

Protocole COBLAnCE

1. Etat de la question et objectif de la recherche

Les cancers de vessie sont parmi les cancers les plus fréquents dans les pays industrialisés (Ferlay et al., 2010). En France, environ 10 000 nouveaux cas de tumeurs invasives sont diagnostiqués chaque année et ces cancers représentent la 5^{ème} cause de cancer chez l'homme (taux d'incidence annuelle d'environ 12/100 000). Le cancer de la vessie est 3 fois plus fréquent chez l'homme que chez la femme et l'âge moyen au diagnostic est de 65 ans.

Le cancer de la vessie est une maladie hétérogène (Lee & Droller, 2000) ; le degré d'envahissement du muscle vésical permet de distinguer les tumeurs superficielles (Ta, T1 et carcinomes *in situ*) et les tumeurs invasives (T2, T3 et T4). L'évolution et la prise en charge dépendent beaucoup du caractère invasif de la tumeur. Dans les tumeurs superficielles, le contrôle de la maladie et la survie à long terme sont obtenus par une résection endoscopique de la tumeur, avec ou sans traitement complémentaire par des instillations intra-vésicales de BCG. Globalement, 50-70% des tumeurs superficielles récidivent, le plus souvent dans les 12 mois. L'histoire naturelle de la maladie est cependant imprévisible pour un patient donné : récurrence plus ou moins précoce, avec plus ou moins de localisations, avec le même stade et grade ou avec progression vers une tumeur infiltrante (5-30%). Si le cancer superficiel reste de bon pronostic (taux de survie à 5 ans après traitement d'environ 80-90%), le cancer invasif de la vessie est beaucoup plus grave et nécessite des traitements agressifs. Parmi les tumeurs infiltrantes, 80% le sont d'emblée, sans antécédent de lésion vésicale et pour la majorité de ces tumeurs, la cystectomie est le traitement le plus efficace. Le taux de survie à 5 ans après cystectomie est de 40-70% en cas de tumeur infiltrante T2, et de 15 à 40% en cas de tumeur infiltrante T3.

Le cancer de la vessie est une maladie complexe résultant des effets et interactions de multiples facteurs environnementaux et génétiques. Parmi les facteurs de risque établis de cancer de la vessie, le tabac est responsable d'environ 50% des cas chez l'homme et 35% des cas chez la femme (Zeegers et al., 2000). L'exposition à des carcinogènes chimiques en milieu professionnel, tels les amines aromatiques et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), serait par ailleurs responsable d'environ 10-15 % des cas et des métiers ou industries à haut risque de cancer ont été identifiés (industries du textile, du caoutchouc, de l'aluminium et de la chimie, peintres et coiffeurs) (Silverman et al., 1996). Le rôle de certains facteurs nutritionnels (alimentation pauvre en fruits et légumes et à l'inverse riche en graisses, vitamines et antioxydants) et de la concentration de nitrates et d'arsenic dans l'eau de boisson sur le risque de cancer de la vessie est encore controversé. Enfin, certaines études suggèrent un excès de risque d'environ 30% chez les individus ayant des antécédents familiaux de cancer (Murta-Nascimento et al. 2007).

Des variants génétiques fréquents dans la population générale et, conférant une faible augmentation du risque, de l'ordre de 40-50%, ont été identifiés dans les premières études épidémiogénétiques. Une méta-analyse (Garcia-Closas et al., 2005) a en particulier montré qu'un variant du gène NAT2 codant une protéine impliquée dans la

