



Université de Picardie Jules Verne



U.F.R. DE PHARMACIE

Année Universitaire 2016/2017

MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE BIOLOGIE MEDICALE

Soutenu publiquement le 7 Avril 2017

Par Mme Marie-Charlotte QUINTON

Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990

Tient lieu de

THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Etude des polymorphismes du *VEGF* dans le développement du carcinome rénal chez les patients transplantés rénaux

JURY :

Président : Monsieur le Professeur KAMEL Saïd, CHU Amiens, UPJV

Directrice de thèse : Madame le Docteur BODEAU Sandra, CHU Amiens, UPJV

Membres : Monsieur le Professeur CHOUKROUN Gabriel, CHU Amiens, UPJV

Monsieur le Docteur BENNIS Youssef, CHU Amiens, UPJV

Madame le Docteur LIABEUF Sophie, CHU Amiens, UPJV

Mémoire n°2017.5

Remerciements

A ma directrice de thèse, **Madame le Docteur Sandra BODEAU**,

Merci Sandra de m'avoir proposé ce sujet et de m'avoir si bien encadrée pour ce travail. Ta patience et ta rigueur ont permis de mener à bien ce projet. Merci également pour tes nombreuses relectures, tes conseils et tout ce temps passé ensemble (autant sur le manuscrit et toutes ses virgules que sur les stats...).

A mon président de thèse, **Monsieur le Professeur Saïd KAMEL**,

Merci de présider cette thèse et de tout l'intérêt que vous portez à mon travail.

Aux membres de mon jury :

Monsieur le Professeur Gabriel CHOUKROUN, soyez assuré de mon plus grand respect et de toute ma reconnaissance ;

Monsieur le Docteur Youssef BENNIS, merci d'avoir été présent et pour toute ton aide au quotidien au labo et aussi pour le projet bétalactamines (ou béta-lactamines ou β -lactamines) qui n'aurait jamais vu le jour sans toi ;

Et **Madame le Docteur Sophie LIABEUF**, pour avoir accepté de juger ce travail.

Je remercie également tous ceux qui ont participé de près ou de loin à ce travail et qui l'ont rendu possible : l'unité INSERM U1088 pour son accueil au sein de ses locaux, Jennifer et les personnes du CRC pour l'inclusion des patients, et les statisticiens pour leur aide précieuse à la compréhension des données.

Je tiens aussi et surtout à remercier ma famille. En particulier mes parents qui me soutiennent et qui croient en moi depuis toujours. Je ne vous le dis pas assez, mais vous êtes les meilleurs parents du monde et je vous aime. Merci Jérôme pour ces 2 dernières années merveilleuses et toutes celles à venir. Merci pour ta patience, ton soutien et tout ce que tu fais chaque jour, en particulier ces dernières semaines. Tu es un ange, et je ne serai rien sans toi, ne change rien !!!

Merci Meryem, tu sais bien que c'est grâce à toi que je suis ici aujourd'hui. Tu as toujours été présente et d'une grande aide à chaque moment important de toute cette aventure (et de toutes les autres...).

Je remercie le service de pharmacologie-toxicologie du CHU de Montpellier. Autant les techniciens que les biologistes qui m'ont chacun à leur manière fait découvrir et aimé la pharmaco. Merci à Olivier et Pierre (alias ChucQ) qui m'ont poussé à prendre mon envol vers le grand Nord.

Un grand merci au service de Pharmacologie Clinique du CHU d'Amiens et plus particulièrement à tout le laboratoire de pharmacologie et toxicologie. Merci Anne-Sophie, pour ton écoute, ta générosité et tout ce que j'ai appris à tes côtés. Je remercie tous les techniciens : Béné, Charlotte, Chloé, Claudie, Delphine, Dub, Evelyne, Ludo (le vrai) et Marc ; pour votre accueil, votre soutien, votre gentillesse et votre bonne humeur (à chacun et sans exception). C'est un vrai plaisir de travailler avec vous tous ! Je remercie également toutes celles et ceux que j'ai eu le plaisir de croiser et avec qui j'ai travaillé au CBH.

A tous mes co-internes Picards, la liste est trop longue, mais chacun se reconnaitra. Merci pour tous ces bons moments passés ensemble.

Et enfin, merci à tous ceux qui prendront le temps de lire ce manuscrit...

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	4
TABLE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX	5
LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES	6
INTRODUCTION.....	8
I- Transplantation rénale et complications néoplasiques	8
1) Transplantation rénale et traitements immunosuppresseurs.....	8
2) Problématique des complications néoplasiques post-transplantation.....	19
II- Cancer du rein	24
1) Epidémiologie et classification.....	24
2) Physiopathologie	25
III- Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF).....	27
1) Fonctions et régulation	27
2) Polymorphismes du <i>VEGF</i>	29
3) Polymorphismes des gènes codant pour les VEGFR	33
IV- Cancer du rein chez les transplantés rénaux	36
1) Epidémiologie du cancer du rein chez les patients transplantés rénaux.....	36
2) Prise en charge.....	37
V- Hypothèses de travail et objectifs	39
MATERIELS ET METHODES	40
I- Population de l'étude et sélection des patients.....	40
II- Génotypage	43
III- Etude statistique	47
RESULTATS	48
I- Caractéristiques de la cohorte	48
II- Distribution des génotypes.....	52
III- Polymorphismes et risque de carcinome rénal.....	53
IV- Polymorphismes et survie	56
DISCUSSION	58
CONCLUSION	65
ANNEXE	66
BIBLIOGRAPHIE	69

TABLE DES ILLUSTRATIONS ET TABLEAUX

Figure 1. Organigramme de la prise en charge et du devenir des patients en IRC terminale (3).....	9
Figure 2. Année d'apparition des différents IS et amélioration de la survie du greffon à un an (8).....	10
Figure 3. Mécanismes d'action des différents IS (13)	12
Figure 4. Mécanismes moléculaires du développement du ccRCC (66).....	25
Figure 5. Rôles du VEGF au sein des cellules cancéreuses (67).....	28
Figure 6. Forest plots entre le polymorphisme <i>VEGFA</i> c.936 C>T (rs3025039) et le risque de carcinome rénal selon différents modèles génétiques (90).....	31
Figure 7. Principe de la technique de PCR en temps réel Taqman®	44
Figure 8. Etapes de la PCR.....	46
Figure 9. Courbe de survie de Kaplan-Meier pour le SNP <i>VEGFA</i> c.936 C>T (rs3025039)	57
Tableau I. Classification des stades d'évolution de la maladie rénale chronique	8
Tableau II. Risque de cancer chez les patients transplantés selon l'organe transplanté (37).....	19
Tableau III. Principaux virus oncogènes et pathologies associées (44).	21
Tableau IV. Grades de Fuhrman.	24
Tableau V. Caractéristiques des principaux SNPs du <i>VEGF</i> et de ses récepteurs	35
Tableau VI. Répartition des types histologiques selon les populations observées.....	36
Tableau VII. Critères d'inclusion et d'exclusion des patients de l'étude Ve-CART.	40
Tableau VIII. Caractéristiques des amorces utilisées.....	45
Tableau IX. Caractéristiques démographiques des patients de l'étude.	48
Tableau X. Caractéristiques histologiques et pathologiques des tumeurs et gestion de la prise en charge des patients ayant développé un carcinome rénal.....	50
Tableau XI. Fréquence allélique et distribution des polymorphismes (n=59)	52
Tableau XII. Régression logistique univariée conditionnelle	54
Tableau XIII. Régression logistique multivariée conditionnelle.....	55
Tableau XIV. Comparaison des courbes de survie	56

LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

Ac :	Anticorps
AP-4 :	Activator Protein 4
ARE :	AU Rich Element
ASMR :	Amélioration du Service Médical Rendu
ccRCC :	clear cell Renal Cell Carcinoma
CCTIRS :	Comité Consultatif du Traitement de l'Information en matière de Recherche dans le domaine de la Santé
CNIL :	Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CPP :	Comité de Protection des Personnes
CTLA4 :	Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated protein 4
CYP :	CYtochrome P450
DFG :	Débit de Filtration Glomérulaire
EBV :	Epstein Barr Virus
FKBP12 :	FK Binding Protein 12
Flt-1 :	Fms-like tyrosine kinase 1
HAS :	Haute Autorité de Santé
HHV 8 :	Human Herpès Virus 8
HIF :	Hypoxia Inducible Factor
HLA :	Human Leukocyte Antigen
HPV :	Human Papilloma Virus
HTA :	HyperTension Artérielle
HTLV :	Human T LentiVirus
HuR :	Human antigen R
HWE :	Hardy-Weinberg Equilibrium
IC :	Intervalle de confiance
ICN :	Inhibiteur de la Calcineurine
IFN γ :	Interféron γ
IgG :	Immunoglobuline G
IL-2 :	Interleukine-2
IMPDH :	Inosine MonoPhosphate DésHydrogénase
IRC :	Insuffisance Rénale Chronique
IS :	ImmunoSuppresseur(s)
ITK :	Inhibiteurs de Tyrosine Kinase
KDR :	Kinase Domain Receptor

MMF :	MycofénoLate Mofétil
MPA :	Acide MycoPhénolique
MPAG :	MycoPhenolic Acid Glucuronide
m-TOR :	mammalian Target Of Rapamycin
NFAT :	Nuclear Factor of Activated T-cell
NRP :	Neuropilines
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
OR :	Odd Ratio
PD1 :	Programmed Death 1
PDGF-B :	Platelet Derived Growth Factor B chain
PD-L1 :	Programmed Death Ligand 1
P-gp :	glycoprotéine P
PK :	Pharmacocinétique
PLGF :	PLacenta Growth Factor
pRCC :	papillary Renal Cell Carcinoma
pVHL :	protéine Von Hippel Lindau
RCC :	Renal Cell Carcinoma
RCP :	Résumé des Caractéristiques du Produit
SNP :	Single Nucleotide Polymorphisms
STP :	Suivi Thérapeutique et Pharmacologique
TGF :	Transforming Growth Factor
TNF α :	Tumor Necrosis Factor α
UGT :	Glucuronyl Transférase
UTR :	UnTranslated Region
UV :	Ultra-Violet
Ve-CART :	VEGF et développement du CARcinome rénal chez les Transplantés rénaux
VEGF :	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR :	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
VHB :	Virus de l'Hépatite B
VHC :	Virus de l'Hépatite C
VHL :	von Hippel Lindau

INTRODUCTION

I- Transplantation rénale et complications néoplasiques

1) Transplantation rénale et traitements immunosuppresseurs

a- Généralités et contexte

La maladie rénale chronique et l'insuffisance rénale chronique (IRC) sont définies par la présence de marqueurs d'atteinte rénale (albuminurie, protéinurie, leucocyturie ou d'anomalies morphologiques ou histologiques) pendant plus de 3 mois et/ou d'un débit de filtration glomérulaire (DFG) $< 60 \text{ mL/min/1,73m}^2$. Plusieurs stades peuvent être définis selon le DFG afin d'évaluer la gravité de la maladie (1). Les différents stades sont présentés dans le tableau I.

Tableau I. Classification des stades d'évolution de la maladie rénale chronique

Stade	DFG (mL/min/1,73m ²)	Définition
1	≥ 90	Maladie rénale chronique avec DFG normal ou augmenté (présence de marqueurs d'atteinte rénale)
2	60 à 89	Maladie rénale chronique avec DFG légèrement diminué (présence de marqueurs d'atteinte rénale)
3	3A : 45 à 59 3B : 30 à 44	IRC modérée
4	15 à 29	IRC sévère
5	< 15	IRC terminale

En France, au 31 décembre 2014, le rapport REIN (Réseau, Epidémiologie, Information, Néphrologie) recensait 79 355 patients en IRC terminale. A ce stade de la maladie, le rein n'assure plus ses fonctions d'épuration et de maintien de l'homéostasie ; un traitement de suppléance doit donc être mis en place. Dans ce contexte, l'hémodialyse ou la dialyse péritonéale ont été envisagées pour respectivement 41 532 patients (soit 52,3%) et 2 887

patients (soit 3,6%) en 2014. Certains patients dialysés peuvent bénéficier d'une transplantation, qui est actuellement le traitement de choix de l'IRC terminale (2). En 2014, on comptait ainsi 34 936 porteurs d'un greffon en France (Figure 1) (3).

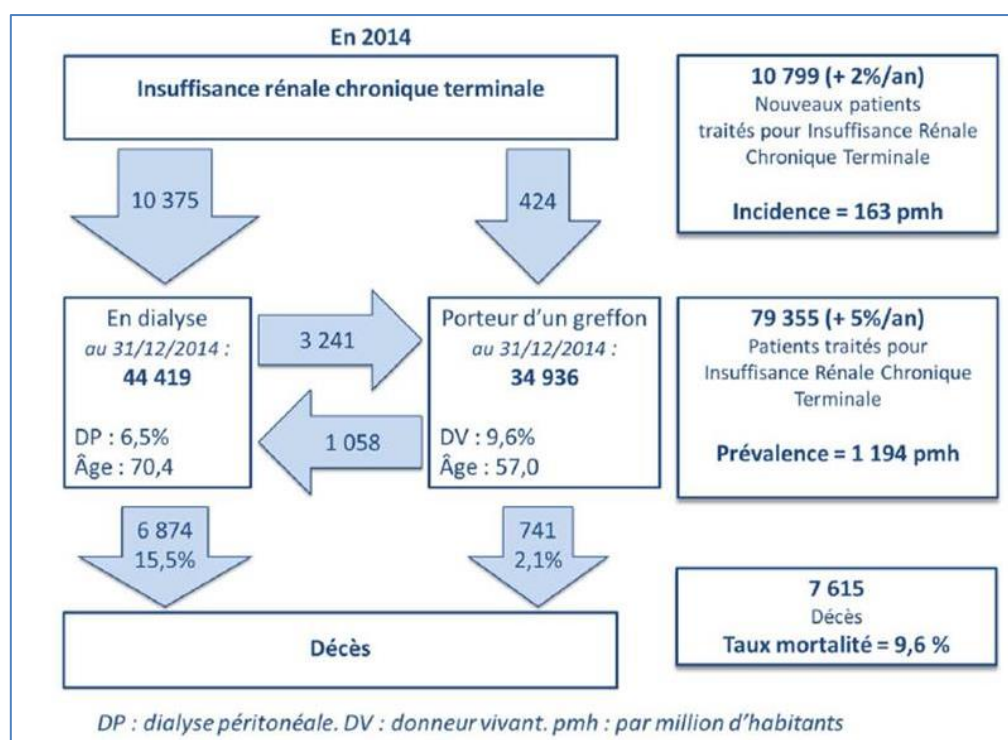


Figure 1. Organigramme de la prise en charge et du devenir des patients en IRC terminale (3)

La transplantation rénale permet une nette amélioration de la qualité de vie par rapport à la dialyse (4) et une augmentation de la survie des patients par rapport aux patients dialysés (5). Compte tenu de son efficacité mais également de son intérêt sur le plan médico-économique (6), en France, la transplantation rénale est recommandée chez tous les patients porteurs d'une maladie rénale chronique évolutive avec un DFG < 20 mL/min/1,73m² sans limite d'âge (7). Les progrès réalisés en transplantation rénale au cours de ces dernières décennies, et en particulier, la diminution du rejet aigu de greffe (8) sont indissociables des progrès considérables des traitements immunosuppresseurs.

b- Traitements immunosuppresseurs

b-1. Apports du traitement immunosuppresseur

La découverte et l'utilisation des immunosuppresseurs (IS), et, en particulier, de la ciclosporine au début des années 1980, puis du tacrolimus dans les années 1990, a permis de diminuer l'incidence du rejet aigu du greffon (8). La ciclosporine a ainsi rapidement démontré son intérêt. Dès 1983, une étude multicentrique européenne a observé une survie du greffon à un an de 72% chez les patients sous ciclosporine contre 52% chez les patients traités par azathioprine (9). Depuis, la survie du greffon est en constante augmentation et dépasse aujourd'hui les 90% un an après la transplantation (Figure 2).

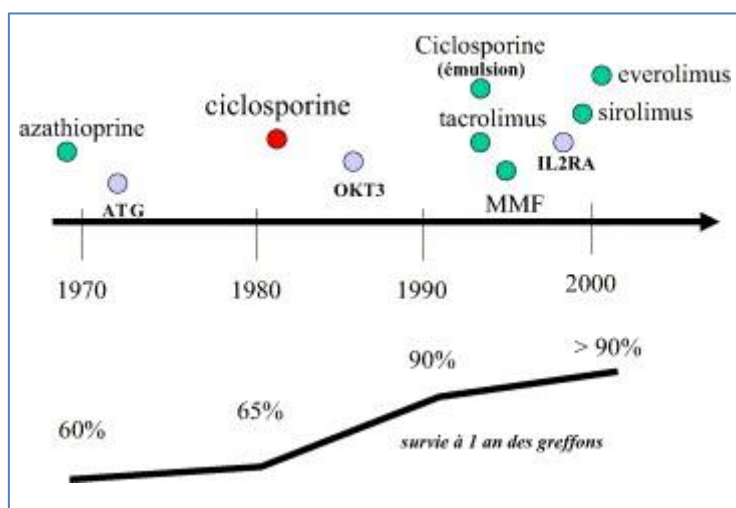


Figure 2. Année d'apparition des différents IS et amélioration de la survie du greffon à un an (8)

Au cours de ces dernières décennies, la survie des patients transplantés s'est également améliorée. Ainsi, pour une greffe réalisée entre 2009 et 2011, la survie a été estimée à 96,8% à un an et à 88,9% à 5 ans de la greffe. Cependant, la survie à 5 ans est légèrement diminuée par rapport à celle observée chez les patients transplantés entre 1996 et 2000 (92,4%). Ceci s'explique par un accès plus large à la transplantation rénale qui n'est plus limitée par l'âge ou la présence de comorbidités (en particulier le diabète) (10).

L'augmentation de la survie des patients, liée au suivi régulier des patients (11) et aux progrès considérables des traitements IS, est contrebalancée par l'apparition d'effets indésirables cardiovasculaires, infectieux et par un risque accru de cancers liés à l'utilisation d'IS au long cours. Différentes classes de médicaments IS peuvent être utilisés au cours des traitements d'induction et d'entretien.

b-2. Médicaments immunosuppresseurs

Durant la période post-greffe immédiate, l'objectif principal est d'éviter le rejet aigu du greffon en utilisant des traitements IS à haute dose : des corticoïdes à forte dose, des anticorps (Ac) monoclonaux ou polyclonaux, un inhibiteur de la calcineurine (ICN) à forte dose et un anti-métabolite (12). Puis la charge en traitement IS diminue, l'objectif étant de maintenir un niveau d'immunosuppression suffisant pour éviter un épisode de rejet aigu mais permettant de limiter l'apparition de complications au long cours. Le traitement d'entretien comprend généralement un ICN, un anti-métabolite et des corticoïdes à posologie réduite. Le remplacement de l'ICN par un inhibiteur de m-TOR (mammalian Target Of Rapamycin) peut être envisagé durant de cette période. Concernant leur mécanisme d'action, les immunosuppresseurs peuvent bloquer différentes étapes essentielles à l'activation des lymphocytes T. Leurs mécanismes d'action et leurs cibles respectives sont représentés schématiquement dans la Figure 3.

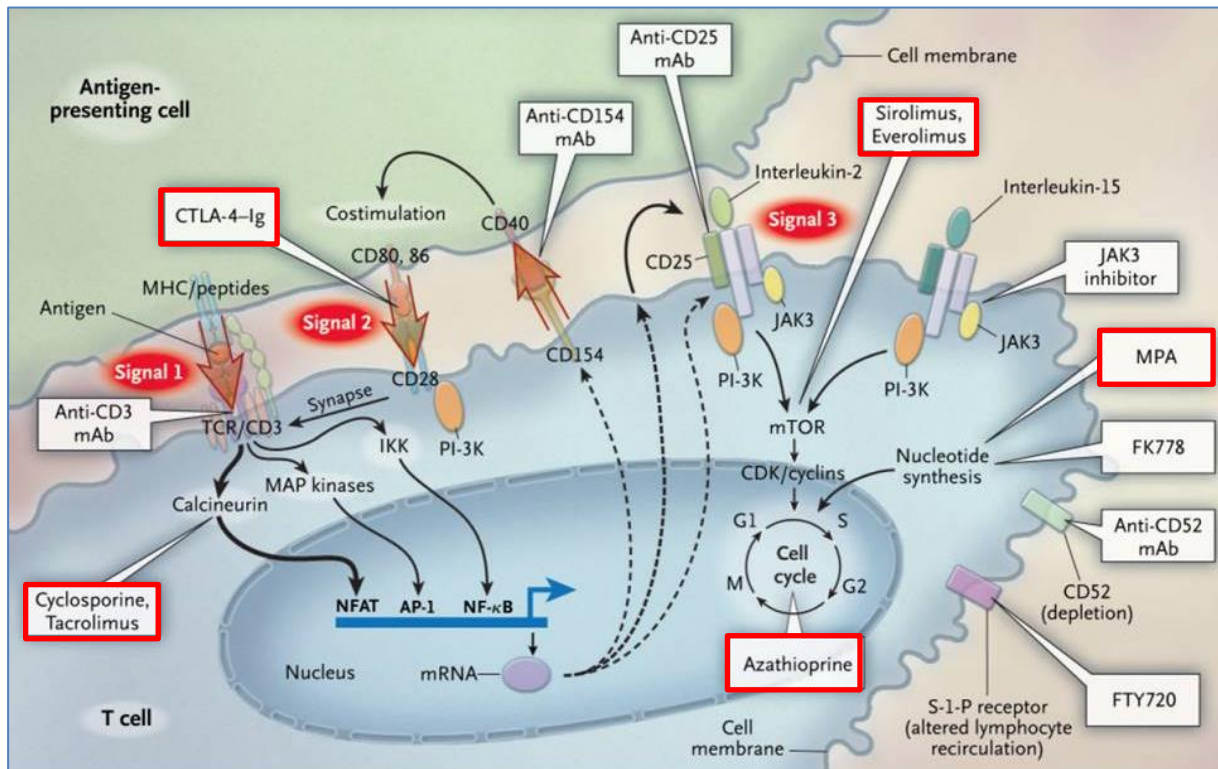


Figure 3. Mécanismes d'action des différents IS (13)

✧ Inhibiteurs de calcineurine (ICN) : ciclosporine et tacrolimus

Bien qu'ayant une structure chimique très différente, l'effet immunosuppresseur de la ciclosporine et du tacrolimus est dans les deux cas lié à l'inhibition de la synthèse de l'interleukine-2 (IL-2) via l'inhibition de la calcineurine. Dans le cytoplasme du lymphocyte T, la ciclosporine se lie à la cyclophiline A et le tacrolimus se lie au FKBP12 (FK binding protein 12). Une fois ce complexe ICN-immunophiline formé, la ciclosporine ou le tacrolimus se lient à la calcineurine, une protéine phosphatase cytoplasmique impliquée dans la régulation de la transcription des cellules eucaryotes. La calcineurine ainsi inhibée par la ciclosporine ou le tacrolimus n'a plus la capacité de déphosphoryler le NFAT (Facteur Nucléaire des Cellules T Activées). Ce facteur de transcription, resté à l'état phosphorylé, ne peut plus migrer dans le noyau et activer la transcription de l'IL-2, indispensable à l'activation des lymphocytes T. Le NFAT agit également sur la synthèse d'autres

interleukines impliquées dans la réponse immunitaire telles que l'IL-3, l'IL-4, l'interféron γ (IFN γ) et le TNF α (14).

