

Tumeurs embryonnaires du rein

Ultrastructure du néphroblastome

M. F. Rousseau

Attachée de Recherche INSERM U77, groupe de Pathologie Pédiatrique Hôpital
Necker Enfants Malades, Paris

B. Nabarra

Chargée de Recherche Unité 25 INSERM, Hôpital Necker Enfants Malades, Paris
(Avec la collaboration technique de I. Andrianarison et de M. Lillie)

Reçu le 3 décembre 1973

Embryonic Kidney Tumours

Ultrastructure of Nephroblastoma

Summary. The ultrastructure of 10 nephroblastomas has been studied. Most of them presented both mesenchymal and epithelial differentiations commonly found in this type of tumour. The stroma contains amorphous material and meshes of collagen fibrils among which several cell types can be distinguished. These cells are difficult to characterize according to precise differentiation criteria since these are lacking. Next to the fibroblasts some hardly differentiated and single cells with clear or dense cytoplasm can be seen. When they get into cluster, these cells seem to present some epithelial features. The existence of such isolated cells and their possible role is discussed in relation to epithelio-mesenchymal interactions involved in metanephric differentiation. Differentiated elements, such as tubular and glomerular formations or muscular cells, appear as structures that have never been completely achieved.

Résumé. L'ultrastructure du néphroblastome est étudiée sur 10 cas présentant la plupart des différenciations mésenchymateuses et épithéliales habituellement retrouvées dans ce type de tumeur. Dans le stroma de fond, constitué de matériel amorphe et de faisceaux de collagène, se distinguent plusieurs types cellulaires d'autant moins définissables qu'ils ne possèdent pas d'éléments nets de différenciation. À côté des fibroblastes, se retrouvent des cellules isolées peu différenciées, à cytoplasme clair ou dense, qui semblent acquérir, quand elles se groupent en amas, certaines caractéristiques épithéliales. L'interprétation de la présence de ces cellules isolées est discutée dans le contexte des interactions épithélio-mésenchymateuses qui sont à l'origine de la différenciation métanéphrétique. Les éléments de différenciation tant au niveau des formations tubulaires et glomérulaires que dans le cas des cellules musculaires apparaissent toujours comme des ébauches jamais complètement achevées.

L'aspect ultrastructural du néphroblastome, ou tumeur de Wilms, a été décrit depuis ces dernières années à partir d'un nombre encore limité de cas [1, 5, 11]. Ces observations appuient l'hypothèse de l'origine embryonnaire de cette tumeur maligne rénale de l'enfant.

La diversité histologique des néphroblastomes étudiés dans ce travail permet de compléter les observations précédentes. Cette étude morphologique a été poursuivie «in vitro» sur ces mêmes tumeurs dont le comportement en culture organotypique a été comparé à celui de reins embryonnaires humains [10].

I. Matériel et méthodes

10 tumeurs primaires ont été prélevées sur des enfants d'âges variés (cf. tableau 1). Deux cas avaient été irradiés avant l'opération. Les prélèvements des fragments étudiés intéressent toujours plusieurs zones de la tumeur.

Microscopie optique

La fixation dans le Bouin alcoolique est suivie de l'inclusion dans la paraffine et de la coupe à 5 μ . Les préparations sont colorées par l'Hemalun Eosine, le trichrome de Masson et le PAS.

Microscopie électronique

La fixation pour la microscopie électronique est de deux heures dans le glutaraldehyde à 3% — tampon phosphate à pH 7,4. Les fragments sont lavés avec le tampon, post-fixés au tétroxyde d'osmium à 1% pendant deux heures, inclus dans l'épon selon la méthode de Luft (7) puis coupés à 900 Å, pour être déposés sur grilles et imprégnés à l'acétate d'uranyl-plomb selon la méthode de Reynolds [9]. L'observation se fait au microscope électronique EM 200 Philips.

Des coupes incluses et coupées pour la microscopie électronique sont recueillies sur lames de verre et imprégnées à l'argent selon la technique de Movat [8] pour être observées en microscopie optique afin de préciser la zone du prélèvement.

II. Résultats morphologiques

1. Microscopie optique

Le stroma tumoral, parfois fibreux, se présente comme un mésenchyme plus ou moins mature. Dans toutes les tumeurs se retrouvent des différenciations soit de type épithélial (tubes, ébauches glomérulaires), soit de type mésenchymateux (fibroblastes, cellules musculaires), soit des deux (cf. tableau 1). Les ébauches tubulaires et glomérulaires, à différents stades de différenciation (vitrée pour les tubes les plus matures, espace de Bowman et début de vascularisation pour les glomérules) se dispersent dans le stroma de fond ou paraissent s'organiser à partir d'amas cellulaires blastémateux. Un cas présente des formations microkystiques à côté de tubes bien différenciés (vitrée PAS+). Les différenciations musculaires retrouvées dans 4 tumeurs se dispersent dans le stroma ou se réunissent en faisceaux de cellules dont le cytoplasme montre parfois des striations caractéristiques.

