

juvante et/ou adjuvante, et au stade tumoral (tous les $p \leq 0,03$). L'analyse multivariée ajustée pour le sexe, l'âge, l'administration de chimiothérapie néoadjuvante et le nombre de RTUV montrait que le tabagisme actif était associé à une maladie localement avancée ($p = 0,003$). Le sevrage tabagique > 10 ans réduisait significativement ce risque (stade $\geq pT3$, RR = 0,190 et/ou pN+, RR = 0,19) au moment de la cystectomie.

Conclusion Le sevrage tabagique prolongé (> 10 ans) améliore significativement les caractéristiques tumorales au moment de la cystectomie, ce qui est un facteur reconnu de meilleur pronostic à long terme. Les patients doivent donc être informés des risques du tabagisme et bénéficier d'un conseil de sevrage.

Déclaration de liens d'intérêts Les auteurs n'ont pas précisé leurs éventuels liens d'intérêts.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.purol.2016.07.194>

CO 186

Identification d'une signature moléculaire pronostique composée de 3 gènes impliqués dans l'immunité dans les tumeurs urothéliales de vessie infiltrant le muscle



C. Le Goux^{1,*}, D. Damotte², S. Vacher¹, N. Barry Delongchamps³, M. Sibony², B. Terris², M. Zerbib³, I. Bieche¹, G. Pignot⁴

¹ Institut Curie, Paris, France

² Université Paris-Descartes, hôpital Cochin, service d'anatomopathologie, Paris, France

³ Université Paris-Descartes, hôpital Cochin, service d'urologie, Paris, France

⁴ Institut Paoli-Calmettes, service d'urologie, Marseille, France

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : constance.legoux@gmail.com (C. Le Goux)

Objectifs L'immunothérapie dans le cancer de vessie semble donner des résultats prometteurs. Le but de cette étude était d'évaluer l'implication de 33 gènes de l'immunité antitumorale dans une large série de tumeurs de vessie infiltrant le muscle (TVIM) et d'identifier de nouveaux marqueurs pronostiques.

Méthodes Les niveaux d'expression de 33 gènes impliqués dans l'immunité antitumorale ont été analysés par RT-PCR quantitative en temps réel, sur une série consécutive de 83 TVIM et 15 témoins (tissu vésical normal). Les prélèvements tissulaires ont été effectués sur pièce de cystectomie, chez des patients opérés entre 2001 et 2006. Tous les patients ont signé un consentement éclairé. Les résultats de l'analyse transcriptomique ont été confirmés par immunohistochimie et couplés à une analyse de survie.

Résultats Parmi les 33 gènes étudiés, 24 (72,7 %) étaient significativement surexprimés par rapport au tissu vésical normal. En analyse univariée, la surexpression d'OX40L était significativement associée à un pronostic péjoratif en termes de survie sans récurrence et de survie globale ($p = 0,0027$ et $p = 0,014$ respectivement) tandis que la surexpression de CD8 était associée à un meilleur pronostic ($p = 0,024$ et $p = 0,029$ respectivement). Une analyse en *clustering* nous a permis d'identifier une signature moléculaire composée de 3 gènes (OX40L, CD8 et TIGIT) permettant de séparer les tumeurs en 3 sous-groupes pronostiques distincts. Dans une analyse multivariée incluant l'ensemble des facteurs clinico-pathologiques et moléculaires significatifs en univarié, la signature moléculaire était un facteur pronostique indépendant en termes de survie sans récurrence et de survie globale ($p = 0,0007$ et $p = 0,007$ respectivement).

Conclusion Nous avons identifié plusieurs gènes impliqués dans la réponse immunitaire au cours de la carcinogénèse urothéliale vésicale, ainsi qu'une signature moléculaire composée de 3 gènes (OX40L, CD8 et TIGIT) associée au pronostic des TVIM, et suggérant un intérêt potentiel à l'échelon individuel.

Déclaration de liens d'intérêts Bourse AFU.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.purol.2016.07.195>

CO 187

Cultures d'organoïdes de vessie humaine : un nouveau modèle d'étude



V. Tostivint^{1,*}, N. Vergnolle², A. Ferrand², P. Lluet³, X. Gamé⁴, S. Chabot³, C. Rouget³, J. Beauval⁴

¹ Département d'urologie, andrologie et transplantation rénale, IRSD, université de Toulouse, Inserm, INRA, ENVT, UPS, Toulouse, France

² IRSD, université de Toulouse, Inserm, INRA, ENVT, UPS, Toulouse, France

³ Urosphere, Canal Biotech II, 3, rue des Satellites, 31200 Toulouse, France

⁴ Département d'urologie, andrologie et transplantation rénale, Toulouse, France

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : victor.tostivint@hotmail.fr (V. Tostivint)

Objectifs La recherche en urologie manque d'un modèle in vitro de vessie restituant les caractéristiques de l'urothélium et intégrant son microenvironnement. Le modèle organoïde repose sur les propriétés de croissance et de différenciation des cellules souches au sein d'une matrice en trois dimensions (3D), permettant de restituer l'architecture des tissus dont elles sont issues. L'objectif était de valider et caractériser un premier modèle d'organoïdes de vessie humaine.

