




Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com



ARTICLE ORIGINAL

Étude de l'expression des kinases Aurora dans le carcinome à cellules rénales[☆]

Study of the expression of Aurora kinases in renal cell carcinoma

R. Mathieu^a, J.-J. Patard^{a,b}, N. Stock^b,
N. Rioux-Leclercq^b, F. Guillé^a, P. Fergelot^b,
K. Bensalah^{a,*,b}

^a Service d'urologie, hôpital Pontchaillou, CHU de Rennes, 2, rue Henri-Le-Guilloux, 35033 Rennes cedex, France

^b CNRS UMR6061 génétique et développement, université de Rennes, 2, avenue du Pr-Léon-Bernard, CS 34317, 35043 Rennes cedex, France

Reçu le 13 janvier 2010 ; accepté le 2 mai 2010

Disponible sur Internet le 29 juin 2010

MOTS CLÉS

Carcinome à cellules rénales ;
Kinases Aurora ;
Thérapies ciblées ;
Envahissement ganglionnaire

Résumé

Objectifs. — La famille des kinases Aurora a un rôle crucial dans la régulation de la mitose. La surexpression d'Aurora A et B a été rapportée dans de nombreux cancers. L'objectif de cette étude était d'analyser l'expression d'Aurora A et B dans le carcinome à cellules rénales (CCR) et son association avec les paramètres cliniques et pathologiques usuels.

Méthodes. — Nous avons étudié rétrospectivement des échantillons tumoraux de 40 patients opérés pour tumeur rénale entre 2003 et 2006. L'ARN était extrait des échantillons tumoraux congelés correspondants. Après contrôle de la qualité de l'ARN, 31 échantillons ont été retenus afin d'évaluer l'expression des gènes *Aurora A* et *B* par RTPCR. Une analyse statistique a été réalisée utilisant le test du χ^2 afin de comparer les niveaux d'expression d'Aurora A et B.

Résultats. — L'âge moyen des patients était de 65 ans (35–82). Sept (22 %) d'entre eux présentaient un envahissement ganglionnaire et huit (26 %) des métastases à distance. La majorité des tumeurs (74 %) étaient classées grade 3 ou 4. Dix-huit patients (58 %) présentaient un carcinome à cellules claires, 12 (39 %) un carcinome papillaire et un une tumeur de Bellini. La surexpression d'Aurora A était associée à l'envahissement ganglionnaire ($p=0,001$). La surexpression d'Aurora B était associée à la fois à l'envahissement ganglionnaire ($p=0,002$) et au sous-type histologique, Aurora B étant significativement surexprimée dans le carcinome à cellules claires ($p=0,001$).

Conclusions. — Les kinases Aurora A et B étaient significativement surexprimées dans les CCR présentant un envahissement ganglionnaire et pourraient donc avoir une valeur pronostique.

© 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

[☆] Niveau de preuve : 5.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : karim.bensalah@chu-rennes.fr (K. Bensalah).

KEYWORDS

Renal cell carcinoma;
Aurora kinases;
Targeted therapy;
Lymph node invasion

Summary

Objectives. — The Aurora kinase family plays a crucial role in the regulation of mitosis. Over-expression of Aurora A and B has been reported in many malignant tumors. The objective of this study was to analyze the expression of Aurora A and B in renal cell carcinoma (RCC) and its correlation with usual clinical and pathological parameters.

Methods. — In a retrospective study, have been studied the tumoral samples of 40 consecutive patients who had been operated between 2003 and 2006 for a renal tumor. RNA was extracted from frozen corresponding tumoral samples. Thirty-one samples were retained based on RNA quality. RT-PCR was done on each of these samples to assess the expression of Aurora A and B genes. Statistical analysis was performed using Chi-square test to compare Aurora A and B levels.

Results. — Median age was 65 years (35–82). Seven (22%) patients had nodal invasion and eight (26%) had distant metastases. Most of the tumors (74%) were grade 3 or 4. Eighteen patients (58%) had clear cell cancer histology, 12 (39%) had papillary histology, and one a Bellini type tumor. Aurora A overexpression was associated with lymph node invasion ($p=0.001$). Aurora B over-expression was associated with both nodal involvement ($p=0.02$) and histologic subtype (significantly over-expressed in clear cell tumors; $p=0.001$).

Conclusions. — Aurora A and B were differentially over-expressed in clear cell RCC and primary tumors of patients with lymph node involvement.

© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

Le carcinome à cellules rénales (CCR) représente 3% des tumeurs solides et son incidence augmente régulièrement [1]. Plusieurs facteurs pronostiques, comme le stade, le grade tumoral ou un Eastern Cooperative Oncology Group Study *performance score* (score ECOG) altéré, sont bien établis. Au stade métastatique, les patients ont un taux de survie à cinq ans de moins de 10% [2]. Les options thérapeutiques sont relativement limitées en cas de CCR métastatique : la radiothérapie et la chimiothérapie sont inefficaces et l'immunothérapie, avec l'interféron et l'interleukine, ne confère qu'une réponse limitée au prix d'une toxicité significative [3]. De nouvelles thérapies, dites ciblées, ont mis en évidence des résultats encourageants avec des taux de réponse pouvant atteindre plus de 40%. Cependant, le gain de survie reste limité à un peu plus de quatre mois lorsqu'il existe [4]. Il apparaît donc nécessaire de disposer de nouvelles pistes thérapeutiques dans les cancers rénaux agressifs, afin de mieux contrôler leur évolution et optimiser leur prise en charge.

La famille des kinases Aurora (Aurora A, B, et C) a un rôle primordial dans la régulation de la division cellulaire (Fig. 1) en contrôlant notamment la ségrégation chromosomique durant la mitose [5]. Plusieurs études ont établi qu'Aurora A et B sont surexprimées dans des lignées cellulaires et des échantillons tissulaires de cancers humains [6–9]. Le gène *Aurora A* est localisé sur le bras court du chromosome 20 (20q13), dans une région souvent amplifiée dans les cancers épithéliaux [6], et peut ainsi être considéré comme un proto-oncogène. Aurora B semble impliqué dans la division cytoplasmique [10]. La fonction exacte d'Aurora C reste imprécise.

Des essais précliniques et cliniques sont actuellement en cours afin d'étudier l'efficacité d'inhibiteurs des kinases Aurora dans le traitement de différents cancers [11]. Le but

de ce travail était d'étudier l'expression des gènes *Aurora A* et *B*, mesurée par PCR, dans les CCR et son association avec les paramètres cliniques et pathologiques usuels à partir d'échantillons congelés provenant de patients opérés pour une tumeur rénale.

Patients et méthodes

Patients et échantillons tumoraux

L'étude a été entreprise avec l'accord et sous le contrôle du comité de surveillance de notre établissement, après consentement éclairé de chaque patient. Elle a consisté en l'étude rétrospective des données de 40 patients traités pour CCR dans notre établissement entre mars 2003 et janvier 2006, pour lesquels des échantillons tumoraux congelés de bonne qualité étaient disponibles. Tous les patients avaient été opérés d'une néphrectomie totale ou partielle. Le curage ganglionnaire était limité aux ganglions pédiculaires et latérocaves ou latéro-aortiques directement adjacents. Un curage extensif (de la bifurcation aortique au diaphragme) était réalisé en cas de suspicion d'atteinte macroscopique sur l'imagerie préopératoire (adénopathie dont le diamètre était supérieur à 1 cm).

Le tissu tumoral frais était obtenu immédiatement après exérèse chirurgicale. Deux échantillons étaient prélevés (un provenant de la tumeur, l'autre du parenchyme rénal sain) et immédiatement congelés dans l'azote liquide, puis stockés à -80°C .

Les patients ont été suivis tous les six mois par un examen clinique, une échographie abdominale, une radiographie pulmonaire et un bilan sanguin. Les données suivantes ont été collectées et rentrées dans une base de données informatique : sexe, âge, score ECOG, taille tumorale, histologie, stade tumoral (classification TNM de 2002), grade tumoral