D'un point de vue pharmacocinétique (PK), la ciclosporine et le tacrolimus présentent une forte variabilité interindividuelle. Des variations importantes à chaque étape de leur pharmacocinétique ont ainsi été décrites. L'absorption de la ciclosporine a lieu essentiellement au niveau du duodénum et du jéjunum (15). Elle est incomplète et très variable. En effet, la ciclosporine est un substrat de la glycoprotéine-P (P-gp), une protéine d'efflux fortement exprimée au niveau intestinal et présentant des polymorphismes génétiques responsables de variations de son expression et de son activité (16). La ciclosporine a un volume apparent de distribution compris entre 3 et 5 L/kg en moyenne et se concentre dans les érythrocytes (41 à 58%). Elle se lie à 90% aux protéines plasmatiques (17). Son métabolisme, essentiellement hépatique (90%), est à l'origine de la production de plus d'une vingtaine de métabolites. La ciclosporine est métabolisée en grande partie par le cytochrome P450 (CYP) 3A4 et dans une moindre mesure par le CYP3A5. Des polymorphismes génétiques ont été identifiés sur les gènes codant pour ces protéines et sont à l'origine de modifications de l'expression et de l'activité des CYP correspondants. L'allèle *CYP3A5*1* est par exemple à l'origine d'une augmentation de la production des métabolites de la ciclosporine *in vitro* (18). La ciclosporine étant un substrat du CYP3A4, de nombreuses interactions médicamenteuses ont été observées en cas d'association avec des inducteurs ou des inhibiteurs enzymatiques de ce CYP. Les inducteurs enzymatiques (carbamazépine, phénobarbital, phénytoïne, rifampicine...), en augmentant le métabolisme de la ciclosporine, entraînent un risque d'inefficacité et rejet du greffon. A l'inverse, les inhibiteurs enzymatiques (antifongiques azolés, inhibiteurs de protéase, jus de pamplemousse...) vont diminuer son métabolisme, entraînant une augmentation de la concentration circulante, ce qui potentialise le risque d'effets indésirables. L'élimination de la ciclosporine est biliaire à plus de 95%. Seul 0,1% de la dose administrée est retrouvé dans les urines sous forme inchangée.

La ciclosporine a pour principaux effets indésirables : tremblements, hirsutisme, hypertrophie gingivale, hypertension artérielle et troubles digestifs (anorexie, nausées, vomissements, diarrhée). Ces effets sont dose-dépendants et réversibles. L'utilisation de la ciclosporine au long cours est responsable de l'accumulation de la molécule et de ses métabolites dans les cellules tubulaires rénales conduisant à une fibrose tubulo-interstitielle irréversible pouvant entraîner une IRC voire une perte du greffon (18). Les variations de la fonction rénale n'influent pas sur les propriétés pharmacocinétiques de la molécule, cependant sa néphrotoxicité rend le suivi de la fonction rénale du patient indispensable (19). Le risque de cancers, commun à plusieurs classes d'IS, résultant de l'exposition chronique à certaines molécules sera développé ultérieurement.

Le tacrolimus possède des propriétés pharmacocinétiques différentes de la ciclosporine. Son absorption est faible et sa biodisponibilité par voie orale est comprise entre 20 et 25%. Comme la ciclosporine, il est substrat de la P-gp, du CYP3A4 et du CYP3A5 dont les nombreux polymorphismes expliquent en partie la grande variabilité interindividuelle de sa pharmacocinétique. Son volume de distribution est important ($98 \pm 13 \text{ L.kg}^{-1}$ chez les transplantés rénaux) (20) et il diffuse largement dans les tissus. Il est très fortement lié aux protéines plasmatiques (99%) et est fortement incorporé aux érythrocytes (le rapport de distribution sang total/plasma est compris entre 15 et 20) (21). Le tacrolimus est majoritairement métabolisé dans le foie, essentiellement par le CYP3A5, et dans une moindre mesure par le CYP3A4. Les polymorphismes du CYP3A5 sont à l'origine de fortes variations interindividuelles des concentrations en tacrolimus. Par exemple, les patients présentant le génotype *CYP3A5*1/*1* ont un métabolisme hépatique plus important et ont besoin de doses plus importantes pour atteindre l'équilibre thérapeutique (22). La demi-vie d'élimination du tacrolimus est comprise entre 12 et 15 heures et peut varier en cas de prise concomitante d'inducteurs ou d'inhibiteurs enzymatiques ou en cas d'altérations de la fonction hépatique (21). Seuls 2% du tacrolimus sont éliminés par voie urinaire. L'existence de variations

importantes à chaque étape de la PK du tacrolimus contribue à la variabilité interindividuelle très importante pour cette molécule. Les doses administrées pour atteindre la concentration thérapeutique varient ainsi d'un facteur 1 à 12 selon les patients (22). La grande variabilité de la pharmacocinétique des ICN justifie ainsi un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) afin d'adapter au mieux les posologies. D'autres facteurs indépendants de la PK de la molécule liés à la variabilité de la population cible peuvent également contribuer à cette variabilité (23). Le tacrolimus possède comme la ciclosporine une certaine néphrotoxicité, et les principaux effets indésirables observés lors de son utilisation sont : des néphropathies toxiques, des troubles métaboliques (hyperglycémie, diabète, hyperkaliémie) et des insomnies.

✧ Inhibiteurs de mTOR : sirolimus et évérolimus

Le sirolimus et l'évérolimus sont des macrolides qui ont une structure comparable à celle du tacrolimus. Ils se lient à la protéine FKBP12 et entraînent une inhibition de la protéine mTOR (Figure 3), une protéine kinase régulatrice du cycle cellulaire. Il en résulte une inhibition du cycle cellulaire et de la prolifération cellulaire, en particulier de la lignée lymphocytaire T (13).

Les caractéristiques pharmacocinétiques de ces 2 molécules sont assez comparables. L'absorption du sirolimus et de l'évérolimus est de 15% environ. Celle du sirolimus est fortement influencée par l'alimentation (24). Ils sont eux aussi des substrats de la P-gp, ce qui contribue aux variations interindividuelles de leur pharmacocinétique. Ils sont tous les deux largement distribués dans les tissus. L'évérolimus se concentre fortement dans les érythrocytes (95%) (24,25). La demi-vie d'élimination du sirolimus est beaucoup plus longue que celle de l'évérolimus (62 heures en moyenne vs. 28 heures). Ils sont très fortement métabolisés au niveau hépatique par le CYP3A4, mais également par les CYP3A5 et 2C8.

Ces différentes voies métaboliques possibles contribuent à leur forte variabilité interindividuelle et expliquent l'existence d'interactions médicamenteuses avec des inducteurs et des inhibiteurs enzymatiques de ces CYP (26,27). Le STP systématique des inhibiteurs de mTOR est donc recommandé. Cette classe thérapeutique peut être à l'origine de différents effets indésirables nécessitant parfois une modification du traitement. Ils sont le plus souvent d'ordre hématologique (anémie, thrombopénie, leucopénie, myélosuppression) et métabolique (dyslipidémies), un retard à la cicatrisation a également été observé (28).

✧ Anti-métabolites : mycophénolate mofétil (MMF) et azathioprine

Le MMF est une prodrogue rapidement métabolisée en acide mycophénolique (MPA) au niveau gastro-intestinal. Le MPA est un inhibiteur sélectif, non compétitif et réversible de l'inosine monophosphate déshydrogénase (IMPDH), enzyme clé de la synthèse *de novo* des nucléotides à guanine. Dans les lymphocytes, il n'existe pas de voie de sauvetage pour la synthèse des nucléotides. Le MPA inhibe ainsi leur seule source de guanine (14). De façon intéressante, le MPA a une sensibilité 4 fois plus importante pour l'isoforme 2 de l'IMPDH qui est l'isoforme principalement exprimée par les lymphocytes activés. L'inhibition est donc assez sélective des lymphocytes T.

D'un point de vu PK, le MPA possède une biodisponibilité par voie orale comprise entre 80 et 94%. Il est largement distribué dans les tissus et se lie à 97-99% aux protéines plasmatiques (23). Il est métabolisé au niveau hépatique par les glucuronyl transférases (UGT) en métabolites inactifs. Le métabolite principal est le MPAG (mycophenolic acid glucuronide). Il est partiellement excrété dans la bile puis est déconjugué en MPA par des bactéries au niveau intestinal. Ce cycle entéro-hépatique est responsable d'un rebond des concentrations en MPA (29). Une faible proportion du MPAG et des autres métabolites glucuroconjugués sont également éliminés par voie urinaire. Sa demi-vie d'élimination est comprise entre 9 et 17

heures en moyenne (30). L'altération de la fonction hépatique et, dans une moindre mesure, de la fonction rénale peuvent donc influencer l'élimination du MPA (31). Les effets indésirables les plus souvent observés sont des troubles digestifs (diarrhées, vomissements), des troubles hématologiques (leucopénie) et des infections.

L'azathioprine est le dérivé nitro-imidazolé de la 6-mercaptopurine. Après administration, la molécule se dissocie en 6-mercaptopurine qui traverse les membranes cellulaires, puis se convertit en thio-analogue de la purine. Ce dernier s'incorpore au sein de l'ADN pour inhiber de façon compétitive les enzymes essentielles à la synthèse *de novo* des bases puriques (adénine et guanine) de l'ADN (32). L'azathioprine est un des IS les plus anciens et il est très peu utilisé dans les schémas thérapeutiques actuels. Il présente une hémato-toxicité importante (cytopénies, myélosuppression) qui nécessite un suivi biologique régulier. Les effets indésirables observés sont dose-dépendants et réversibles à l'arrêt du traitement.

✧ Bloqueur sélectif de co-stimulation : bélatacept

Le bélatacept est une protéine de fusion soluble composée par le domaine extracellulaire du CTLA4 associé au domaine Fc d'une IgG humaine. Le bélatacept se lie aux récepteurs CD80 et CD86 présents à la surface des cellules présentatrices de l'antigène et inhibe ainsi l'interaction entre CD28 et ses ligands, CD80 et CD86, essentielle pour initier la réponse lymphocytaire T spécifique de l'antigène. Ce nouvel IS a obtenu son autorisation de mise sur le marché en France en 2011 en association aux corticoïdes et au MMF dans la prévention du rejet du greffon chez les patients transplantés rénaux adultes. Il est administré par voie intraveineuse dès le premier jour de la transplantation, une fois par semaine pendant 12 semaines puis une fois toutes les 4 semaines selon les modalités indiquées dans le RCP (Résumé des Caractéristiques du Produit) (33). Sa faible néphrotoxicité et son efficacité importante en font un traitement IS intéressant dans l'arsenal thérapeutique actuel. Cependant,

la commission de transparence de la Haute Autorité de Santé (HAS) a conclu en 2011, en 2014 et en 2016 à une amélioration du service médical rendu « faible » (ASMR IV), c'est pourquoi il n'est pas actuellement remboursé par la sécurité sociale et donc peu utilisé dans la pratique courante en France (34). Les dernières données issues des études de phase III du bélatcept, après 7 ans de traitement, concluent à une diminution du risque de décès des patients et de la perte du greffon (43% chacun), ainsi qu'à une amélioration de la fonction rénale dans les groupes traités par bélatcept par rapport à ceux sous ciclosporine. Les effets indésirables n'étaient pas augmentés dans cette étude dans chacun des groupes (35). Cependant, la plupart des études ont comparé le bélatcept à la ciclosporine, alors que le tacrolimus tend de plus en plus à remplacer la ciclosporine dans les protocoles thérapeutiques actuels. Récemment, seule une étude a montré que le bélatcept avait des propriétés similaires au tacrolimus (36).

Ainsi, le traitement IS a permis une nette diminution du rejet aigu de greffe. Cependant, l'augmentation de la survie des patients est contrebalancée par l'apparition de cancers qui représentent désormais la deuxième cause de décès chez les patients transplantés (37).

2) Problématique des complications néoplasiques post-transplantation

a- Epidémiologie des cancers post-transplantation

Dans la population transplantée, le risque de développer un cancer est augmenté par un facteur 2 à 3 par rapport à la population générale (38). Ce risque varie selon l'organe transplanté et le type de cancer observé. Le Tableau II résume les résultats de différentes études menées dans plusieurs pays et reprend pour chacune le risque relatif de développer un cancer selon l'organe transplanté (rein, foie, cœur ou poumon) par rapport à la population générale de même âge et de même sexe (37).

Tableau II. Risque de cancer chez les patients transplantés selon l'organe transplanté (37)

Site and comparator national population	SIRs with 95% confidence intervals for different organ transplant recipients			
	Kidney	Liver	Heart	Lung
All site				
Australia	3.3 (3.1–3.7)	2.3 (1.9–2.7)	2.7 (2.4–3.0)	4.3 (3.5–5.2)
Canada	2.5 (2.3–2.7)		2.7 (2.3–3.2)	
Finland	3.3 (2.9–3.8)			
Sweden	3.9 (3.6–4.2)	4.9 (3.7–6.4)		
United Kingdom	2.4 (2.3–2.5)	2.2 (2.0–2.4)	2.5 (2.2–2.7)	3.6 (3.0–4.4)
United States	2.10 (2.06–2.14)			

Les cancers observés chez les patients transplantés sont généralement plus agressifs. Ils apparaissent ainsi à un stade plus avancé que dans la population générale malgré un suivi régulier chez ces patients. De plus, ils présentent une survie plus faible de 10% par rapport à la population générale (39). Le risque de cancer est le plus élevé durant les deux premières années suivant la transplantation, puis augmente à nouveau 5 à 10 ans après la transplantation (39). De nombreuses études de registre ont suivi les patients transplantés et ont recensé les cancers apparus. Elles ont permis de calculer les risques de cancer après un appariement sur l'âge et sur le sexe. Ces études pointent une épidémiologie particulière des cancers dans la population transplantée. Ainsi, de façon intéressante, l'incidence de certains cancers fréquents dans la population générale (comme les cancers du sein ou de la prostate) n'est pas

augmentée. En revanche d'autres cancers, rarement observés dans la population générale (cancer de la peau, lymphome, cancer du rein), sont plus fréquents (38,40,41). C'est le cas du carcinome rénal qui représente la deuxième cause de cancer chez le patient transplanté après les cancers cutanés. Les patients transplantés rénaux présentent un risque de carcinome rénal 15 fois supérieur à celui de la population générale (41), ce cancer sera plus particulièrement étudié au cours de ce travail. Dans ce contexte, la cancérogénèse est complexe et multifactorielle. Des facteurs de risque propres au patient ont été mis en évidence. Comme dans la population générale l'âge, le sexe, le tabagisme, l'obésité, les antécédents de cancers et de traitement immunosuppresseurs semblent favoriser l'apparition des cancers (37). En dehors de ces facteurs de risque, la diminution des capacités du système immunitaire dans son rôle de surveillance des cellules tumorales, les infections par des virus pro oncogènes et le rôle du traitement IS ont également été impliqués dans le développement des cancers post-transplantation.

b- Rôle du système immunitaire

Le traitement au long cours par les IS entraîne une immunodépression constante chez les patients transplantés. Selon le concept d'immuno-surveillance du cancer, le système immunitaire est capable de reconnaître et d'éliminer les cellules tumorales de l'organisme grâce à la coopération de nombreux acteurs du système immunitaire tels que les cellules NK (Natural Killer), les lymphocytes T et B, et certains médiateurs comme l'IL-2 (42). Le système immunitaire des patients immunodéprimés n'est donc plus en capacité d'assurer son rôle de surveillance entraînant un déséquilibre en faveur de la tumeur. La prise de conscience de l'importance du système immunitaire est illustrée par plusieurs développements thérapeutiques récents. Il existe ainsi désormais des Ac monoclonaux dirigés contre les récepteurs PD1 (Programmed Death 1) présents à la surface des lymphocytes T. Après liaison avec leurs ligands PD-L1 et PD-L2 (programmed death ligand 1 et 2) présents au niveau des

cellules tumorales, ces récepteurs entraînent une réponse cellulaire favorisant l'échappement de la tumeur. Ainsi, le nivolumab, par l'inhibition de ce mécanisme restaure la réponse antitumorale. Il est indiqué en monothérapie dans le traitement des carcinomes rénaux avancés après traitement antérieur (43).

c- Virus pro oncogène

De nombreux virus ont un pouvoir oncogène prouvé. Le lien entre certains virus et le développement de cancers a déjà été mis en évidence dans différentes études (37,39) et est résumé dans le Tableau III.

Tableau III. Principaux virus oncogènes et pathologies associées (44).

Virus	Cancer(s) associé(s)
EBV (Epstein Barr Virus)	Lymphomes, syndromes lymphoprolifératifs
HPV (Human PapillomaVirus)	Cancers cutanés et cutanéomuqueux
HHV 8 (Human Herpes Virus 8)	Sarcome de Kaposi
VHB (Virus de l'Hépatite B) VHC (Virus de l'Hépatite C)	Hépatocarcinome
HTLV (Human T Lentivirus)	Lymphomes non Hodgkiniens

L'étiologie virale a ainsi été retrouvée dans des cancers post-transplantation fréquemment rencontrés et justifie la nécessité du suivi virologique sur le long terme (45).

d- Rôle propre des traitements IS

De plus en plus d'études soulignent le rôle propre de certains IS en dehors de leur action sur le système immunitaire (39). Parmi les molécules utilisées contre le rejet chronique, certaines ont un effet protecteur, c'est le cas des inhibiteurs de mTOR (44). Chez les patients transplantés rénaux, ils ont été associés à une forte diminution du risque de cancers cutanés et

non cutanés par rapport aux patients traités par ICN (46). Plusieurs mécanismes expliquent cet effet. La protéine mTOR à laquelle se lient les molécules de cette famille est une protéine kinase impliquée dans la prolifération, la mobilité et la néo-vascularisation. Ces actions sont à l'origine à la fois de leur activité immunosuppressive mais également d'une activité anti tumorale (47). Le sirolimus a un effet anti-angiogénique *in vitro* et *in vivo* lié à une diminution de la production du VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor). Cette action entraîne donc une diminution de la croissance tumorale (48). Ainsi, chez les patients transplantés rénaux, le sirolimus diminuerait le risque global de cancer de 40%, voire de 56% pour les cancers cutanés. En revanche, il serait associé à une augmentation du risque de décès de cause infectieuse et cardiovasculaire (49). Cependant, malgré leurs propriétés antiprolifératives et leur faible néphrotoxicité, les inhibiteurs de mTOR ne sont pas recommandés en première intention immédiatement après la transplantation. En effet, leur utilisation dans la prévention du rejet d'allogreffe rénale est limitée car ils ont un effet immunosuppresseur moins puissant que les ICN. Ceci a été mis en évidence par une augmentation du risque de rejet à 3 mois chez les patients traités par sirolimus par rapport à ceux sous ciclosporine (17% vs. 8% ; $p = 0,071$) (50).

Pour le MMF et les glucocorticoïdes, l'effet sur la cancérogénèse est plus contradictoire. Le MMF a initialement été développé comme une molécule « anti-cancer » grâce à ses effets sur l'inhibition de la synthèse de l'ADN et son action antiproliférative. Cette action a été démontrée *in vitro* mais reste à prouver *in vivo* (37,51). Les glucocorticoïdes ont un effet cytotoxique sur les lignées tumorales d'origine hématopoïétique, de plus, une action sur l'angiogenèse par diminution de la production du VEGF a été décrite (52,53). D'autres études *in vitro* suggèrent au contraire une action pro-oncogène. Cependant, ces effets ayant été observés à des doses bien supérieures à celles utilisées en thérapeutique, il est actuellement difficile de conclure (51).

Concernant les ICN et l'azathioprine, de nombreuses études sont en faveur d'une stimulation des cancers. L'azathioprine augmente le risque de cancers cutanés. En effet, les dérivés thiopurines sont instables et s'oxydent rapidement sous l'effet des rayonnements UV. Ceci entraîne l'oxydation du dérivé 6-thioguanine incorporé au sein de l'ADN et facilite les cassures de l'ADN, à l'origine de l'initiation de la cancérogénèse (54). Plusieurs mécanismes ont été impliqués dans l'action pro oncogène des ICN. Celui lié à une augmentation du TGF β a été associé à une augmentation de l'agressivité et de la dissémination métastatique des cellules cancéreuses (55). *In vivo*, les souris porteuses d'un adénocarcinome colique et traitées par ciclosporine avaient des concentrations sériques de VEGF significativement plus élevées que les souris témoins. De même, la taille de la tumeur et la densité des capillaires sanguins étaient plus importantes chez les souris sous ciclosporine (48). Des études *in vitro* réalisées dans plusieurs lignées cellulaires de carcinome rénal exposées à la ciclosporine sont également en faveur d'une augmentation de l'expression du VEGF (56).

II- Cancer du rein

1) Epidémiologie et classification

Dans la population générale, le cancer du rein représente en France le 7^{ème} cancer chez l'adulte avec plus de 11 000 nouveaux cas par an (57). En 2016, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a modifié la classification de 2004 des tumeurs rénales en tenant compte des avancées en génétique et en biologie moléculaire ayant permis de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie (58,59). Les tumeurs rénales sont désormais regroupées en plusieurs catégories en fonction de l'origine tissulaire de la tumeur. Les tumeurs malignes à cellules rénales (ou carcinome rénal, RCC, renal cell carcinoma), d'origine épithéliale (60), représentent 80% des tumeurs du rein (61). Parmi ces carcinomes rénaux, les 2 types histologiques les plus souvent rencontrés sont le carcinome rénal à cellules claires dans près de 70 % des cas (ccRCC) et le carcinome rénal papillaire dans 15% des cas (pRCC) (62). Les autres catégories sont nombreuses mais ne représentent qu'une faible proportion des tumeurs rénales observées et ne seront pas abordées dans ce travail.

L'agressivité de la tumeur peut être évaluée grâce aux grades de Fuhrman qui sont corrélés à la survie. L'échelle de Fuhrman est déterminée selon les caractéristiques morphologiques des noyaux des cellules tumorales et se décompose en 4 grades histo-pronostiques d'agressivité croissante (Tableau IV.) (63,64). Dans la nouvelle classification de l'OMS de 2016, elle n'est plus utilisée que pour les ccRCC et pRCC (58).