Méthodes À partir de prélèvements vésicaux en zone saine de patients cystectomisés pour un cancer de la vessie, l'urothélium était isolé par digestion enzymatique. Les cellules urothéliales étaient ensemencées à différentes densités, avec ou sans fibroblastes de vessie du patient, dans 25 μ L de Matrigel® (hydrogel composé d'extrait soluble de membrane basale). Le milieu de culture était le KSFM® complété avec de l'hEGF et de l'extrait pituitaire de bovin. Le suivi morphologique des structures en microscopie était bihebdomadaire. L'architecture et la différenciation cellulaire étaient évaluées par le marquage en immunofluorescence des noyaux, de l'actine, des cytokératines (CK) 17 et 20, et de l'uroplakine 3A (UPK3A).

Résultats Dix cultures d'organoïdes de vessie ont été réalisées. Une croissance des structures jusqu'à 20 jours de culture était observée, pour un taux d'ensemencement minimal de 50 000 cellules urothéliales par puits en association avec des fibroblastes (Fig. 1). Les organoïdes adoptaient une conformation 3D dans le Matrigel® et plusieurs phénotypes étaient visualisés : des cystes monostratifiés autour d'une lumière, des sphères pleines pluristratifiées évoluant (à partir de j12) vers des structures multiformes avec l'apparition inconstante d'une lumière centrale (Fig. 2). Le diamètre moyen des organoïdes était de 180 μ m à j20. Une différenciation cellulaire complète au sein des organoïdes multiformes était constatée. Les cellules basales exprimant la CK17 se situaient à la périphérie au contact du Matrigel® tandis que les cellules superficielles différenciées exprimant la CK20 et l'UPK3A se trouvaient en leur centre.

Conclusion Les organoïdes de vessie restituent in vitro la conformation 3D et la diversité cellulaire de l'urothélium avec une différenciation complète. Il s'agit d'un nouveau modèle plus représentatif de l'organe in vivo. La prochaine étape sera de générer des organoïdes cancéreux de vessie issue de tumeur vésicale de patient, ouvrant l'opportunité d'évaluation de nouvelles thérapies anti-tumorales et à terme de médecine personnalisée.

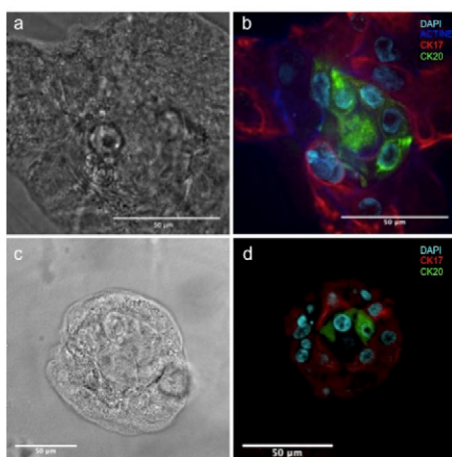


Figure 1 Organoïdes de vessie différenciés. Organoïdes de vessie visualisés en lumière blanche (a et c) puis immunomarqués (b et d) avec les noyaux au DAPI, l'actine bleu, les cellules superficielles différenciées CK20 en vert et basales CK17 en rouge.

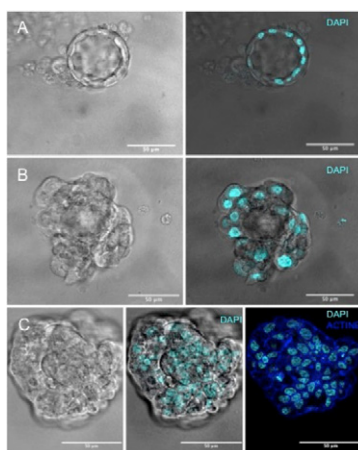


Figure 2 Les différents phénotypes d'organoïdes de vessie humaine. A. Organoïde cystique monostratifié. B. Organoïde multiforme pluristratifié centré par une lumière. C. Organoïde multiforme pluristratifié plein.

