
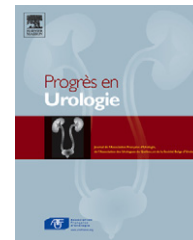




Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

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



ARTICLE ORIGINAL

La neutrophil gelatinase-associated lipocalin, ou LCN 2, facteur d'agressivité dans le carcinome rénal à cellules claires (CRCC)[☆]

The neutrophil gelatinase-associated lipocalin, or LCN 2, marker of aggressiveness in clear cell renal cell carcinoma

C. Perrin^{a,b,c}, J.-J. Patard^{a,d}, F. Jouan^a, N. Collet^e,
S. Théoleyre^{a,e}, J. Edeline^{a,c}, S. Zerrouki^e,
B. Laguerre^c, M.-A. Bellaud-Rotureau^{a,g},
N. Rioux-Leclercq^{a,*}, C. Vigneau^{a,f}

^a UMR CNRS 6061/IFR 140, Rennes équipe « Cancer du rein », avenue du Professeur-Léon-Bernard, 35000 Rennes, France

^b Service d'anatomie et cytologie pathologiques, CHU Pontchaillou, 2, rue Henri-le-Guilloux, 35000 Rennes, France

^c Service d'oncologie médicale, centre régional de lutte contre le cancer Eugène-Marquis, avenue Bataille-Flandre-Dunkerque, 35042 Rennes cedex, France

^d Service d'urologie, centre hospitalier du Kremlin-Bicêtre, 78, rue Général-Leclerc, 94270 Kremlin-Bicêtre, France

^e Service de biochimie, CHU Pontchaillou, 2, rue Henri-le-Guilloux, 35000 Rennes, France

^f Service de néphrologie, CHU, 2, rue Henri-le-Guilloux, 35000 Rennes, France

^g Service de cytogénétique, CHU Pontchaillou, 2, rue Henri-le-Guilloux, 35000 Rennes, France

Reçu le 10 janvier 2011 ; accepté le 20 juin 2011

Disponible sur Internet le 3 septembre 2011

MOTS CLÉS

Carcinome à cellules rénales ;
Pronostic ;
Protéine LCN2 ;
Matrix métalloprotéinase 9

Résumé

But de l'étude. – Étudier le rôle pronostique de la neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) et de la matrix métalloprotéinase 9 (MMP-9) dans le carcinome rénal à cellules claires (CRCC).

Patients et méthodes. – Chez des patients ayant un CRCC, l'expression de NGAL et MMP-9 a été mesurée dans les tissus tumoraux par immunohistochimie et dans les sérums en Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Elisa). Les résultats ont été confrontés aux données anatomocliniques.

[☆] Niveau de preuve : 5.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : nathalie.rioux@chu-rennes.fr (N. Rioux-Leclercq).

Vascular endothelial growth factor

Résultats. – Soixante-quatorze patients opérés d'un CRCC au CHU de Rennes entre 2003 et 2009 ont été inclus. Des fortes concentrations sériques du complexe NGAL–MMP-9 avaient une signification péjorative en survie sans progression (SSP) (33,3 mois contre 47,3 mois, $p=0,016$) et en survie spécifique (42,5 mois contre 51,9 mois, $p<0,047$). De même, des concentrations sériques élevées de NGAL étaient péjoratives en termes de SSP (13,6 mois contre 41,6 mois, $p=0,04$). Paradoxalement, NGAL n'était pas exprimée dans les cellules tumorales des CRCC mais il était exprimé par les polynucléaires neutrophiles (PNN) intratumoraux. Nous avons montré qu'une forte densité des PNN marqués par NGAL avait une valeur pronostique péjorative en termes de SSP et de survie spécifique (36,9 mois contre 56,1 mois, $p<0,006$).

Conclusion. – Cette étude a montré le rôle pronostique de NGAL et surtout du complexe NGAL–MMP-9 sérique dans le CRCC et a confirmé le rôle pronostique péjoratif de l'infiltrat des PNN sur le site tumoral.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

KEYWORDS

Renal cell carcinoma;
Prognosis;
LCN2 protein;
Matrix metalloproteinase 9;
Vascular endothelial growth factor

Summary

Objective. – To determine the prognostic significance of the neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and the matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) in clear cell renal cell carcinoma (CCRCC).

Patients and methods. – NGAL and MMP-9 expression were quantified by immunohistochemistry in clear renal cell carcinoma tissues and in sera by Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Elisa). Results were associated with clinicopathologic data.

Results. – Seventy-four patients operated for CCRCC in Rennes between 2003 and 2009 were included. High concentrations of NGAL–MMP-9 complex in serum were associated with short progression free survival (PFS) (33.3 months versus 47.3 months, $P=0.016$) and poor overall survival (42.5 months versus 51.9 months, $P<0.047$). High NGAL concentrations in serum were also associated with shorter PFS (13.6 months versus 41.6 months, $P=0.04$). However, no NGAL expression was observed in renal tumor cells. Interestingly, NGAL was expressed by neutrophils infiltrating CCRCC and we showed that the density of NGAL expressing neutrophils was associated with peyorative PFS and survival (36.9 months versus 56.1 months, $P<0.006$).

