



HAL
open science

Caractérisation et implication d'un nouveau complexe protéique p75NTR/PD-L1 dans les exosomes de glioblastome

Axel Boukredine

► To cite this version:

Axel Boukredine. Caractérisation et implication d'un nouveau complexe protéique p75NTR/PD-L1 dans les exosomes de glioblastome. Médecine humaine et pathologie. Université de Limoges, 2021. Français. NNT : 2021LIMO0058 . tel-03825755

HAL Id: tel-03825755

<https://theses.hal.science/tel-03825755>

Submitted on 23 Oct 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse de doctorat

Université de Limoges

ED 615 - Sciences Biologiques et Santé (SBS)

EA 3842 CAPTuR – Contrôle de l'Activation cellulaire, Progression Tumorale et Résistance thérapeutique

Thèse pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Limoges

Biologie Santé ; Immunologie, oncologie, inflammation et infectiologie

Présentée et soutenue par
Axel Boukredine

Le 22 octobre 2021

Caractérisation et implication d'un nouveau complexe protéique p75^{NTR} / PD-L1 dans les exosomes de glioblastome

Thèse co-dirigée par Pr. Fabrice LALLOUE et Dr. Gaëlle BEGAUD

JURY :

Rapporteurs

M. Norbert BAKALARA, Professeur des Universités, ENSTBB, Université de Bordeaux

Mme. Julie GAVARD, Directrice de Recherche CNRS, CRCINA, CNRS ERL 6001, INSERM U1232, Université de Nantes

Examineurs

Mme. Lucie KARAYAN-TAPON, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, INSERM U1084, Université de Poitiers

Mme. Gaëlle BEGAUD, Maître de Conférence des Universités, EA 3842 CAPTuR, Université de Limoges (Co-directrice de thèse)

M. Fabrice LALLOUE, Professeur des Universités, EA 3842 CAPTuR, Université de Limoges (Directeur de thèse)

Mme. Barbara BESSETTE, Maître de Conférence des Universités, EA 3842 CAPTuR, Université de Limoges



A Pat

A tous ceux qui m'ont soutenu toutes ces années durant

« Il vaut mieux pomper même s'il ne se passe rien que de risquer qu'il se passe quelque chose de pire en ne pompant pas. »

Jacques Rouxel

« Rien dans la vie n'est à craindre, tout doit être compris. C'est maintenant le moment de comprendre davantage, afin de craindre moins. »

Marie Curie

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté de juger mes travaux au cours de cette thèse. Je remercie le **Pr. Lucie Karayan-Tapon** d'avoir accepté de présider mon jury de thèse. Je souhaite également remercier mes rapporteurs les **Dr. Julie Gavard** et **Pr. Norbert Bakalara** d'avoir évalué mes travaux de thèse et le présent manuscrit, dans un laps de temps aussi court. Je tiens également à remercier mes examinateurs, les **Dr. Barbara Bessette**, **Dr. Gaëlle Bégaud** et **Pr. Fabrice Lalloué** pour leur participation à ce jury.

Ces travaux au sein de l'EA 3842 CAPTuR n'auraient pas été possible sans le soutien financier de la **Région Nouvelle-Aquitaine** et de la **Ligue contre le Cancer**, je les en remercie. Je souhaiterais également remercier le **service d'anatomie pathologique**, qui a permis l'obtention des échantillons tissulaires et sériques. Je souhaite également remercier l'ensemble des **patients** et leur famille, sans qui ces travaux n'auraient pas pu voir le jour et pour qui j'adresse tout mon courage et ma force au vu de ce combat quotidien avec la maladie.