La vascularisation de ces tumeurs est relativement peu développée. La plupart des lumières vasculaires sont bordées d'un endothélium. De nombreuses mitoses sont rencontrées surtout au niveau des amas cellulaires blastémateux.

2. Microscopie électronique

L'aspect général du néphroblastome laisse l'image d'un ensemble plus ou moins organisé de cellules, pas toujours clairement caractérisées, dispersées dans un stroma de fond (Fig. 1).

a) Stroma de fond

Selon le néphroblastome observé, ce fond est plus ou moins dense, compact. Il s'agit en règle générale d'un feutrage de fibrilles de collagène, accompagné d'un ensemble de matériel amorphe, peu dense aux électrons et plus ou moins étendu et lâche.

Dans ce stroma de fond, se distinguent (tableau 1) : cellules isolées de différents types, amas cellulaires plus ou moins organisés, différenciations musculaires lisses et striées et quelques formations vasculaires.

Tableau 1

No.	Age	Sexe	Irrad.	Différenciations en microscopie optique	Eléments observés en microscopie électronique					
					Cellules isolées	Amas cellulaires	Diff. musc.	Tubes	Bourgeons glomérulaires	Cils
1	10 mois	♂	—	tubes glomérules	± (surtout cell. claires)	++	—	++ (avec vitrée)	+	+
2	10 mois	♂	+	tubes rares glomérules	++ (peu de fibrobl.)	+	—	—	—	+
3	24 mois	♀	—	rares tubes musc. lisse	++ (peu de fibrobl.)	—	+	—	—	—
4	14 mois	♀	+	tubes (vitrée) glomérules muscles lisses et striés	++ (glycogène)	+	++	—	—	—
5	14 mois	♀	—	tubes muscle	+	++	+	—	—	—
6	6 ans	♀	—	tubes rares glomérul.	±	++ (avec glycogène)	—	++ (très diff.)	+	+
7	1 an	♀	—	muscl. lisses et striées	±	—	+	—	—	—
8	3 ans	♀	—	rares tubes	+	+	—	—	—	—
9	4 ans	♂	—	rares tubes	+	+	—	—	—	—
10	1 mois	♂	—	tubes, microkystes	+	++	—	++ (bien diff.)	+	+

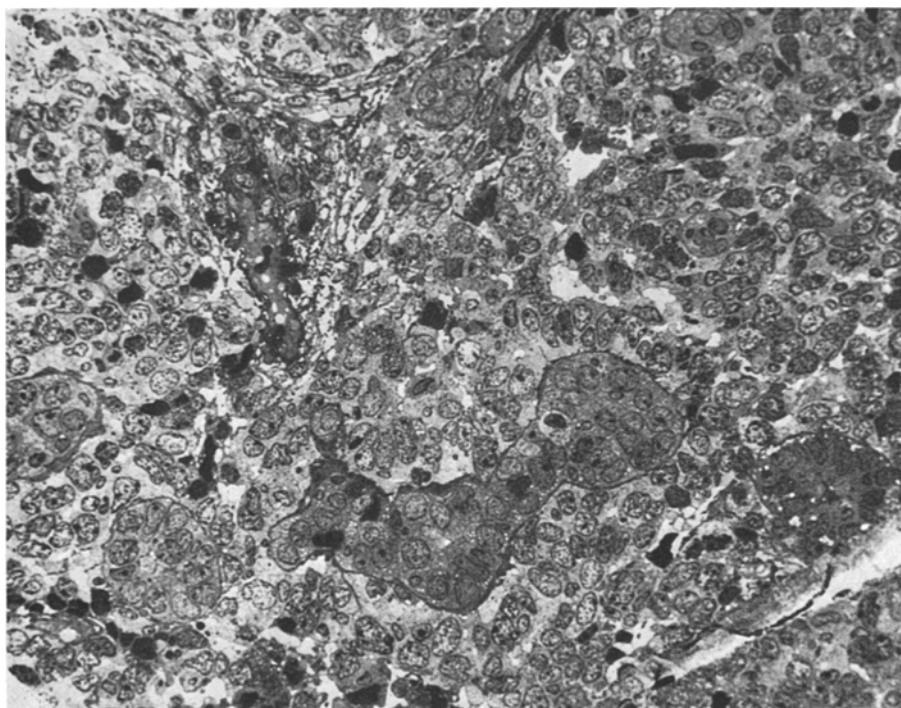


Fig. 1. Coupe ultra-fine, imprégnée à l'argent et observée en microscopie optique, montrant plusieurs sections tubulaires et une lumière vasculaire (contenant des hématies) dans un amas cellulaire inorganisé ($\times 500$)

b) Cellules isolées

Nous distinguons ici 3 types cellulaires :