Conclusion. – In this study, we showed the peyorative significance of NGAL–MMP-9 complex and NGAL rates in serum of CCRCC. We also confirmed that density of NGAL expressing neutrophils in CCRCC was associated with poor outcome.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

Le carcinome à cellules claires du rein (CRCC) représente le septième cancer chez l'homme en termes d'incidence avec 10 300 nouveaux cas en 2009 en France et une mortalité estimée à 4000 cas la même année. Pour les formes métastatiques, les traitements ciblent soit la voie Von Hippel Lindau/Hypoxia Inducible Factor/Vascular Endothelial Growth Factor (VHL/Hif/VEGF) par les inhibiteurs multicibles des récepteurs tyrosine kinase tels que le sunitinib ou le sorafenib, soit la voie Phosphatidyl-Inositol 3 kinase/Akt/Mammalian Target of Rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) par des inhibiteurs de la mTOR comme le temsirolimus. Le sunitinib est ainsi devenu un des standards pour le traitement des formes métastatiques de bon pronostic ou de pronostic intermédiaire [1] et le temsirolimus pour les formes de mauvais pronostic. En ce qui concerne les formes localisées, la chirurgie reste le seul traitement curatif. Cependant, celle-ci n'est suffisante pour une rémission clinique prolongée que dans 50 % des cas. Des traitements adjuvants sont en cours d'expérimentation clinique en vue d'améliorer la survie sans récurrence après traitement chirurgical [2], citons par exemple les essais

SORCE (EudraCT: 2006-006079-19) et S-TRAC (EudraCT: 2006-004024-37).

Devant le développement de ces différentes thérapies ciblées, et dans l'optique de proposer aux patients des traitements personnalisés, il est souhaitable d'affiner les facteurs pronostiques tels que ceux de l'UISS (New University of California Los Angeles Integrated Staging System) pour définir ainsi les patients les plus à même de bénéficier d'un traitement adjuvant périopératoire [3]. Dans ce cadre, la *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL), ou lipocalin 2, est un biomarqueur qui semble intéressant. En effet, il a été reconnu comme facteur pronostique et prédictif pour plusieurs types de carcinomes tels le carcinome mammaire ou l'adénocarcinome gastrique [4]. NGAL est une protéine de 25 kD synthétisée principalement par les cellules de l'immunité innée activées mais aussi dans certaines cellules cancéreuses ainsi que par les cellules tubulaires rénales. Elle a, par exemple, un effet pro-tumoral par sa liaison covalente à la matrix métalloprotéinase 9 (MMP-9) dans le microenvironnement tumoral. En effet, la formation du complexe NGAL–MMP-9 protège la MMP-9 de la dégradation et augmente ainsi son activité enzymatique et la croissance tumorale [5].

Dans cette étude, notre objectif a été d'étudier la valeur pronostique de l'expression de NGAL, de la MMP-9 et du complexe NGAL–MMP-9 à la fois dans le sérum et les tumeurs de patients ayant un CRCC.

Patients et méthodes

Population

Les patients inclus étaient des patients opérés d'un CRCC tous stades confondus entre 2003 et 2009 dans le service d'urologie du CHU de Rennes. Les patients avaient signé un consentement éclairé autorisant la conservation de ces tissus et l'expérimentation à des fins de recherche.

Expression intratumorale de NGAL et de MMP-9

Les analyses par immunohistochimie (IHC) ont été réalisées sur des coupes de CRCC inclus en paraffine. Les anticorps primaires utilisés étaient l'anticorps anti-NGAL humain polyclonal de chèvre, dilution 1/400 (RnD System®, Lille, France), et l'anticorps anti-MMP-9 humain monoclonal de souris, dilution 1/100 (RnD System®). Les anticorps secondaires utilisés étaient pour NGAL, un anticorps anti-chèvre biotinylé (Vector®, Abcys, Paris, France) et pour MMP-9, un anticorps biotinylé anti-souris et anti-lapin (Ventana®). La révélation chromogénique a été obtenue grâce au kit DAB-Map (Ventana®) utilisé sur automate (Discovery XT, Ventana®, Illkirsh, France). Des témoins négatifs étaient réalisés à chaque expérience en omettant l'anticorps primaire. Les témoins positifs étaient des prélèvements tissulaires de corticale rénale péri-tumorale pour NGAL et de tissu placentaire pour MMP-9.