Tableau IV. Grades de Fuhrman.

Grade de Fuhrman	Caractéristiques histologiques	Survie à 5 ans	Risque de survenue de métastases
I (28%)	petits noyaux ronds (10µm), contours réguliers, pas de nucléoles	76%	2%
II (30%)	noyaux plus volumineux (15 µm), légèrement irréguliers	72%	9%
III (30%)	noyaux volumineux (20 µm), contours très irréguliers	51%	17%
IV (10%)	idem grade III + présence de cellules monstrueuses	43%	30%

2) Physiopathologie

Le gène Von Hippel-Lindau (*VHL*) est un gène suppresseur de tumeur. Il est inactivé dans 60 à 70% des cas sporadiques de ccRCC (65). La protéine VHL (pVHL) est une protéine clé dans la réponse tissulaire à l'hypoxie. En situation normoxique, la sous-unité α de HIF (Hypoxia Inducible Factor) est hydroxylée rendant possible la liaison avec pVHL (Figure 4). Cette liaison active la dégradation de HIF- α via le protéasome et empêche ainsi l'accumulation de HIF en normoxie. En cas d'hypoxie ou de dysfonctionnement de pVHL, l'absence d'hydroxylation empêche la liaison entre pVHL et HIF- α . Il en résulte une accumulation de HIF dans le cytoplasme puis une migration dans le noyau. Après hétérodimérisation avec HIF- β , le facteur de transcription HIF est capable d'activer l'expression de gènes codant pour des facteurs de croissance tels que le VEGF, le TGF β (Transforming Growth Factor) et le PDGF-B (Platelet Derived Growth Factor B chain) ayant un rôle important dans la signalisation angiogénique et la tumorigenèse (Figure 4) (65,66).

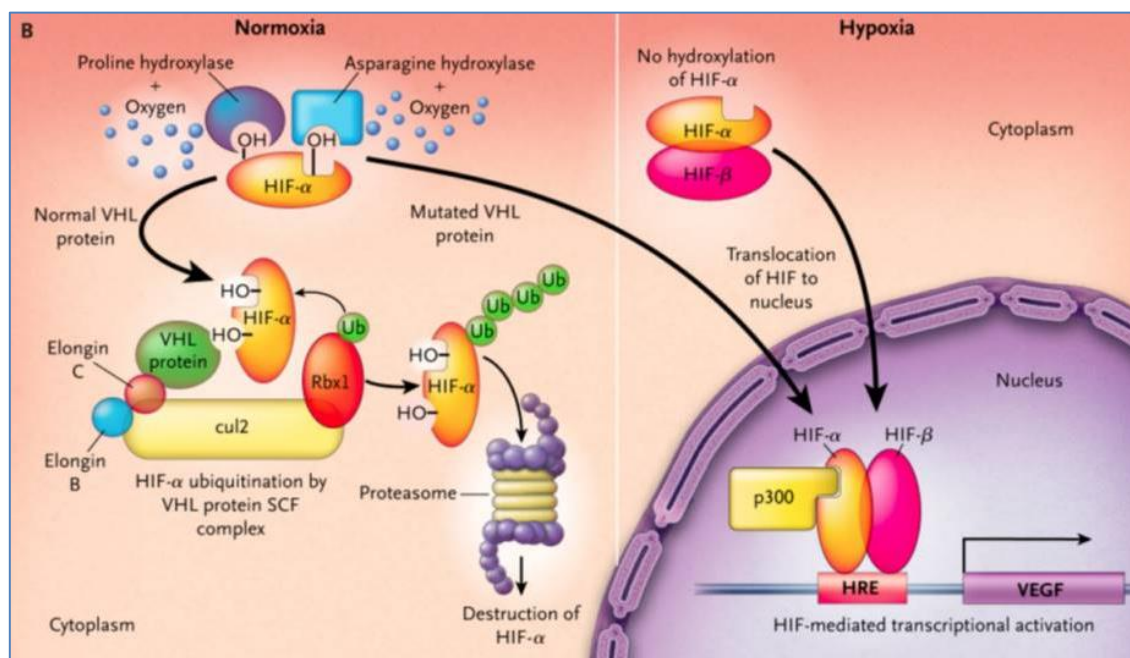


Figure 4. Mécanismes moléculaires du développement du ccRCC (66)

En cas d'inactivation de *VHL*, pVHL n'a plus la capacité de dégrader HIF- α qui s'accumule de façon inappropriée même en situation normoxique. Ceci entraîne une surexpression du VEGF ayant des effets autocrine et paracrine impliqués dans l'angiogenèse et la croissance des cellules tumorales (67). La mutation du gène *VHL* a été découverte en 1993 et a permis une meilleure compréhension de la physiopathologie du ccRCC (68). Plus récemment, d'autres gènes impliqués dans le remodelage de la chromatine ont été identifiés : *BAP1*, *SETD2* et *PBRM1*. Ils sont mutés dans respectivement 8 à 11%, 3 à 12% et 41% des cas de ccRCC. D'autres gènes impliqués dans la méthylation et le maintien de la chromatine tels que *KDM5C* et *KDM6A* ont également été identifiés (69). Concernant le pRCC qui représente 15 à 20% des tumeurs rénales (62), certaines mutations particulières ont été mises en évidence. Les pRCC de type 1 ont été associés à des mutations du gène *MET* (70). Cet oncogène code pour une protéine kinase impliquée dans la survie et la migration cellulaire (71). Les pRCC de type 2, ont été associés à des mutations et/ou des altérations de *CDKN2A*, *SETD2* et *TFE3* qui sont des gènes ayant un rôle dans la modification de la chromatine (70).

Le VEGF apparaît comme ayant un rôle central dans l'apparition et dans le développement du carcinome rénal et plus particulièrement du ccRCC. Son importance est d'ailleurs soulignée par les nombreux développements dont il fait actuellement l'objet en thérapeutique (Bevatizumab, anticorps neutralisant du VEGF ; sunitinib, sorafenib et pazopanib inhibiteurs des récepteurs du VEGF) (72).

III- Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

1) Fonctions et régulation

a- Généralités

Le VEGF comprend 5 isoformes : A, B, C, D et le PLGF (PLacenta Growth Factor). Le VEGFA est l'isoforme principale. Elle est exprimée dans de nombreux types cellulaires, en particulier, dans les cellules endothéliales (73). Le VEGF a un rôle essentiel dans l'angiogenèse, tant physiologique que pathologique. Il permet de stimuler la prolifération et la migration des cellules endothéliales, et augmente la perméabilité vasculaire. Il exerce également une action sur la tumorigenèse en maintenant le pool de cellules souches tumorales.

L'expression du VEGF est régulée par différents mécanismes. L'hypoxie et le facteur de transcription HIF jouent un rôle central dans la régulation de la transcription du VEGF. La fixation du VEGF aux récepteurs tyrosine kinase VEGFR (VEGF Receptor) et aux neuropilines (NRP) est indispensable pour activer les voies de signalisation angiogénique. Il existe 3 récepteurs de type tyrosine kinase pour le VEGF : le VEGFR1 ou Flt-1 (fms-like tyrosine kinase 1), le VEGFR2 ou KDR (Kinase Domaine Receptor) et le VEGFR3 ou Flt-4 (74). Le VEGFR1 est exprimé par de nombreux types cellulaires : les cellules endothéliales vasculaires, les monocytes, les macrophages, les trophoblastes, les cellules mésangiales rénales, les cellules dendritiques, et également par certaines cellules tumorales. Le VEGFA a une forte affinité pour ce récepteur. Le VEGFB et le PLGF peuvent également s'y lier et avoir une action sur l'angiogenèse, l'inflammation, la consommation des acides gras ou encore le développement embryonnaire (73). Le VEGFR2 est retrouvé essentiellement à la surface des cellules endothéliales vasculaires et sur les cellules tumorales (73). Le VEGFA s'y lie mais avec moins d'affinité que pour le VEGFR1. Le VEGFC et le VEGFD peuvent également s'y fixer. Le VEGFR2 est le médiateur clé de la différenciation des cellules endothéliales et de

l'angiogenèse tumorale. Son expression est également augmentée dans certaines tumeurs comme dans le carcinome rénal (75) où il joue un rôle dans le maintien du pool de cellules tumorales. Le VEGFR3 est exprimé par les cellules endothéliales lymphatiques et se lie au VEGFC et au VEGFD. Le VEGFR3 agit essentiellement sur la lymphangiogenèse. L'affinité du VEGF pour les récepteurs VEGFR1 et VEGFR2 peut être potentialisée via d'autres récepteurs, les NRP. Ces derniers peuvent également agir comme des récepteurs directs du VEGF. Il existe deux types de NRP : NRP1 et NRP2. L'expression de NRP2 a été observée *in vitro* et *in vivo* dans des cellules de ccRCC (76).

b- Rôles et fonctions

Les différentes fonctions du VEGF au sein des cellules tumorales sont représentées dans la Figure 5.

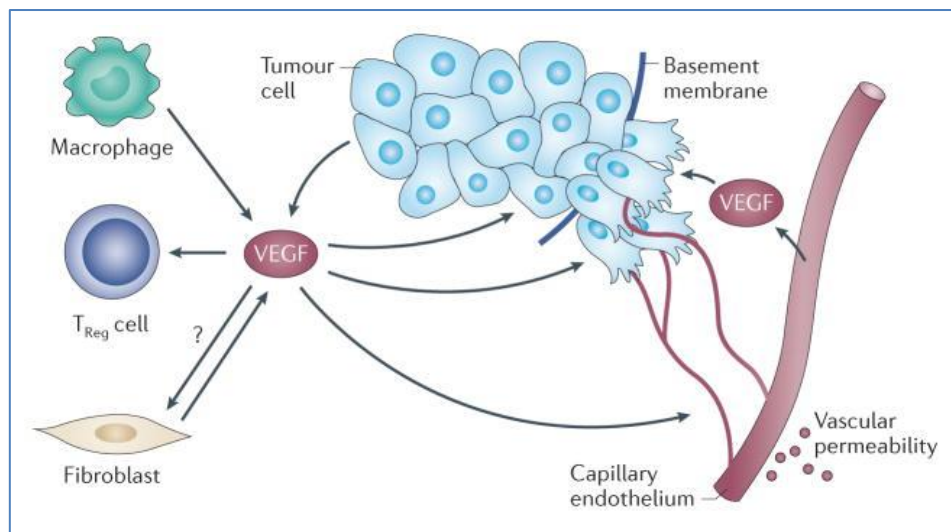


Figure 5. Rôles du VEGF au sein des cellules cancéreuses (67)

Le VEGF stimule l'angiogenèse via l'activation de ses récepteurs et la stimulation de voies de signalisation spécifiques (RAS-RAF-MERK-ERK ; PI3K-AKT-mTOR). Il en résulte une prolifération et une migration des cellules endothéliales ainsi qu'une dégradation et un

remodelage de la matrice extracellulaire nécessaires à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins. L'action du VEGF sur les cellules endothéliales permet également d'augmenter la perméabilité vasculaire nécessaire à l'afflux de facteurs de croissance et de nutriments indispensables au développement de la tumeur. Le VEGF a également une action autocrine médiée par le VEGFR2 et les NRP permettant de maintenir le pool de cellules souches tumorales et garantir l'auto-renouvellement des cellules de la tumeur. Le VEGF peut aussi agir sur la réponse immunitaire anti tumorale par l'inhibition des lymphocytes T régulateurs (67).

Dans l'étude du cancer du rein chez le patient transplanté, le VEGF apparaît donc être une cible particulièrement intéressante. En effet il est à la fois impliqué dans la physiopathologie du cancer rénal (66) et dans l'effet pro carcinogène des ICN (77).

2) Polymorphismes du VEGF

Un polymorphisme génétique se définit par la présence de variations communes et fréquentes au sein de gènes dans une population, à l'origine de variations phénotypiques mineures expliquant les différences entre les individus. Les plus répandus sont les SNPs (single nucleotide polymorphisms), et correspondent à la modification d'un seul nucléotide dans la séquence génétique. Le gène codant pour le VEGFA est situé sur le bras court du chromosome 6 (6p21.1) et compte 8 exons. Il s'agit d'un gène hautement polymorphe avec des SNPs présents au niveau des régions régulatrices de sa transcription.

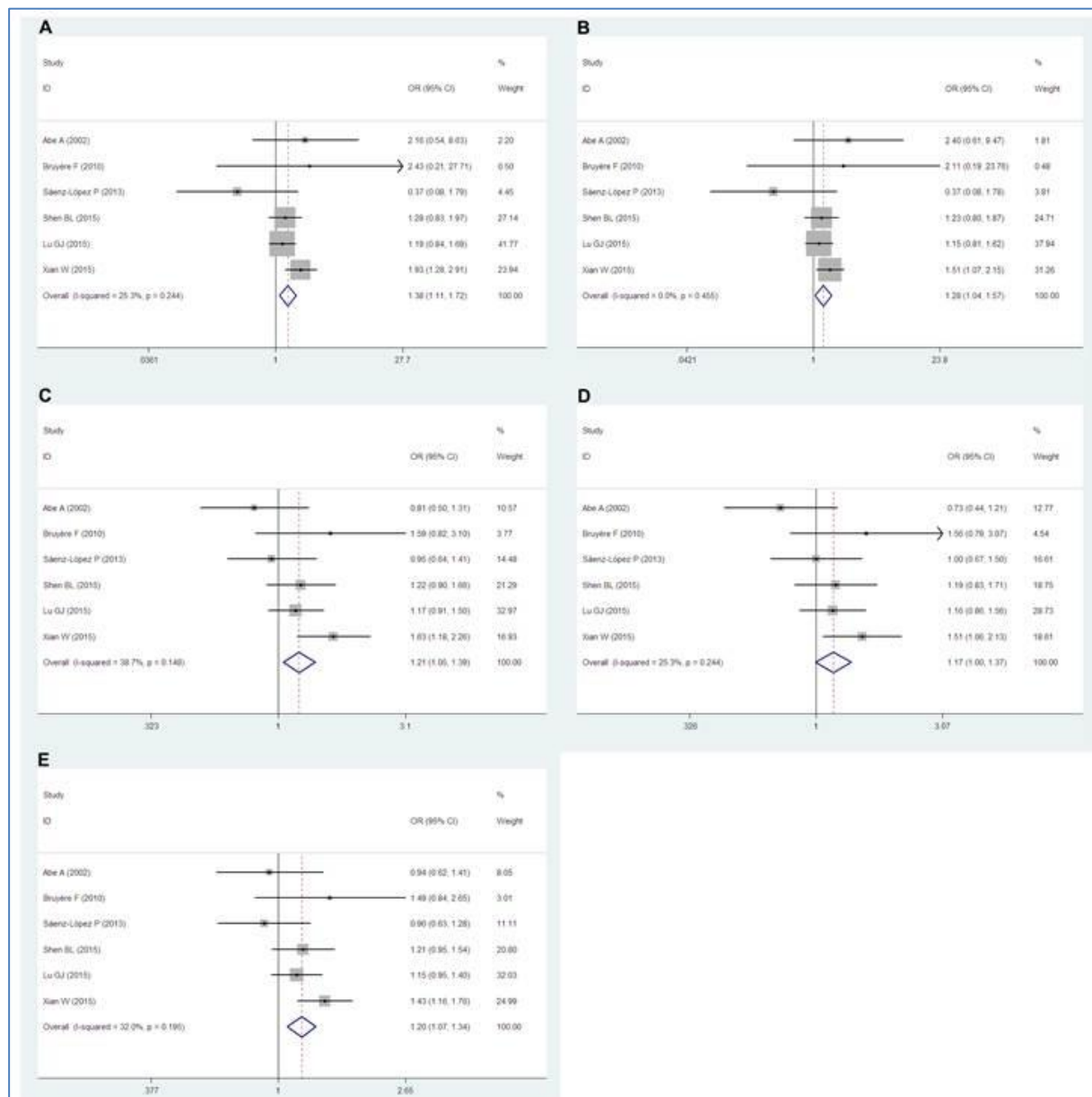
Au cours des dernières années, de nombreuses études évaluant l'impact des différents polymorphismes du *VEGF* dans différents cancers ont été réalisées (78–80). La variabilité génétique du *VEGF* a ainsi été étudiée avec succès dans certains cancers (foie, prostate, sein, vessie) (81). Plusieurs polymorphismes ont par ailleurs été associés au taux circulant de VEGF (*VEGFA* c.-2578 A>C (rs699947), *VEGFA* c.-1154 G>A (rs1570360), *VEGFA* c.-460

C>T (rs833061), *VEGFA* c.-634 G>C (rs2010963), *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039)) (81). Chez des patients sains, le génotype *VEGFA* c.-634 GG (rs2010963) a été associé à un niveau d'expression du VEGF augmenté (82). Concernant le polymorphisme *VEGFA* c.-460 C>T, l'augmentation de la transcription du *VEGF* a été expliquée par un déséquilibre de liaison total avec une insertion de 18 pb qui est un site de fixation pour le facteur de transcription Sp1 (83). Le VEGF jouant un rôle clé dans la physiopathologie du carcinome rénal, des études ont recherché une association entre le risque de carcinome rénal et les polymorphismes du gène codant pour le VEGF dans la population générale.

a- Polymorphismes du VEGFA et risque de carcinome rénal

Les résultats des études ayant évalué l'association entre les polymorphismes du *VEGFA* et le risque de carcinome rénal sont parfois contradictoires. Les SNPs étudiés, la population et le nombre de sujets inclus doivent être pris en compte afin d'interpréter correctement ces résultats. Sáenz-López *et coll.* n'ont pas retrouvé d'effet dans la population espagnole pour les polymorphismes suivants : c.-2578 A>C (rs699947), c.936 C>T (rs3025039), c.-460 C>T (rs833061) et c.-634 G>C (rs2010963) (84). En revanche, Bruyère F. *et coll.* ayant étudié les polymorphismes c.-460 C>T (rs833061), c.936 C>T (rs3025039), c.-634 G>C (rs20105963) et c.-1154 G>A (rs1570360) ont montré que les patients ayant un génotype c.-460 TT (rs833061) avaient un risque de carcinome rénal augmenté (85). Dans une étude menée dans la population chinoise, c'est le génotype c.-460 CC (rs833061) qui a été lié à une augmentation du risque de carcinome rénal (86). Ces données soulignent l'importance de l'origine ethnique et de la confirmation *in vitro* de l'effet d'un SNP. Une méta-analyse récente regroupant les données de 8 études a conclu à l'augmentation significative du risque de carcinome rénal chez les patients porteurs du génotype c.-2578 AA (rs699947) et chez ceux porteurs du génotype c.936 TT (rs3025039). Ainsi, parmi ces 8 études, 5 ont étudié le SNP c.-2578 A>C (rs699947) (84,86–89). Seule l'équipe de Sáenz-López n'a pas retrouvé

d'association significative avec le risque de carcinome rénal (84). Les 4 autres équipes ont montré que le génotype AA ou l'expression de l'allèle A augmentait ce risque. Concernant le SNP c.936 C>T (rs3025039), les résultats de la méta-analyse (90) sont présentés dans la Figure 6.



A. TT vs. CC (OR = 1,38) ; B. TT vs. CT+CC (OR=1,28) ; C. CC vs. TT+CT (OR=1,21) ;
D. CT vs. CC (OR=1,17) ; E. allèle T vs. allèle C (OR=1,20)

Figure 6. Forest plots entre le polymorphisme VEGFA c.936 C>T (rs3025039) et le risque de carcinome rénal selon différents modèles génétiques (90)

Cette méta-analyse a mis en évidence le lien entre le polymorphisme c.936 C>T (rs3025039) et le risque de carcinome rénal. Ce risque est augmenté chez les patients présentant l'allèle T, quelque soit le modèle génétique utilisé. L'association des polymorphismes c.-2578 A>C (rs699947) et c.936 C>T (rs3025039) aux concentrations circulantes de VEGF confirme par ailleurs l'intérêt de ces polymorphismes dans le carcinome rénal (78,91–93). En revanche, il n'a pas été mis en évidence d'association entre le risque de carcinome rénal et les autres polymorphismes du *VEGFA* étudiés dans la méta-analyse de Gong *et al* (c.1612 G>A (rs10434), c.-460 C>T, c.-634 G>C (rs2010963) et c.-1154 G>A (rs1570360)) (90). Les résultats des différentes études, sont résumés dans le Tableau V.

b- Polymorphismes du VEGF et agressivité du carcinome rénal

Une relation entre le niveau d'expression du VEGF dans les tumeurs rénales (surtout celles de type ccRCC) et la survie globale des patients ayant été mise en évidence, des études se sont intéressées à l'impact des polymorphismes du *VEGFA* sur l'agressivité du carcinome rénal (94). Dans ces études, la taille de la tumeur, le stade de la maladie et/ou la survie des patients atteints de carcinome rénal ont été pris en compte. Cependant, la plupart de ces études ayant été effectuée sur les populations asiatiques, les résultats sont difficilement superposables à la population caucasienne et doivent être interprétés avec précaution. L'étude d'Abe *et al* n'a pas montré de corrélation entre le grade la tumeur et les SNPs c.936 C>T (rs3025039) et c.1612 G>A (rs10434) dans la population japonaise (95). Une autre étude japonaise ayant étudié 3 polymorphismes du *VEGFA* (c.-2578 A>C (rs699947), c.-1154 G>A (rs1570360) et c.-634 G>C (rs2010963)) a montré une association entre la survie, le nombre de métastases et le polymorphisme c.-2578 A>C. Une association entre la taille, le stade de la tumeur et le polymorphisme c.-1154 G>A (rs1570360) a également été observé. En revanche, aucune association avec le pronostic ou la survie n'a été mise en évidence avec le polymorphisme c.-634 G>C (rs2010963) (96). Trois équipes chinoises ont également étudié

ces 3 polymorphismes mais leurs conclusions diffèrent malgré un nombre important de patients inclus et une population *a priori* homogène d'une étude à l'autre (97–99). Les seuls résultats concordants concernaient le polymorphisme c.-2578 A>C (rs699947) : le génotype AA a été associé à des tumeurs plus grandes, de stade plus élevé et à une survie diminuée. Dans la population caucasienne, les études sont plus rares. En 2012, Scartozzi *et al*, ont montré chez les patients traités par sunitinib une survie (globale et sans progression) diminuée pour les génotypes c.-2578 CC (rs699947), c.-460 TT (rs833061) et c.-634 CC (rs2010963) (100). Une étude allemande, réalisée chez des patients atteints de carcinome rénal métastaté et traités par sunitinib, a montré une diminution de la survie sans progression chez les patients présentant le génotype c.-2578 AA. Aucune association n'a été mise en évidence pour les autres SNP étudiés (c.-1154 G>A (rs1570360), c.-634 G>C (rs2010963) et c.936 C>T (rs3025039)) (101). L'ensemble des résultats de ces études sont repris dans le Tableau V.