Cellules à caractère fibroblastique. Elles sont allongées, le noyau est volumineux par rapport au cytoplasme. La chromatine nucléaire est groupée en mottes plus ou moins denses en périphérie de la membrane nucléaire. Il existe souvent un ou deux nucléoles très proéminents. Le cytoplasme apparaît assez clair, il contient peu d'organites cellulaires, quelques lamelles ergastoplasmiques, quelques groupes de ribosomes libres, de rares mitochondries, un appareil de Golgi peu développé, quelques vacuoles. Il est observé quelques grosses inclusions denses aux électrons, éparses dans le cytoplasme. A ces éléments cellulaires sont toujours associés des faisceaux de fibrilles très compacts dont la périodicité est caractéristique du collagène.

Cellules à cytoplasme clair. Ce sont de grandes cellules au cytoplasme large et peu dense aux électrons. Le noyau est très volumineux, sa forme est irrégulière, lobulée, sa chromatine est dispersée peu dense aux électrons mais il existe parfois une marge plus dense le long de la membrane nucléaire. Les nucléoles ne sont pas toujours visibles. Dans le cytoplasme de ces cellules qui semble souvent désertique, existent quelques organites, de rares lamelles ergastoplasmiques, un appareil de Golgi qui, lorsqu'il est observable présente un aspect embryonnaire (surtout des microvésicules), des mitochondries à la matrice claire avec des



Fig. 2. Micro-photographie montrant une cellule isolée à cytoplasme clair dans un fond de substance amorphe. On remarque quelques lamelles ergastoplasmiques et quelques mitochondries. (Imprégnation acétate uranyl-plomb, $\times 15000$)

crêtes qui paraissent normales. On observe aussi quelques rares groupes de polyribosomes libres (fig. 2).

Cellules à cytoplasme dense. Ces cellules sont aussi assez volumineuses. La chromatine est dense, souvent en mottes périphériques, avec quelques amas dispersés. Les nucléoles sont parfois présents. Ces cellules sont remarquables par le très grand nombre de polyribosomes présents dans le cytoplasme, ce qui lui donne cet aspect dense aux électrons. Il existe aussi des mitochondries à l'aspect

membranaire normal, quelques lamelles ergastoplasmiques, un golgi moyennement développé mais avec des saccules et de nombreuses vésicules, des vacuoles larges souvent pleines d'un contenu dense et floconneux, quelques corps cytosomiaux. Enfin, l'on remarque dans certain cas des faisceaux de fibrilles denses intracytoplasmiques (fig. 3).

c) Amas cellulaires

Dans ce fond fibro-cellulaire, il est possible d'observer des regroupements de cellules à cytoplasme clair ou dense précédemment décrites. Outre ces regroupements, il existe des structures tubulaires et parfois des assemblages cellulaires pouvant évoquer des bourgeons pré-glomérulaires.

Amas cellulaires indifférenciés. Ce sont de larges plages de cellules aux caractéristiques précédemment décrites, mais le plus souvent avec des polyribosomes, empilées les unes sur les autres, présentant entre elles des jonctions intercellulaires (fig. 4). Il n'existe pas de vitrée limitant ces amas. Il nous semble que ces amas cellulaires sont indifférenciés ou peu différenciés et peuvent évoluer vers une organisation tubulaire ou glomérulaire.

Ces amas, comme dans le cas des cellules isolées, présentent souvent des granules intracytoplasmiques très denses, arrondis, de taille supérieure aux ribosomes et que nous identifions à des grains de glycogène. Ils sont soit éparpillés dans le cytoplasme, soit groupés en amas à un pôle cellulaire.

Formations tubulaires. Ces formations correspondent à un agencement de cellules allongées, cylindriques, au noyau ovalaire et très volumineux. Celui-ci est irrégulier, la chromatine est fine, dispersée, les nucléoles sont souvent visibles et très denses. Ces cellules sont groupées autour d'une lumière plus ou moins ouverte et même parfois encombrée de déchets nécrotiques. Ces arrangements cellulaires sont séparés du stroma par une membrane basale d'épaisseur variable. Le cytoplasme est en général assez clair, avec peu d'organites. On remarque dans certaines sections une alternance de cellules claires et de cellules plus denses aux électrons, au noyau plus mature (fig. 5). Des complexes de jonctions intercellulaires sont visibles de façon nette dans ces sections tubulaires. La zone apicale montre, soit de courtes et irrégulières microvillosités, soit parfois des formations ciliaires, soit de grosses vacuoles pleines de substances denses, s'ouvrant dans la lumière. Quelque soit le néphroblastome étudié, aucune bordure en brosse bien développée n'a été observée (fig. 6). Par contre, des différenciations membranaires, au pôle basal de la cellule suggèrent parfois l'existence de β cytomembranes.