Le marquage obtenu avec l'anticorps anti-MMP-9 a été coté en deux classes simplifiées selon Kawata [6] :

- 0 – absence d'immunomarquage ou marquage fin des cellules tumorales, n'intéressant que la membrane cellulaire, sans marquage cytoplasmique quelle que soit la proportion de cellules marquées ;
- 1 – marquage diffus membranaire et cytoplasmique intéressant plus de 50% des cellules tumorales.

Le marquage NGAL en IHC a été évalué dans les cellules de CRCC en deux classes de la même manière que le marquage MMP-9.

De plus, la densité des polynucléaires neutrophiles (PNN) marqués par l'anticorps anti-NGAL dans le tissu tumoral a été évaluée en quatre groupes :

- absence de PNN marqués par NGAL dans le microenvironnement tumoral ;
- PNN fortement marqués par NGAL dispersés dans le microenvironnement tumoral sous forme de cellules isolées, sans amas cellulaire ;
- PNN marqués par NGAL présents sous forme d'amas de trois cellules ou plus répartis dans le microenvironnement tumoral, les PNN restant très inférieurs en nombre au nombre des cellules tumorales (non marquées) ;
- PNN marqués par NGAL abondants de manière diffuse avec de nombreux amas entre les cellules tumorales et en quantité comparable aux cellules tumorales.

Cette mesure était réalisée en dehors des zones nécrotiques ou hémorragiques où le nombre de PNN était dans tous les cas élevé.

Expression sérique de NGAL et du complexe NGAL–MMP-9

Les mesures des concentrations de NGAL et du complexe NGAL–MMP-9 ont été effectuées par technique Elisa à partir des sérums des patients conservés à -80°C . Les kits utilisés étaient le Quantikine Human lipocalin2/NGAL (RnD systems®) et le Quantikine® Human NGAL/MMP-9 (RnD systems®). Ces prélèvements sériques avaient tous été réalisés en préopératoire de la chirurgie initiale du CRCC.

Analyse statistique

Des courbes de survie ont été réalisées selon la méthode de Kaplan-Meier et comparées par le test de Log Rank. La survie spécifique était définie par le délai entre le diagnostic histologique du CRCC et un éventuel décès attribuable au CRCC. Les patients décédés d'une autre cause que le CRCC étaient censurés au moment de leur décès. Une analyse multivariée selon Cox a été réalisée pour l'étude de l'indépendance des différents paramètres pronostiques. Des tests de Khi^2 ont été utilisés pour l'étude d'associations statistiques entre les variables. Les différences étaient considérées comme significatives pour un p inférieur à 0,05 (risque α). Le logiciel Statistical Pack for Social Sciences v17.0 (SPSS Inc®, Chicago, Illinois) a été utilisé.

Résultats

Patients

Soixante-quatorze patients opérés d'un CRCC ont été inclus. Les caractéristiques de cette population ont été décrites dans le [Tableau 1](#). La moyenne d'âge était de 62,7 ans ($\pm 10,3$ ans), le sex-ratio d'une femme pour 2,3 hommes. La survie sans progression était en moyenne de 40,1 mois dans cette population avec des extrêmes à quatre et 69 mois. La survie spécifique était en moyenne de 46,7 mois (5–69 mois).

Selon le test du Log Rank en analyse univariée, les paramètres pronostiques classiques étaient associés de manière significative à des pronostics péjoratifs : le T ou envahissement local ($p < 0,001$) et la taille tumorale supérieure à 7,5 cm, médiane de taille dans cette population ($p = 0,03$), le N ou envahissement ganglionnaire régional ($p = 0,008$), le M ou envahissement métastatique ($p = 0,02$), le grade de Fuhrman ($p < 0,001$), l'existence de nécrose tumorale ($p = 0,002$) et l'existence d'une composante sarcomatoïde ($p < 0,001$).

Étude de l'expression de MMP-9 par immunohistochimie

Cinquante-huit pour cent des CRCC avaient un marquage nul ou de faible intensité pour MMP-9 (score 0) alors que 42% avaient un marquage de forte intensité (score 1). Un

Tableau 1 Caractéristiques initiales de la population de 74 patients ayant un carcinome rénal à cellules claires (CRCC).

Sex-ratio (F/H)	22/52 (1/2,3)
Âge moyen en années (écart-type)	62,7 (\pm 10,3)
État général selon le score ECOG	
0	51 (69%)
1	23 (31%)
T	
T1	20 (27%)
T2	14 (19%)
T3	36 (49%)
T4	4 (5%)
Taille tumorale moyenne (cm, écart-type)	7,7 (3,5–9,9)
N	
N0	62 (84%)
N1	5 (7%)
N2	7 (9%)
M	
M0	51 (69%)
M1	23 (31%)
Grade histopronostique de Fuhrman	
1	2 (3%)
2	18 (24%)
3	29 (39%)
4	25 (34%)
Existence de nécrose tumorale	
Oui	42 (57%)
Non	32 (43%)
Suivi (moyenne, mini–maxi)	29 mois (2–69)
Survie sans progression (moyenne, mini–maxi)	40,1 mois (4–69)
Survie spécifique (moyenne, mini–maxi)	46,7 mois (5–69)

Le score ECOG qualifie l'état général. Le TNM est un score pronostique anatomo-clinique [8]. Le grade de Fuhrman est défini histologiquement sur l'aspect des noyaux et des nucléoles [9].

score 1 de MMP-9 était significativement corrélé à une survie sans progression diminuée à 21,7 mois contre 49,6 mois, $p < 0,001$, et à une moindre survie spécifique 31,7 mois contre 58,9 mois, $p < 0,001$ (Fig. 1A).