3) Polymorphismes des gènes codant pour les VEGFR

Le gène codant pour le VEGFR2 (*KDR*) est localisé en 4q12 et est composé de 30 exons. Celui codant pour le VEGFR3 (*FLT4*) est situé en 5q35.3 et comporte 35 exons. Les VEGFR2 et VEGFR3, récepteurs très impliqués dans l'angiogenèse tumorale, sont également la cible des traitements anticancéreux du carcinome rénal (Sunitinib, Sorafenib, Pazopanib ou encore Axitinib).

Les études recherchant une association entre le carcinome rénal et les polymorphismes des gènes codant pour les récepteurs du VEGF sont rares. Il s'agit essentiellement d'études concernant la relation entre les polymorphismes des récepteurs du VEGF et la réponse au traitement spécifique par les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK), sunitinib pour la plupart. La réponse au traitement est évaluée par la survie globale ou la survie sans progression des patients. Dans certaines études, l'association entre les polymorphismes du *VEGF* ou de ses

récepteurs et la survenue d'effets indésirables des ITK a également été recherchée. En 2011, une étude prospective et multicentrique espagnole a recherché des marqueurs génétiques de survie et/ou de toxicité du sunitinib afin de prévoir la réponse ou la non réponse au traitement (102). Seize polymorphismes dont certains sur les gènes *VEGFA*, *FLT4* et *KDR* ont été étudiés. Une diminution significative de la survie sans progression pour les polymorphismes *FLT4* c.1480 AG (rs307826) et *FLT4* c.3971 GT (rs307821) ($p=0,0079$ et $p=0,014$ respectivement), et une légère diminution de la survie globale (non significative) associée au polymorphisme *KDR* c.1416 TA (rs1870377) ont été mises en évidence (102). Ce dernier a également été étudié par Scartozzi *et al.* dans une étude du même type mais n'a pas été associé avec une modification de la survie sous sunitinib (100). Deux autres études ayant travaillé sur ces polymorphismes n'ont pas retrouvé d'association (105, 103). En revanche, il a été récemment montré que les patients présentant le génotype *KDR* c.1416 TT avait une survie globale supérieure aux patients présentant le génotype *KDR* c.1416 AA (103).

Le Tableau V résume les caractéristiques des SNPs du *VEGFA*, du *FLT4* et du *KDR* les plus étudiés chez les patients atteints de carcinome rénal et reprend l'ensemble des études *in vitro* et *in vivo* précédemment citées.

A ce jour, il n'existe pas d'étude ayant recherché une association entre les polymorphismes du *VEGF* ou l'un de ses récepteurs et le développement du carcinome rénal chez les transplantés rénaux alors qu'une augmentation par un facteur 15 du risque de carcinome rénal a été décrite chez ces patients (41). De plus, l'effet du traitement immunosuppresseur et, en particulier celui des ICN capables de moduler l'expression du VEGF, rend l'étude des polymorphismes des gènes *VEGF* et de ses récepteurs particulièrement intéressante chez ces patients.

Tableau V. Caractéristiques des principaux SNPs du *VEGF* et de ses récepteurs

Gènes	Polymorphismes	Identifiant rs	Position dans le gène	Conséquence sur la séquence en acides aminés	Allèle ancestral	Fréquence de l'allèle minoritaire	Conséquences fonctionnelle <i>in vitro</i>	Etudes cliniques	
								Pas d'association	Association
VEGFA	c.-2578 A>C	rs699947	Promoteur	/	A	A=32,45%	CC associé à ↘ expression du VEGF (78) Allèle C associé à ↗ [VEGF] (104)	(84,102,105,106)	(86–89,96–101)
	c.-460 C>T	rs833061	Promoteur	/	C	C=36,98%	Allèle T associé à ↗ [VEGF] (104)	(84)	(85,86,89,100)
	c.-1154 G>A	rs1570360	Promoteur	/	G	A=18,87%	AA et GA associés à ↘ expression du VEGF (78) [VEGF] chez AA < GA < GG (107)	(85,89,98,99,101,102,105,106,108)	(96,97)
	c.-634 G>C	rs2010963	5'-UTR	/	G	C=32,61%	CC associé à ↗ [VEGF] (82) GG associé à ↘ expression du VEGF (78) Allèle C associé à ↗ [VEGF] (104)	(84–86,88,89,96,97,101,102,105)	(98–100)
	c.-2489 C>T	rs1005230	Promoteur	/	C	T=32,47%		(109,110)	
	c.534 C>T	rs25648	5'-UTR	p.Ser178=	C	T=12,12%		(100)	
	c.936 C>T	rs3025039	3'-UTR	/	C	T=13,36%	Allèle T associé à ↘ [VEGF] (91–93)	(84–88,95,100,101)	(89)
	c.1612 G>A	rs10434	3'-UTR	/	G	A=34,76%		(86,88,89,95,100,105)	
KDR (VEGFR2)	c.1416 T>A	rs1870377	Exon	p.Gln472His	T	A=21,19%		(101,102,105,111)	(103,112)
	c.889 C>T	rs2305948	Exon	p.Val297Ile	C	T=15,26%		(101,105,111)	
FLT4 (VEGFR3)	c.1480 A>G	rs307826	Exon	p.Thr571Ala	A	G=5,29%			(101,102)
	c.3971 G>T	rs307821	3'-UTR	p.Arg1401Leu	G	T=8,95%			(102)

↗ = augmentation ; ↘ = diminution ; [VEGF] = concentration plasmatique en VEGF

IV- Cancer du rein chez les transplantés rénaux

1) Epidémiologie du cancer du rein chez les patients transplantés rénaux

Dans la population transplantée rénale, le risque de développer un carcinome rénal est multiplié par 15 par rapport à la population générale de même âge et de même sexe (37,41). Il peut toucher le rein natif et très rarement le rein greffé. L'incidence des cancers du greffon ayant été rapportée à 0,19% des tumeurs rénales diagnostiquées *de novo* chez les transplantés rénaux (113), nous n'aborderons que le cas du carcinome rénal du rein natif dans notre étude.

Chez les patients transplantés, les types histologiques des carcinomes rénaux observés ont une répartition différente par rapport à celle observée dans la population générale. Les 2 types les plus souvent diagnostiqués restent le ccRCC et le pRCC mais les proportions sont différentes. Ainsi, la répartition était de 50% de ccRCC et 44% de pRCC dans une étude britannique monocentrique (114). Des résultats similaires ont été obtenus dans plusieurs études récentes en Corée, en France (115,116) et au Japon (117). Les résultats de ces études sont précisés dans le Tableau VI. Certaines de ces études comparent les carcinomes rénaux observés chez les patients transplantés par rapport aux patients dialysés (115–117). Il est intéressant de noter que les types histologiques rencontrés chez les patients transplantés sont plus proches de ceux observés chez les patients dialysés (Tableau VI).

Tableau VI. Répartition des types histologiques selon les populations observées.

	Population générale		Patients dialysés				Patients transplantés rénaux			
	Znaor <i>et al.</i> 2015 (62)	Neuzillet <i>et al.</i> 2011 (118)	Neuzillet <i>et al.</i> 2011 (118)	Lee <i>et al.</i> 2012 (115)	Gigante <i>et al.</i> 2012 (116)	Tagaki <i>et al.</i> 2017 (117)	Moon <i>et al.</i> 2015 (114)	Lee <i>et al.</i> 2012 (115)	Takagi <i>et al.</i> 2017 (117)	Gigante <i>et al.</i> 2012 (116)
ccRCC	70%	89 %	59 %	64 %	77 %	77 %	50 %	57 %	67 %	50 %
pRCC	10-15%	7 %	37 %	27 %	22 %	21 %	44 %	29 %	31 %	44 %

Les carcinomes rénaux observés dans la population transplantée sont généralement de meilleur pronostic que dans la population générale. Cela se manifeste par un stade de diagnostic plus bas et par une taille de tumeur plus petite (118). Plusieurs explications ont été proposées. D'une part, une physiopathologie différente, expliquant également la plus grande proportion de pRCC chez ces patients. D'autre part, le diagnostic plus précoce grâce au suivi systématique qui est réalisé par des échographies régulières après la transplantation.

En dehors des facteurs de risque généraux de cancers lié au patient (sexe, âge, tabac, obésité, HTA et diabète) (58), il existe d'autres facteurs de risque spécifique chez le transplanté. L'impact de la durée de la dialyse avant la transplantation a ainsi été souligné dans plusieurs études et montre l'importance de la maladie rénale chronique préexistante (119–121).

2) Prise en charge

Les dernières recommandations de la Société Française d'Urologie sur la prise en charge du cancer du rein ne prennent pas en compte le cas particulier du patient transplanté rénal (58). A l'heure actuelle, le traitement de première intention est la néphrectomie du rein natif non fonctionnel. Le traitement IS est ensuite revu au cas par cas car il n'existe pas à ce jour de recommandations. Plusieurs stratégies telles qu'une diminution des posologies ou un remplacement des ICN vers les inhibiteurs de mTOR peuvent toutefois être envisagées en fonction du contexte clinique (122).

En cas de découverte du carcinome à un stade avancé, la prise en charge thérapeutique fait intervenir les ITK. Ces nouvelles molécules ciblent notamment les récepteurs du VEGF, fortement impliqué dans l'angiogenèse et également dans la physiopathologie du carcinome rénal. Il s'agit du sunitinib, du sorafénib, du pazopanib, de l'axitinib et du carbozantinib (72).

L'identification des patients présentant un risque élevé de développer un carcinome rénal, semble prometteuse. Cela permettrait d'adapter d'emblée leur traitement IS et ainsi de diminuer le risque de développer un cancer. Dans ce contexte, l'utilisation des polymorphismes du *VEGF* comme aide à la gestion du traitement IS n'a jamais été évaluée et semble intéressante.(41).

V- Hypothèses de travail et objectifs

Notre hypothèse de travail est donc que certains polymorphismes du *VEGF* contribueraient à l'augmentation du risque de développer un carcinome rénal chez les patients transplantés rénaux. Le *VEGF* est un gène hautement polymorphe et certains de ces polymorphismes ont déjà été associés à un taux circulant de *VEGF* augmenté. Il semble donc être une cible intéressante, car à la fois impliqué dans la physiologie du carcinome rénal et dans l'effet pro carcinogène des ICN. Malgré cela, peu d'études ont analysé le lien entre le polymorphisme du gène codant le *VEGF* et la survenue de cancer du rein dans la population générale et encore moins dans la population transplantée dont le risque de carcinome rénal est pourtant augmenté. Ainsi, la recherche de polymorphismes avant la mise en place du traitement immunosuppresseur pourrait permettre de guider le clinicien vers des molécules moins oncogènes telles que les inhibiteurs de mTOR.

Nous avons étudié au total 12 polymorphismes. Huit polymorphismes du gène codant pour le *VEGF* ont été sélectionnés : *VEGFA* c.-2578 A>C (rs699947), *VEGFA* c.-2489 C>T (rs1005230), *VEGFA* c.-460 C>T, *VEGFA* c.-1154 G>A (rs1570360), *VEGFA* c.-634 G>C (rs2010963), *VEGFA* c.534 C>T (rs25648), *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039) et *VEGFA* c.1612 G>A (rs10434). Deux polymorphismes du *KDR*, gène codant pour le *VEGFR2* : *KDR* c.1416 T>A (rs1870377) et *KDR* c.889 C>T (rs2305948) et 2 polymorphismes du *FLT4*, gène codant pour le *VEGFR3* : *FLT4* c.1480 A>G (rs307826) et *FLT4* c.3971 G>T (rs307821) ont également été étudiés. Dans un premier temps, nous les avons évalués en tant que marqueurs prédictifs de la survenue du carcinome rénal chez les patients transplantés rénaux. Puis, dans un second temps, nous avons évalué les différences de survie en fonction des génotypes observés. Cette étude rétrospective a permis de mieux connaître les facteurs de risque génétiques des carcinomes rénaux chez les patients transplantés rénaux.

MATERIELS ET METHODES

I- Population de l'étude et sélection des patients

L'étude pharmacogénétique Ve-CART est une étude rétrospective, multicentrique de type cas-témoin. Cette étude prévoit d'inclure 240 patients (120 cas et 120 témoins) ayant subi une transplantation rénale sur les sites d'Amiens, Lille et Rouen entre le 1^{er} Janvier 2002 et le 31 Décembre 2011 et pour lesquels des prélèvements sont disponibles (recherche non interventionnelle sur prélèvements humains). Cette étude a obtenu les avis favorables auprès du Comité de Protection des Personnes (CPP) du CHU d'Amiens et du Comité Consultatif du Traitement de l'Information en matière de Recherche dans le domaine de la Santé (CCTIRS) et a été autorisée par la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL). Tous les patients ont été informés et ont donné leur consentement écrit avant d'être inclus dans l'étude. Les critères d'inclusion et d'exclusion de l'étude sont résumés dans le Tableau VII.

Tableau VII. Critères d'inclusion et d'exclusion des patients de l'étude Ve-CART.

Critères d'inclusion	Critères d'exclusion
Patient adulte transplanté rénal dans un des 3 centres suivants : Amiens, Lille ou Rouen	Patient transplanté mineur
Patient transplanté entre le 01/01/2002 et le 31/12/2011	Patient transplanté avant le 1 ^{er} Janvier 2002 ou après le 1 ^{er} Janvier 2012
Patient receveur d'une première, deuxième ou troisième transplantation rénale	Patient suivi dans l'un des 3 centres mais transplanté dans un autre site
Patient receveur d'une greffe à partir d'un donneur vivant ou décédé, quel que soit le risque immunologique	Patient receveur d'une double greffe (rein et autre organe) ou d'une bi-greffe
Patient informé par son médecin et ayant accepté que ses données soient traitées dans le cadre de l'étude	Patient n'acceptant pas que ses données médicales soient incluses dans le registre ou n'acceptant pas que ses prélèvements soient utilisés à des fins de recherche scientifique
Patient disposant d'une couverture maladie	Patient sous tutelle ou curatelle ou privé de droit public (personnes visées par les articles L1121-5 à L1121-8 et L1122 1-2 du Code de la Santé Publique)

Les patients du groupe « cas » sont des patients transplantés rénaux ayant développé un carcinome rénal (sur le rein natif) après la transplantation. Les patients « témoins » sont des patients transplantés rénaux n'ayant présenté aucun cancer. Les témoins ont été appariés aux cas selon le sexe, l'âge lors de la transplantation (+/- 5 ans) et le délai post-transplantation. Pour les cas, ce délai correspond au temps écoulé entre la transplantation et le diagnostic du cancer. Celui des témoins correspond au délai écoulé entre la transplantation et la date de dernières nouvelles. Le risque de cancer augmentant avec le délai post-transplantation, les témoins ont été sélectionnés de façon à ce que ce délai soit au moins égal à celui du cas pour chaque couple formé. L'exposition aux IS a été évaluée pour chaque patient inclus dans l'étude. Elle correspond à la durée du traitement pour chaque IS. L'exposition aux Ac monoclonaux correspond à la durée du traitement par daclizumab (Zenapax®) ou par basiliximab (Simulect®). Celle des Ac polyclonaux a été calculée en tenant compte des durées de traitement par globulines anti-lymphocytaires (ATG) ou par thymoglobuline, selon les protocoles. Pour les molécules utilisées au long cours (ICN, Inhibiteurs de mTOR, anti-métabolites et corticoïdes), il existe différentes spécialités pour chacune d'elles. L'exposition aux IS a été calculée pour chaque molécule et certaines spécialités ont donc été regroupées. Ainsi, l'exposition au MPA correspond au traitement par Cellcept® et/ou Myfortic® et celle du tacrolimus correspond à la prise de Prograf® et/ou d'Advagraf®. L'exposition à la ciclosporine correspond à l'administration de Néoral®. Concernant les inhibiteurs de mTOR, la durée de traitement par Rapamune® et Certican® correspond à l'exposition au sirolimus et à l'évérolimus. Pour l'administration de corticoïdes au long cours, l'exposition à la prednisone correspond la prise de Cortancyl®. Nous n'avons pas pris en compte les posologies dans le calcul de l'exposition au différents IS. Cependant, les concentrations sanguines ont été vérifiées lorsque cela était possible (concentrations mesurées aux visites de suivi : 1 fois par mois pendant 6 mois puis 1 fois par an) et elles étaient dans la zone thérapeutique attendue.

Concernant les carcinomes rénaux observés, le type histologique, la taille de la tumeur et le grade de Fuhrman ont été relevés. Lorsque les carcinomes présentaient deux zones de grades différents, ils ont été classés dans la zone de grade le plus élevé.

Cette étude présente les résultats intermédiaires des 60 patients (30 cas et 30 témoins) inclus sur le centre d'Amiens. Après information et signature d'un consentement écrit, l'ADN génomique des patients a été analysé selon une technique de discrimination allélique TaqMan[®]. Les données de génotypage ainsi recueillies ont pu être associées aux données clinico-biologiques des patients afin d'effectuer l'analyse statistique.

II- Génométypage

1) Sélection des SNPs

Dans cette étude pharmacogénétique de type gène candidat, les SNPs ont été sélectionnés s'ils répondaient aux critères suivants :

- fréquence allélique supérieure à 5% (Tableau V) ;
- implication dans la tumorigénèse rénale (cf. p.30 à 33) ;
- association à des conséquences fonctionnelles *in vitro* et/ou à des conséquences cliniques (taux de VEGF circulant, survie sans progression ou survie globale...).

2) Prélèvements

Lors de la consultation pré-greffe, chaque patient a bénéficié d'un génotypage HLA (Human Leukocyte Antigen). L'ADN a été extrait à partir du sang total par méthode automatisée sur le Génom-6[®]. Pour chaque échantillon, la concentration en ADN a été mesurée à l'aide du spectrophotomètre Nanodrop 2000[®] (lecture à 260 nm à partir de 2 µL d'échantillon), puis l'ADN a été conservé à -80°C. Dans ces conditions, les échantillons sont stables pendant au moins 30 ans. Avant le génotypage, les échantillons d'ADN ont été dilués au préalable dans de l'eau « nuclease free » de façon obtenir une concentration à 1 ng/µL d'ADN. Les échantillons ainsi normalisés ont été conservés à -20°C jusqu'au génotypage.

3) Génotypage Taqman[®]

Le génotypage a été réalisé à l'aide d'une technique de PCR en temps réel Taqman[®]. Le principe de cette technique est basé sur l'activité 5' exonucléasique de la Taq polymérase

pour hydrolyser une sonde hybridée à sa séquence cible. Le mélange réactionnel comporte : une sonde marquée par un fluorochrome VIC[®] et une sonde marquée par un fluorochrome FAM[™] qui diffère de la première d'un nucléotide (SNP recherché), ainsi que 2 amorces spécifiques de la cible pour l'amplification. Le fluorochrome émetteur ou « reporter » (VIC[®] ou FAM[™] selon l'allèle) est fixé sur l'extrémité 5' de la sonde, il est inhibé par un second fluorochrome suppresseur ou « quencher » présent en 3'. Après l'étape de dénaturation, l'amorce marquée VIC[®] ou FAM[™] vient s'hybrider à la séquence complémentaire du brin d'ADN à amplifier. Le « quencher » est assez proche du « reporter » pour absorber son énergie de fluorescence. Lors de l'étape de polymérisation de l'ADN, la Taq polymérase coupe la sonde et libère le fluorochrome « reporter » qui ne sera plus inhibé par le « quencher » et pourra émettre sa fluorescence. Un échantillon homozygote pour l'allèle 1 engendrera 100% de fluorescence VIC[®], un échantillon homozygote pour l'allèle 2 engendrera 100% de fluorescence FAM[™], et un échantillon hétérozygote engendrera une fluorescence VIC[®] et FAM[™]. Le principe de la méthode est résumé dans la Figure 7.

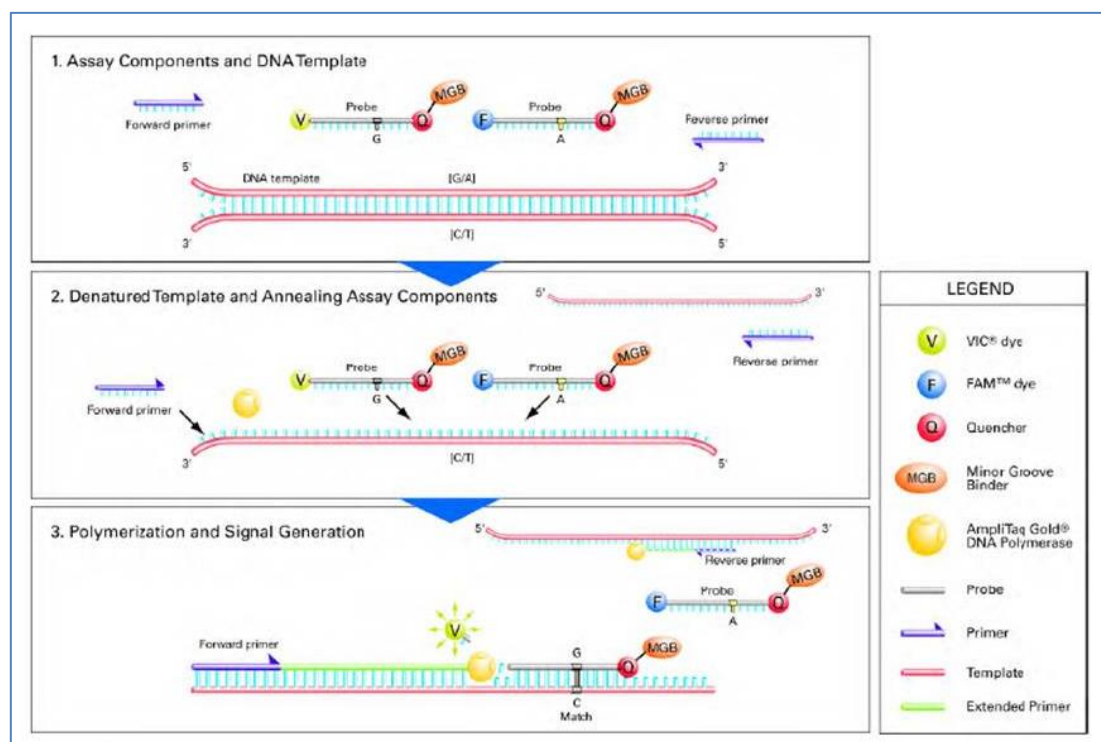


Figure 7. Principe de la technique de PCR en temps réel Taqman[®]

Les PCR ont été réalisées sur l'appareil StepOnePlus™ (Applied Biosystem™). Les amorces et les sondes utilisées ont été fournies par ThermoFisher Scientific (Taqman SNP assays 40X, Taqman Genotyping PCR Master Mix 2X, ThermoFisher Scientific®, Pleasanton, USA). Leurs principales caractéristiques sont résumées dans le Tableau VIII.