Bourgeons glomérulaires. De nettes différenciations glomérulaires ont été observées en microscopie optique. Elles n'ont pas été, de façon précise, retrouvées dans les fragments fixés pour la microscopie électronique mais par contre, ont été observés des amas cellulaires très volumineux organisés apparemment en structure préglomérulaire. Ce sont des concentrations de grandes cellules cuboidales, ayant de gros noyaux à l'aspect jeune, nucléolé. Le cytoplasme est peu dense et contient de rares organites et quelques inclusions denses. Dans certains de ces bourgeons, observés en particulier après culture (10), existent des plages de matériel amorphe et floconneux qui rappellent une formation hyaline de type membrane basale, et parfois, une disposition particulière de la zone apicale évoque une ébauche de différenciation podocytaire.

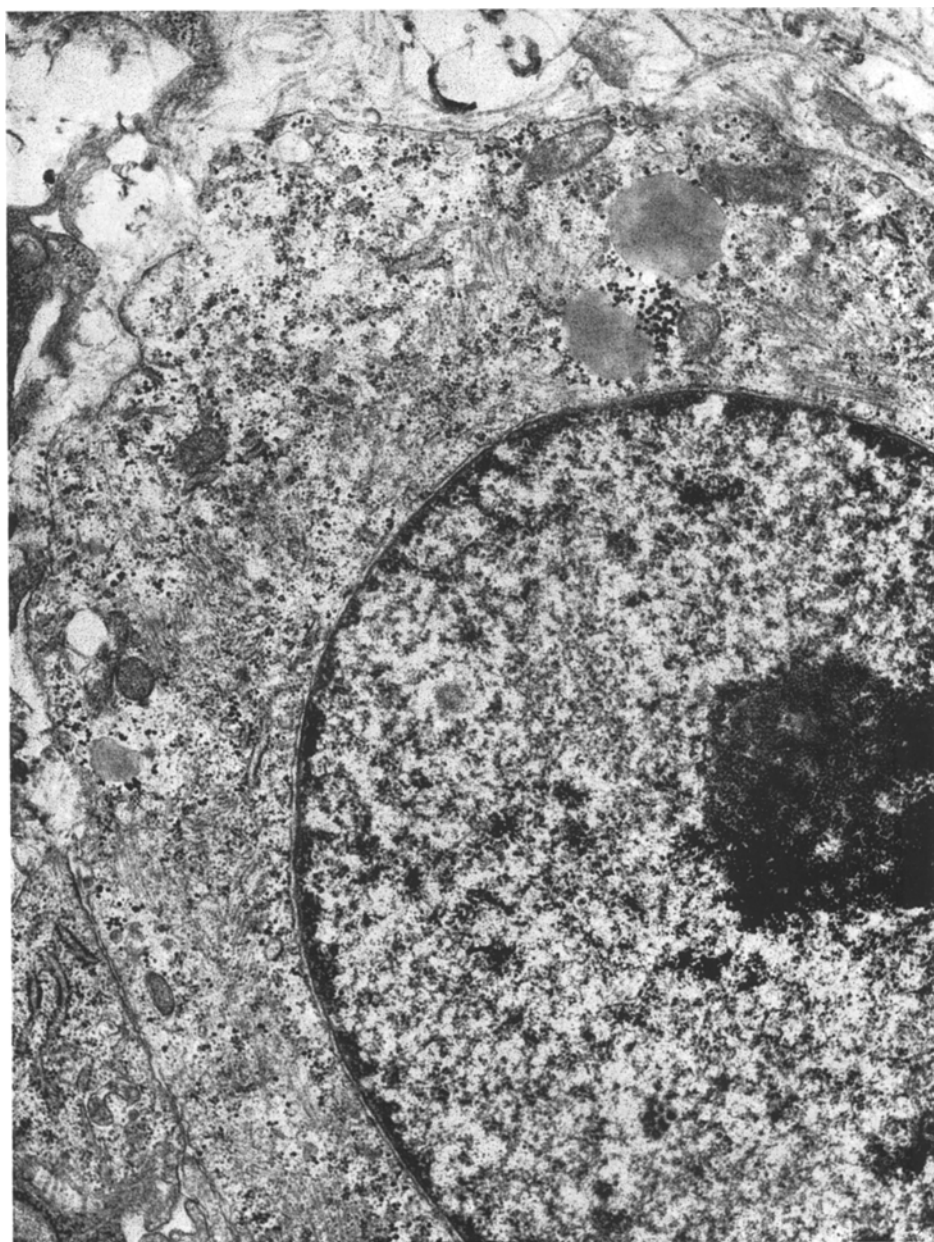


Fig. 3. Cellule à cytoplasme dense. On remarque de nombreux polyribosomes, des grains de glycogène très denses et plus gros que les ribosomes, des faisceaux de filaments et quelques organites cellulaires. (Imprégnation acétate uranyl-plomb, $\times 50\,000$)