Étude de l'expression de NGAL dans les tissus de CRCC

Aucune cellule tumorale n'exprimait NGAL (Fig. 2). En revanche, la protéine NGAL était exprimée dans le microenvironnement marquant fortement les sidérophages qui conformément à leur fonction biologique, se trouvaient dans les zones hémorragiques ainsi que les PNN situés dans la périphérie des zones de nécrotiques (Fig. 2C). Les PNN localisés dans les espaces intercellulaires du tissu tumoral, à distance des zones nécrotiques ou hémorragiques, avaient un marquage hétérogène et quantifiable. La densité de cet

infiltrat de PNN exprimant NGAL a été évaluée en dehors de toute zone hémorragique ou nécrotique selon un score de 0 à 3 (Fig. 2D–G). Elle était estimée à un score 0 dans un cas (1%), score 1 dans 41 cas (55%), score 2 dans 25 cas (34%) et score 3 dans six cas (8%). Par rapport aux scores 0 et 1, les scores 2 et 3 de l'infiltrat neutrophilique étaient significativement corrélés à un mauvais pronostic en termes de survie sans progression : 25,6 mois contre 47,1 mois, $p = 0,009$, et en termes de survie globale spécifique : 36,9 mois contre 56,1 mois, $p = 0,006$ (Fig. 1B).

Concentrations sériques de NGAL et du complexe NGAL–MMP-9 dans le sérum

Expression de NGAL dans le sérum

Par analyse Elisa, nous avons montré que les concentrations de NGAL sériques se répartissaient de 22 à 266 ng/mL avec une moyenne de 90,2 ng/mL (\pm 49,6 ng/mL). En se basant sur le seuil de 150 ng/mL publié dans la littérature [7], nous avons mis en évidence que les patients avec des valeurs de NGAL supérieures à 150 ng/mL ($n = 7$) avaient une survie sans progression significativement diminuée à 13,6 mois contre 41,6 mois, $p = 0,04$. Cette différence était également observée pour la survie globale spécifique mais la différence n'était pas significative (données non montrées).

Expression du complexe NGAL–MMP-9 dans le sérum

La mesure du complexe NGAL–MMP-9 dans le sérum nous a permis d'obtenir des valeurs entre 0 et 106 ng/mL, une moyenne de 25,1 ng/mL (\pm 27,8 ng/mL) et une médiane à 15 ng/mL. En absence de valeur seuil consensuelle, cette médiane a été utilisée comme valeur seuil pour la corrélation au pronostic. La concentration sérique du complexe NGAL–MMP-9 se traduisait avec une différence statistiquement significative pour la survie sans progression qui était à 33,3 mois contre 47,3 mois, $p = 0,016$, et pour la survie spécifique qui était à 42,5 mois contre 51,9 mois, $p = 0,047$, avec un meilleur pronostic pour le groupe de faible expression de NGAL–MMP-9 sérique (Fig. 1C).

Analyse multivariée et associations statistiques entre les variables

Analyse multivariée

Les paramètres apparaissant significativement associés à la survie des patients en analyse univariée ainsi que les facteurs pronostiques classiques ont été étudiés pour l'analyse multivariée. Les facteurs retenus pour l'analyse multivariée étaient : le stade TNM [8], la taille tumorale, le grade de Fuhrman [9], l'existence d'une composante sarcomatoïde, l'existence de nécrose tumorale, l'infiltrat de PNN intratumoraux, l'expression de MMP-9 intratumorale, le niveau d'expression de NGAL tissulaire et sérique, le niveau d'expression de NGAL–MMP-9 dans le sérum. Au final, en étude multivariée, seuls les paramètres T ($p = 0,003$), M ($p = 0,011$) et le grade de Fuhrman ($p = 0,001$) apparaissaient liés à la survie sans progression des patients de manière indépendante.

