cell renal cell carcinoma. Nature Communications 2015;6:8699. https://doi.org/10.1038/ncomms9699.

[108] Sorbellini M, Kattan MW, Snyder ME, Reuter V, Motzer R, Goetzl M, et al. A postoperative prognostic nomogram predicting recurrence for patients with conventional clear cell renal cell carcinoma. The Journal of Urology 2005;173:48–51. https://doi.org/10.1097/01.ju.0000148261.19532.2c.

[109] Zisman A, Pantuck AJ, Dorey F, Said JW, Shvarts O, Quintana D, et al. Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 2001;19:1649–57. https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.6.1649.

[110] Frank I, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score. The Journal of Urology 2002;168:2395–

400. https://doi.org/10.1097/01.ju.0000035885.91935.d5.

[111] Leibovich BC, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Frank I, Kwon ED, et al. Prediction of progression after radical nephrectomy for patients with clear cell renal cell carcinoma: a stratification tool for prospective clinical trials. Cancer 2003;97:1663–71. https://doi.org/10.1002/cncr.11234.

[112] Patard J-J, Kim HL, Lam JS, Dorey FJ, Pantuck AJ, Zisman A, et al. Use of the University of California Los Angeles integrated staging system to predict survival in renal cell carcinoma: an international multicenter study. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 2004;22:3316–22. https://doi.org/10.1200/JCO.2004.09.104.

[113] Karakiewicz PI, Briganti A, Chun FK-H, Trinh Q-D, Perrotte P, Ficarra V, et al. Multi-institutional validation of a new renal cancer-specific survival nomogram. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 2007;25:1316–22. https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.1218.

[114] Zigeuner R, Hutterer G, Chromecki T, Imamovic A, Kampel-Kettner K, Rehak P, et al. External validation of the Mayo Clinic stage, size, grade, and necrosis (SSIGN) score for clear-cell renal cell carcinoma in a single European centre applying routine pathology. European Urology 2010;57:102–9. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2008.11.033.

[115] Isbarn H, Karakiewicz PI. Predicting cancer-control outcomes in patients with renal cell carcinoma. Current Opinion in Urology 2009;19:247–57. https://doi.org/10.1097/MOU.0b013e32832a0814.

[116] Haas NB, Manola J, Uzzo RG, Flaherty KT, Wood CG, Kane C, et al. Adjuvant sunitinib or sorafenib for high-risk, non-metastatic renal-cell carcinoma (ECOG-ACRIN E2805): a double-blind, placebo-controlled, randomised, phase 3 trial. Lancet (London, England) 2016;387:2008–16. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00559-6.

[117] Abel EJ, Culp SH, Tannir NM, Matin SF, Tamboli P, Jonasch E, et al. Primary tumor response to targeted agents in patients with metastatic renal cell carcinoma. European Urology 2011;59:10–5. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2010.09.034.

[118] Karam JA, Devine CE, Urbauer DL, Lozano M, Maity T, Ahrar K, et al. Phase 2 trial of neoadjuvant axitinib in patients with locally advanced nonmetastatic clear cell renal cell carcinoma. European Urology 2014;66:874–80. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.01.035.

[119] Lebacle C, Bensalah K, Bernhard J-C, Albiges L, Laguerre B, Gross-Goupil M, et al. Evaluation of axitinib to downstage cT2a renal tumours and allow partial nephrectomy: a phase II study. BJU International 2019;123:804–10. https://doi.org/10.1111/bju.14581.

[120] Ravaud A, Motzer RJ, Pandha HS, George DJ, Pantuck AJ, Patel A, et al. Adjuvant Sunitinib in High-Risk Renal-Cell Carcinoma after Nephrectomy. The New England Journal of Medicine 2016;375:2246–54. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1611406.

[121] Motzer RJ, Haas NB, Donskov F, Gross-Goupil M, Varlamov S, Kopyltsov E, et al. Randomized Phase III Trial of Adjuvant Pazopanib Versus Placebo After Nephrectomy in Patients With Localized or Locally Advanced Renal Cell Carcinoma. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 2017;35:3916–23. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.73.5324.

[122] Gross-Goupil M, Kwon TG, Eto M, Ye D, Miyake H, Seo SI, et al. Axitinib versus placebo as an adjuvant treatment of renal cell carcinoma: results from the phase III, randomized ATLAS trial. Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology 2018;29:2371–8. https://doi.org/10.1093/annonc/mdy454.