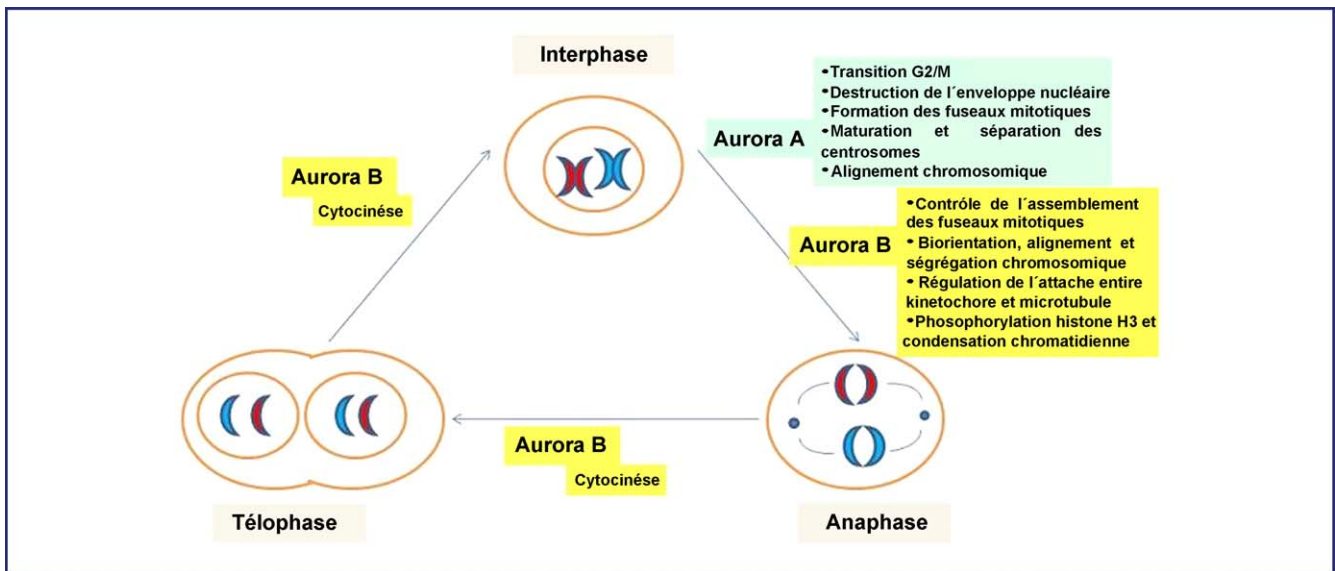


Figure 1. Rôle des kinases Aurora A et B dans la mitose.

selon Furhman, présence de métastases ganglionnaires ou à distance et durée du suivi.

Dans cette étude, nous n'avons pris en compte que les échantillons tumoraux, car nous savions, par de précédentes analyses effectuées dans notre laboratoire, que nos échantillons de parenchyme rénal sain avaient une qualité d'ARN médiocre (données non publiées).

Extraction d'ARN total

Après homogénéisation, l'ARN total était extrait en utilisant le GenElute Mammalian Total RNA Kit (Sigma®, Saint-Louis, États-Unis). Le lysat était rapidement filtré au moyen d'une colonne de filtration. Une DNase était ajoutée au mélange afin d'éviter toute contamination. L'ARN était récupéré par ajout d'une solution d'éluion. L'ARN purifié était immédiatement stocké à -80°C . Un aliquot d'ARN de $8\ \mu\text{l}$ était ensuite utilisé pour l'analyse.

Analyse quantitative et qualitative de l'ARN

La concentration en ARN était calculée avec un spectrophotomètre utilisant une longueur d'onde de $0,2\ \text{nm}$ (Nanodrop ND 1000, NanoDrop Technologies®, Santa Clara, CA). La qualité des échantillons d'ARN était évaluée par le « 2100 analyzer » (Agilent Technologies®, Santa Clara, CA). Les échantillons ARN étaient placés sur des puits afin de réaliser une électrophorèse. Le calcul du *RNA integrity number* (RIN) était réalisé en utilisant le tracé électrophorétique de l'échantillon d'ARN. Le RIN est une évaluation numérique de l'intégrité de l'ARN, autorisant la comparaison entre les échantillons. Nous avons fixé comme seuil un RIN supérieur à 8 pour réaliser l'analyse PCR.

Synthèse d'ADN complémentaire par transcription inverse

Pour chaque échantillon sélectionné, $500\ \text{ng}$ d'ARN ont permis d'obtenir l'ADN complémentaire (ADNc) simple brin

correspondant selon le protocole de *high capacity cDNA archive kit* (Applied Biosystems®, Foster City, CA). Le kit contient des amorces aléatoires, un tampon optimisé de transcription inverse, un mélange équimolaire de deoxyadénosine triphosphate (dATP), deoxyguanosine triphosphate (dGTP), deoxythymidine triphosphate (dTTP) et deoxycytidine triphosphate (dCTP), et une enzyme (l'enzyme multiscribe) permettant la transcription inverse. Les échantillons d'ADNc étaient immédiatement stockés à -20°C .