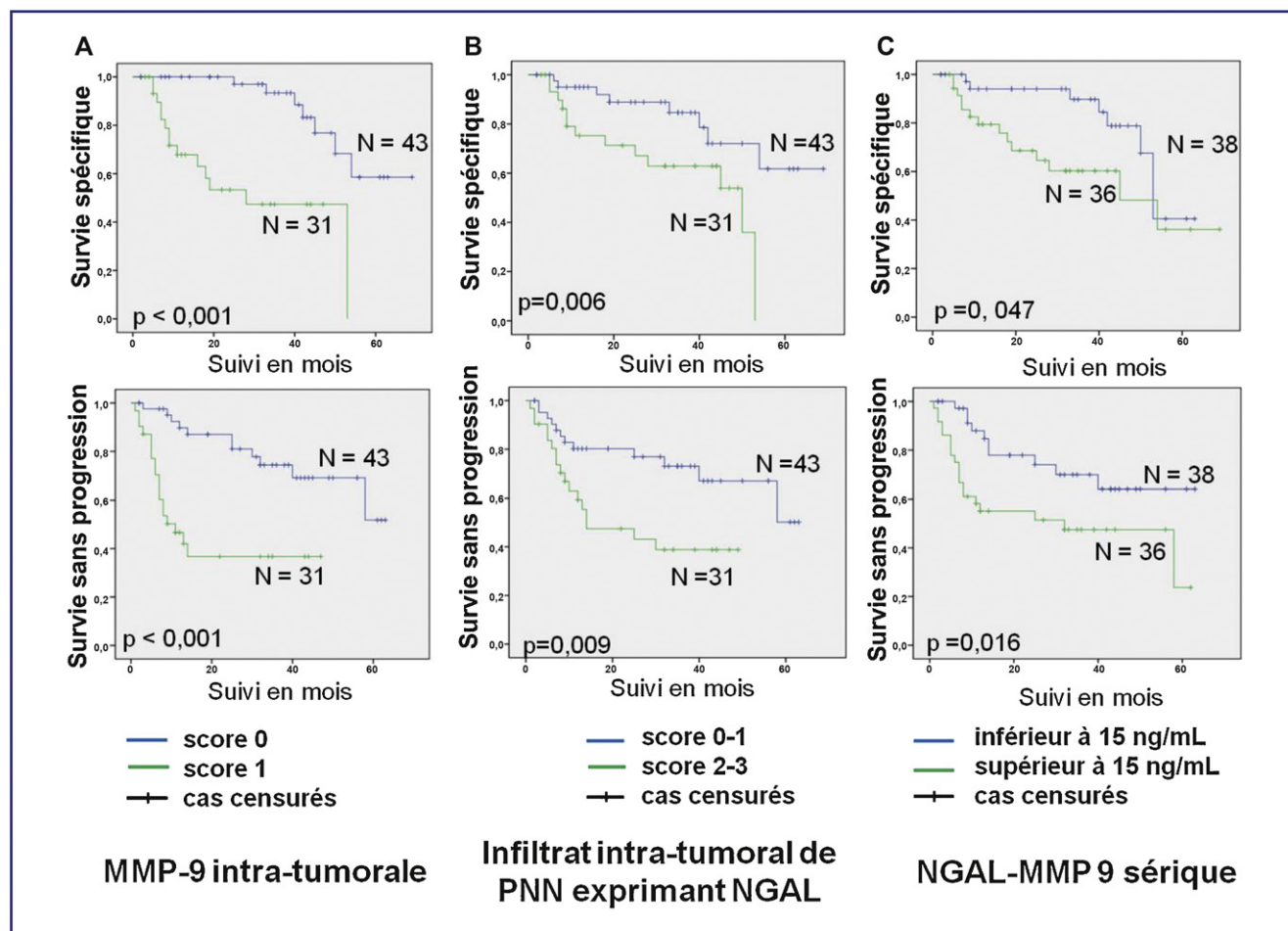


Figure 1. Courbes de survies spécifiques et de survies sans progression en fonction de : A. Expression intratumorale de MMP-9 mesurée en immunohistochimie. B. Densité de l'infiltrat de PNN exprimant NGAL mesurée par immunohistochimie dans les CRCC. C. Concentration de NGAL–MMP-9 mesurée dans le sérum par Elisa (test de log rank).

Étude des associations entre les différents paramètres mesurés

Étant donné l'intérêt pronostique du complexe NGAL–MMP-9 sérique en analyse univariée, nous avons étudié son association avec les paramètres anatomocliniques (Tableau 2). Ce paramètre était associé statistiquement à certains facteurs anatomocliniques : la taille tumorale, le stade métastatique, le grade de Fuhrman 4, la nécrose tumorale et les embolies tumorales vasculaires microscopiques.

Par ailleurs, lorsque l'on s'est intéressé à l'association entre les concentrations sériques de NGAL et l'expression tissulaire de MMP-9, parmi les sept patients chez qui la concentration de NGAL était supérieure à 150 ng/mL, cinq patients surexprimaient MMP-9 (71 %) tandis que seulement 26 patients sur 67 (39 %) surexprimaient MMP-9 quand les concentrations de NGAL étaient inférieures à 150 ng/mL. Il existait donc une tendance d'association entre les concentrations de NGAL sérique et l'expression intratumorale de MMP-9 dans les CRCC mais cette association n'était pas statistiquement significative compte tenu du faible effectif dans le groupe NGAL supérieur à 150 ng/mL ($p = 0,096$).