détoxification des amines aromatiques, était associé à une augmentation du risque de cancer de la vessie de 40% chez les personnes ayant une capacité réduite d'acétylation et que ce risque était significativement modulé par l'exposition au tabac (Garcia-Closas et al. 2005, Rothman et al. 2010, Garcia-Closas et al. 2011, Moore et al. 2011,). Ce résultat est un des rares exemples d'interaction entre un facteur génétique et un facteur environnemental démontrée en épidémiologie des cancers. Un second gène, *GSTM1*, est clairement associé au risque de cancer de la vessie (Garcia-Closas et al. 2005, Moore et al. 2011). Ce gène est délété chez 50% des individus de la population générale, entraînant une perte de l'activité de l'enzyme impliquée dans la détoxification des HAP. D'autres gènes de la famille des GST (*GSTP1*, *GSTT1*, *GSTM3*) ont été étudiés mais les résultats sont contradictoires. Plus récemment, des études pan génomiques ont pu être réalisées grâce au développement des techniques de génotypage à haut débit. Une première étude portant sur 4,000 cas et 38,000 témoins, a permis d'identifier trois nouveaux loci de susceptibilité dans les régions 8q24, 3q28, and 5p15, associés à une augmentation de risque de cancer de la vessie d'environ 20% (Kiemeny et al., 2009). Deux autres loci de susceptibilité ont récemment été identifiés, l'un sur le gène *PSCA* et l'autre proche du gène *FGFR3* (Wu et al., 2009; Kiemeny et al., 2010). A l'heure actuelle, on peut considérer que les variants génétiques fréquents contribuant le plus au développement de la maladie ont été identifiés (Chung & Chanock, 2011).

Cependant, peu d'études ont concerné l'histoire naturelle de la maladie chez des patients et les travaux réalisés jusqu'à présent sur les associations potentielles entre marqueurs génétiques, facteurs environnementaux, caractéristiques moléculaires des tumeurs et évolution clinique de la maladie restent très parcellaires.

Les mécanismes physiopathologiques de la maladie, reflétés notamment par le stade (superficiel ou invasif), le grade (bas grade ou haut grade) ou le sous-type histologique ou moléculaire de la tumeur initiale, la survenue de récurrences ou non des tumeurs superficielles, la progression de certaines d'entre elles vers le stade invasif, et la survenue de métastases, pourraient être modulés par le profil génétique des individus et leur exposition à des substances environnementales. L'objectif de notre projet est donc d'identifier : les polymorphismes de l'ADN et les facteurs de l'environnement, ainsi que leurs interactions, associés aux caractéristiques anatomopathologiques et moléculaires des tumeurs et à leur évolution. Un objectif secondaire est d'étudier les coûts de prise en charge du cancer de la vessie et de ses retentissements sur la vie des patients (qualité de vie liée à la santé, situation professionnelle).

Nos recherches devraient permettre de mieux comprendre les mécanismes de la carcinogenèse vésicale et, en termes de santé publique, de mieux définir les stratégies de surveillance ciblées sur des groupes de sujets à risque et d'adapter les thérapeutiques au profil génétique des sujets.

2. Population concernée

Pour répondre à ces objectifs, nous constituerons une cohorte prospective de 2.000 patients atteints d'un cancer de la vessie, nouvellement diagnostiqués et traités dans 18 services d'urologie français publics et privés entre 2012 et 2014.

Les centres participants sont les suivants : CHRU Lille, CH Pontoise, CMC Foch, CHU Henri Mondor, CHU Necker/HEGP, CHU Cochin, CHU Nancy, CH Colmar, CHU Poitiers, Clinique St Augustin (Nantes), CHU Clermont-Ferrand, CHU Grenoble, CHU Toulouse, Clinique Beau-Soleil (Montpellier), CHU de Nîmes, Clinique Saint-Roch (Montpellier), Clinique Parc-Rambot (Aix-en-Provence) et APHM de Marseille.

Seront inclus dans l'étude :

- les hommes et les femmes,
- les patients âgés de plus de 18 ans,
- les patients souffrant d'une tumeur primitive de vessie nouvellement diagnostiquée et traitée dans les services impliqués dans le projet, ou les patients souffrant d'une tumeur primitive de vessie nouvellement diagnostiquée et envoyées dans le service investigateur pour une cystectomie, ou les patients en récurrence/progression d'une tumeur de vessie diagnostiquée lors d'un premier cancer de vessie dans le centre investigateur.
- les patients maîtrisant la langue française,
- les patients ayant signé un consentement libre et éclairé après avoir reçu toutes les informations souhaitées.

Seront exclues de l'étude :

- les personnes refusant de signer un consentement éclairé,
- les personnes privées de liberté,
- les personnes protégées par la loi,
- les personnes non affiliées à un régime de sécurité sociale.

3. Méthode d'observation ou d'investigation retenue

Les objectifs et les perspectives du projet justifient l'utilisation de nombreuses méthodologies, d'outils statistiques variés y compris le développement de nouvelles approches. Ce chapitre ne saurait donc pas être exhaustif.