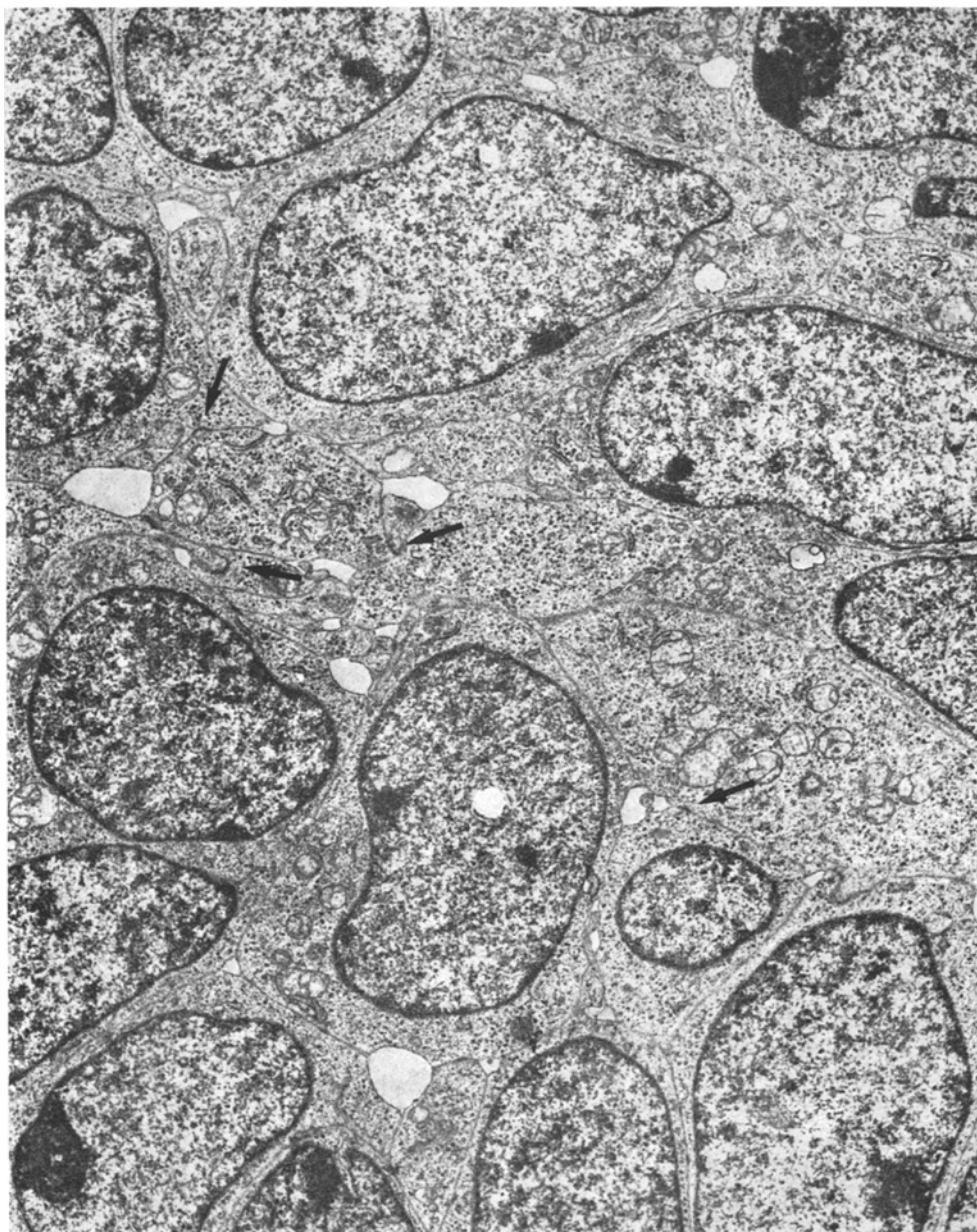


Fig. 4. Amas cellulaire. Il existe quelques complexes de jonction évidents (\rightarrow). (Imprégnation acétate uranyl-plomb, $\times 8000$)

d) Formations musculaires

Nous observons soit des plages de faisceaux de fibres musculaires bien constitués, soit de grandes cellules aux contours flous et irréguliers, dont le noyau a



Fig. 5. Section tubulaire. La lumière montre un début de différenciation microvillositaire. La zone basale présente une ébauche de vitrée. Il semble qu'il existe une alternance de cellules à cytoplasme dense et de cellules à cytoplasme clair. Il est remarquable de noter à la base de ces cellules des amas considérables et très denses de granules glycogéniques. (Imprégnation acétate uranyl-plomb, $\times 10000$)