Discussion

Dans cette étude, notre objectif était d'évaluer le rôle pronostique de deux protéines du microenvironnement tumoral du CRCC : NGAL et MMP-9. Nous avons confirmé le rôle pronostique péjoratif de la MMP-9. Nous avons également mis en évidence l'intérêt pronostique de NGAL sérique, du complexe NGAL–MMP-9 sérique ainsi que de l'infiltrat tumoral de PNN exprimant NGAL.

NGAL a potentiellement un rôle dans le développement des tumeurs. En effet, NGAL a été décrit comme un facteur pronostique péjoratif dans le carcinome mammaire [10] et dans l'adénocarcinome de l'estomac [11]. À l'inverse, dans l'adénocarcinome pancréatique, les formes les plus agressives sont associées à une faible expression tissulaire de NGAL [12]. Dans notre étude, des concentrations élevées de NGAL sérique étaient significativement associées à une réduction significative de la survie sans progression. Le faible effectif de notre population et le déséquilibre des groupes (sept patients comparés à 64 patients) expliquaient probablement partiellement la non-significativité du résultat en survie spécifique. Les concentrations du complexe NGAL–MMP-9 étaient associées à des paramètres

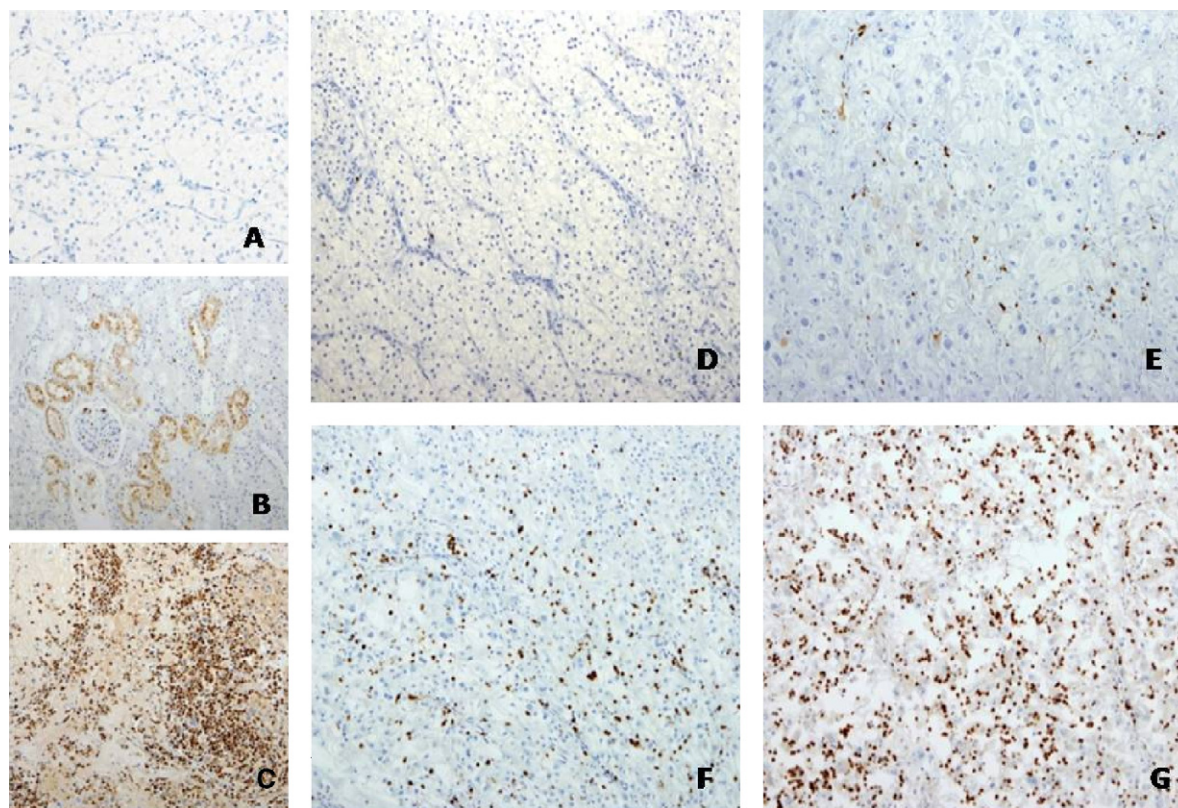


Figure 2. Étude de l'expression de NGAL par immunohistochimie (grossissement $\times 100$). A. Témoin négatif réalisé sur tissu cortical rénal en absence d'anticorps primaire anti-NGAL. B. Témoin positif réalisé sur tissu cortical rénal marqué par l'anticorps primaire anti-NGAL. C. Nécrose tumorale associée à une zone hémorragique. D à G. CRCC avec marquage des polynucléaires neutrophiles par NGAL cotés en fonction de leur densité : D : marquage NGAL coté 0, E : marquage NGAL coté 1, F : marquage NGAL coté 2, G : marquage NGAL coté 3.