Je tiens à remercier le **Pr. Marie-Odile Jauberteau**, pour m'avoir accueillie au sein de l'équipe. Je vous remercie pour votre gentillesse et votre soutien au cours de ces 4 années. Je voudrais également remercier mes directeurs de thèse, le **Pr. Fabrice Lalloué** et le **Dr. Gaëlle Bégaud**, pour m'avoir permis de poursuivre mon petit bout de chemin dans le monde de la science et m'avoir encadré tout au long de cette aventure. **Fabrice**, je vous remercie pour avoir été présent toutes ces années, quoiqu'il arrive, à toute heure de la journée pour apporter votre éclairage, votre savoir et votre soutien. Peu importe l'heure et malgré votre emploi du temps de ministre (et le mot est faible), j'ai toujours apprécié de pouvoir discuter avec vous de la thèse ou de n'importe quel sujet recoupant votre connaissance encyclopédique. **Gaëlle**, je te remercie d'avoir été l'autre éminence grise, complémentaire et équilibrant parfaitement la vision de Fabrice. Il est impossible de ne pas mentionner ta disponibilité, ta gentillesse et tout le soutien que tu as pu m'apporter. Malgré la charge croissante de travail et les divers « tracas » de ces dernières années, tu as toujours trouvé le temps de m'aider et de m'éclairer dès que possible. Je n'aurais pas imaginé de meilleurs directeurs pour cette thèse. Merci pour tout.

Il me faut aussi remercier l'ensemble des enseignants-chercheurs de l'équipe qui ont permis, par leur apport et leur soutien, le bon déroulement de la thèse. **Barbara**, je te remercie pour tes conseils toujours avisés et toutes ces longues discussions sur le sens de la vie, autour d'un café ou d'un repas. Je retiendrais toujours ta gentillesse et ta bonne humeur tout au long de ces années, dans les bons comme les mauvais moments. **Mireille**, je voudrais également te remercier pour toute ta bonne humeur communicative, tes « Salut la compagnie ! » lancés à la cantonade et ta bienveillance. Quel plaisir d'avoir pu te côtoyer, depuis la licence ! **François**, je tiens à te remercier pour avoir partagé tes conseils, ta vision scientifique et ton expérience. Entre quelques râleries, ce fut toujours grandement apprécié. **Aurélië**, même si tu n'as pas pu être parmi nous jusqu'au bout, je te remercie pour ta gentillesse, ta patience et toute ton aide. Tu t'es toujours pliée en quatre pour aider tous les

doctorants et moi-même ; même si mes visites à ton bureau étaient souvent mauvais signe (tu as dû finir par croire que j'étais l'origine de l'ensemble des pannes techniques au sein du labo !), je te remercie d'avoir été ce soutien constant et ce roc grâce à qui nombre de doctorants ont pu atteindre la fin de leur thèse. Un grand merci à toi ! Il faut également remercier **Thomas** pour son support, son humour et ses larges connaissances sur les sujets de l'équipe. Merci à toi pour avoir toujours eu un moment à consacrer à mes questions et pour m'apporter ton aide technique sur les manips et la plongée au sein des bases de données. Ça va me manquer de plus te croiser dans les couloirs, avec ton pas décidé et le petit « à fond ? » à chaque fois. Je tiens à remercier **Stéphanie** pour ton apport indispensable aux présents travaux et nos brefs moments de discussions, brefs mais toujours intéressants. Il est évidemment impossible de ne pas remercier **Philippe**, pour tout le soutien logistique et toute la bienveillance dont tu as fait preuve durant ces quatre années. Je souhaiterais également remercier **Serge**, pour les moments d'échange pendant les repas, même si devenu rare ces derniers temps. Il me faut également remercier **Danielle**, votre expertise et vos connaissances notamment dans le domaine des exosomes m'ont permis de progresser et de m'améliorer au cours de cette thèse. Je vous souhaite le meilleur au sein de votre nouvelle équipe. Je tiens à remercier **Elise** qui m'a permis de mettre le pied à l'étrier au début de cette thèse et sans qui ces travaux n'auraient pas pu être réalisés. Merci également à **Amandine**, pour ta présence, souvent brève mais toujours animée, au sein du labo et pour ta gentillesse.