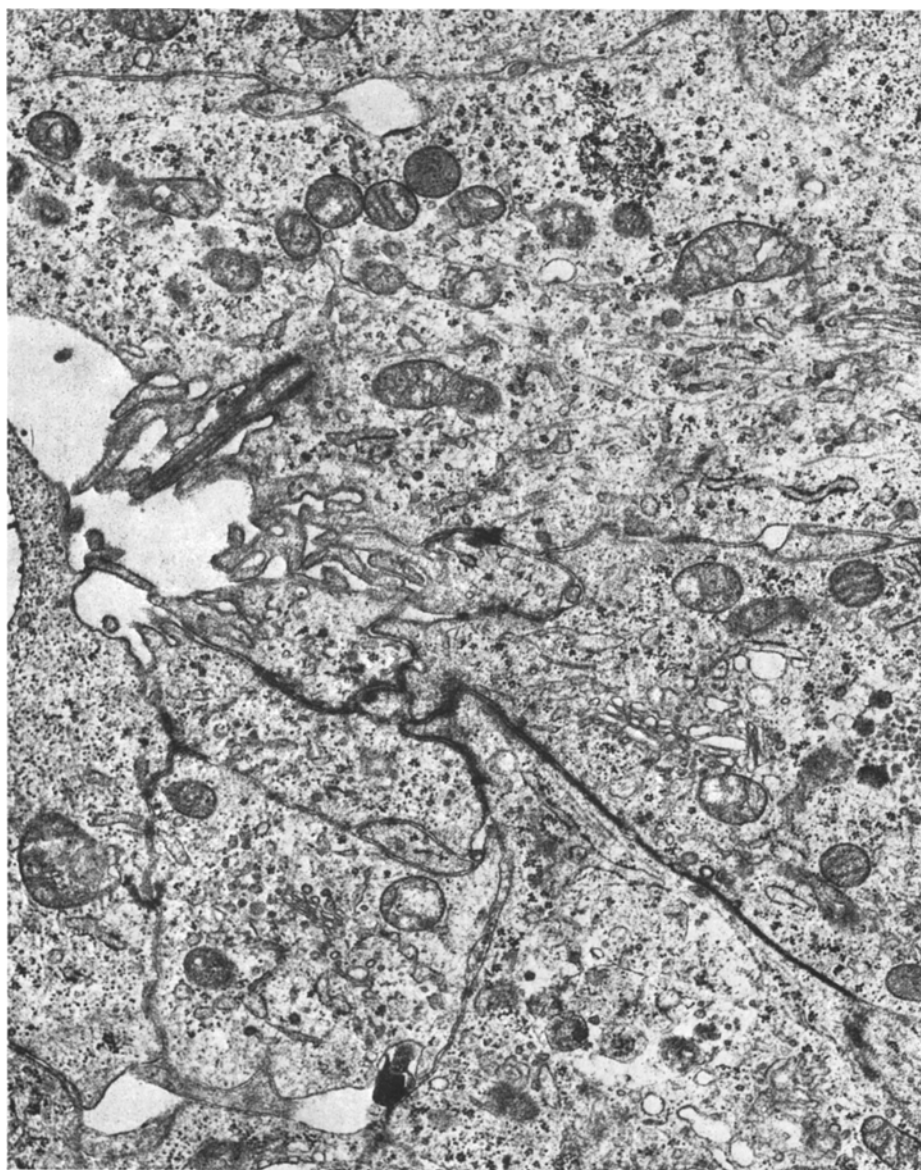


Fig. 6. Zone apicale d'une section tubulaire bien organisée, montrant une différenciation vers la bordure en brosse. Notons aussi des complexes de jonction intercellulaires très développés et la formation d'un cil débouchant dans la lumière tubulaire. Les organites cellulaires sont très développés et l'on remarque de nombreux ribosomes. (Impregnation acétate uranyl-plomb, $\times 40000$)

une forme très tourmentée, la chromatine est dense et très marginée au pourtour de la membrane nucléaire. Le cytoplasme contient peu d'organites cellulaires. Dans certains cas on remarque la présence de groupes de faisceaux dont l'ultrastructure montre un arrangement alternatif de bandes denses et claires correspon-



Fig. 7. Cellule musculaire montrant un noyau très irrégulier et, dans un cytoplasme aux contours flous, des fibres musculaires présentant une alternance très nette de stries denses. (Imprégnation acétate uranyl-plomb, $\times 15000$)

dant à la disposition particulière de l'actine et de la myosine. En outre, de nombreuses particules glycogéniques sont visibles dans le cytoplasme (fig. 7).

e) Formations ciliaires

Dans presque tous les néphroblastomes, ont été trouvées des différenciations ciliaires plus ou moins abondantes.

Celles-ci existent soit dans les zones apicales des tubes, soit dans les différentes cellules isolées ou en amas précédemment décrites. Au niveau du cytoplasme, nous les trouvons arrangées en corps basaux, ou formant des cils bien constitués enchâssés dans le cytoplasme, ou enfin libres dans la lumière tubulaire (fig. 6).