anatomocliniques de mauvais pronostic et en particulier des paramètres témoignant de l'agressivité de l'invasion tumorale : grade de Fuhrman 4, nécrose tumorale et embolies tumorales vasculaires microscopiques. Cela s'est traduit cliniquement par une valeur pronostique péjorative du complexe NGAL–MMP-9 sérique en survie sans progression et en survie spécifique. À l'échelle du microenvironnement tumoral, les mécanismes d'action de NGAL dans la cancérogenèse commencent à être élucidés. L'effet pro-tumoral de NGAL le mieux documenté est son couplage à la MMP-9 ou gélatinase dans le milieu extracellulaire. Cette liaison à NGAL protège la MMP-9 de la dégradation et augmente ainsi son activité protéasique [5]. Les actions pro-tumorales de la MMP-9 pourraient ainsi être potentialisées par NGAL [4] : libération des facteurs de croissance extracellulaires séquestrés dans le milieu extracellulaire tels que le VEGF [13] et l'Epidermal Growth Factor (EGF), clivage des signaux d'apoptose tels que Fas et Fas-ligand, invasion tissulaire et métastases par remodelage de la matrice extracellulaire [14]. Par ailleurs, NGAL a aussi un retentissement sur la transduction du signal intracellulaire dans le cas où il est internalisé grâce au NGAL récepteur. Sur un modèle de culture cellulaire de carcinome anaplasique de la thyroïde, NGAL a, d'une part, un effet pro-tumoral par internalisation du fer dans les cellules tumorales et, d'autre part, une action anti-tumorale par l'inhibition de

la voie VHL/Hif/VEGF [15]. Concernant le CRCC, la concentration de NGAL dans le sérum en début de traitement anti-angiogénique a récemment été décrite comme facteur prédictif de mauvaise réponse au traitement sur une série de 85 patients ayant un CRCC [16].

Par ailleurs, nous avons confirmé le rôle pronostique d'une forte expression de MMP-9. Ces données sont conformes aux données de Cho et al. qui retrouvaient un rôle pronostique péjoratif de la surexpression de MMP-9 étudiée en cDNA array et qPCR dans une série de 178 patients [17]. De manière intéressante, nous avons remarqué que les concentrations élevées de NGAL sérique tendent à être associées à de fortes expressions tumorales tissulaires de MMP-9 même si le déséquilibre des groupes n'a pas permis d'atteindre la significativité. Ce constat pourrait faire évoquer le rôle de NGAL circulant dans l'expression ou la stabilisation de MMP-9 dans le CRCC.

Enfin, la mesure de l'expression intratumorale de NGAL a montré l'absence d'expression de NGAL par les cellules tumorales malgré leur origine tubulaire rénale. En revanche, NGAL était exprimée par des cellules du microenvironnement tumoral et notamment les PNN qui infiltraient la tumeur. La densité de ces PNN marqués par NGAL avait une valeur pronostique péjorative en survie spécifique et en survie globale. Ces données, conformes à celle de Jensen

Tableau 2 Associations entre la concentration du complexe *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*–matrix métalloprotéinase 9 (NGAL–MMP-9) et les caractères anatomo-cliniques classiques (test du Khi²).

Complexe NGAL–MMP-9 sérique	< 15 ng/mL	> 15 ng/mL	Significativité (p)
<i>T</i>			
T1-2	21 (55%)	13 (36%)	0,05
T3	17 (45%)	19 (53%)	
T4	0	4 (11%)	
<i>N</i>			
N0	34 (89%)	28 (78%)	0,11
N1	3 (8%)	2 (6%)	
N2	1 (3%)	6 (17%)	
<i>M</i>			
M 0	31 (82%)	20 (56%)	0,01
M 1	7 (18%)	16 (44%)	
<i>Taille tumorale</i>			
Taille < 7,5 cm	26 (68%)	12 (33%)	0,004
Taille > 7,5 cm	12 (32%)	23 (64%)	
<i>Grade de Fuhrman</i>			
F1-2-3	30 (79%)	19 (53%)	0,02
F4	8 (21%)	17 (42%)	
<i>Composante sarcomatoïde</i>			
Absente	35 (92%)	29 (81%)	0,15
Présente	3 (8%)	7 (19%)	
<i>Nécrose</i>			
Absente	23 (61%)	9 (25%)	0,002
Présente	15 (39%)	27 (75%)	
<i>Embols tumoraux</i>			
Absents	27 (71%)	13 (36%)	0,003
Présents	11 (29%)	23 (64%)	

[18], suggèrent le rôle protumoral des PNN marqués par NGAL. Ainsi, nous pouvons émettre l'hypothèse que dans le CRCC, NGAL est un marqueur de PNN pro-tumoraux de type N2 décrits par Fridlender par opposition aux PNN de type N1 dont l'action est anti-tumorale [19].