Les approches complémentaires seront suivies :

- criblage du génome tumoral et constitutionnel en utilisant une approche pan génomique,
- étude du transcriptome à partir des ARN extraits du sang, du tissu tumoral et de l'urine,
- étude du protéome sur les plasmas, le tissu tumoral et l'urine,
- caractérisation anatomopathologique et moléculaire des tumeurs initiales,
- caractérisation anatomopathologique et moléculaire des tissus tumoraux en cas de récurrence,
- étude des toxiques accumulés dans les ongles.

Ces approches seront menées avec pour objectifs :

- de mieux comprendre l'impact de facteurs génétiques, environnementaux et moléculaires sur l'évolution clinique de la maladie,
- d'améliorer les connaissances sur les mécanismes de la carcinogenèse vésicale,

- en termes de santé publique, de mieux définir les stratégies de surveillance ciblées sur des groupes de sujets à risque,
- d'adapter les thérapeutiques au profil génétique des sujets.

Cette étude requiert la constitution d'une collection de matériels biologiques permettant de réaliser des études de l'ADN, de l'ARN et des protéines à la fois dans le sang, l'urine et le tissu tumoral. Pour chaque patient trois prélèvements seront réalisés lors de l'inclusion dans l'étude :

- sang pour l'extraction d'ADN, d'ARN et l'isolement de lymphocytes viables et de plasma,
- urine pour l'extraction, d'ADN, d'ARN et de protéines,
- tissu tumoral. Une fraction sera congelée pour l'extraction, d'ADN, d'ARN et de protéines. Une autre fraction sera incluse en paraffine et utilisée pour une relecture anatomopathologique centralisée, et la préparation d'un fragment tumoral pour les études *in situ* par immunohistochimie et hybridation *in situ*, l'extraction d'ADN ou d'ARN tumoral.
- ongles prélevé sur le gros orteil.

Les prélèvements tissulaires seront réalisés dans le cadre des soins, aucun prélèvement spécifique pour le projet de recherche ne sera réalisé.

Les prélèvements sanguins et urinaires et d'ongle seront réalisés lors de la 1^{ère} hospitalisation.

Un prélèvement urinaire sera réalisé 1 an après l'inclusion du patient dans l'étude

Un prélèvement tumoral (frais et inclus en paraffine) sera recueilli lors de la 1^{ère} hospitalisation et en cas de récurrence et uniquement dans le cadre des soins.

Ces matériels biologiques seront collectés dans des tubes / contenants pré-étiquetés avec des codes à barres uniques pour assurer une traçabilité optimale et une anonymisation complète de ceux-ci.

Les 2000 patients de l'étude seront suivis pendant 6 ans :

- 1) prospectivement, à travers la surveillance médicale de la maladie et le recueil de données cliniques et de tissu tumoral (congelé et inclus en paraffine) lors de chaque récurrence de la maladie
- 2) rétrospectivement, sur une base annuelle, à travers la consultation des dossiers médicaux et un interrogatoire téléphonique avec les patients ou un membre de la famille.

4. Origine et nature des données nominatives recueillies

Justification du recours à celles-ci

Le consentement éclairé portant le nom du patient et sa signature sera recueilli, en trois copies, par le médecin investigateur du centre recruteur. Une copie sera transmise au patient, une autre sera conservée par le médecin investigateur et la troisième sera adressée au centre coordonnateur (INSERM U946) qui centralisera l'ensemble des consentements.

Un numéro d'enregistrement dans l'étude sera attribué par l'ARC de chaque centre à chaque patient volontaire pour participer à l'étude. Ce numéro unique sera composé de 5 chiffres : le numéro du centre (2 chiffres) et un numéro incrémenté (3 chiffres). La correspondance entre ce numéro d'enregistrement dans l'étude COBLAnCE et le nom patronymique du patient sera conservée par l'ARC dans le CRF. L'interrogatoire des patients est programmé lors de leur 1^{ère} hospitalisation, avant que le diagnostic de cancer ne soit établi. Aussi, le terme « cancer de la vessie » n'est pas utilisé dans la note d'information et dans le formulaire de consentement et est remplacé par « pathologies vésicales ».