[123] Primary efficacy analysis results from the SORCE trial (RE05): Adjuvant sorafenib for renal cell carcinoma at intermediate or high risk of relapse: An international, randomised double-blind phase III trial led by the MRC CTU at UCL. Annals of Oncology 2019;30:v891–2. https://doi.org/10.1093/annonc/mdz394.050.

[124] Motzer RJ, Ravaud A, Patard J-J, Pandha HS, George DJ, Patel A, et al. Adjuvant Sunitinib for High-risk Renal Cell Carcinoma After Nephrectomy: Subgroup Analyses and Updated Overall Survival Results. European Urology 2018;73:62–8. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.09.008.

[125] Research C for DE and. FDA approves sunitinib malate for adjuvant treatment of renal cell carcinoma. FDA 2019.

[126] Sun M, Marconi L, Eisen T, Escudier B, Giles RH, Haas NB, et al. Adjuvant Vascular Endothelial Growth Factor-targeted Therapy in Renal Cell Carcinoma: A Systematic Review and Pooled Analysis. European Urology 2018;74:611–20. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.05.002.

[127] Bex A, Albiges L, Ljungberg B, Bensalah K, Dabestani S, Giles RH, et al. Updated European Association of Urology Guidelines Regarding Adjuvant Therapy for Renal Cell Carcinoma. European Urology 2017;71:719–22. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.11.034.

[128] Beuselinck B, Job S, Becht E, Karadimou A, Verkarre V, Couchy G, et al. Molecular subtypes of clear cell renal cell carcinoma are associated with sunitinib response in the metastatic setting. Clin Cancer Res 2015;21:1329–39. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-1128.

[129] Turajlic S, Xu H, Litchfield K, Rowan A, Horswell S, Chambers T, et al. Deterministic Evolutionary Trajectories Influence Primary Tumor Growth: TRACERx Renal. Cell 2018;173:595-610.e11. https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.043.

[130] Pignot G, Loriot Y, Kamat AM, Shariat SF, Plimack ER. Effect of Immunotherapy on Local Treatment of Genitourinary Malignancies. European Urology Oncology 2019;2:355–64. https://doi.org/10.1016/j.euo.2019.01.002.

[131] Pignot G, Thiery-Vuillemin A, Walz J, Lang H, Bigot P, Werle P, et al. Nephrectomy After Complete Response to Immune Checkpoint Inhibitors for Metastatic Renal Cell Carcinoma: A New Surgical Challenge? European Urology 2020;77:761–3. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.12.018.

[132] Rini BI, Battle D, Figlin RA, George DJ, Hammers H, Hutson T, et al. The society for immunotherapy of cancer consensus statement on immunotherapy for the treatment of advanced renal cell carcinoma (RCC). Journal for Immunotherapy of Cancer 2019;7:354. https://doi.org/10.1186/s40425-019-0813-8.

[133] Porta C, Cosmai L, Leibovich BC, Powles T, Gallieni M, Bex A. The adjuvant treatment of kidney cancer: a multidisciplinary outlook. Nature Reviews Nephrology 2019;15:423–33. https://doi.org/10.1038/s41581-019-0131-x.

[134] Albiges L, Powles T, Staehler M, Bensalah K, Giles RH, Hora M, et al. Updated European Association of Urology Guidelines on Renal Cell Carcinoma: Immune Checkpoint Inhibition Is the

New Backbone in First-line Treatment of Metastatic Clear-cell Renal Cell Carcinoma. European Urology 2019;76:151–6. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.05.022.

[135] Haas NB, Uzzo RG. Perioperative Therapy in Renal Cell Carcinoma: What Do We Know, What Have We Learned, What's Next? Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology 2018:JCO2018789131. https://doi.org/10.1200/JCO.2018.78.9131.

[136] Palumbo C, Mazzone E, Mistretta FA, Knipper S, Perrotte P, Shariat SF, et al. A Plea for Optimizing Selection in Current Adjuvant Immunotherapy Trials for High-risk Nonmetastatic Renal Cell Carcinoma According to Expected Cancer-specific Mortality. Clinical Genitourinary Cancer 2020;18:314-321.e1. https://doi.org/10.1016/j.clgc.2019.11.010.