Tableau VIII. Caractéristiques des amorces utilisées

Gène	Identifiant rs	Polymorphismes	Séquence du gène [VIC/FAM]
VEGFA	rs699947	c.-2578 A>C	GCCAGCTGTAGGCCAGACCCTGGCA[A/C]GATCTGGGTGGATAATCAGACTGAC
	rs833061	c.-460 C>T	GAGTGTGTGCGTGTGGGGTTGAGGG[C/T]GTTGGAGCGGGGAGAAGGCCAGG
	rs1570360	c.-1154 G>A	AGCCCGGGCCCGAGCCGCGTGTGGA[A/G]GGGCTGAGGCTCGCCTGTCCCCGC
	rs2010963	c.-634 G>C	CGCGCGGGCGTGCAGCAGCGAAAG[C/G]GACAGGGGCAAAGTGAGTGACCT
	rs1005230	c.-2489 C>T	GGAAATAGCCAGGTCAGAAACCAGC[C/T]AGGAATTTTCCAAGCTGCTTCCTA
	rs25648	c.534 C>T	GCCGCGCCGGCCCCGGTCGGGCCTC[C/T]GAAACCATGAACCTTCTGCTGTCTT
	rs3025039	c.936 C>T	GCATTCCCGGGCGGGTGACCCAGCA[C/T]GGTCCCTCTTGAATTGGATTTCGCC
	rs10434	c.1612 G>A	CACCTGCTTCTGAGTTGCCAGGAG[A/G]CCACTGGCAGATGTCCCGGCGAAGA
KDR (VEGFR2)	rs1870377	c.1416 T>A	GGTATGGGTTTGTCACTGAGACAGC[A/T]TGGCTATAAGAAAGAGATAACAGCG
	rs2305948	c.889 C>T	TACAATCCTTGGTCACTCCGGGTTA[C/T]ACCATCTATAGTTAAGGTGCTCAAA
FLT4 (VEGFR3)	rs307826	c.1480 A>G	TCGATGGGGTTCACGGCATCTGCG[C/T]GGTCACCGCCCTCCAGTCACGGCA *
	rs307821	c.3971 G>T	AAACACCTGGCCTCCTCGGGCCCC[A/C]GCTCAGGCCGCCGCCGCTCCCTT *

* Séquence complémentaire

Le mélange réactionnel final contenait 12 µL d'ADN (1ng/mL), 0,625 µL d'AssayMix 40X (amorces) et 12,5 µL de Master Mix (ADN polymérase, dNTPs, sonde ROX™ utilisée comme référence interne et tampon). Chaque échantillon d'ADN a été amplifié durant 40 cycles. Pour chaque cycle de PCR, les conditions analytiques choisies sont les suivantes : dénaturation à 95°C pendant 30 s, hybridation à 60°C pendant 60 s (Figure 8). Les résultats ont ensuite été analysés à l'aide du logiciel StepOne software v.2.1.

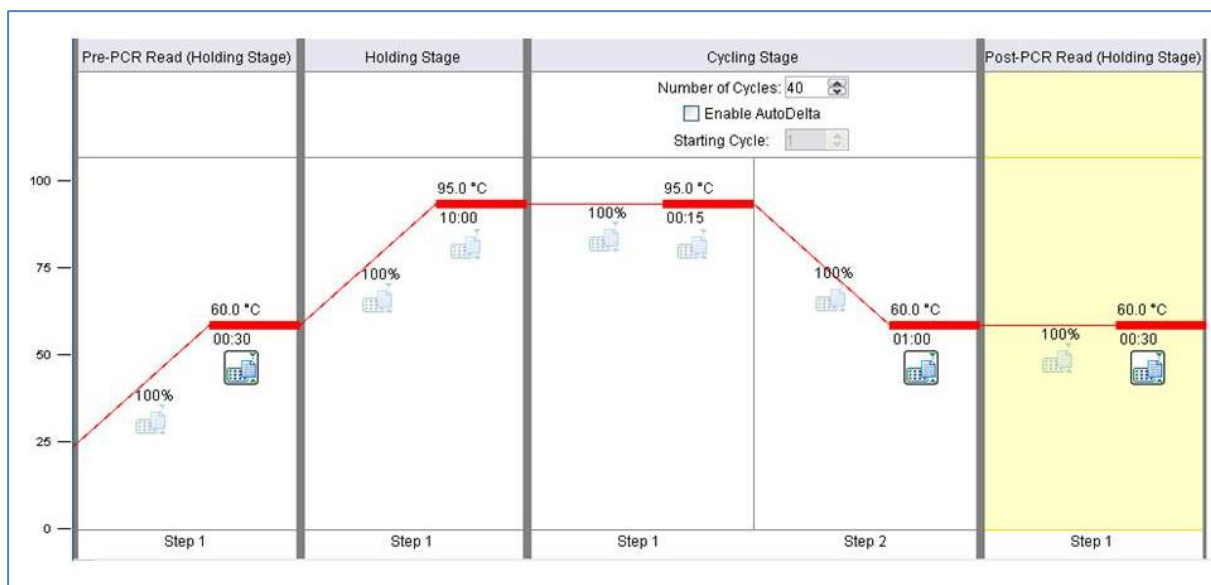


Figure 8. Etapes de la PCR

III- Etude statistique

Pour la description des caractéristiques de la population, les variables quantitatives ont été décrites à l'aide de la moyenne (minimum - maximum). Les variables qualitatives ont été décrites par leur fréquence avec un intervalle de confiance de 95%. Les variables qualitatives ont été comparées à l'aide d'un test de Khi-deux ou de Fisher. Les variables quantitatives ont été comparées à l'aide d'un t-test ou d'un test de Wilcoxon pour les variables non paramétriques (la normalité de la distribution des variables a été vérifiée à l'aide d'un test de Shapiro). Pour chaque SNP, la distribution observée des génotypes a été comparée à la distribution théorique de Hardy-Weinberg par le test exact de Fisher.

Afin de répondre à notre objectif principal, à savoir, l'association entre les variables non génétiques ou génétiques (polymorphismes) et le risque de carcinome rénal, les données ont été incluses dans une régression logistique univariée conditionnelle (afin de prendre en compte les facteurs d'appariement). Les données ayant un seuil de significativité (p) inférieur à 0,10 ont été incluses dans une régression logistique multivariée conditionnelle. Les SNPs significatifs après l'analyse univariée ont été transformés selon un modèle log additif (package SNPassoc logiciel R). Les variables dont le seuil de significativité était inférieur ou égal à 0,05 ont été retenues dans le modèle multivarié final.

L'objectif secondaire de cette étude était d'évaluer l'influence de ces polymorphismes sur la survie. Pour cela, des analyses de survie ont été effectuées pour chaque polymorphisme à l'aide de courbes de survie de Kaplan-Meier selon différents modèles génétiques (récessif, dominant ou co-dominant). La comparaison des courbes obtenues a été réalisée à l'aide du test de log-Rank.

L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels SAS et R.

RESULTATS

I- Caractéristiques de la cohorte

Au total, 30 cas (18 hommes et 12 femmes) ont été inclus dans notre étude. Ils ont été transplantés entre 3 Avril 2002 et le 7 Octobre 2011 et ont au moins développé un cancer du rein natif après leur transplantation. Ils ont été appariés à 30 témoins n'ayant présenté aucun cancer en fonction de leur âge, de leur sexe et du délai post-transplantation. Les caractéristiques de la population d'étude sont résumées dans le Tableau IX.

Tableau IX. Caractéristiques démographiques des patients de l'étude.

Caractéristiques	Cas (n=30)	Témoins (n=30)	p
Age (années), moyenne (min-max)	49 (28-64)	48,2 (28-64)	0,72
Sexe ratio (H/F)	1,5	1,5	1
Origine ethnique, n (%)			
- Caucasiens	25 (83,3%)	26 (86,7%)	1
- Noir	1 (3,3%)	1 (3,3%)	
- Maghrébin	4 (13,3%)	3 (10,0%)	
Tabac, n (%)			
- Non-fumeur	14 (46,7%)	15 (50,0%)	0,85
- Fumeur actif	6 (20,0%)	7 (23,3%)	
- Fumeur sévère	10 (33,3%)	8 (26,7%)	
Cause de l'IRC initiale, n (%)			
- Diabétique	1 (3,3%)	1 (3,3%)	0,79
- Néphropathie vasculaire	2 (6,7%)	0 (0%)	
- Glomérulonéphrite chronique	16 (53,3%)	17 (56,7%)	
- Polykystose rénale	3 (10,0%)	3 (10,0%)	
- Néphrite interstitielle chronique	2 (6,7%)	5 (16,7%)	
- Héritaire	4 (13,3%)	3 (10,0%)	
- Autre	2 (6,7%)	1 (3,3%)	
Antécédents de cancers, n (%)	3 (10,0%)	3 (10,0%)	1
Antécédents de traitement immunosuppresseur, n (%)	7 (23,3%)	4 (13,3%)	0,51
Temps passé en dialyse avant transplantation (mois), moyenne (min-max)	38,2 (8-124)	40,4 (5-214)	1
Exposition au traitement IS (jours), moyenne (min-max)			
- Ac monoclonaux	4,6 (3-14)	5,4 (4-14)	0,37
- Ac polyclonaux	5,6 (4-8)	6,8 (4-19)	0,38
- MPA	2736,6 (146-4553)	3442,4 (330-4540)	0,04[†]
- Prednisone	2703,8 (147-4533)	3248,6 (162-4540)	0,062
- Ciclosporine	2255,1 (515-4538)	2874,7 (3-4544)	0,21
- Tacrolimus	2032,0 (254-4221)	2935,8 (1449-4931)	0,14
- Sirolimus	2399,5 (1866-2933)	3710,3 (3312-4255)	0,22
- Evérolimus	1094,6 (175-1987)	896	0,50
Délai post-transplantation (mois), moyenne (min-max)	40,7 (4-140)	129,5 (59-150)	<0,01[†]

Il n'a pas été observé de différences significatives entre les deux groupes concernant l'origine ethnique, la consommation de tabac, les causes d'IRC initiale, les antécédents de cancer ou de traitement immunosuppresseur, et le temps passé en dialyse avant la transplantation. Concernant le traitement immunosuppresseur, l'exposition aux différentes molécules était similaire dans les 2 groupes. Seule l'exposition au MPA était significativement plus importante dans le groupe des témoins. Ceci est à mettre en relation avec un délai post-transplantation plus long chez les témoins. En effet, l'incidence cumulée des cancers augmentant avec le délai post-transplantation, les témoins ont été sélectionnés de façon à avoir un délai post-transplantation au moins égal à celui des cas pour éviter l'introduction de biais. Concernant les ICN et le sirolimus, on observe la même tendance qu'avec le MPA mais de façon non significative.

Le Tableau X résume les caractéristiques histologiques et pathologiques des tumeurs observées chez les 30 cas.

Tableau X. Caractéristiques histologiques et pathologiques des tumeurs et gestion de la prise en charge des patients ayant développé un carcinome rénal

<i>Caractéristiques</i>	<i>Effectif (n=30)</i>
Age de découverte du carcinome rénal (années), moyenne (min-max)	52,4 (29-71)
Nombre de cancers, n (%)	
- 1	21 (70,0%)
- 2	7 (23,3%)
- 3 et plus	2 (6,7%)
Stade de diagnostic du carcinome rénal, n (%)	
- Tumeur	29 (96,7%)
- Métastases	1 (3,3%)
Type histologique, n (%)	
- Carcinome rénal à cellules claires (ccRCC)	13 (43,3%)
- Carcinome rénal de type papillaire (pRCC)	11 (36,7%)
- Mixte (à composante claire et papillaire)	4 (13,3%)
- Non classé	2 (6,7%)
Taille de la tumeur (cm), moyenne (min-max)	2,05 (0,6 - 6,5)
Grade de Fuhrman, n (%)	
- I	1 (3,3%)
- II	17 (56,7%)
- III	8 (26,7%)
- IV	1 (3,3%)
- Non connu/déterminé	3 (10,0%)
Traitement du cancer, n (%)	
- Chirurgie (néphrectomie)	29 (96,7%)
- Chirurgie et radiothérapie	1 (3,3%)
Etat du cancer, n (%)	
- Rémission	27 (90,0%)
- Maladie évolutive	2 (6,7%)
- Inconnu	1 (3,3%)
Gestion du traitement immunosuppresseur après le diagnostic du cancer, n (%)	
- Pas de modification du traitement	12 (40,0%)
- ICN remplacé par un inhibiteur de mTOR	10 (33,3%)
- Diminution des posologies de l'ICN	4 (13,3%)
- Arrêt de l'ICN et/ou du MPA	3 (10,0%)
- Autre	1 (3,3%)

Dans la population étudiée, le carcinome rénal du rein natif était le seul cancer diagnostiqué pour 21 des 30 cas (soit 70%). Neuf cas (soit 30%) ont présenté un ou plusieurs autres cancers. Il s'agissait de cancers cutanés dans 55% des cas. Concernant les tumeurs rénales, différents types histologiques ont été diagnostiqués. Treize patients (soit 43,3%) ont présenté

un ccRCC et 11 (soit 36,7%) ont présenté un pRCC. La taille de la tumeur était de 2,05 cm en moyenne sur son grand axe. Au moment du diagnostic, la majorité des tumeurs (56,7%) étaient de grade II de Fuhrman. Il est important de noter qu'aucune récurrence n'a été observée. Ceci s'explique notamment grâce au diagnostic précoce du carcinome rénal et au traitement chirurgical consistant en une ablation du rein natif non fonctionnel dans 100% des cas. Un patient dont le cancer a été diagnostiqué à un stade métastatique a également bénéficié de radiothérapie à visée palliative.

Concernant la gestion du traitement IS, il ne ressortait pas de nette tendance après le diagnostic de carcinome rénal. Ceci peut s'expliquer par l'absence de recommandations nationales ou internationales (12,58) ainsi que par l'évolution des pratiques au cours de la durée de l'étude. En effet, les cancers ont été diagnostiqués sur une période d'une dizaine d'années (d'Avril 2002 à Octobre 2011) durant laquelle la prise en charge thérapeutique et les connaissances scientifiques ont évolué.

II- Distribution des génotypes

La distribution génotypique observée de chaque polymorphisme est décrite dans le Tableau XI.

Tableau XI. Fréquence allélique et distribution des polymorphismes (n=59)

Gène	Polymorphismes	Identifiants rs	Fréquence allélique (allèle variant)	Distribution génotypique			HWE (p)
				Homozygotes (wt/wt), n/n	Hétérozygotes (wt/m), n/n	Homozygotes (m/m), n/n	
VEGFA	c.-2578 A>C	rs699947	C = 0,57	15/59	21/59	23/59	0,05
	c.-460 C>T	rs833061	T = 0,54	16/59	22/59	21/59	0,06
	c.-1154 G>A	rs1570360	A = 0,28	31/59	23/59	5/59	0,80
	c.-634 G>C	rs2010963	C = 0,37	27/59	20/59	12/59	0,03*
	c.534 C>T	rs25648	T = 0,16	43/59	13/59	3/59	0,16
	c.-2489 C>T	rs1005230	T = 0,44	23/59	20/59	16/59	0,05
	c.936 C>T	rs3025039	T = 0,14	42/59	17/59	0/59	0,20
	c.1612 G>A	rs10434	A = 0,49	18/59	24/59	17/59	0,15
KDR	c.1416 T>A	rs1870377	A = 0,22	36/59	20/59	3/59	0,92
	c.889 C>T	rs2305948	T = 0,14	44/59	14/59	1/59	0,93
FLT4	c.1480 A>G	rs307826	G = 0,08	51/59	7/59	1/59	0,22
	c.3971 G>T	rs307821	T = 0,08	50/59	9/59	0/59	0,53

wt : wild-type : allèle de référence ; m : mutated : allèle variant ; HWE : Hardy-Weinberg Equilibrium

L'effectif total était de 59 patients, en effet, l'un des prélèvements était insuffisant pour effectuer les génotypages. La fréquence allélique de chaque allèle variant était similaire à celle décrite dans la population caucasienne pour chacun des 12 polymorphismes étudiés (dbSNP database (123)). L'équilibre de Hardy-Weinberg a été calculé pour chacun des polymorphismes étudiés. A l'exception du polymorphisme *VEGFA* c.-634 G>C (rs2010963)

qui a été exclu de l'analyse statistique, cet équilibre était respecté pour l'ensemble des polymorphismes ($p > 0,05$).

III- Polymorphismes et risque de carcinome rénal

L'association entre les variables génétiques (polymorphismes du *VEGF*) et non génétiques et le risque de carcinome rénal a été testée à l'aide d'un modèle univarié de régression logistique conditionnelle. Les variables significatives dans le modèle univarié ($p < 0,10$) ont été incluses dans un modèle multivarié de régression logistique conditionnelle (méthode « backward »). Les résultats de l'analyse univariée sont présentés dans le Tableau XII.

Tableau XII. Régression logistique univariée conditionnelle

Variables			Régression logistique univariée conditionnelle		
			OR ajusté	IC 95% ajusté	p
Variables non génétiques	Origine ethnique		1,10	0,71 - 1,72	0,91
	Tabac		1,14	0,63 - 2,06	0,80
	Cause de l'IRC initiale		1,00	0,75 - 1,36	0,99
	Antécédent de cancer		1,00	0,06 - 15,99	1,00
	Antécédent de traitement IS		2,00	0,50 - 7,99	0,33
	Temps passé en dialyse	par mois d'augmentation	1,00	0,98 - 1,01	0,83
	Ac monoclonal exposition	par jour d'augmentation	0,30	0 - ∞	1,00
	Ac polyclonal exposition	par jour d'augmentation	0,85	0,58 - 1,25	1,00
	Ciclosporine exposition	par jour d'augmentation	1,00	0,99 - 1,00	0,53
	Tacrolimus exposition	par jour d'augmentation	0,97	0 - ∞	1,00
	Évérolimus exposition	par jour d'augmentation	1,00	0 - ∞	1,00
	Sirolimus exposition	par jour d'augmentation	1,00	0 - ∞	1,00
	MPA exposition	par jour d'augmentation	1,00	0,99 - 1,01	0,06*
	Prednisone exposition	par jour d'augmentation	1,00	0,99 - 1,00	0,11
Variables génétiques	VEGFA c.-2578 A>C	CA vs. CC	1,82	0,46 - 7,20	0,39
		AA vs. CC	1,67	0,40 - 6,96	0,48
	VEGFA c.-460 C>T	CT vs. TT	1,62	0,46 - 5,53	0,44
		CC vs. TT	1,57	0,40 - 6,21	0,52
	VEGFA c.-1154 G>A	AG vs. GG	3,93	0,83 - 18,70	0,09*
		AA vs. GG	0,84	0,13 - 5,33	0,85
	VEGFA c.-2489 C>T	CT vs. CC	1,82	0,46 - 7,20	0,39
		TT vs. CC	1,67	0,40 - 6,96	0,48
	VEGFA c.534 C>T	CT vs. CC	1,67	0,40 - 6,97	0,48
		TT vs. CC	0,50	0,05 - 5,51	0,57
	VEGFA c.936 C>T	CT vs. CC	0,18	0,04 - 0,82	0,03*
	VEGFA c.1612 G>A	AG vs. GG	0,50	0,16 - 1,64	0,13
		AA vs. GG	1,95	0,44 - 8,70	0,94
	KDR c.1416 T>A	AT vs. TT	2,00	0,68 - 8,70	0,21
		AA vs. TT	2,06.10 ⁻⁹	0 - ∞	0,98
	KDR c.889 C>T	CT vs. CC	1,67	0,40 - 6,97	0,48
		TT vs. CC	4,57 .10 ⁻⁹	0 - ∞	0,98
	FLT4 c.1480 A>G	AG vs. AA	3,00	0,31 - 28,84	0,34
		GG vs. AA	4,57 .10 ⁻⁹	0 - ∞	0,98
	FLT4 c.3971 G>T	GT vs. GG	0,50	0,13 - 2,00	0,33

OR : odd ratio ; IC 95% : intervalle de confiance à 95%

Parmi les variables non génétiques étudiées, seule la durée d'exposition au MPA était significative dans l'analyse univariée ($p < 0,10$). Parmi les 11 polymorphismes retenus dans l'analyse statistique, les SNPs *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039) et *VEGFA* c.-1154 G>A (rs1570360) ont été associés au risque de carcinome rénal dans l'analyse univariée ($p < 0,10$). Ces trois variables ont été incluses dans l'analyse logistique multivariée conditionnelle (Tableau XIII).

Tableau XIII. Régression logistique multivariée conditionnelle

Variables			Régression logistique multivariée conditionnelle		
			OR ajusté	IC 95% ajusté	p
Variables non génétiques	MPA exposition	Par jour d'augmentation	0,99	0,99 - 1,00	0,06
Variables génétiques	<i>VEGFA</i> c.-1154 G>A	A vs. G	0,69	0,09 - 5,26	0,72
	<i>VEGFA</i> c.936 C>T	T vs. C	0,18	0,04 - 0,82	0,03**

Dans l'analyse multivariée, l'allèle T du polymorphisme *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039) est significativement associé à une diminution du risque de carcinome rénal (OR=0,18 ; IC 95% [0,04 – 0,82], $p=0,03$). La présence de l'allèle muté T est donc protecteur vis-à-vis du carcinome rénal ($p < 0,05$).

IV- Polymorphismes et survie

Pour chaque polymorphisme, des analyses de survie ont été effectuées à l'aide de courbes de survie de Kaplan-Meier et ont été comparées grâce au test de log-Rank. Les résultats sont résumés dans le Tableau XIV.

Tableau XIV. Comparaison des courbes de survie

Gène	Polymorphisme	Identifiant rs	Modèle utilisé		Survie (%)	p
VEGFA	c.-2578 A>C	rs699947	Dominant	CC	85,41	0,39
				AC + AA	93,75	
	c.-460 C>T	rs833061	Dominant	TT	84,44	0,31
				CT + CC	94,12	
	c.-1154 G>A	rs1570360	Récessif	GG + GA	91,10	0,35
				AA	80,00	
	c.-2489 C>T	rs1005230	Dominant	CC	85,41	0,39
				CT + TT	93,75	
c.534 C>T	rs25648	Dominant	CC	86,85	0,17	
			CT + TT	100,00		
c.936 C>T	rs3025039	Codominant	CC	85,88	0,12	
			CT	100,00		
c.1612 G>A	rs10434	Codominant	GG	80,95	0,36	
			GA	95,83		
			AA	90,91		
KDR	c.1416 A>T	rs1870377	Codominant	AA	100,00	0,47
				AT	82,35	
				TT	94,18	
	c.889 C>T	rs2305948	Codominant	CC	92,25	0,50
CT				84,62		
FLT4	c.1480 A>G	rs307826	Dominant	AA	89,04	0,41
				AG + GG	100,00	
	c.3971 G>T	rs307821	Codominant	GG	88,61	0,34
GT				100,00		

Dans notre étude, aucune relation significative n'a été mise en évidence entre les 11 polymorphismes étudiés et la survie (Tableau XIV). Cependant, une tendance a été observée pour le polymorphisme *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039). Il est associé à une augmentation non significative de la survie chez les patients porteurs du génotype CT. Les survies chez les patients porteurs des génotypes CT et CC sont respectivement de 100% et de 85,9% ($p=0,123$) (Figure 9). Les courbes de survie de Kaplan-Meier effectuées pour les autres polymorphismes sont présentées en annexe.