Conclusion

En conclusion, NGAL et le complexe NGAL–MMP-9 contribuent à la caractérisation pronostique des CRCC. La simplicité de ces dosages sériques est un avantage pour le cas où une application clinique devrait se mettre en place dans cette indication. Pour les formes localisées, il serait probablement intéressant d'étudier NGAL et le complexe NGAL–MMP-9 sériques avant et après la chirurgie initiale. La décroissance de ces marqueurs sériques pourrait avoir une signification pronostique sur le risque de récurrence et orienter ainsi la décision d'un éventuel traitement systémique complémentaire. De même, l'étude de NGAL et du complexe NGAL–MMP-9 sériques en réponse aux traitements anti-angiogéniques est une voie à explorer, mais nous avons trop peu de patients traités par anti-angiogéniques dans notre série pour étudier ce paramètre. Une hypothèse est que l'évolution précoce de ces marqueurs sériques serait prédictive de la réponse au traitement en cours.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007;356(2):115–24.
- [2] Oudard S, Cornu J, Rouprêt M, Patard J. Antiangiogenic treatment and kidney cancer: ongoing trials and future perspectives. *Prog Urol* 2008;18(Suppl. 4):S77–80.
- [3] Zisman A, Pantuck AJ, Dorey F, Said JW, Shvarts O, Quintana D, et al. Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system. *J Clin Oncol* 2001;19(6):1649–57.
- [4] Bolignano D, Donato V, Lacquaniti A, Fazio MR, Bono C, Coppolino G, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in human neoplasias: a new protein enters the scene. *Cancer Lett* 2010;288(1):10–6.
- [5] Yan L, Borregaard N, Kjeldsen L, Moses MA. The high molecular weight urinary matrix metalloproteinase (MMP) activity is a complex of gelatinase B/MMP-9 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). *J Biol Chem* 2001;276(40):37258–65.

- [6] Kawata N, Nagane Y, Igarashi T, Hirakata H, Ichinose T, Hachiya T, et al. Strong significant correlation between MMP-9 and systemic symptoms in patients with localized renal cell carcinoma. *Urology* 2006;68(3):523–7.
- [7] Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2009;54(6):1012–24.
- [8] Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. TNM classification of malignant tumours. 7th ed. Indianapolis, USA: Wiley-Blackwell; 2009.
- [9] Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1982;6:655–63.
- [10] Bauer M, Eickhoff JC, Gould MN, Mundhenke C, Maass N, Friedl A. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is a predictor of poor prognosis in human primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008;108(3):389–97.
- [11] Kubben FJ, Sier CF, Hawinkels LJ, Tschesche H, van Duijn W, Zuidwijk K, et al. Clinical evidence for a protective role of lipocalin-2 against MMP-9 autodegradation and the impact for gastric cancer. *Eur J Cancer* 2007;43(12):1869–76.
- [12] Moniaux N, Chakraborty S, Yalniz M, Gonzalez J, Shostrom VK, Standop J, et al. Early diagnosis of pancreatic cancer: neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of pancreatic intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 2008;98(9):1540–7.
- [13] Bergers G, Brekken R, McMahon G, Vu TH, Itoh T, Tamaki K, et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol* 2000;2(10):737–44.
- [14] Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell* 2010;141(1):52–67.
- [15] Iannetti A, Pacifico F, Acquaviva R, Lavorgna A, Crescenzi E, Vascotto C, et al. The neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), a NF- κ B-regulated gene, is a survival factor for thyroid neoplastic cells. *Proc Natl Acad Sci* 2008;105(37):14058–63.
- [16] Porta C, Paglino C, De Amici M, Quaglini S, Sacchi L, Imarisio I, et al. Predictive value of baseline serum vascular endothelial growth factor and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in advanced kidney cancer patients receiving sunitinib. *Kidney Int* 2010;77(9):809–15.
- [17] Cho NH, Shim HS, Rha SY, Kang SH, Hong SH, Choi YD, et al. Increased expression of matrix metalloproteinase 9 correlates with poor prognostic variables in renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2003;44(5):560–6.
- [18] Jensen HK, Donskov F, Marcussen N, Nordmark M, Lundbeck F, von der Maase H. Presence of intratumoral neutrophils is an independent prognostic factor in localized renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2009;27(28):4709–17.
- [19] Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, et al. Polarization of tumor-associated neutrophil (TAN) phenotype by TGF- β : “N1” versus “N2” TAN. *Cancer Cell* 2009;16(3):183–94.