qPCR

La qPCR était réalisée en utilisant un thermocycleur (ABI PRISM 7000). Les réactions de qPCR étaient réalisées en « trois exemplaires » à partir de $5\ \mu\text{l}$ d'ADNc issu de la transcription inverse de l'ARN tumoral, dilué au 1/250 dans 96 puits (Applied Biosystems®). Chaque puit contenait $7,5\ \mu\text{l}$ de Master Mix SYBR Green (Applied Biosystems®), les amorces sens et antisens ($300\ \text{mM}$) des gènes *Aurora A*, *Aurora B* et $\beta 2\text{microglobuline}$, préalablement définies avec le logiciel Primer Express 3 (Tableau 1). La spécificité des amorces et l'efficacité de la PCR étaient vérifiées pour chaque paire d'amorce avant toute amplification des échantillons tumoraux. Un échantillon était choisi de façon aléatoire comme calibre interne pour l'amplification d'*Aurora A* et *B*. La quantité relative d'ARNm d'*Aurora A* et *B* dans les tumeurs était calculée après normalisation du signal de la $\beta 2\text{microglobuline}$ selon la formule : $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ avec ΔCt représentant la différence du cycle seuil entre la cible et les gènes de référence, et $\Delta\Delta\text{Ct} = \Delta\text{Ct}(\text{test}) - \Delta\text{Ct}(\text{calibreur})$.

Analyse statistique

L'expression d'*Aurora A* et *B* était définie de façon qualitative comme supérieure ou inférieure à la médiane de l'échantillon. L'association entre le niveau d'expression d'*Aurora A* et *B* et les différentes caractéristiques tumorales était calculée selon le test exact de Fischer ou le test de χ^2 . Nous n'avons pas réalisé d'analyse de survie étant donné le

Tableau 1 Séquences des amorces des gènes *Aurora A*, *Aurora B* et β 2-microglobuline.

	Séquence	Taille de l'amplicon (PB)
Aurora A	Sens	150
	Antisens	
Aurora B	Sens	130
	Antisens	
β 2-microglobuline	Sens	75
	Antisens	

suivi relativement court des patients. Le seuil de significativité était fixé à 0,05. Toutes les valeurs de p correspondent à des tests bilatéraux. Les données ont été analysées en utilisant le logiciel SPSS (SPSS inc., Chicago, version 13.0).

Résultats

L'âge moyen des 40 patients traités pour CCR était de 65 ans (35–82). L'histologie correspondait à un carcinome à cellules claires pour 24 patients (60%), à un carcinome papillaire pour 15 patients (37,5%) et à une tumeur de Bellini pour un patient (2,5%).

Une valeur seuil du RIN de 8 a été retenue comme seuil limite pour sélectionner les échantillons tumoraux pour l'analyse par RTPCR. Le **Tableau 2** présente les caractéristiques clinico-pathologiques des 31 patients retenus. Sept patients (22%) avaient un envahissement ganglionnaire et huit (26%) des métastases à distance. Soixante-quatorze pour cent des tumeurs étaient de haut grade. Dix-huit patients (58%) présentaient un carcinome à cellules claires, 12 (39%) un carcinome papillaire et un (3%) une tumeur de Bellini. Avec un suivi moyen de 9,3 mois, deux (6,5%) patients sont décédés de leur cancer et deux (6,5%) d'une autre cause. Le carcinome de Bellini qui correspond à une entité différente a été exclu de l'analyse RTPCR.

En RTPCR, les expressions moyennes d'Aurora A et B étaient respectivement de 1,02 (0,2–17,5) et 3,01 (0,18–18). La surexpression d'Aurora A était associée à l'envahissement ganglionnaire ($p=0,001$, **Tableau 3**): 86% des patients avec un envahissement ganglionnaire présentaient une surexpression d'Aurora A contre 35% des patients sans envahissement ganglionnaire (**Fig. 2**). La surexpression d'Aurora B était associée à la fois à l'envahissement ganglionnaire ($p=0,02$, **Tableau 3**) et au sous-type histologique ($p=0,001$, **Tableau 3**), l'expression d'Aurora B

Tableau 2 Caractéristiques cliniques et pathologiques des 31 patients retenus pour l'analyse PCR après calcul du *RNA integrity number* (RIN).