Je tiens à remercier nos « anciens » **Sofiane, Hugo, Sabrina, Hafidha, Marine et Éric** qui, par leurs présences, leurs apports et leurs connaissances, ont permis l'aboutissement de ces travaux. Tout d'abord, il me faut dire un très très grand merci à **Sofiane**. Etant présent pendant près de trois ans, c'est grâce à toi que j'ai pu évoluer, m'améliorer et que ces travaux ont pu aboutir. Je ne sais franchement pas comment tu as pu me supporter pendant aussi longtemps et répondre à toutes mes questions, jusqu'à tard dans la soirée. Merci énormément pour tout ce que tu m'as apporté : ton aide, ton soutien, ton expertise et tes points de vue toujours bons. Je ne peux pas passer sous silence ton humour à géométrie variable, tes « mon petit » et toutes ces conversations sur tout et rien, tu as toujours su adoucir les situations complexes et les moments difficiles. Je te souhaite le meilleur pour la suite, tu le mérites amplement, merci pour tout ! Un grand merci également à **Hugo et Sabrina**, les « Tic & Tac », les rangers du risque de l'EA 3842. **Hugo**, l'expat suédois, je te remercie pour m'avoir aidé à m'intégrer au labo et pour toutes nos discussions, scientifiques ou non, qui m'ont permis de progresser et de me changer les idées. C'est sans doute ces (quelques) discussions sans queue ni tête qui ont permis de créer cette ambiance si particulière et tellement appréciable au sein de notre bureau. Ton caractère, ta gentillesse et ta « zenitude » constante (honnêtement, tu n'as pas eu un seul petit moment de stress à un pendant la thèse ? juste un petit ? histoire de me rassurer) font de toi une personne d'une qualité rare. J'ai hâte de retravailler avec toi ! **Sabrina**, l'expat creusoise, je veux te remercier pour ta gentillesse, ta bonne humeur, tes râleries jamais bien grandes mais... souvent présentes. Je suis ravi de t'avoir rencontré et d'avoir (un peu, j'espère ?) appris de te connaître, tu es une très belle personne capable de distiller sa bonne humeur dans le labo. Je te remercie pour tout ton soutien logistique, expérimentale et surtout personnel durant toutes ces années. Tu es une personne aux qualités indéniables, doutant trop souvent de

toi ; garde foi en toi, tu es capable d'affronter bien plus que ce que tu sembles penser. Tous deux avez été de grands soutiens durant nos séjours communs au sein de l'équipe. Avec tous ces cafés, ces soirées, ces apéros, vous m'avez permis d'apprécier d'autant plus ces années de thèse et de vivre de très bons moments, notamment avec le « petit » **Benoît**. Merci pour tout ça ! Je voudrais également remercier **Hafidha** pour sa gentillesse, ses conseils et son constant support. Malgré mon humour inégal, tu as toujours été présente pour mes questions et pour me faire bénéficier de ton expérience. Merci pour tous ces bons moments passés au bureau à discuter et à échanger. Je te souhaite que cette nouvelle vie à Dijon, en famille, te réserve les meilleurs moments et les meilleures des surprises. Merci à toi **Marine** pour avoir également un soutien dans notre bureau, je te remercie d'avoir partagé ta bonne humeur et ton expertise des exosomes. Je te souhaite le meilleur pour cette nouvelle aventure dans l'univers médical, en espérant qu'elle te porte aussi loin que tu le voudras. Enfin, **Éric**, merci à toi pour toutes ces années de soutien mutuel. On se suit plus ou moins depuis la PACES, il y a près de 11 ans... Oui, tout ça commence à remonter, même si les délires partagés ne sont venus que bien plus tard. Je te remercie pour ces (quelques) discussions scientifiques et ces (nombreuses) discussions un peu chaotiques, il faut le dire..., à ton bureau, au mien, autour d'un café... Depuis les stages de Master, on a pu se suivre en compagnons de bonnes fortunes, en s'épaulant, se soutenant et en échangeant tout au long de ces années sur tous les sujets, plus ou moins pertinents. Merci pour cette « constance du jardinier » qui te caractérise, je te souhaite d'aller toujours plus loin sur cette voie qui s'ouvre à toi.