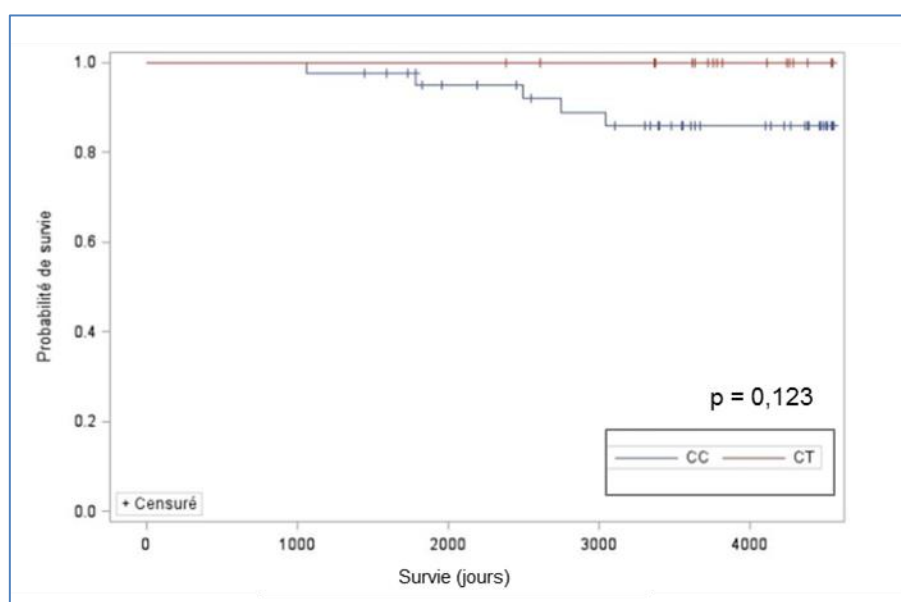


Figure 9. Courbe de survie de Kaplan-Meier pour le SNP *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039)

DISCUSSION

Ce travail a permis de comparer 2 groupes de patients transplantés rénaux (cas et témoins) afin d'étudier l'impact des polymorphismes du *VEGF* sur le risque de carcinome rénal (objectif principal) ainsi que sur la survie de ces patients (objectif secondaire). Nous avons tenu compte des facteurs de risque de cancers non génétiques décrits dans la population transplantée, tels que : l'âge, le sexe, le délai post-transplantation, l'origine ethnique, la consommation de tabac, les antécédents de cancers et de traitement immunosuppresseur, la durée de dialyse avant transplantation et l'exposition aux différentes classes d'IS après la transplantation (44). Parmi ces facteurs, nous n'avons pas retrouvé de différence significative entre les cas et les témoins en dehors du délai post-transplantation et de la durée d'exposition au MPA significativement plus importante chez les témoins (3442,4 vs. 2736,6 jours chez les cas, $p=0,044$). La même tendance a été observée pour l'exposition aux ICN (ciclosporine et tacrolimus) et au sirolimus mais de façon non significative. Ceci doit être relié au délai post-transplantation des témoins qui était significativement plus long que chez les cas (129,5 vs. 40,7 mois, $p<0,01$). En effet, l'appariement des patients a été basé sur l'âge (± 5 ans), le sexe et un délai post-transplantation des témoins au moins égal à celui des cas sans limite supérieure. Un appariement avec un délai post-transplantation à ± 5 ans entre les cas et les témoins aurait été plus adapté pour étudier l'impact de l'exposition aux différents IS mais ne pouvait pas être satisfait avec notre cohorte et ne faisait pas partie de nos objectifs principaux. Le choix d'un délai post-transplantation des témoins au moins égal à celui des cas, nous a toutefois permis de tenir compte de ce facteur de risque de cancer important, l'incidence cumulée des cancers augmentant avec ce délai.

Parmi nos cas, les carcinomes rénaux observés étaient en majorité des carcinomes à cellules claires (ccRCC) dans 43,3% des cas et des carcinomes de type papillaire (pRCC) dans 36,7%

des cas. Au moment du diagnostic, la taille moyenne de la tumeur était de 2,05 cm et la plupart des carcinomes était de grade II de Fuhrman (17 cas, soit 56,7%). Les caractéristiques histologiques observées dans notre étude sont similaires à celles décrites dans la population transplantée. Ainsi, dans une étude de Gigante *et al.* menée chez 213 patients transplantés, on retrouvait une proportion de 50% de ccRCC et de 44% de pRCC. Dans la même étude, la taille moyenne de la tumeur était de 3,4 cm et le grade II de Fuhrman correspondait à 55% des carcinomes diagnostiqués (116). D'une façon générale, les différentes études ayant évalué les caractéristiques du carcinome rénal chez les patients transplantés rénaux ont mis en évidence des différences par rapport à la population générale. On observe ainsi une augmentation de la proportion de pRCC comprise entre 29% et 44% selon les études (114–117). Dans la population générale, la proportion de pRCC est généralement comprise entre 10 à 15% des cas seulement (62). Cela souligne une physiopathologie particulière dans le contexte de la transplantation. Par ailleurs, les carcinomes rénaux semblent être de meilleurs pronostics chez les transplantés. Cela se traduit, comme dans notre population d'étude, par une taille de la tumeur plus petite, un faible nombre de métastases et un grade de Fuhrman plus bas au moment du diagnostic (116). Ce qui s'explique par le suivi régulier des patients transplantés qui bénéficient notamment d'une échographie annuelle des reins permettant donc un diagnostic à un stade plus précoce (116). Dans la population générale, au contraire, la découverte d'un carcinome rénal se fait le plus souvent de façon fortuite (60% des cas) après une échographie abdominale effectuée dans un autre contexte médical ou lors de l'apparition de signes cliniques à un stade déjà avancé de la tumeur (124). Dans notre étude, l'âge moyen au moment du diagnostic de carcinome rénal est diminué par rapport à la population générale (52,4 ans vs. 65 ans) (125). Cela s'explique par l'augmentation du risque de cancer chez les transplantés (37). La gestion du traitement IS après le diagnostic du cancer n'est pas standardisée dans notre cohorte. Douze patients (soit 40%) ont vu leur traitement IS inchangé

durant les mois suivant le diagnostic. L'ICN (ciclosporine ou tacrolimus) a été remplacé par un inhibiteur de mTOR, sirolimus ou évérolimus sans préférence pour l'une ou l'autre de ces 2 molécules, chez seulement 10 cas (soit 33,3%). Les inhibiteurs de mTOR présentent pourtant de nombreux avantages. Ils ont une activité anti-angiogénique et antiproliférative importante et seraient donc protecteurs vis-à-vis des cancers (47). Plusieurs études ont montré le bénéfice lié à leur utilisation. Ainsi, l'incidence des cancers chez les patients traités par inhibiteurs de mTOR est significativement plus basse que celle observée chez les patients traités par ICN (46). Ceci a plus particulièrement été étudié dans les cancers cutanés qui représentent la première cause de cancer post-transplantation. Une méta-analyse réalisée en 2014 a montré une diminution du risque de cancer cutané de 56% pour les patients traités par inhibiteurs de mTOR (49). Très récemment, une étude rétrospective menée chez 115 patients transplantés avec un diagnostic de cancer post-transplantation a permis de confirmer ces résultats. Après le diagnostic, l'ICN avait été remplacé par un inhibiteur de mTOR ou avait été poursuivi. La survie des patients et du greffon ainsi que la fonction rénale étaient similaires dans les 2 groupes. En revanche, les patients ayant reçu un inhibiteur de mTOR avaient développé moins de cancers (126). Comme dans cette étude, de plus en plus de publications sont en faveur d'un intérêt des inhibiteurs de mTOR par rapport aux ICN, mais aucune n'a fait l'objet de recommandations officielles. Les inhibiteurs de mTOR présentent également des inconvénients, avec notamment une augmentation du risque de rejet (44). C'est pourquoi, en pratique, la stratégie thérapeutique est revue au cas par cas en fonction des antécédents personnels et médicaux de chaque patient. Il serait donc intéressant de pouvoir identifier des sous-groupes à risque de cancer parmi les patients transplantés afin de pouvoir leur proposer un traitement plus adapté. Le VEGF, acteur clé de l'angiogenèse et dont l'expression a été associée au carcinome rénal est un biomarqueur intéressant dans le contexte de la transplantation. En effet, une association entre l'exposition aux ICN et une augmentation

de l'expression du VEGF *in vitro* et *in vivo* a déjà été mise en évidence. Le VEGF est un gène très polymorphe dont la variabilité génétique a été étudiée avec succès dans certains cancers (81). Actuellement, aucune n'a été réalisée chez les transplantés rénaux alors que le risque de carcinome rénal est multiplié par un facteur 15 dans cette population (37,41). L'étude des polymorphismes du VEGF permettant d'identifier des sous-groupes de patients à risque de développer un carcinome rénal pourrait donc être une aide utile dans la gestion du traitement IS chez le transplanté rénal.

Dans notre étude, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à 12 polymorphismes du VEGFA, du FLT4 et du KDR. L'un d'eux a été exclu des analyses statistiques car il ne respectait pas l'équilibre de Hardy-Weinberg ($p < 0,05$). L'association entre ces variables génétiques, les variables non génétiques et le risque de carcinome rénal a été testée à l'aide d'un modèle univarié de régression logistique conditionnelle. L'exposition au MPA, le polymorphisme VEGFA c.-1154 G>A (rs1570360) et le polymorphisme VEGFA c.936 C>T (rs3025039) étaient significatifs dans l'analyse univariée conditionnelle ($p < 0,10$) et ont donc été inclus dans l'analyse multivariée conditionnelle. Dans cette analyse, seul le polymorphisme VEGFA c.936 C>T (rs3025039) a significativement été associé au risque de carcinome rénal ($p < 0,05$). L'allèle T de VEGFA c.936 C>T (rs3025039) est associé à une diminution du risque de carcinome rénal (OR=0,18 ; IC 95% [0,04-0,82], $p=0,03$). Il est donc protecteur vis-à-vis de ce cancer chez les transplantés rénaux. Dans la littérature, certaines études n'ont pas montré d'association entre le polymorphisme VEGFA c.936 C>T (rs3025039) et le risque de carcinome rénal (84–88,95). Dans une étude chinoise, un lien entre le risque de carcinome rénal et le polymorphisme VEGFA c.936 C>T a bien été décrit. Cependant, dans cette étude, l'allèle T avait été associé à une augmentation du risque de cancer (OR=1,43; IC 95% [1,15-1,77], $p=0,001$) (89). Cette différence peut notamment s'expliquer par l'origine ethnique de la population étudiée. A l'inverse, de façon intéressante,

2 études menées dans la population caucasienne ont montré un rôle protecteur de l'allèle T du c.936 C>T (rs3025039) dans le cancer du sein (91,127). La première, publiée en 2003, a été effectuée chez plus de 400 patientes et 350 témoins. Dans cette étude, les patientes porteuses de l'allèle T développaient moins de cancers du sein que celles présentant l'allèle C (OR=0,51 ; IC 95% [0,38-0,70] ; $p<0,001$) (91). La seconde étude, de Jakubowska *et al*, publiée en 2008 a montré que les génotypes TT et CT étaient protecteurs dans le cancer du sein (OR=0,69 ; IC 95% [0,41-0,98] ; $p=0,042$) (127). Cette action protectrice peut s'expliquer par une diminution de l'expression du VEGF. L'étude de Renner *et al* a montré une relation entre le polymorphisme *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039) et la concentration circulante de VEGF et renforce donc l'intérêt pour ce polymorphisme. Dans cette étude, les patients exprimant l'allèle T du *VEGFA* c.936 C>T (génotypes CT et TT) avaient une concentration de VEGF plasmatique significativement plus basse que les patients homozygotes *VEGFA* c.936 CC (9,1 vs. 28 pg/mL, $p=0,033$) (92). Kripple avait également montré que les concentrations de VEGF plasmatiques étaient corrélées à la présence de l'allèle T chez 21 témoins. En effet, les patientes *VEGFA* c.936 TT avaient une concentration médiane de 9 pg/mL alors que celles ayant un génotype CT ou CC avaient des concentrations respectivement égales à 28 pg/mL et à 37 pg/mL (91). Même si le mécanisme exact n'est pas élucidé à l'heure actuelle, ces études menées dans le cadre du cancer du sein, posent des bases fonctionnelles concernant l'effet protecteur de l'allèle T du *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039). L'identification pour la première fois de ce polymorphisme dans le contexte du carcinome rénal post-transplantation est très intéressante. La recherche d'une association entre le *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039) et les concentrations plasmatiques de VEGF devra également être conduite dans notre étude. D'un point de vue fonctionnel, le polymorphisme *VEGFA* c.936 C>T est présent dans la région 3'UTR du *VEGFA*. Cette région est importante pour la stabilité de l'ARNm du *VEGF*. Des séquences ARE (AU rich element - séquences riches en résidus

adénylate et uridylate) impliquées dans la stabilité de l'ARNm du *VEGF* via la fixation du facteur HuR (Human antigen R - protéine stabilisant l'ARN) ont été décrites en 3'UTR. L'existence d'une mutation dans cette séquence ARE entraînant une diminution de la fixation de HuR pourrait diminuer la stabilité de l'ARNm du *VEGF* et aurait pour conséquence de diminuer la concentration plasmatique de VEGF. Cependant, après vérification sur la séquence nucléotidique, nous avons constaté que le polymorphisme *VEGFA* c.936 C>T n'était pas situé dans cette séquence de la région 3'UTR du *VEGF*. Cependant, l'existence d'un déséquilibre de liaison entre notre polymorphisme et un autre polymorphisme situé au niveau de la séquence ARE pourrait être à l'origine d'une diminution de la stabilité de l'ARNm du *VEGF* et ainsi d'une diminution des concentrations du VEGF chez les patients exprimant l'allèle T du SNP *VEGFA* c.936 C>T. Ce polymorphisme est situé dans une séquence permettant la fixation du facteur de transcription AP-4 (activator protein 4). Il s'agit d'un facteur de transcription capable d'activer à la fois des gènes viraux et cellulaires en se liant à la séquence CAGCTG (128,129). La perte du site de liaison d'AP-4 lié à la présence du polymorphisme a été évoqué dans une étude pour expliquer la diminution des concentrations circulantes de VEGF en présence de l'allèle T de *VEGFA* c.936 C>T (92). Cependant, cela n'a pas été confirmé *in vitro*.

Dans notre étude, nous avons également montré une augmentation non significative de la survie chez les patients porteurs du génotype *VEGFA* c.936 CT par rapport aux *VEGFA* c.936 CC (100% vs. 85,9% ; $p=0,123$). Même si ce résultat n'est pas significatif, il confirme le caractère protecteur de l'allèle T de *VEGFA* c.936 C>T. Cette tendance est à confirmer chez un nombre plus important de patients.

Dans cette étude, nous avons montré pour la première fois une relation entre les patients porteurs de l'allèle T de *VEGFA* c.936 C>T et une diminution du risque de carcinome rénal chez les patients transplantés. Ainsi, même si ces résultats restent à confirmer, il ne serait pas

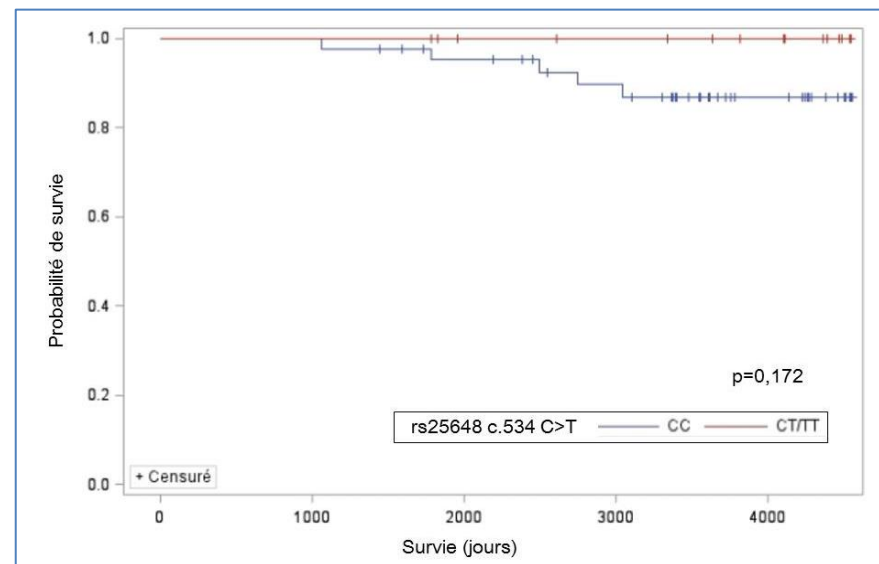
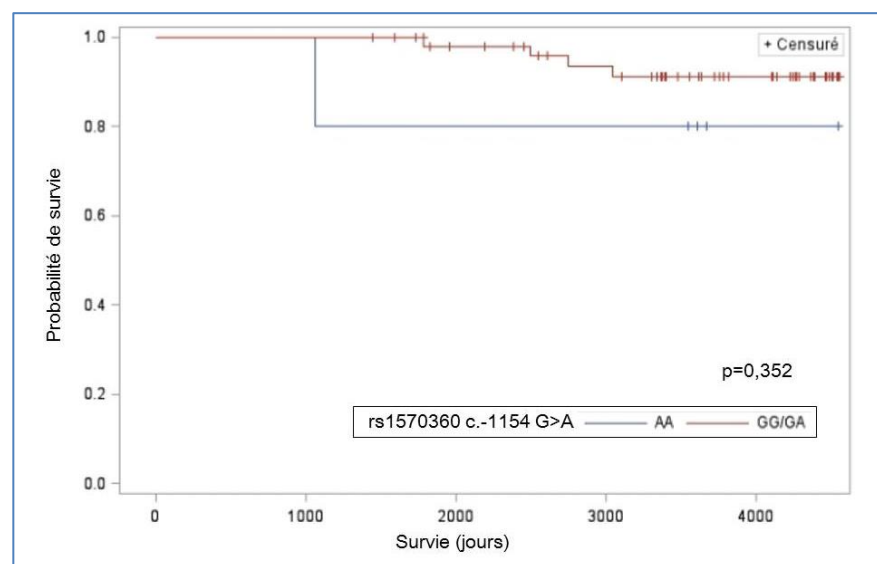
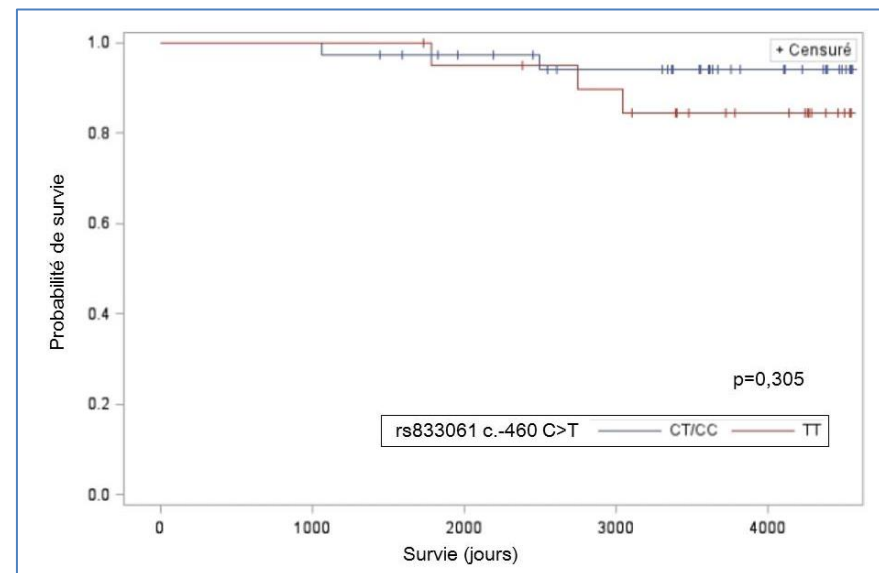
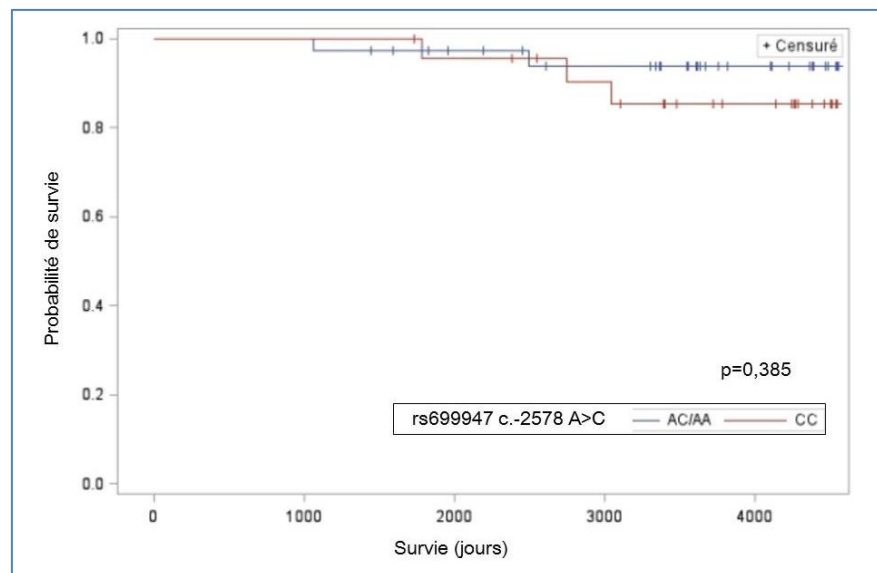
nécessaire d'envisager un remplacement des ICN vers les inhibiteurs de mTOR chez ces patients. Du point de vue de la gestion du traitement IS, il aurait été plus intéressant de trouver une association entre la présence d'un allèle muté et l'augmentation du risque de cancer afin de pouvoir proposer à ces patients un suivi accru ou un remplacement précoce de l'ICN par un inhibiteur de mTOR. Cependant, il s'agit ici d'une étude intermédiaire présentant les résultats des patients inclus à Amiens uniquement. L'inclusion à venir de patients suivis à Lille et à Rouen permettra d'augmenter la puissance statistique de notre étude. Ce qui sera utile pour confirmer nos premières conclusions et rechercher une association éventuelle avec les autres polymorphismes de l'étude. Un dosage plasmatique du VEGF chez les patients amiénois sera également envisagé prochainement pour confirmer le lien existant entre l'allèle T du *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039) et la diminution des concentrations circulantes de VEGF.