Nombre de patients	31
Âge (min–max)	65 ans (35–82)
Stade T	
T1-T2	14 (45%)
T3-T4	17 (55%)
Envahissement ganglionnaire	7 (22%)
Métastases à distance	8 (26%)
Grade	
1–2	8 (26%)
3–4	23 (74%)
Sous-type histologique	
Cellule claire	18 (58%)
Papillaire	12 (39%)
Bellini	1 (3%)
Suivi moyen (min–max)	9,3 mois (0–27)
Min : minimum ; max : maximum.	

Tableau 3 Association entre des niveaux d'expression d'Aurora A et B, et critères pronostiques de carcinome à cellules rénales (la tumeur de Bellini a été exclue de l'étude).

Variables	valeur p (Aurora A)	valeur p (Aurora B)
Envahissement ganglionnaire	0,001	0,02
Métastases à distance	0,4	0,8
Stade	0,3	0,2
Grade	0,4	0,6
ECOG	0,3	0,7
Présence de symptômes	0,14	0,2
Sous-type histologique	0,2	0,001
ECOG : Eastern Cooperative Oncology Group Study performance score.		

étant supérieure à la valeur médiane dans 72% des carcinomes à cellules claires contre 8% des carcinomes papillaires (**Fig. 3**). Il n'y avait pas de différence significative d'expression d'Aurora A en fonction du type histologique. Nous n'avons pas mis en évidence d'association entre les niveaux d'expression tissulaire d'Aurora A et B et la présence de métastases à distance, le stade tumoral, le grade de Furhman, le score ECOG ou la présence de symptômes (**Tableau 3**).

Discussion

Le CCR est en termes de fréquence le troisième cancer urologique et son incidence croît depuis une vingtaine d'années

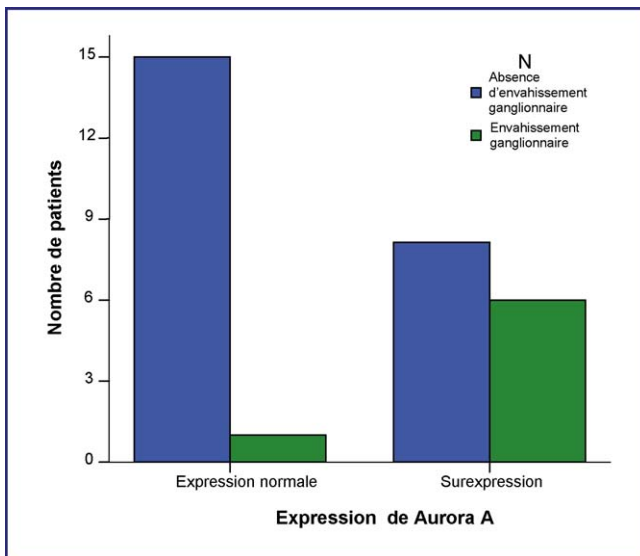


Figure 2. Expression d'Aurora A en fonction de l'envahissement ganglionnaire.

[1]. De nouvelles thérapies, dites ciblées, ont mis en évidence des résultats encourageants. Néanmoins, le gain de survie reste limité et la toxicité de ces traitements est importante [4]. De nouvelles voies thérapeutiques sont donc explorées dans l'espoir de trouver de nouveaux marqueurs prédictifs de l'évolution et/ou de la réponse thérapeutique.

Nous avons mis en évidence une association entre l'expression d'Aurora A et B et l'envahissement ganglionnaire dans le CCR. L'envahissement ganglionnaire est reconnu depuis longtemps comme un facteur pronostique majeur dans les CCR puisqu'il est associé à un taux de survie à cinq ans de 30% en moyenne [12]. Aurora A et B sont d'importants régulateurs de la mitose [13]. La