Enfin, de nombreuses mitoses sont observées dans les différents prélèvements. Elles existent au niveau des cellules isolées, comme dans les amas cellulaires peu structurés. Quelqu'en soit le stade, elles semblent normales.

III. Discussion

La ressemblance morphologique « caricaturale » [4] de la tumeur de Wilms avec le blastème métanéphrétique est généralement soulignée dans la littérature aussi bien en optique [4, 12, 13] qu'en électronique [1, 5, 11]. Il nous semble particulièrement important de rappeler qu'en microscopie électronique, il est difficile de préciser l'identité et le stade de différenciation des cellules observées. Toutefois, la confrontation de nos observations avec les travaux déjà publiés permet d'affermir certaines constatations morphologiques.

Dans le stroma de fond, constitué de matériel amorphe et de faisceaux de collagène, se distinguent plusieurs types cellulaires d'autant moins définis qu'ils ne présentent pas d'éléments nets de différenciation.

La présence de cellules d'aspect fibroblastique (avec un rapport nucléocytoplasmique élevé mais présence de collagène), dispersées dans le stroma est généralement admise [1, 11]. Notons que Balsaver [1] à partir de l'étude de 3 cas de néphroblastome les décrit comme « stroma cells ».

Considérons maintenant les autres types de cellules que nous retrouvons dans le stroma de fond telles que les cellules à cytoplasme clair ou dense, isolées ou en amas.

Tremblay [11], à partir d'un néphroblastome très différencié distingue, des fibroblastes, plusieurs autres types de cellules. Il décrit des cellules isolées au large noyau et au nucléole proéminent qu'il nomme cellules indifférenciées mésenchymateuses et qui lui paraissent précurseurs des fibroblastes et des myoblastes. Il observe ensuite deux types de cellules dites épithéliales, les unes à cytoplasme clair avec peu de mitochondries et parfois des fibrilles intracytoplasmiques, les autres, plus différenciées au cytoplasme contenant de nombreux ribosomes libres et de nombreuses mitochondries. Il distingue difficilement les cellules mésenchymales primitives des cellules épithéliales primitives claires et il est regrettable que sa description des cellules mésenchymateuses primitives soit peu développée dans sa comparaison avec les cellules épithéliales primitives et surtout les myoblastes. En effet, la notion que développe cet auteur de cellule primitive totipotente nous semble particulièrement intéressante dans le rapprochement qu'il est possible de faire avec le caractère ambivalent de l'origine du blastème rénal provenant de la rencontre du mésenchyme métanéphrétique et de l'uretère.

Il est probable que notre observation de cellules à cytoplasme clair correspond aux descriptions de cet auteur, mais nous retrouvons ces cellules aussi bien à l'état dispersé dans le stroma qu'associées en des amas par des jonctions intercellulaires pouvant évoluer vers des structures tubulaires ou préglomérulaires

(bien que l'appréciation de la densité du cytoplasme paraisse moins nette au niveau de ces amas cellulaires).

Les cellules que nous avons décrites comme étant à cytoplasme dense, qu'elles soient isolées ou en amas, correspondent bien à la description des cellules épithéliales indifférenciées d'Ito.

Cet auteur compare les composants épithéliaux de 23 néphroblastomes aux métanéphros de 4 fœtus humains âgés de 17 semaines. Les cellules épithéliales indifférenciées sont pour lui des cellules avec un cytoplasme dense contenant de nombreux ribosomes libres, de petites mitochondries, un appareil de Golgi peu développé, des lysosomes, des inclusions lipidiques et avec un noyau irrégulier encoché, présentant une chromatine diffuse. La ressemblance de ces cellules avec celles du blastème normal n'est pas parfaite et l'auteur souligne le développement asynchrone entre organelles cytoplasmiques d'une part et entre cytoplasme et noyau d'autre part. Les cellules épithéliales primitives décrites par Balsaver [1] paraissent présenter des caractéristiques épithéliales plus marquées dans l'ensemble (complexes de jonction, inclusions lipidiques, Golgi).

Les descriptions des cellules épithéliales tumorales différenciées et organisées autour d'une lumière tubulaire concordent assez bien entre les différents auteurs. Certains identifient quelques segments particuliers du tubule rénal [5]. Nos descriptions rejoignent les précédentes dans l'ensemble.

Contrairement aux formations tubulaires, les structures glomérulaires sont moins souvent rencontrées. Dans notre expérience, nous n'avons pas observé de glomérules très différenciés mais plutôt des formations que nous nommons bourgeon glomérulaire ou préglomérulaire, quoique sur des cultures, certaines coupes imprégnées à l'argent aient montré la présence d'un matériel amorphe de forte densité insinué entre les cellules de ces bourgeons, laissant penser qu'il s'agit d'un matériel membranoïde (celui-ci étant fortement argirophyle) [10]. Toutefois, des formations glomérulaires différenciées ont été décrites [1, 5]. Si certaines structures podocytaires ont été identifiées [5], l'absence de capillaires et de cellules mésangiales est soulignée [1, 5].