Je tiens également à partager des remerciements avec les doctorants actuels, qui peuplent le labo à l'heure actuelle : **Aude, Elodie, Céline, Clément, May, Léa, Tarek et Audrey**. Tout d'abord, je tiens à remercier la « petite **Aude** », pas si petite que ça. Ton caractère parfois ombrageux mais toujours entier fait de toi une personne dont on ne peut qu'apprécier la franchise et l'entièreté. Pendant les trois années durant lesquelles nous avons partagé notre bureau, j'ai pu apprendre à te connaître et à t'apprécier. Tu es une personne formidable d'une qualité rare, tu m'as soutenu durant toutes ces années, égale à toi-même, avec une constante gentillesse. Tu as également permis par ton aide technique l'achèvement de ces travaux de thèse, mes remerciements n'en sont donc que plus grands. Ces soirées de « geekage » ou découverte de film ne manqueront énormément. Merci pour tout, garde confiance en toi, la fin de la thèse est en vue et je suis sûr que la suite n'en sera que meilleure, tu en as les moyens et tu le mérites. Je voudrais également remercier **Elodie aka Aurélie** Partout de Newcastle, pour sa bonne humeur et sa « bienveillance ». Depuis ton stage de M1 (j'ai l'impression que ça remonte à une éternité...), j'ai pu constater par moi-même que tu es toi aussi une personne entière, avec de grandes qualités humaines. J'ai toujours apprécié nos discussions, sur tous les sujets, à confronter nos avis (souvent divergents). Crois en toi, tu vaux beaucoup plus que ce que tu sembles croire. Continue à rester égale à toi-même et, j'en suis sûr, tu finiras ta thèse sans soucis. Tes qualités et ton sens du travail te mèneront loin, j'en suis persuadé. Merci pour tous ces bons moments ! Il me faut également remercier notre **Cécé**. Tu as été, durant toutes ces années, une source de bonne humeur constante dans ce labo, toujours le sourire aux lèvres, avec tout de même ton caractère bien marqué (ça doit être le côté normand...). Ça va manquer de ne plus te voir filer dans les couloirs, entre la salle de culture, la sdFFF et ton bureau, à toute vitesse et

à toute heure. J'espère que cette dernière année te donnera satisfaction et qu'elle sera le prélude de quelque chose d'autant plus beau et d'autant plus grand. **Clément**, le « chef », je te remercie pour ces discussions scientifiques et surtout ces discussions sur l'espace, où tu m'as fait partager ton hobby et tes connaissances à ce sujet. Continue de garder la tête vers les étoiles ! Ta persévérance et ta détermination te mèneront loin. Je suis sûr que tu achèveras la dernière année qui s'annonce sans problème, continue d'avoir la foi et la suite s'annonce grandiose. Je voudrais remercier **Tarek** pour nos échanges, toujours passionnants. J'espère que tu sauras conserver ta passion, ton dévouement et tes qualités humaines, je suis sûr que la voie s'ouvre devant toi sera incroyable, comme tu as pu l'être durant ta thèse. Il me faut, bien sûr, finir par nos plus récentes doctorantes. **May**, je te remercie pour avoir animé avec **Léa** le labo durant cette dernière année. Même si votre consommation de caféine aurait tendance à m'inquiéter, vous transmettez à merveille votre bonne humeur et votre gentillesse. J'aurais aimé partager un peu plus de temps avec vous, mais j'ai déjà pu apprécier vos caractères (parfois difficiles... enfin plus l'une que l'autre... mais je n'en dirais pas plus sous peine d'avoir des problèmes...) et vos motivations. J'espère que le reste se déroulera au mieux et que vous irez le plus loin possible. Je te souhaite également la même chose, **Audrey**, que tout se déroule sans accroc et aussi bien que possible. Je souhaiterais dans le même temps remercier **Jérémy** pour les quelques brefs moments où l'on a pu échanger, j'espère que tu pourras clore ta thèse dans les meilleures conditions possibles. Un petit mot également pour **Héloïse** : je te souhaite le meilleur pour ta thèse.