CONCLUSION

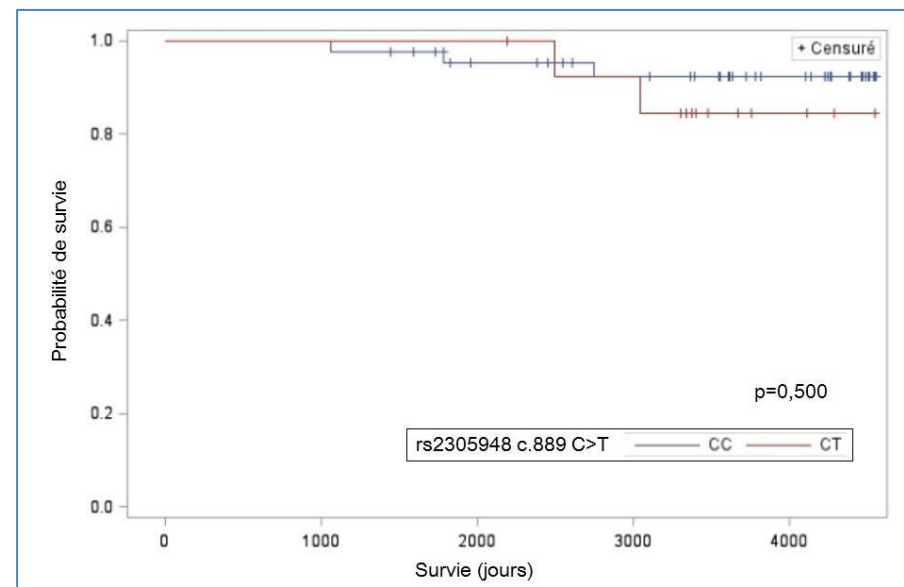
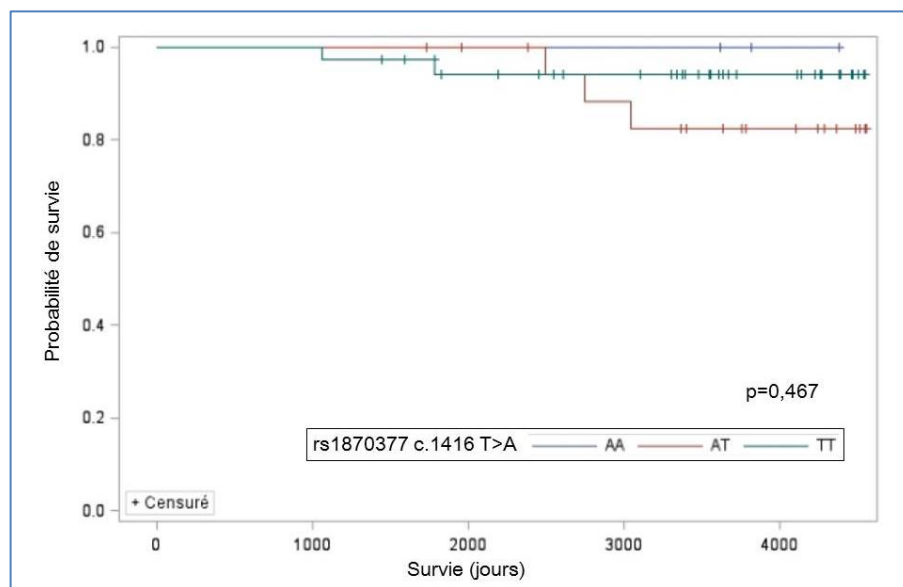
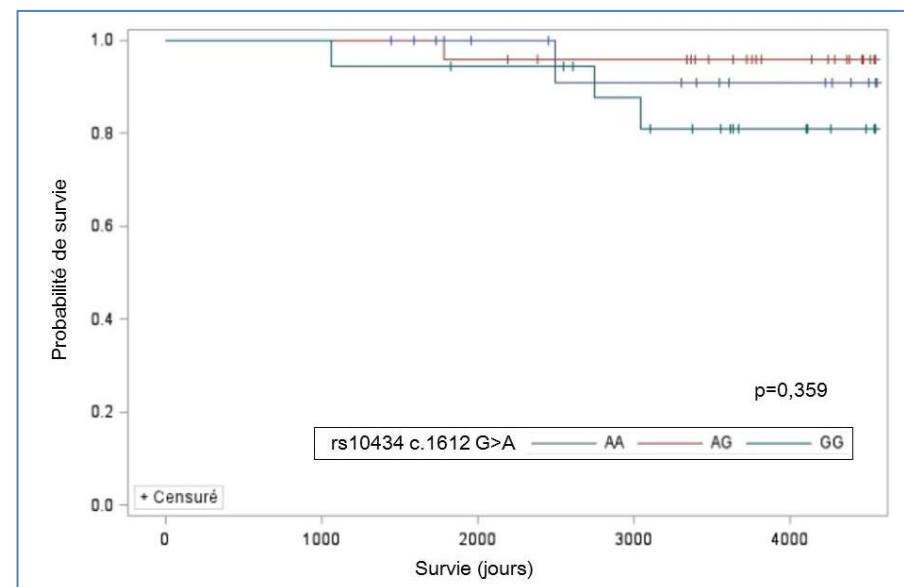
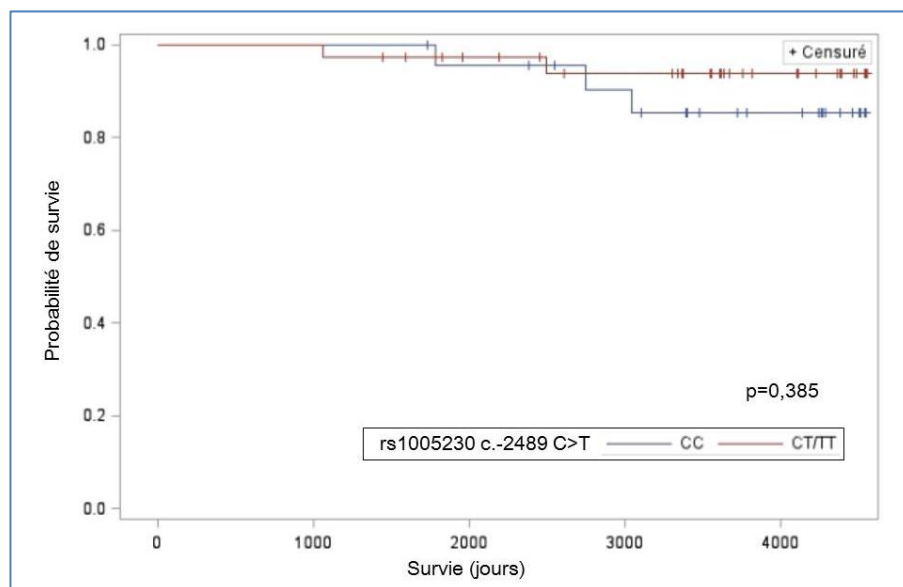
Le VEGF est un acteur clé de l'angiogenèse et joue un rôle important dans le développement du carcinome rénal. Plusieurs polymorphismes du *VEGF* ont déjà été associés au risque de carcinome rénal dans la population générale. Notre étude cas/témoin Ve-CART s'est plus particulièrement intéressée au cas du carcinome rénal post-transplantation dont le risque est multiplié par 15 par rapport à la population générale. L'objectif principal de cette étude était d'étudier l'impact des polymorphismes du *VEGF* sur le risque de carcinome rénal. Douze polymorphismes du *VEGFA* et de ses récepteurs (*KDR* et *FLT4*) ont été inclus dans l'étude. Nous présentons les résultats statistiques intermédiaires obtenus sur le centre d'Amiens. Nous avons montré pour la première fois que le génotype *VEGFA* c.936 CT était associé à une diminution du risque de carcinome rénal (OR=0,18 ; IC 95% [0,04 – 0,82], p=0,03) et à une augmentation non significative de la survie par rapport au génotype CC (100% vs. 85,9% ; p=0,123). Dans le cancer du sein, l'allèle T de *VEGFA* c.936 C>T a été associé à une diminution des concentrations circulantes de VEGF. Bien qu'aucune cause fonctionnelle n'ait encore pu être mise en évidence *in vitro* actuellement, cela souligne l'importance de ce polymorphisme. Il serait donc intéressant de réaliser des dosages du VEGF dans notre cohorte afin de confirmer l'association entre l'expression de l'allèle T du *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039) et la diminution des concentrations de VEGF. Une analyse statistique finale réalisée sur l'ensemble des patients de l'étude (patients inclus sur les sites de Lille et de Rouen) sera nécessaire pour confirmer ces résultats.

ANNEXE

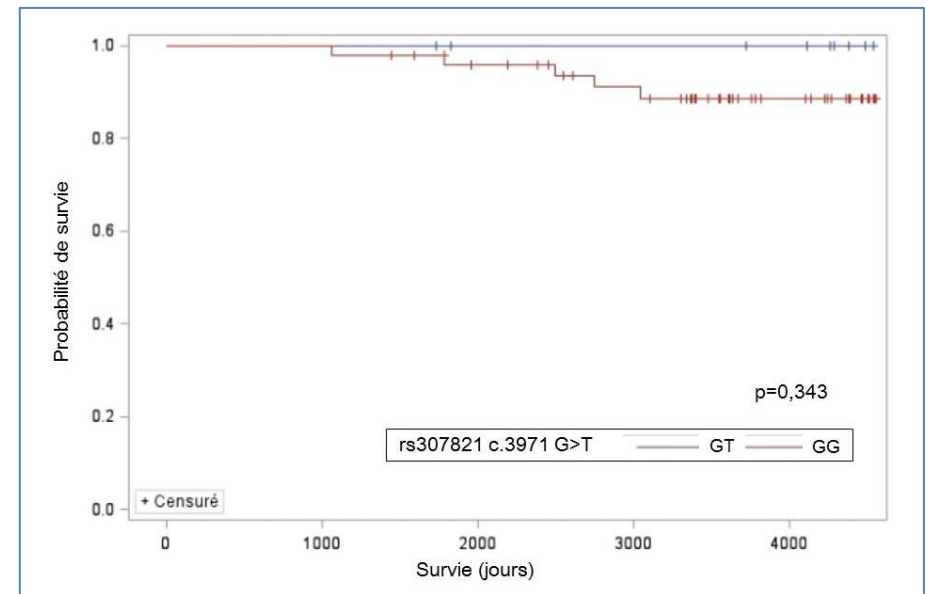
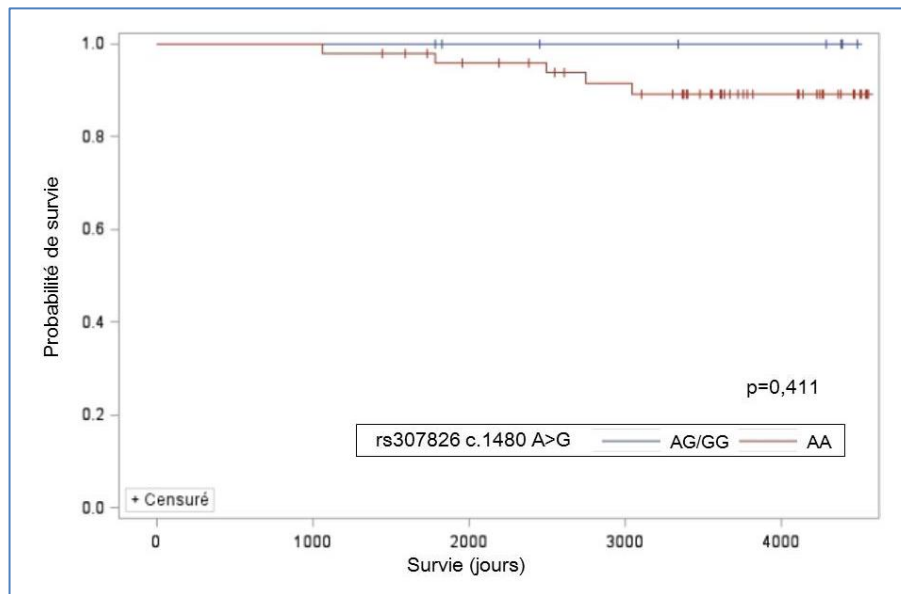
Courbes de survie de Kaplan-Meier des différents polymorphismes étudiés



Courbes de survie de Kaplan-Meier des différents polymorphismes étudiés



Courbes de survie de Kaplan-Meier des différents polymorphismes étudiés



BIBLIOGRAPHIE

1. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *Lancet Lond Engl*. 2012 Jan 14;379(9811):165–80.
2. Thervet E, Zuber J, Sberro R, Canaud G, Anglicheau D, Snanoudj R, et al. [Immunosuppressive treatments: mechanisms of action and clinical use]. *Nephrol Ther*. 2011 Dec;7(7):566–81.
3. Rapport annuel 2014 [Internet]. asp.zone-secure.net. [cited 2016 Aug 17]. Available from: <http://asp.zone-secure.net/indexPop.jsp?id=324/9403/59616&startPage=1&lng=fr#324/9403/596161fr>
4. Oniscu GC, Brown H, Forsythe JLR. Impact of cadaveric renal transplantation on survival in patients listed for transplantation. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2005 Jun;16(6):1859–65.
5. Rabbat CG, Thorpe KE, Russell JD, Churchill DN. Comparison of mortality risk for dialysis patients and cadaveric first renal transplant recipients in Ontario, Canada. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2000 May;11(5):917–22.
6. Kim SJ, Gordon EJ, Powe NR. The economics and ethics of kidney transplantation: perspectives in 2006. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2006 Nov;15(6):593–8.
7. HAS. Transplantation rénale. Accès à la liste d'attente nationale [Internet]. [cited 2017 Mar 1]. Available from: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2015-12/rbp_argumentaire_greffe_renale_vd_mel.pdf
8. Hertig A, Rondeau E. Immunomodulation dans la greffe rénale : ce qui a changé en 20 ans. *Réanimation*. 2006 Aug;15(4):253–8.
9. Cyclosporin in cadaveric renal transplantation: one-year follow-up of a multicentre trial. *Lancet Lond Engl*. 1983 Oct 29;2(8357):986–9.
10. Agence de la biomédecine - Le rapport annuel médical et scientifique 2015 [Internet]. [cited 2017 Mar 6]. Available from: <https://www.agence-biomedecine.fr/annexes/bilan2015/donnees/organes/06-rein/synthese.htm>
11. HAS. Suivi ambulatoire de l'adulte transplanté rénal au-delà de 3 mois après transplantation. [Internet]. [cited 2017 Mar 6]. Available from: https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/suivi_du_transplante_renal_-_synthese_des_recommandations.pdf
12. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2009 Nov;9 Suppl 3:S1–155.
13. Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med*. 2004 Dec 23;351(26):2715–29.
14. Hulin A. [Today in molecular mechanisms of immunosuppressive drugs actions: roles of pharmacist]. *Ann Pharm Fr*. 2008 Mar;66(2):102–14.

15. Ducharme MP, Verret L, Brouillette D, Sirois G. Ability of a first-pass pharmacokinetic model to characterize cyclosporine blood concentrations after administrations of Sandimmune or Neoral formulations. *Ther Drug Monit.* 1998 Apr;20(2):165–71.
16. Thervet E, Anglicheau D, Legendre C, Beaune P. Role of pharmacogenetics of immunosuppressive drugs in organ transplantation. *Ther Drug Monit.* 2008 Apr;30(2):143–50.
17. Han K, Pillai VC, Venkataramanan R. Population pharmacokinetics of cyclosporine in transplant recipients. *AAPS J.* 2013 Oct;15(4):901–12.
18. Dai Y, Iwanaga K, Lin YS, Hebert MF, Davis CL, Huang W, et al. In vitro metabolism of cyclosporine A by human kidney CYP3A5. *Biochem Pharmacol.* 2004 Nov 1;68(9):1889–902.
19. NEORAL Novartis [Internet]. [cited 2017 Mar 6]. Available from: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2009/050715s027,050716s028lbl.pdf
20. Antignac M, Barrou B, Farinotti R, Lechat P, Urien S. Population pharmacokinetics and bioavailability of tacrolimus in kidney transplant patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2007 Dec;64(6):750–7.
21. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet.* 1995 Dec;29(6):404–30.
22. Thervet E, Anglicheau D, King B, Schlageter M-H, Cassinat B, Beaune P, et al. Impact of cytochrome p450 3A5 genetic polymorphism on tacrolimus doses and concentration-to-dose ratio in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2003 Oct 27;76(8):1233–5.
23. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(10):623–53.
24. Moes DJAR, Guchelaar H-J, de Fijter JW. Sirolimus and everolimus in kidney transplantation. *Drug Discov Today.* 2015 Oct;20(10):1243–9.
25. Van Erp NP, van Herpen CM, de Wit D, Willemsen A, Burger DM, Huitema ADR, et al. A Semi-Physiological Population Model to Quantify the Effect of Hematocrit on Everolimus Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in Cancer Patients. *Clin Pharmacokinet.* 2016 Nov;55(11):1447–56.
26. Mahalati K, Kahan BD. Clinical pharmacokinetics of sirolimus. *Clin Pharmacokinet.* 2001;40(8):573–85.
27. Kirchner GI, Meier-Wiedenbach I, Manns MP. Clinical pharmacokinetics of everolimus. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(2):83–95.
28. Kahan BD, Napoli KL, Kelly PA, Podbielski J, Hussein I, Urbauer DL, et al. Therapeutic drug monitoring of sirolimus: correlations with efficacy and toxicity. *Clin Transplant.* 2000 Apr;14(2):97–109.
29. Picard N, Ratanasavanh D, Prémaud A, Le Meur Y, Marquet P. Identification of the UDP-glucuronosyltransferase isoforms involved in mycophenolic acid phase II metabolism. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem.* 2005 Jan;33(1):139–46.
30. Tang J-T, de Winter BC, Hesselink DA, Sombogaard F, Wang L-L, van Gelder T. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate mofetil in younger and elderly renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol.* 2016 Oct 18;

31. Shaw LM, Figurski M, Milone MC, Trofe J, Bloom RD. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2007 Sep;2(5):1062–72.
32. Legendre C, Zuber J, Anglicheau D, Le Quintrec M, Martinez F, Mamzer-Bruneel MF, et al. [Immunosuppression in kidney transplantation]. *Ann Urol*. 2007 Dec;41(6):276–84.
33. Résumé des Caractéristiques du Produit. Belatacept [Internet]. [cited 2017 Mar 1]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002098/WC500108355.pdf
34. Avis de la commission de transparence. 9 novembre 2016. Nulojix 250 mg [Internet]. [cited 2017 Mar 1]. Available from: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-15121_NULOJIX_PIC_REEV_AvisPostAud_CT15121.pdf
35. Vincenti F. Belatacept and Long-Term Outcomes in Kidney Transplantation. *N Engl J Med*. 2016 Jun 30;374(26):2600–1.
36. Cohen JB, Eddinger KC, Forde KA, Abt PL, Sawinski D. Belatacept Compared to Tacrolimus for Kidney Transplantation: A Propensity Score Matched Cohort Study. *Transplantation*. 2016 Dec 8;
37. Chapman JR, Webster AC, Wong G. Cancer in the transplant recipient. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013 Jul 1;3(7).
38. Engels EA, Pfeiffer RM, Fraumeni JF, Kasiske BL, Israni AK, Snyder JJ, et al. Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients. *JAMA*. 2011 Nov 2;306(17):1891–901.
39. Wong G, Chapman JR. Cancers after renal transplantation. *Transplant Rev Orlando Fla*. 2008 Apr;22(2):141–9.
40. Adami J, Gäbel H, Lindelöf B, Ekström K, Rydh B, Glimelius B, et al. Cancer risk following organ transplantation: a nationwide cohort study in Sweden. *Br J Cancer*. 2003 Oct 6;89(7):1221–7.
41. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson DT, Wang C. Cancer after kidney transplantation in the United States. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2004 Jun;4(6):905–13.
42. Finn OJ. Cancer immunology. *N Engl J Med*. 2008 Jun 19;358(25):2704–15.
43. Mennitto A, Grassi P, Ratta R, Verzoni E, Prisciandaro M, Procopio G. Nivolumab in the treatment of advanced renal cell carcinoma: clinical trial evidence and experience. *Ther Adv Urol*. 2016 Oct;8(5):319–26.
44. Geissler EK. Post-transplantation malignancies: here today, gone tomorrow? *Nat Rev Clin Oncol*. 2015 Dec;12(12):705–17.
45. Mourad G, Serre J-E, Alméras C, Basel O, Garrigue V, Pernin V, et al. [Infectious and neoplastic complications after kidney transplantation]. *Nephrol Ther*. 2016 Nov;12(6):468–87.
46. Kauffman HM, Cherikh WS, Cheng Y, Hanto DW, Kahan BD. Maintenance immunosuppression with target-of-rapamycin inhibitors is associated with a reduced incidence of de novo malignancies. *Transplantation*. 2005 Oct 15;80(7):883–9.
47. Shayesteh L, Lu Y, Kuo WL, Baldocchi R, Godfrey T, Collins C, et al. PIK3CA is implicated as an oncogene in ovarian cancer. *Nat Genet*. 1999 Jan;21(1):99–102.

48. Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med*. 2002 Feb;8(2):128–35.
49. Knoll GA, Kokolo MB, Mallick R, Beck A, Buenaventura CD, Ducharme R, et al. Effect of sirolimus on malignancy and survival after kidney transplantation: systematic review and meta-analysis of individual patient data. *BMJ*. 2014 Nov 24;349:g6679.
50. Lebranchu Y, Thierry A, Toupance O, Westeel PF, Etienne I, Thervet E, et al. Efficacy on Renal Function of Early Conversion from Cyclosporine to Sirolimus 3 Months After Renal Transplantation: Concept Study. *Am J Transplant*. 2009 May 1;9(5):1115–23.
51. Thaunat O, Morelon E. [Cancer and immunosuppression: pro- and antitumoral effects of immunosuppressive drugs]. *Nephrol Ther*. 2005 Mar;1(1):23–30.
52. Nauck M, Roth M, Tamm M, Eickelberg O, Wieland H, Stulz P, et al. Induction of vascular endothelial growth factor by platelet-activating factor and platelet-derived growth factor is downregulated by corticosteroids. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1997 Apr;16(4):398–406.
53. Ozmen A, Unek G, Kipmen-Korgun D, Mendilcioglu I, Sanhal C, Sakıncı M, et al. Glucocorticoid effects on angiogenesis are associated with mTOR pathway activity. *Biotech Histochem Off Publ Biol Stain Comm*. 2016;91(4):296–306.
54. Lennard L, Thomas S, Harrington CI, Maddocks JL. Skin cancer in renal transplant recipients is associated with increased concentrations of 6-thioguanine nucleotide in red blood cells. *Br J Dermatol*. 1985 Dec;113(6):723–9.
55. Hojo M, Morimoto T, Maluccio M, Asano T, Morimoto K, Lagman M, et al. Cyclosporine induces cancer progression by a cell-autonomous mechanism. *Nature*. 1999 Feb 11;397(6719):530–4.
56. Basu A, Contreras AG, Datta D, Flynn E, Zeng L, Cohen HT, et al. Overexpression of vascular endothelial growth factor and the development of post-transplantation cancer. *Cancer Res*. 2008 Jul 15;68(14):5689–98.
57. Rébillard X, Grosclaude P, Leone N, Velten M, Coureau G, Villers A, et al. Projection de l'incidence et de la mortalité par cancer urologique en France en 2012. *Prog En Urol*. 2013 Nov;23, Supplement 2:S57–65.
58. Bensalah K, Albiges L, Bernhard J-C, Bigot P, Bodin T, Boissier R, et al. [CCAFU french national guidelines 2016-2018 on renal cancer]. *Progres En Urol J Assoc Francaise Urol Soc Francaise Urol*. 2016 Nov;27 Suppl 1:S27–51.
59. 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. *Eur Urol*. 2016 Jul;70(1):93–105.
60. Geissler K, Fornara P, Lautenschläger C, Holzhausen H-J, Seliger B, Riemann D. Immune signature of tumor infiltrating immune cells in renal cancer. *Oncoimmunology*. 2015 Jan;4(1):e985082.
61. 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*. 2016 Sep;27(suppl 5):v58–68.

62. Znaor A, Lortet-Tieulent J, Laversanne M, Jemal A, Bray F. International variations and trends in renal cell carcinoma incidence and mortality. *Eur Urol*. 2015 Mar;67(3):519–30.
63. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1982 Oct;6(7):655–63.
64. Bretheau D, Lechevallier E, de Fromont M, Sault MC, Rampal M, Coulanges C. Prognostic value of nuclear grade of renal cell carcinoma. *Cancer*. 1995 Dec 15;76(12):2543–9.
65. Brugarolas J. Renal-cell carcinoma--molecular pathways and therapies. *N Engl J Med*. 2007 Jan 11;356(2):185–7.
66. Cohen HT, McGovern FJ. Renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2005 Dec 8;353(23):2477–90.
67. Goel HL, Mercurio AM. VEGF targets the tumour cell. *Nat Rev Cancer*. 2013 Dec;13(12):871.
68. Latif F, Tory K, Gnarra J, Yao M, Duh FM, Orcutt ML, et al. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Science*. 1993 May 28;260(5112):1317–20.
69. Gossage L, Eisen T, Maher ER. VHL, the story of a tumour suppressor gene. *Nat Rev Cancer*. 2015 Jan;15(1):55–64.
70. Cancer Genome Atlas Research Network, Linehan WM, Spellman PT, Ricketts CJ, Creighton CJ, Fei SS, et al. Comprehensive Molecular Characterization of Papillary Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 2016 Jan 14;374(2):135–45.
71. Zhang J, Babic A. Regulation of the MET oncogene: molecular mechanisms. *Carcinogenesis*. 2016 Apr;37(4):345–55.
72. Porta C, Chiellino S, Ferrari A, Mariucci S, Liguigli W. Pharmacotherapy for treating metastatic clear cell renal cell carcinoma. *Expert Opin Pharmacother*. 2017 Feb;18(2):205–16.
73. Fergelot P, Rioux-Leclercq N, Patard J-J. [Molecular pathways of tumour angiogenesis and new targeted therapeutic approaches in renal cancer]. *Progres En Urol J Assoc Francaise Urol Soc Francaise Urol*. 2005 Dec;15(6):1021–9.
74. Koch S, Tugues S, Li X, Gualandi L, Claesson-Welsh L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Biochem J*. 2011 Jul 15;437(2):169–83.
75. Badalian G, Derecskei K, Szendroi A, Szendroi M, Tímár J. EGFR and VEGFR2 protein expressions in bone metastases of clear cell renal cancer. *Anticancer Res*. 2007 Apr;27(2):889–94.
76. Cao Y, Hoepfner LH, Bach S, E G, Guo Y, Wang E, et al. Neuropilin-2 promotes extravasation and metastasis by interacting with endothelial $\alpha 5$ integrin. *Cancer Res*. 2013 Jul 15;73(14):4579–90.
77. Guba M, Graeb C, Jauch K-W, Geissler EK. Pro- and anti-cancer effects of immunosuppressive agents used in organ transplantation. *Transplantation*. 2004 Jun 27;77(12):1777–82.
78. Koukourakis MI, Papazoglou D, Giatromanolaki A, Bougioukas G, Maltezos E, Sivridis E, et al. VEGF gene sequence variation defines VEGF gene expression status and angiogenic activity in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth*. 2004 Dec;46(3):293–8.

79. Kapahi R, Guleria K, Sambyal V, Manjari M, Sudan M, Uppal MS, et al. Association of VEGF and VEGFR1 polymorphisms with breast cancer risk in North Indians. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 2015 Jun;36(6):4223–34.
80. Berardi R, Brunelli A, Pagliaretta S, Paolucci V, Conti A, Goteri G, et al. Impact of VEGF, VEGFR, PDGFR, HIF and ERCC1 gene polymorphisms on thymic malignancies outcome after thymectomy. *Oncotarget*. 2015 Jun 8;6(22):19305–15.
81. Jain L, Vargo CA, Danesi R, Sissung TM, Price DK, Venzon D, et al. The role of vascular endothelial growth factor SNPs as predictive and prognostic markers for major solid tumors. *Mol Cancer Ther*. 2009 Sep;8(9):2496–508.
82. Watson CJ, Webb NJ, Bottomley MJ, Brenchley PE. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production. *Cytokine*. 2000 Aug;12(8):1232–5.
83. Wu X, Xin Z, Zhang W, Wu J, Chen K, Wang H, et al. Polymorphisms in the VEGFA promoter are associated with susceptibility to hepatocellular carcinoma by altering promoter activity. *Int J Cancer J Int Cancer*. 2013 Sep 1;133(5):1085–93.
84. Sáenz-López P, Vazquez F, Cozar JM, Carretero R, Garrido F, Ruiz-Cabello F. VEGF polymorphisms are not associated with an increased risk of developing renal cell carcinoma in Spanish population. *Hum Immunol*. 2013 Jan;74(1):98–103.
85. Bruyère F, Hovens CM, Marson M-N, d' Arcier BF, Costello AJ, Watier H, et al. VEGF polymorphisms are associated with an increasing risk of developing renal cell carcinoma. *J Urol*. 2010 Oct;184(4):1273–8.
86. Lu G, Dong Y, Zhang Q, Jiao L, Yang S, Shen B. Predictive value of vascular endothelial growth factor polymorphisms on the risk of renal cell carcinomas: a case-control study. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med*. 2015 Nov;36(11):8645–52.
87. Ajaz S, Khaliq S, Abid A, Hassan AS, Hashmi A, Sultan G, et al. Association of a single-nucleotide polymorphism in the promoter region of the VEGF gene with the risk of renal cell carcinoma. *Genet Test Mol Biomark*. 2011 Sep;15(9):653–7.
88. Shen B-L, Qu Q-S, Miao S-Z, Zhang Y-X. Association between SNPs in vascular endothelial growth factor polymorphisms and risk of renal cell carcinoma: a case-control study. *Genet Mol Res GMR*. 2015 Sep 22;14(3):11119–25.
89. Xian W, Zheng H, Wu WJ. Predictive value of vascular endothelial growth factor polymorphisms on the risk of renal cell carcinomas. *Genet Mol Res GMR*. 2015 Jul 13;14(3):7634–42.
90. Gong M, Dong W, Shi Z, Qiu S, Yuan R. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and the risk of renal cell carcinoma: Evidence from eight case-control studies. *Oncotarget*. 2017 Jan 31;8(5):8447–58.
91. Krippel P, Langsenlehner U, Renner W, Yazdani-Biuki B, Wolf G, Wascher TC, et al. A common 936 C/T gene polymorphism of vascular endothelial growth factor is associated with decreased breast cancer risk. *Int J Cancer*. 2003 Sep 10;106(4):468–71.
92. Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, Obermayer-Pietsch B, Pilger E. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. *J Vasc Res*. 2000 Dec;37(6):443–8.

93. Al-Habboubi HH, Sater MS, Almawi AW, Al-Khateeb GM, Almawi WY. Contribution of VEGF polymorphisms to variation in VEGF serum levels in a healthy population. *Eur Cytokine Netw.* 2011 Sep;22(3):154–8.
94. Minardi D, Lucarini G, Santoni M, Mazzucchelli R, Burattini L, Pistelli M, et al. VEGF expression and response to sunitinib in patients with metastatic clear cell renal cell carcinoma. *Anticancer Res.* 2013 Nov;33(11):5017–22.
95. ABE A, SATO K, HABUCHI T, WANG L, LI Z, TSUCHIYA N, et al. Single Nucleotide Polymorphisms in the 3′ Untranslated Region of Vascular Endothelial Growth Factor Gene in Japanese Population with or without Renal Cell Carcinoma. *Tohoku J Exp Med.* 2002;198(3):181–90.
96. Kawai Y, Sakano S, Korenaga Y, Eguchi S, Naito K. Associations of single nucleotide polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene with the characteristics and prognosis of renal cell carcinomas. *Eur Urol.* 2007 Oct;52(4):1147–55.
97. Yang Y-Q, Chen J. Predictive role of vascular endothelial growth factor polymorphisms in the survival of renal cell carcinoma patients. *Genet Mol Res GMR.* 2014 Jul 4;13(3):5011–7.
98. Zhong W, Wang X, Pan B, Su Z. Association of vascular endothelial growth factor polymorphisms with clinical outcome of renal cell carcinoma patients. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med.* 2014 Oct;35(10):9839–45.
99. Ma N, Li L-W, Cheng J-L. Predictive value of vascular endothelial growth factor polymorphisms on the clinical outcome of renal cell carcinoma patients. *Oncol Lett.* 2015 Feb;9(2):651–6.
100. Scartozzi M, Bianconi M, Faloppi L, Loretelli C, Bittoni A, Del Prete M, et al. VEGF and VEGFR polymorphisms affect clinical outcome in advanced renal cell carcinoma patients receiving first-line sunitinib. *Br J Cancer.* 2013 Mar 19;108(5):1126–32.
101. Dornbusch J, Walter M, Gottschalk A, Obaje A, Junker K, Ohlmann C-H, et al. Evaluation of polymorphisms in angiogenesis-related genes as predictive and prognostic markers for sunitinib-treated metastatic renal cell carcinoma patients. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2016 Jun;142(6):1171–82.
102. Garcia-Donas J, Esteban E, Leandro-García LJ, Castellano DE, del Alba AG, Climent MA, et al. Single nucleotide polymorphism associations with response and toxic effects in patients with advanced renal-cell carcinoma treated with first-line sunitinib: a multicentre, observational, prospective study. *Lancet Oncol.* 2011 Nov;12(12):1143–50.
103. Liu R, Wang X, Li W, Shou T, Zhou L, Li Y, et al. Influence of VEGFR single nucleotide polymorphisms on the efficacy of sunitinib therapy against renal cell carcinoma. *Oncol Lett.* 2017 Jan;13(1):201–5.
104. Steffensen KD, Waldstrøm M, Brandslund I, Jakobsen A. The relationship of VEGF polymorphisms with serum VEGF levels and progression-free survival in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 2010 Apr;117(1):109–16.
105. Qin C, Chen J, Li J, Ju X, Zhang S, Cao Q, et al. Variants in angiogenesis-related genes and the risk of clear cell renal cell carcinoma. *Mutagenesis.* 2014 Nov;29(6):419–25.
106. Motzer RJ, Hutson TE, Hudes GR, Figlin RA, Martini J-F, English PA, et al. Investigation of novel circulating proteins, germ line single-nucleotide polymorphisms, and molecular tumor

- markers as potential efficacy biomarkers of first-line sunitinib therapy for advanced renal cell carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2014 Oct;74(4):739–50.
107. Cigrovski Berković M, Čačev T, Catela Ivković T, Marout J, Ulamec M, Zjačić-Rotkvić V, et al. High VEGF serum values are associated with locoregional spread of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors (GEP-NETs). *Mol Cell Endocrinol*. 2016 Apr 15;425:61–8.
 108. Ricketts C, Zeegers MP, Lubinski J, Maher ER. Analysis of germline variants in CDH1, IGFBP3, MMP1, MMP3, STK15 and VEGF in familial and sporadic renal cell carcinoma. *PloS One*. 2009 Jun 24;4(6):e6037.
 109. Langsenlehner U, Wolf G, Langsenlehner T, Gerger A, Hofmann G, Clar H, et al. Genetic polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene and breast cancer risk. The Austrian “tumor of breast tissue: incidence, genetics, and environmental risk factors” study. *Breast Cancer Res Treat*. 2008 May;109(2):297–304.
 110. Langsenlehner T, Langsenlehner U, Renner W, Krippel P, Mayer R, Wascher TC, et al. Single nucleotide polymorphisms and haplotypes in the gene for vascular endothelial growth factor and risk of prostate cancer. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2008 Jul;44(11):1572–6.
 111. Qin C, Cao Q, Li P, Wang S, Wang J, Wang M, et al. The influence of genetic variants of sorafenib on clinical outcomes and toxic effects in patients with advanced renal cell carcinoma. *Sci Rep*. 2016 Feb 2;6:20089.
 112. Van der Veldt AAM, Eechoute K, Gelderblom H, Gietema J, Guchelaar H-J, van Erp NP, et al. Genetic polymorphisms associated with a prolonged progression-free survival in patients with metastatic renal cell cancer treated with sunitinib. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2011 Feb 1;17(3):620–9.
 113. Tillou X, Doerfler A, Collon S, Kleinclauss F, Patard J-J, Badet L, et al. De novo kidney graft tumors: results from a multicentric retrospective national study. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2012 Dec;12(12):3308–15.
 114. Moon A, Rogers A, Talbot D, Rix D. Renal Cell Cancer in a European Regional Renal Transplant Population: Is There a Role for Immediate Native Renal Radiological Surveillance Before and After Transplantation? *Transplant Proc*. 2015 Aug;47(6):1840–4.
 115. Lee HH, Choi KH, Yang SC, Han WK. Renal cell carcinoma in kidney transplant recipients and dialysis patients. *Korean J Urol*. 2012 Apr;53(4):229–33.
 116. Gigante M, Neuzillet Y, Patard J-J, Tillou X, Thuret R, Branchereau J, et al. Renal cell carcinoma (RCC) arising in native kidneys of dialyzed and transplant patients: are they different entities? *BJU Int*. 2012 Dec;110(11 Pt B):E570–3.
 117. Takagi T, Kondo T, Okumi M, Ishida H, Tanabe K. Differences in Clinical and Pathological Features of Renal Cell Carcinoma Between Japanese Patients After Kidney Transplantation and Those on Hemodialysis. *Ther Apher Dial Off Peer-Rev J Int Soc Apher Jpn Soc Apher Jpn Soc Dial Ther*. 2017 Feb 10;
 118. Neuzillet Y, Tillou X, Mathieu R, Long J-A, Gigante M, Paparel P, et al. Renal cell carcinoma (RCC) in patients with end-stage renal disease exhibits many favourable clinical, pathologic, and outcome features compared with RCC in the general population. *Eur Urol*. 2011 Aug;60(2):366–73.
 119. Birkeland SA, Løkkegaard H, Storm HH. Cancer risk in patients on dialysis and after renal transplantation. *Lancet Lond Engl*. 2000 May 27;355(9218):1886–7.

120. Vajdic CM, McDonald SP, McCredie MRE, van Leeuwen MT, Stewart JH, Law M, et al. Cancer incidence before and after kidney transplantation. *JAMA*. 2006 Dec 20;296(23):2823–31.
121. Wong G, Hayen A, Chapman JR, Webster AC, Wang JJ, Mitchell P, et al. Association of CKD and cancer risk in older people. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2009 Jun;20(6):1341–50.
122. Holdaas H, Rostaing L, Serón D, Cole E, Chapman J, Fellstrøm B, et al. Conversion of long-term kidney transplant recipients from calcineurin inhibitor therapy to everolimus: a randomized, multicenter, 24-month study. *Transplantation*. 2011 Aug 27;92(4):410–8.
123. Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs699947 ** other ** [Internet]. [cited 2017 Mar 14]. Available from: https://www.ncbi-nlm-nih-gov.gate2.inist.fr/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=699947
124. Chow W-H, Dong LM, Devesa SS. Epidemiology and risk factors for kidney cancer. *Nat Rev Urol*. 2010 May;7(5):245–57.
125. Guide affection longue durée - Cancer du rein de l'adulte - HAS. Juin2010 [Internet]. [cited 2017 Mar 7]. Available from: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-09/ald_30_gm_cancer_rein_web.pdf
126. Cheung CY, Ma MKM, Chak WL, Chau KF, Tang SCW. Conversion to mammalian target of rapamycin inhibitors in kidney transplant recipients with de novo cancers. *Oncotarget*. 2017 Jan 30;
127. Jakubowska A, Gronwald J, Menkiszak J, Górski B, Huzarski T, Byrski T, et al. The VEGF_936_C>T 3'UTR polymorphism reduces BRCA1-associated breast cancer risk in Polish women. *Cancer Lett*. 2008 Apr 8;262(1):71–6.
128. Mermod N, Williams TJ, Tjian R. Enhancer binding factors AP-4 and AP-1 act in concert to activate SV40 late transcription in vitro. *Nature*. 1988 Apr 7;332(6164):557–61.
129. Hu YF, Lüscher B, Admon A, Mermod N, Tjian R. Transcription factor AP-4 contains multiple dimerization domains that regulate dimer specificity. *Genes Dev*. 1990 Oct;4(10):1741–52.

QUINTON Marie-Charlotte

Etude des polymorphismes du *VEGF* dans le développement du carcinome rénal chez les patients transplantés rénaux

Mémoire pour le DES de Biologie médicale,
tenant lieu de Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie.

Université de Picardie Jules Verne
Année universitaire : 2016-2017

Mots clés : *VEGF*, polymorphisme, transplantation rénale, carcinome rénal

Résumé

Contexte : De nombreuses études ont recherché le lien entre les polymorphismes du *VEGF*, acteur clé de l'angiogenèse impliqué dans le développement du carcinome rénal, et le risque de carcinome rénal dans la population générale. Cependant, aucune étude n'a été menée chez les patients transplantés rénaux dont le risque de développer un carcinome rénal est multiplié par un facteur 15 par rapport à la population générale.

Matériels et méthodes : Nous présentons les résultats intermédiaires de l'étude cas-témoins Ve-CART ayant inclus 60 patients ayant subi une greffe rénale entre 2002 et 2012 et suivis au CHU d'Amiens. Cette étude a permis de comparer 2 groupes de patients transplantés rénaux (cas et témoins) afin d'étudier l'impact des polymorphismes du *VEGF* sur le risque de carcinome rénal (objectif principal) ainsi que sur la survie de ces patients (objectif secondaire). Douze polymorphismes du *VEGF* ou ses récepteurs ont été inclus dans l'étude (*VEGFA* c.-2578 A>C (rs699947), *VEGFA* c.-460 C>T (rs833061), *VEGFA* c.-1154 G>A (rs1570360), *VEGFA* c.-634 G>C (rs2010963), *VEGFA* c.-2489 C>T (rs1005230), *VEGFA* c.534 C>T (rs25648), *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039), *VEGFA* c.1612 G>A (rs10434), *FLT4* c.1480 A>G (rs307826), *FLT4* c.3971 G>T (rs307821), *KDR* c.1416 T>A (rs1870377) et *KDR* c.889 C>T (rs2305948)).

Résultats : Nous avons montré pour la première fois dans la population transplantée que le génotype *VEGFA* c.936 CT était associé à une diminution du risque de carcinome rénal (OR=0,18 ; IC 95% [0,04 – 0,82], p=0,03) et à une augmentation non significative de la survie par rapport au génotype CC (100% vs. 85,9% ; p=0,123). Il n'a pas été mis en évidence d'association entre les autres polymorphismes étudiés et le risque de carcinome rénal ou la survie. Ces résultats sont prometteurs mais devront toutefois être confirmés par l'analyse statistique des résultats de l'ensemble de la cohorte.

Abstract

Context: Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a key actor of angiogenesis and is involved in renal cell carcinoma (RCC) development. Many studies investigated the relationship between VEGF polymorphisms and RCC risk in general population. However, no studies have been conducted in renal transplant patients whose risk of developing RCC is multiplied by 15 compared to the general population.

Materials and methods: We present the intermediate results of the Ve-CART case-control study which included 60 patients who underwent a renal transplant between 2002 and 2012 and followed up at the Amiens University Hospital. Twelve *VEGF* or *VEGF* receptors polymorphisms (*VEGFA* c.-2578 A>C (rs699947), *VEGFA* c.-460 C>T (rs833061), *VEGFA* c.-1154 G>A (rs1570360), *VEGFA* c.-634 G>C (rs2010963), *VEGFA* c.-2489 C>T (rs1005230), *VEGFA* c.534 C>T (rs25648), *VEGFA* c.936 C>T (rs3025039), *VEGFA* c.1612 G>A (rs10434), *FLT4* c.1480 A>G (rs307826), *FLT4* c.3971 G>T (rs307821), *KDR* c.1416 T>A (rs1870377) and *KDR* c.889 C>T (rs2305948)) were included to study the impact of *VEGF* polymorphisms on the RCC risk (primary objective) or on the patients survival (secondary objective).

Results: We have shown for the first time in the renal transplanted population that *VEGFA* 936CT genotype was associated with a decreased risk of RCC (OR = 0.18, 95% CI [0.04 - 0.82], p = 0.03) and with a non-significant increase survival compared to the CC genotype (100% vs. 85.9%, p = 0.123). There was no association between the other polymorphisms studied and the RCC risk or survival. These results are promising but should be confirmed by statistical analysis of the entire cohort results.

Jury :

Président : Monsieur le Professeur KAMEL Saïd, CHU Amiens, UPJV

Membres : Monsieur le Professeur CHOUKROUN Gabriel, CHU Amiens, UPJV

Monsieur le Docteur BENNIS Youssef, CHU Amiens, UPJV

Madame le Docteur LIABEU Sophie, CHU Amiens, UPJV

Madame le Docteur BODEAU Sandra, CHU Amiens, UPJV