Déclaration de liens d'intérêts Bourse de la faculté de médecine de Toulouse

<http://dx.doi.org/10.1016/j.purol.2016.07.196>

CO 188

Valeur pronostique de *PLEKHS1* dans la carcinogénèse urothéliale vésicale



C. Le goux^{1,*}, D. Damotte², S. Vacher¹, N. Barry-delongchamps³, M. Sibony², B. Terris², M. Zerbib³, I. Bièche¹, G. Pignot⁴

¹ Institut Curie, Paris, France

² Université Paris-Descartes, hôpital Cochin, service d'anatomopathologie, Paris, France

³ Université Paris-Descartes, hôpital Cochin, service d'urologie, Paris, France

⁴ Institut Paoli-Calmettes, service d'urologie, Marseille, France

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : constance.legoux@gmail.com (C. Le goux)

Objectifs *PLEKHS1* est un des gènes les plus fréquemment mutés en dehors de la séquence codante, avec des mutations observées au niveau du promoteur dans près de 50 % des tumeurs de vessie.

Le but de cette étude était d'évaluer l'implication éventuelle de *PLEKHS1* dans la carcinogénèse urothéliale vésicale et son impact pronostique éventuelle.

Méthodes Les niveaux d'expression de *PLEKHS1* ont été analysés par RT-PCR quantitative en temps réel, sur une série consécutive de 154 échantillons de tumeurs de vessie (71 TVNIM et 83 TVIM) et 15 témoins (tissu vésical normal). Tous les patients ont signé un consentement éclairé. Les résultats de l'analyse transcriptomique ont été couplés à une étude immunohistochimique sur *tissue-microarray* et couplés à une analyse de survie.

Résultats *PLEKHS1* était sur-exprimé dans 22,5 % des TVNIM et 27,7 % des TVIM versus 0 % dans les échantillons vésicaux normaux (émergence d'expression). Les niveaux d'expression de différaient pas significativement en fonction du grade et du stade. Dans le groupe des TVNIM, la sur-expression de *PLEKHS1* était significativement associée à un pronostic péjoratif en termes de progression vers l'infiltration musculaire ($p=0,0069$), et ce de façon indépendante en analyse multivariée incluant le stade et le grade. Dans le groupe des TVIM, *PLEKHS1* était significativement associé à la survie sans récurrence et à la survie globale ($p=0,0073$ et $p=0,40$, respectivement), et ce, de façon indépendante en analyse multivariée incluant le stade et le statut N.

Conclusion Cette étude a permis de mettre en évidence une émergence d'expression de *PLEKHS1* dans près d'un quart des tumeurs de vessie. *PLEKHS1* est un facteur pronostique indépendant en termes de survie sans progression pour les TVNIM et en termes de survie sans récurrence et de survie globale pour les TVIM.

Déclaration de liens d'intérêts Les auteurs n'ont pas précisé leurs éventuels liens d'intérêts.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.purol.2016.07.197>

CO 189

Étude de la vascularisation pelvienne chez la femme après cystectomie : la ligature de l'artère ombilicale a-t-elle une incidence sur la vascularisation pelvienne et périnéale ?



E. Chantalat^{1,*}, G. De bonnecaze², L. Even¹, B. Bordier³, X. Gamé¹, M. Roumiguié¹

¹ CHU Rangueil, Toulouse cedex 9, France

² CHU Pierre-Paul-Riquet, Toulouse, France

³ Clinique Pasteur, Toulouse, France

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : echantalat@yahoo.fr (E. Chantalat)

Objectifs Évaluer la dévascularisation pelvienne et périnéale chez la femme après cystectomie totale pour cause neuro urologique.

Méthodes Il s'agit d'une étude anatomique et radiologique prospective. Nous avons réalisé 15 dissections de pelvis de cadavres frais de femmes adultes de façon bilatérale afin d'identifier et de quantifier les branches de division de l'artère ombilicale et ainsi montrer que l'artère ombilicale conserve chez certaines patientes son statut embryonnaire qui est notamment d'être à l'origine de la vascularisation pelvienne. Parallèlement, nous avons analysé et comparé les examens d'imagerie réalisés en pré- et postopératoire (angio IRM) de 12 patientes ayant bénéficié d'une cystectomie totale. Nous avons ainsi quantifié l'amputation de la vascularisation pelvienne sur l'imagerie postopératoire.

Résultats Nos résultats préliminaires montrent une grande variabilité concernant la naissance des branches viscérales de division de l'artère iliaque interne. En effet, certaines naissent de l'artère ombilicale : l'artère utérine dans la majorité des cas (77 %), mais également l'artère pudendale interne (36 %) (Fig. 1) assurant la vascularisation du clitoris et des petites lèvres. Parallèlement, l'étude comparative des angio IRM met en évidence une dévascularisation pelvienne et périnéale conséquente dépendante de la topographie