Je souhaiterais remercier par la même occasion les stagiaires qui ont, par leur présence, jalonné cette thèse, notamment **Tiffany, Nina, Anaëlle et Rémy**. Merci à **Tiffany** pour ta bonne humeur et ta gentillesse. Merci au **Dr. Nina** pour ton implication, ta gentillesse et pour nous avoir éclairé de tes lumières médicales. Merci à notre bretonne préférée, **Anaëlle**, si le stage n'a pas été aussi fructueux que possible, j'espère que tu en garderas un aussi bon souvenir que je peux en avoir. Enfin, merci à **Rémy**, j'espère que ta persévérance et ton implication te suivra tout au long de ton parcours.

Il me faut également adresser mes remerciements à ceux qui m'ont permis et décidé de suivre la voie de la recherche, au sein du laboratoire PEIRENE. Ceux-ci s'adressent notamment à **Alexis, Fabienne**, au **Dr. Magnol** et au **Pr. Blanquet**. Je vous remercie de m'avoir encadré au cours de mes stages de Master, de m'avoir donné le goût de la recherche et de m'avoir déterminé à suivre cette voie.

Par leur soutien lointain mais indispensable, je souhaite remercier les futurs mariés **Quentin et Emma**. Depuis l'Alsace, nos échanges, les visites réciproques et nos parties m'ont permis de décompresser et de garder le moral en toute circonstance. **Quentin**, on se connaît depuis plus d'une douzaine d'années maintenant, nos discussions sur divers sujets de société (la postlogie Star Wars... Doctor Who... toussa toussa...) et nos délires tout aussi variés (la Dordogne... toussa toussa...) sont de véritables plaisirs, que j'espère voir perdurer encore longtemps.

Enfin, il me faut remercier ma famille pour leur soutien de chaque instant, mes parents, ma sœur et mon grand-père. Je sais que tout ça vous semblait cryptique, malgré

tous vos efforts, mais malgré tout, j'ai toujours pu compter sur vous pour raconter ma vie au labo (même si je ne suis pas particulièrement loquace) et me soutenir au travers des aléas de la thèse. Je n'aurais pas pu arriver jusque-là, sans avoir eu le support de chacun d'entre vous, depuis le tout début de cette aventure. Je ne peux pas vous dire à quel point tout ça compte pour moi et que vous comptez pour moi.

Merci à vous tous d'avoir contribué à cette thèse et d'avoir permis sa réussite !

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »

disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Table des matières

Liste des abréviations.....	18
Introduction	23
1.1. Le glioblastome.....	23
1.1.1. Le système nerveux central : composition et fonctions	23
1.1.2. Les gliomes et leur classification	24
1.1.2.1. Historique des classifications des gliomes selon l'OMS	25
1.1.2.2. Classification actuelle des gliomes de l'OMS	26
1.1.2.3. Les facteurs de risques des gliomes	28
1.1.2.4. Définition et épidémiologie du glioblastome.....	30
1.1.3. Les mutations et altérations génétiques des gliomes.....	32
1.1.3.1. Altérations génétiques récurrentes dans les gliomes.....	32
1.1.3.2. Les différents patterns d'expression et altérations au sein du glioblastome...33	
1.1.3.2.1. Les voies de survies	33
1.1.3.2.2. Les différences entre les sous-types.....	37
1.1.3.3. Impact de l'épigénétique sur les gliomes.....	38
1.1.4. Les processus physiopathologiques du glioblastome	38
1.1.4.1. L'angiogenèse tumorale.....	39
1.1.4.2. L'invasion tumorale	39
1.1.4.3. L'échappement immunitaire de la tumeur.....	40
1.1.5. Les traitements existants du glioblastome	43
1.1.5.1. Mise en place historique des traitements actuels	43
1.1.5.2. Les techniques diagnostiques et pronostiques du glioblastome	44
1.1.5.3. Le protocole Stupp	45
1.1.5.4. Evolution du protocole Stupp et perspectives des thérapies ciblées.....	46
1.1.6. La récurrence tumorale et leurs processus d'échappement thérapeutique	50
1.1.6.1. Caractéristiques et épidémiologies des récurrences du GBM	51
1.1.6.2. Pronostic, diagnostic et traitement des tumeurs récurrentes	53
1.1.6.3. Les différentes hypothèses de l'échappement thérapeutique	54
1.1.7. Les cellules souches cancéreuses (CSC) et leurs marqueurs spécifiques.....	54
1.1.7.1. Historique.....	55
1.1.7.2. Les propriétés des CSC	56
1.1.7.3. Les marqueurs des CSC dans le glioblastome	58
1.2. Les neurotrophines et leurs récepteurs	59
1.2.1. Historique	59
1.2.2. Les neurotrophines.....	60
1.2.3. Les récepteurs aux neurotrophines et la sortiline.....	61
1.2.4. La récepteur NGFR / p75 ^{NTR} et ses propriétés.....	64
1.2.4.1. Structure du récepteur p75 ^{NTR}	64
1.2.4.2. Fonctions physiologiques du récepteur	67
1.2.4.3. p75 ^{NTR} dans le cancer et le glioblastome.....	69
1.3. L'implication de l'axe PD-L1 / PD-1 en oncologie.....	71
1.3.1. Le système immunitaire et l'immunité acquise à médiation cellulaire.....	71
1.3.2. PD-1 / PD-L1 et l'immunité acquise à médiation cellulaire	74
1.3.3. Les fonctions de PD-L1 dans le cancer	78
1.3.4. L'implication de PD-L1 dans le glioblastome.....	80

1.3.5. Les connexions existantes entre PD-L1 et p75 ^{NTR}	85
1.4. Les exosomes (biogenèse et impact)	86
1.4.1. Définition et historique	87
1.4.2. Les voies de biogenèse des exosomes	88
1.4.2.1. Formation des corps multivésiculaires (MVB)	89
1.4.2.2. Rôle des complexes ESCRT	90
1.4.2.3. La voie exosomale des tétraspanines	93
1.4.2.4. La voie exosomale des céramides	94
1.4.2.5. L'oligomérisation des protéines dans la biogenèse	95
1.4.3. La composition des exosomes.....	95
1.4.3.1. La composition protéique des exosomes	95
1.4.3.2. La composition en acide nucléique des exosomes.....	96
1.4.3.3. La composition lipidique des exosomes	96
1.4.4. Sécrétion et capture des exosomes.....	97
1.4.4.1. Les mécanismes de sécrétion des exosomes	97
1.4.4.2. Les mécanismes de capture des exosomes.....	99
1.4.5. Les fonctions physiologiques des exosomes	100
1.4.6. L'implication des exosomes dans le cancer et le glioblastome.....	103
1.4.7. L'utilisation des exosomes comme biomarqueur	107
Objectifs	111
Matériel et méthodes	113
1.5. Quantification transcriptionnelle de NGFR (p75 ^{NTR}) et PD-L1 (CD274) et effets sur la survie des patients.....	113
1.6. Analyse Tissue Micro Array (TMA) de tumeurs de glioblastome	113
1.7. Séra et culture primaire de patients atteints de GBM	114
1.8. Lignées cellulaires de glioblastome et culture cellulaire	114
1.9. Vésicules extracellulaires	114
1.10. Western blot.....	115
1.11. Immunoprécipitation.....	116
1.12. Immunofluorescence.....	116
1.13. Prolifération (Click-iT Edu Imaging Kit).....	117
1.14. Biotinylation de surface de PD-L1	117
Résultats	118
Discussion.....	146
Conclusion / Perspectives	155
Références bibliographiques	157