[137] Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, Arén Frontera O, Melichar B, Choueiri TK, et al. Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma. The New England Journal of Medicine 2018;378:1277–90. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1712126.

UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Titre : **Exploration biologique de la progression du cancer du rein à haut risque : analyse ancillaire de la cohorte française de l'essai S-TRAC**

Mots clés : Carcinome à cellules rénales, VEGF, Pronostic, Progression, Sunitinib

Résumé :

Objectif : L'objectif de cette étude était d'explorer les facteurs biologiques prédictifs de la progression après néphrectomie pour carcinome à cellules rénales (CCR) à haut risque non métastatique en utilisant les tumeurs collectées des patients inclus en France dans l'essai randomisé S-TRAC (NCT00375674).

Patients et méthodes

Nous avons analysé les tumeurs de la cohorte française de l'essai S-TRAC qui comprenait 44 cas de CCR qui ont été recueillis dans six centres. L'objectif principal était d'explorer les facteurs biologiques prédictifs de la progression (définis comme SSP) au sunitinib. L'analyse à large spectre, y compris l'immunohistochimie, la fluorescence in situ d'hybridation (FISH), l'hybridation génomique comparative (CGH) et l'analyse transcriptomique des analyses ont été effectuées sur les tumeurs.

Résultats

L'analyse de la densité vasculaire a montré qu'un stroma vasculaire à densité élevée était associé à une progression ($p < 0,034$) sous sunitinib.

La perte de poly bromo-1 a montré un profil distinct : une tumeur agressive hautement avec un profil angiogénique marqué (surexpression du facteur de croissance endothélial vasculaire et stroma vasculaire immature de type 2), pas d'expression PD1 ou PDL1, et statut de type sauvage (WT)du gène VHL.

Il y avait 27 gains de régions chromosomiques chez les patients présentant une progression (sur les chromosomes 7 et 16, et dans une moindre mesure 8, 12, 17, 19, 20 correspondant à 605 gènes associés) et 10 pertes chromosomiques régions chez ces mêmes patients sur les chromosomes 8 et 9, et dans une moindre mesure 2 et 21 correspondant à 25 gènes associés.

Conclusion

Nous avons constaté qu'un phénotype angiogénique défini par une forte densité vasculaire était un facteur prédictif de résistance au sunitinib. Quel que soit le traitement reçu (sunitinib ou placebo) les gains et de pertes chromosomiques et les altérations génomiques, y compris la perte de PBRM1 étaient associées à un plus mauvais pronostic.

Title : **Exploring biological predictive factors of progression after surgery in high-risk renal cell carcinoma: results from the French cohort of the randomized S-TRAC trial patients**

Keywords : Renal Cell Carcinoma, VEGF, Prognosis, Progression, Angiogenesis, Sunitinib

Abstract :

Objective:

We aimed to explore biological predictive factors of progression after surgery in non-metastatic RCC using the collected tumors in the French cohort of the randomized S-TRAC trial patients.

Patients and methods

We analyzed the tumors of the French cohort of STRAC that included 44 cases of ccRCC that were collected from 6 centers. The main objective was to explore biological predictive factors of progression (defined as PFS) to sunitinib. Aboard spectrum analysis including immunohistochemistry, FISH, CGH-Array, Transcriptomic analyses were performed on the tumors.

Results

Analysis of vascular density showed type 1 vascular stroma corresponding to high vascular density was associated with progression ($p<0.034$).

Loss of PBRM1 (Poly bromo-1) expression showed a distinct profile: a highly histopathological aggressive tumor with a marked angiogenic profile (VEGF over expression and immature vascular stroma type 2), no PD1 or PDL1 expression and WT status of the VHL gene. There were 27 chromosome regions gained in patients with progression (on chromosomes 7 and 16, and to a lesser extent 8, 12, 17, 17, 19, 20 corresponding to 605 associated genes) and 10 regions lost in these same patients on chromosomes 8 and 9, and to a lesser extent 2 and 21 corresponding to 25 associated genes.

Conclusion

We found that a angiogenic phenotype defined by a high vascular density with a vascular type 2 stroma was a predictive factor of sunitinib resistance. Regardless of adjuvant treatment, chromosomal gains and losses and genomic alterations including PBRM1 loss were associated with worse outcomes.