Les éléments de différenciation musculaire ne sont décrits que par Tremblay qui retrouve dans le seul néphroblastome qu'il décrit tous les stades de la myogénèse normale. Sans pouvoir suivre la classification cellulaire qu'il présente, nous avons observé des cellules musculaires à différents niveaux de différenciation mais jamais multinucléées et avec en général un noyau de forme très irrégulière.

Les structures ciliaires retrouvées dans certains des néphroblastomes sont associées généralement aux tissus embryonnaires rénaux et se situent, surtout pour Ito [5], au niveau des cellules des tubes proximaux normaux. Cette localisation est peu respectée dans le néphroblastome ce qui est sans doute un reflet de la perturbation du processus de différenciation.

Si l'hétérogénéité des néphroblastomes que nous avons étudiés en microscopie électronique nous a permis d'insister sur certains aspects ultra-structuraux (cellules isolées du stroma de fond) ou d'en confirmer et compléter d'autres (degré de différenciation tubulaire et glomérulaire) l'ensemble de ces constatations morphologiques ne peut actuellement résoudre l'histogénèse de cette tumeur.

Comme dans le blastème métanéphrétique normal, le degré de différenciation cellulaire de la tumeur paraît aller de pair avec un regroupement et une organi-

sation cellulaire plus poussés. Ce processus de différenciation suit de manière grossière et «asynchrone» [5] le processus normal — ce qui n'explique pas pourquoi telle tumeur ne paraît pas aller au delà d'un certain stade de différenciation — ni le pourquoi des différenciations musculaires.

Ces résultats sont appuyés par des travaux en immunochimie qui ont mis en évidence aussi bien des antigènes normaux de différenciation [6] au niveau des structures tubulaires et glomérulaires et des cellules musculaires que des antigènes particuliers associés au néphroblastome [2, 3, 14].

Le comportement positif de cette tumeur en culture organotypique, très comparable à celui du métanephros normal [10] nous laisse l'espoir d'une étude plus dynamique de sa différenciation.

Nous exprimons nos plus vifs remerciements à Mademoiselle O. Schweisguth et à Messieurs D. Pellerin et J. P. Gubler pour nous avoir permis de recueillir le matériel tumoral, dans les meilleures conditions et aussi à Madame M. N. Lombard pour la revue du manuscrit.

Ce travail, effectué dans le cadre de l'Inserm, a reçu, par ailleurs, une aide financière du C.H.U. Necker Enfants Malades.

Bibliographie

1. Balsaver, A. M., Gibley, C. W., Tessmer, C. F.: Ultrastructural studies in Wilms' tumor Cancer (Philad.) **22**, 417 (1968)
2. Burtin, P., Gendron, M. C.: A tumor-associated antigen in human nephroblastomas. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **70**, 2051—2054 (1973)
3. Diehl, V., Jereb, B., Stjernsward, J., O'Toole, C., Åhrström, L.: Cellular Immunity to nephroblastomas. Int. J. Cancer **7**, 277—284 (1971)
4. Gerard Marchant, R.: Les tumeurs malignes du rein chez l'enfant. Thèse de Médecine, Paris n° 138 (1953)
5. Ito, J., Johnson, W. W.: Ultrastructure of Wilms' tumor. I. Epithelial cell. J. nat. Cancer Inst. **42**, 77—99 (1969)
6. Linder, E.: The antigenic structure of nephroblastomas. Int. J. Cancer **4**, 232—247 (1969)
7. Luft, J. M.: Improvements in epoxy resin embedding methods. J. bioph. bioch. Cytol. **9**, 409—414 (1961)
8. Movat, H. Z.: Silver impregnation methods for electron microscopy. Amer. J. clin. Path. **35**, 328 (1961)
9. Reynolds, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol. **17**, 208—212 (1963)
10. Rousseau, M. F., Nabarra, B., Nezelof, C.: Behaviour of Wilms tumour and normal metanephros in organ culture. (Publication en cours dans Europ. J. Cancer)
11. Tremblay, M.: Ultrastructure of a Wilms' tumour and myogenesis. J. Path. Bact. **105**, 269—277 (1971)
12. Willis, R. A.: The borderland of embryology and pathology, 2nd ed. London: Butterworth & Co. 1958
13. Willis, R. A.: The pathology of the tumours of children. Edinburgh and London: Oliver & Boyd 1962
14. Wise, K., Beierle, J., Allerton, A., Powers, D.: Antigens from Wilm's tumour Fed. Proc. **30**, 1279 (1971)

M. F. Rousseau
Groupe de Pathologie Pédiatrique
Inserm U 77 (Pr C. Nezelof)
Hôpital Necker Enfants Malades
149, Rue de Sèvres
F-75730 Paris Cedex 15
France