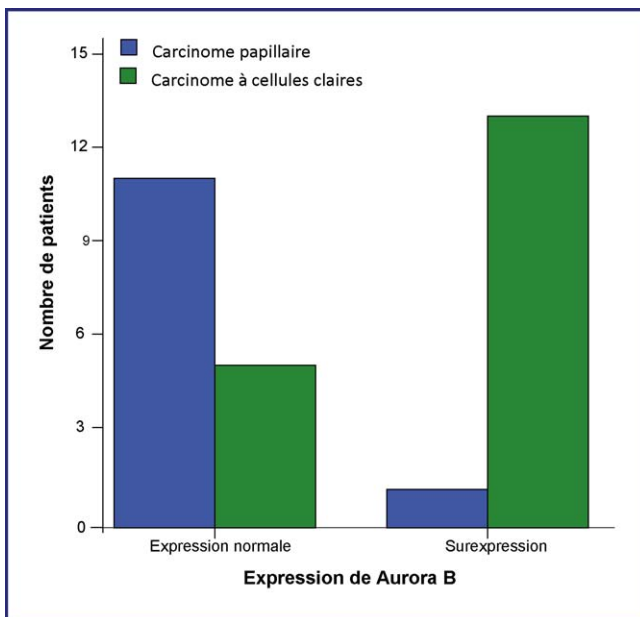


Figure 3. Expression d'Aurora B en fonction du sous-type histologique.

surexpression de l'ARNm d'Aurora A et B et/ou de leur protéine correspondante a été rapportée dans de nombreux cancers concernant des tissus aussi divers que le pancréas [14], le foie [6], le sein [8], l'ovaire [15] et le côlon [7]. Cependant, les études concernant l'expression des kinases Aurora dans les tumeurs urologiques demeurent peu nombreuses. Il a été noté une corrélation entre l'expression nucléaire d'Aurora B et l'augmentation du score de Gleason dans le cancer de prostate [16]. Sen et al. ont mis en évidence une corrélation entre l'expression d'Aurora A et les cancers de vessie agressifs [17]. Les kinases Aurora apparaissent donc comme des marqueurs de phase I intéressants. Elles semblent être une piste thérapeutique prometteuse et des études sont en cours. En effet, le rôle des kinases Aurora dans le cycle cellulaire en fait une cible rationnelle dans les traitements anticancéreux. Cha et al. ont ainsi récemment démontré que les inhibiteurs des histones désacétylases avaient un effet anticancéreux sur des cellules tumorales rénales par dégradation des kinases Aurora A et B, en bloquant notamment leur association avec l'histone désacétylase 3 [18]. Différents inhibiteurs des kinases Aurora sont en phase de développement précliniques et cliniques, et les résultats de ces essais cliniques les plus avancés sont encourageants [11]. Notre étude ouvre ainsi des perspectives concernant l'utilisation de ces inhibiteurs dans le traitement du CCR localement avancé.

Nous avons observé que l'expression d'Aurora B était plus importante dans les carcinomes à cellules claires que dans les carcinomes papillaires. Les tumeurs papillaires sont généralement considérées comme des tumeurs de meilleur pronostic que les carcinomes à cellules claires [19]. Cependant, une étude de grande échelle a mis en évidence que le stade TNM et le grade de Fuhrman étaient de meilleurs facteurs pronostiques que le sous-type histologique [20]. La différence d'expression d'Aurora B entre les différents types tumoraux suggère une association avec la tumorigénèse.

Nos résultats doivent être nuancés par un certain nombre de limites. Tout d'abord, il s'agit d'une étude rétrospective. Ensuite, la RTPCR, même si elle est plus précise que l'étude immuno-histochimique, est limitée par des discordances inhérentes au choix des amorces, la variabilité dans l'interprétation et les critères décisionnels, et l'inhomogénéité dans la gestion des échantillons et des procédures techniques. Par ailleurs, le nombre de nos échantillons et le suivi relativement court pourraient avoir limité notre capacité à détecter des différences attribuables à d'autres variables. Dans une étude récente, Kurahashi et al. n'ont trouvé aucune différence entre le niveau d'expression tissulaire d'Aurora A (mesuré par RTPCR et immuno-histochimie) et les facteurs pathologiques et pronostiques reconnus chez les patients présentant un CCR [21]. De plus, la ligature première de l'artère rénale lors de la néphrectomie pourrait avoir altéré l'expression de différentes molécules. En effet, le tissu rénal ayant une activité métabolique intense, l'ischémie peut aboutir à des dommages cellulaires et à une possible altération de l'ARN. Pour cette raison, nous n'avons analysé que des échantillons tumoraux présentant un ARN de qualité. Enfin, il s'agit d'une étude phase I dont les résultats doivent être validés et confirmés par une étude à plus grande échelle.

Conclusions

Les kinases Aurora A et B étaient significativement surexprimées dans les CCR présentant un envahissement ganglionnaire et pourraient avoir une valeur pronostique. Ces résultats doivent être confirmés à l'échelon protéique par immuno-histochimie et hybridation par fluorescence.