Pour l'ensemble des questionnaires, les nom et prénom sont indiqués mais non informatisés. De même, les coordonnées (adresse et numéro de téléphone) sont recueillies et non informatisées. Ces informations sont indispensables pour le suivi des patients.

DONNEES RECUEILLIES A L'INCLUSION

Ce projet requiert le recueil de données auprès du malade lors d'un interrogatoire en face-à-face effectué par les ARC des centres, en utilisant un questionnaire structuré et validé.

1- Données socio-démographiques

Il sera demandé au patient de renseigner sa situation socio-démographique au moment de l'inclusion et de situer son niveau de revenu mensuel. Les informations suivantes seront recueillies :

- Nombre d'années d'étude et diplômes obtenus,
- Situation professionnelle actuelle et niveau de revenus (le revenu est une variable de confusion à prendre en compte dans une étude de cohorte car il s'agit d'un déterminant essentiel de l'état de santé, de l'accès et du recours de soins),
- Lieux de naissance des grands-parents (indication très précieuse pour les appariements entre individus réalisés dans le cadre des études génétiques).

2- Données relatives au style de vie et aux expositions environnementales

- Historique professionnel (professions exercées pendant plus d'un an et branches d'activité, âge de début et âge de fin),
- Historique de consommation de tabac (type de produit : cigarettes, cigares, pipe et type de tabac : blond/brun, filtre/sans filtre) et pour chaque produit la quantité consommée par jour, l'âge de début et l'âge de fin, l'inhalation et l'âge à l'arrêt le cas échéant,
- Historique résidentiel (pays, villes, rues) et pour chaque domicile habité plus d'un an, l'âge de début et l'âge de fin,
- Consommation d'alcool et autres items nutritionnels.

3- Données médicales personnelles et familiales

- Vie reproductive (âge aux premières règles, nombre de grossesses, âge à la ménopause, traitement hormonal de

substitution, etc...),

- Historique médical personnel (co-morbidités inflammatoires, métaboliques, cardio-vasculaires, respiratoires, etc.) et familial (centré essentiellement sur les pathologies cancéreuses),
- Historique de consommation de certains médicaments.

4- Données cliniques et pathologiques

Par ailleurs, des données cliniques et pathologiques sur la tumeur à l'inclusion (taille, multifocalité, type et sous-type histologique, stade, grade, carcinome *in situ* associé) seront recueillies par les ARC à partir des dossiers médicaux. La prise en charge diagnostique et thérapeutique du patient ne sera pas modifiée par sa participation à l'étude. Toutefois, une relecture anatomopathologique de tous les cas sera effectuée de façon centralisée et anonymisée. Les résultats de cette relecture seront communiqués secondairement en retour au pathologiste et à l'urologue en charge du patient.

5- Données de qualité de vie

A l'inclusion, un recueil de la qualité de vie liée à la santé sera réalisé au moyen de deux questionnaires en face à face EQ-5D et QLQC30 puis après le diagnostic pathologique un autoquestionnaire BLM30 ou BLS24 en fonction du type de tumeur.

DONNEES RECUEILLIES AU COURS DU SUIVI

La prise en charge thérapeutique et le suivi du patient seront effectués de façon habituelle, conformément aux recommandations de l'European Association of Urology et de l'Association Française d'Urologie, sans être modifiées par la participation à l'étude.

1- Données cliniques

Les données cliniques recueillies à partir des dossiers médicaux pendant le suivi dépendront du type de traitement initial mis en œuvre. En cas de traitement par résection +/- instillations endovésicales, les épisodes de récurrence ou de progression seront enregistrés (incluant les critères sur la taille, la multifocalité, le stade, le grade, le carcinome *in situ* associé) et les traitements respectifs seront notés. En cas de traitement radical par cystectomie +/- chimiothérapie, la survenue d'une récurrence loco-régionale ou de métastases sera notée et les modalités de traitement (chimiothérapie, thérapie ciblée, radiothérapie, chirurgie) seront consignées. La survenue d'une tumeur maligne d'origine extravésicale sera précisée, en particulier celle d'une tumeur des voies excrétrices supérieures. La date des dernières nouvelles, le décès du patient, et son lien éventuel avec la tumeur vésicale seront notés.