Conflit d'intérêt

Aucun.

Références

- [1] Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun AS. The changing natural history of renal cell carcinoma. *J Urol* 2001;166:1611–23.
- [2] Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J, Berg W, Amsterdam A, Ferrara J. Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1999;17:2530–40.
- [3] Clark JI, Atkins MB, Urba WJ, Creech S, Figlin RA, Dutcher JP, et al. Adjuvant high-dose bolus interleukin-2 for patients with high-risk renal cell carcinoma: a cytokine working group randomized trial. *J Clin Oncol* 2003;21:3133–40.
- [4] Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Oudard S, et al. Overall survival and updated results for sunitinib compared with interferon alfa in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2009;27(22):3584–90.
- [5] Bolanos-Garcia VM. Aurora kinases. *Int J Biochem Cell Biol* 2005;37:1572–7.
- [6] Jeng YM, Peng SY, Lin CY, Hsu HC. Overexpression and amplification of Aurora-A in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10:2065–71.
- [7] Bischoff JR, Anderson L, Zhu Y, Mossie K, Ng L, Souza B, et al. A homologue of *Drosophila* aurora kinase is oncogenic and amplified in human colorectal cancers. *EMBO J* 1998;17:3052–65.
- [8] Hoque A, Carter J, Xia W, Hung MC, Sahin AA, Sen S, et al. Loss of aurora A/STK15/BTAK overexpression correlates with transition of in situ to invasive ductal carcinoma of the breast. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:1518–22.
- [9] Matthews N, Visintin C, Hartzoulakis B, Jarvis A, Selwood DL. Aurora A and B kinases as targets for cancer: will they be selective for tumors? *Expert Rev Anticancer Ther* 2006;6:109–20.
- [10] Adams RR, Eckley DM, Vagnarelli P, Wheatley SP, Gerloff DL, Mackay AM, et al. Human INCENP colocalizes with the Aurora-B/AIRK2 kinase on chromosomes and is overexpressed in tumour cells. *Chromosoma* 2001;110:65–74.
- [11] Carpinelli P, Moll J. Is there a future for Aurora kinase inhibitors for anticancer therapy? *Curr Opin Drug Discov Devel* 2009;12(4):533–42.
- [12] Bassil B, Dosoretz DE, Prout Jr GR. Validation of the tumor, nodes and metastasis classification of renal cell carcinoma. *J Urol* 1985;134:450–4.
- [13] Giet R, Petretti C, Prigent C. Aurora kinases, aneuploidy and cancer, a coincidence or a real link? *Trends Cell Biol* 2005;15:241–50.
- [14] Rojanala S, Han H, Munoz RM, Browne W, Nagle R, Von Hoff DD, et al. The mitotic serine threonine kinase Aurora-2, is a potential target for drug development in human pancreatic cancer. *Mol Cancer Ther* 2004;3:451–7.
- [15] Gritsko TM, Coppola D, Paciga JE, Yang L, Sun M, Shelley SA, et al. Activation and overexpression of centrosome kinase BTAK/Aurora-A in human ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2003;9:1420–6.
- [16] Chieffi P, Cozzolino L, Kisslinger A, Libertini S, Staibano S, Mansueto G, et al. Aurora B expression directly correlates with prostate cancer malignancy and influence prostate cell proliferation. *Prostate* 2006;66:326–33.
- [17] Sen S, Zhou H, Zhang RD, Yoon DS, Vakar-Lopez F, Ito S, et al. Amplification/overexpression of a mitotic kinase gene in human bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1320–9.
- [18] Cha TL, Chuang MJ, Wu ST, Sun GH, Chang SY, Yu DS, et al. Dual degradation of aurora A and B kinases by the histone deacetylase inhibitor LBH589 induces G2-M arrest and apoptosis of renal cancer cells. *Clin Cancer Res* 2009;15(3):840–50.
- [19] Cheville JC, Lohse CM, Zincke H, et al. Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2003;27:612–24.
- [20] Patard JJ, Leray E, Rioux-Leclercq N, Cindolo L, Ficarra V, Zisman A, et al. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. *J Clin Oncol* 2005;23:2763–71.
- [21] Kurahashi T, Miyake H, Hara I, Fujisawa M. Significance of Aurora-A expression in renal cell carcinoma. *Urol Oncol* 2007;25:128–33.