2- Données de consommations de ressources

Les consommations de ressources (consultations, examens, hospitalisations, arrêt maladie) seront collectées à l'aide du dossier médical et par interrogatoire auprès du patient pour les arrêts maladie et le niveau de revenu.

Ce recueil de données se fera de manière prospective au fil des différentes étapes de prise en charge du cancer de la vessie après l'inclusion dans l'étude COBLAnCE : l'étape diagnostique, le traitement initial, la surveillance après traitement initial et le traitement des progressions et des récurrences.

3- Niveau de revenu et emploi

Le volet concernant la situation professionnelle et le niveau de revenu sera mis à jour à chaque visite de suivi en cas de modification (cessation d'activité liée à la maladie, retour à l'emploi après traitement).

4- Données de qualité de vie

Les données de qualité de vie liée à la santé seront collectées périodiquement à chaque visite de suivi au moyen de des auto-questionnaires EQ-5D, QLQC30 et BLM30 ou BLS24.

Justification des données recueillies

Le nom patronymique complet, la date de naissance et le sexe, sont indispensables pour le suivi des patients pendant 6 ans ; le nom patronymique ne sera cependant pas informatisé dans la base de données centralisée à l'Unité 946.

Le numéro d'enregistrement dans l'étude permet de renseigner la base de données sur l'état de santé du patient et les éventuelles rechutes pendant toute la durée du suivi.

Les données de santé des patients de la cohorte, recueillies à l'inclusion et pendant le suivi, sont indispensables pour analyser les relations entre les marqueurs biologiques et génétiques qui seront étudiés et l'évolution clinique de la maladie.

La situation socio-économique du patient et de la famille est un élément important pour l'analyse des coûts et de la qualité de vie.

Le niveau de formation/diplômes est un facteur confondant connu de la relation cancer de la vessie – tabac. Il doit donc être recueilli dans le cadre de l'étude.

La vie professionnelle et son historique sont essentiels pour évaluer le risque environnemental lié à certaines branches d'activité dans le cadre du cancer de la vessie.

La connaissance des conditions de logement, l'historique résidentiel sont des informations critiques pour évaluer les risques liés aux expositions environnementales.

5. Mode de circulation des données

Les données cliniques, pathologiques, épidémiologiques et socio-économiques seront recueillies, à l'inclusion, par les ARC de chaque centre. Ces données, associées au numéro d'enregistrement du patient propre à l'étude, ainsi que les informations relatives à la collecte du matériel biologique seront informatisées dans une base de type FileMaker Pro développée sous la responsabilité de S. Benhamou et E. Génin. La conception de cette base a été confiée à la Société ChromoSilico qui assurera également son installation dans les centres ; la formation des ARC à son utilisation sera assurée par le chef de projet de l'étude. La base de données centralisée sera d'accès restreint à un nombre limité de collaborateurs soumis au secret médical sous la responsabilité de S. Benhamou et E. Génin.

Les données du suivi (évolution clinique de la maladie, traitements associés, etc.) seront intégrées annuellement dans cette base par les ARC.

Les données seront notées sur le CRF papier avant leur saisie informatique. La cohérence des données saisies par rapport aux données papier sera vérifiée par l'ARC de chaque centre avant le transfert vers la base centralisée. L'ARC transmettra ensuite les données au travers d'une liaison sécurisée.

Un contrôle de la qualité des données transmises par les différents centres sera réalisé en utilisant un programme de validation de données (validation automatique d'un ensemble de règles de cohérence préalablement définies). Les erreurs ainsi identifiées seront transmises à l'ARC localisé à l'hôpital Foch qui contactera les ARC locaux ou les médecins investigateurs concernés. Les données seront corrigées au niveau de la base centralisée après obtention d'une réponse de l'ARC ou du médecin investigateur. L'insertion et les modifications de données seront horodatées et l'opérateur identifié dans la base de données. L'historique des ajouts et des modifications de données est intégralement conservé et peut-être reconstitué à tout instant. Un contrôle régulier de cohérence entre le CRF papier et les données informatiques sera réalisé par le Chef de Projet à échéance régulière et cela pour chaque centre. Des mesures correctives seront prises si nécessaire. La cohérence des données recueillies par les différents centres sera également contrôlée par un ensemble de règles (notamment, pour les patients pris en charge par plusieurs centres).

Les personnes ayant accès aux données nominatives seront complètement distinctes des personnes ayant accès aux données générées à partir des matériels biologiques collectés et notamment des données génétiques. Les matériels biologiques seront rendus anonymes dès le prélèvement. Les données génétiques générées sur ces prélèvements seront elles aussi anonymes. Les chercheurs ayant accès aux données génétiques n'auront accès qu'aux données cliniques anonymes.

6. Durée et modalités d'organisation de la recherche

La durée du programme est de 9 ans.

L'inclusion des patients est prévue sur 3 ans et leur suivi sur 6 ans.

Les patients éligibles seront identifiés, parmi les nouveaux cas atteints de cancer de la vessie, par une consultation régulière (sur une base journalière ou hebdomadaire) des tableaux opératoires/motifs d'hospitalisation dans les services d'urologie participants.

Le médecin investigateur recevra le patient et lui délivrera l'information concernant l'étude. Il lui fera connaître l'objectif de cette recherche, sa méthodologie et sa durée. Il lui remettra le formulaire d'information et répondra à ses questions.

Il proposera au patient de participer à cette recherche et l'informerait également de son droit à refuser de participer à la recherche ou de retirer son consentement à tout moment sans que cela lui porte préjudice. Il lui fera ensuite signer le consentement personnel, libre et éclairé en triple exemplaire. Il conservera un exemplaire et remettra un double au patient. La 3^{ème} copie sera transmise au coordinateur de l'étude par des envois groupés.

L'ARC de chaque centre collectera les données requises pour le projet (questionnaires clinique-économique, épidémiologique, qualité de vie) auprès du malade ou à partir des dossiers médicaux.

Quatre prélèvements de matériel biologiques seront réalisés à l'inclusion:

1) Un prélèvement de sang de 18,5 ml sera effectué à l'issue de l'interrogatoire : 10 ml seront recueillis sur EDTA pour l'extraction de l'ADN et l'isolement du plasma, 6 ml seront recueillis sur citrate pour la séparation des lymphocytes et 2,5 ml seront recueillis sous conditionnement PAXgene pour l'extraction de l'ARN. Les échantillons de sang seront transférés des centres vers le CEPH le jour du prélèvement pour permettre leur traitement dans les 24 à 72h et ainsi conserver les cellules dans des conditions de viabilité optimale. Les échantillons après traitement seront conservés dans de l'azote liquide ou à -80°C.

2) Un échantillon d'urine sera recueilli avant la résection de la tumeur. Un tube d'urine sera immédiatement congelé, pour l'isolement ultérieur des protéines, et conservé dans chaque centre à -80°C. Un deuxième tube d'urine contenant un stabilisateur pour les acides nucléiques sera envoyé au CEPH à température ambiante avec les tubes de sang le jour du prélèvement. Un transfert trimestriel des urines congelées sera ensuite effectué vers le CRB de l'hôpital Mondor pour extraire les protéines. Un transfert trimestriel des tubes d'urine stockés au CEPH à température ambiante sera organisé vers le CRB de l'hôpital Mondor où seront réalisées les extractions d'ADN et d'ARN.

- 3) Un échantillon d'ongle du gros orteil sera collecté pour l'analyse ultérieure de toxiques tels que des métaux.
- 4) Un échantillon de tissu tumoral sera immédiatement congelé et conservé à -80°C dans chaque centre. Un transfert trimestriel sera ensuite effectué vers le CRB de l'Institut Curie pour l'extraction d'ADN, d'ARN et de protéines. Par ailleurs, après établissement du compte rendu anatomopathologique, un bloc de tissu tumoral inclus en paraffine, transféré à l'hôpital Mondor à température ambiante, sera utilisé pour une relecture anatomopathologique centralisée, pour la préparation d'un fragment tumoral pour les études *in situ* par immunohistochimie et par hybridation *in situ*, et pour l'extraction d'ADN ou d'ARN tumoral.

Le CEPH assurera la logistique générale des différents transferts de matériels biologiques frais, congelés et fixés vers les 3 centres en charge des traitements (CEPH, Institut Curie et hôpital Mondor).

Tous les kits de prélèvements incluant l'ensemble des tubes/contenants nécessaires au projet seront étiquetés avec des codes à barres uniques pour assurer une traçabilité totale et une anonymisation des matériels biologiques. Ces kits seront préparés par le CEPH et envoyés aux centres participants.

Un contrôle de la qualité des échantillons biologiques (fait après extraction de l'ADN, de l'ARN et des protéines en examinant la présence d'une dégradation) et des données relatives aux échantillons transmis aux trois centres en charge des traitements sera réalisé tout au long de la constitution de la cohorte (numéro de patient dans l'étude COBLAnCE, date heure de prélèvement, date et heure de congélation, conditions de stockage).

Les 2000 patients de l'étude seront suivis pendant 6 ans :

- 1) prospectivement, à travers la surveillance médicale de la maladie et le recueil de données cliniques et de tissu tumoral (congelé et inclus en paraffine) lors de chaque récurrence de la maladie. En cas de tumeur superficielle, des échantillons d'urine seront également recueillis lors de la consultation de suivi à un an.
- 2) rétrospectivement, sur une base annuelle, à travers la consultation des dossiers médicaux et un interrogatoire téléphonique avec les patients ou un membre de la famille.

La caractérisation anatomopathologique et moléculaire des tumeurs sera réalisée au fur et à mesure des inclusions.

Le profil génétique des patients sera déterminé à partir de l'ADN lymphocytaire par une approche pangénomique (en utilisant les dernières générations de puces de marqueurs qui permettent aujourd'hui de caractériser plus de 2 millions de variants) lorsque les 2000 patients auront été inclus.

Les premières analyses statistiques débiteront également dès la fin de la constitution de la cohorte avec une recherche d'association entre facteurs génétiques, facteurs environnementaux et les caractéristiques moléculaires des tumeurs,

7. Méthode d'analyse des données

L'impact des facteurs génétiques et environnementaux, et de leurs interactions, sera évalué sur les sous-types moléculaires de cancer à l'issue de la période d'inclusion, et sur l'évolution clinique de la maladie à l'issue des 6 années de suivi. Les sous-types moléculaires seront déterminés en intégrant les données anatomopathologiques et des données moléculaires (immunohistochimie, ou analyse de l'ARN et de l'ADN des tumeurs).

L'analyse statistique sera basée sur la méthodologie utilisée classiquement pour les études de cohorte, notamment le modèle de Cox pour l'analyse des délais de survenue des événements, avec prise en compte des caractéristiques des sujets et des sous-types moléculaires de cancer. Ces analyses seront effectuées sous la responsabilité de S. Benhamou et E. Génin, en étroite collaboration avec les partenaires du projet, en utilisant les logiciels SAS et STATA.

L'analyse économique et l'analyse des données de qualité de vie seront effectuées par l'équipe Etudes et Recherche en Economie de la Santé de l'Institut de cancérologie Gustave Roussy sous la responsabilité de Julia Bonastre.

L'analyse économique consistera à évaluer les coûts médicaux et les coûts indirects liés à la prise en charge du cancer de la vessie. La variabilité de ces coûts sera étudiée en fonction du type de tumeur, des caractéristiques des patients (âge, situation professionnelle, niveau de revenu, lieu de résidence et lieu de traitement...), des traitements et du type de surveillance.

L'analyse de la qualité de vie liée à la santé a pour but d'estimer des valeurs d'utilité pour différents stades de la maladie en fonction des caractéristiques des patients et des traitements reçus. Les données longitudinales permettront d'analyser l'évolution de la qualité de vie liée à la santé au cours du temps.

8. Justification du nombre de sujets ou analyse de puissance.

Il est prévu d'inclure 2000 patients dans 18 centres. En considérant que 70% de ces patients sont atteints d'une tumeur n'infiltrant pas le muscle vésical, soit 1400 sujets, et un risque $\alpha=5\%$, l'étude aura une puissance statistique supérieure à 80% pour détecter de faibles augmentations de risque (RR=1,5) de développer un événement au cours du suivi (récidive/progression/décès) pour des facteurs génétiques et ou environnementaux fréquents (prévalence=20%) ou des risques relatifs de 2.0 ou plus pour des facteurs génétiques et ou environnementaux relativement rares (prévalence=10%).