Table des illustrations

Figure 1 : Représentation schématique des population cellulaires du système nerveux central (SNC).	23
Figure 2 : Schéma de la classification OMS 2016 des gliomes diffus	27
Figure 3 : Algorithme simplifié de la classification des gliomes diffus de la classification de l'OMS 2016	28
Figure 4 : Pathogenèse moléculaire et génétique du GBM.....	31
Figure 5 : Altérations des principales voies de signalisation mutées dans le glioblastome....	34
Figure 6 : Protéines membranaires et récepteurs impliqués dans l'angiogenèse du GBM....	36
Figure 7 : Schéma des principales voies de signalisation impliquées dans l'invasion du GBM	40
Figure 8 : Schéma de l'environnement immunitaire privilégié du SNC.....	41
Figure 9 : Schéma de l'influence des cellules immunitaires sur les cellules tumorales du GBM	42
Figure 10 : Arbre décisionnel simplifié du traitement classique du GBM.....	45
Figure 11 : Sélection de thérapies ciblées du GBM en fonction des différentes voies concernées.....	48
Figure 12 : Schéma sur l'apparition des récurrences tumorales du GBM	52
Figure 13 : Régulation tumorale par les CSCs.....	55
Figure 14 : Contexte d'interaction des CSCs	57
Figure 15 : Représentation des structures protéiques des proneurotrophines et neurotrophines	60
Figure 16 : Spécificité des neurotrophines et de leur forme immature avec leurs principaux récepteurs	61
Figure 17 : Structure des récepteurs aux neurotrophines	62
Figure 18 : Les voies de signalisation des récepteurs aux neurotrophines Trks.....	63
Figure 19 : Structure du récepteur aux neurotrophines p75 ^{NTR}	65
Figure 20 : Les protéines adaptatrices de p75 ^{NTR} et l'activation des différentes signalisations	66
Figure 21 : Clivage du récepteur p75 ^{NTR} et effets des fragments extracellulaire ECD et intracellulaire ICD	67
Figure 22 : Les voies de signalisation du récepteur p75 ^{NTR} avec ses partenaires.....	69
Figure 23 : Activation des effecteurs de l'immunité adaptative à médiation cellulaire	72
Figure 24 : Représentation schématique des interactions entre les ligands de la famille B7 et les récepteurs de la famille CD28.	74
Figure 25 : Structure protéique des protéines PD-1 et PD-L1	75

Figure 26 : Voies de signalisation PD-1 / PD-L1	77
Figure 27 : Effets immunosuppresseurs de PD-L1 dans le microenvironnement du GBM.....	80
Figure 28 : Induction de l'expression de PD-L1 dans le cadre du GBM	81
Figure 29 : Effets intrinsèques de l'expression de PD-L1 dans les cellules du GBM.....	82
Figure 30 : La voie PD-1 / PD-L1 et son ciblage dans l'immunothérapie.....	83
Figure 31 : Schéma de la composition hétérogène des exosomes	87
Figure 32 : Production des MVBs et libération des exosomes	89
Figure 33 : Rôle du complexe ESCRT dans la sélection du cargo et la formation des exosomes.....	90
Figure 34 : Rôle du complexe ESCRT-III et Vps4 dans la scission membranaire des ILVs ..	92
Figure 35 : Implication des tétraspanines dans la formation et le rôle des exosomes	93
Figure 36 : Biogenèse des exosomes.....	94
Figure 37 : Devenir des MVBs, trafic intracellulaire et production de vésicules extracellulaires	98
Figure 38 : Capture et devenir des vésicules extracellulaires	100
Figure 39 : Fonctions biologiques des exosomes	101
Figure 40 : Schéma des fonctions des exosomes tumoraux.....	104
Figure 41 : Rôle des vésicules extracellulaires dans le cadre des glioblastomes.....	106
Figure 42 : Comparaison entre les biopsies solides et les biopsies liquides	108

Table des tableaux

Tableau 1 : Liste des protéines de la famille B7-1 et de leurs récepteurs (de la famille CD28 notamment)	73
Tableau 2 : Essais cliniques des inhibiteurs des points de contrôle PD-1/PD-L1 dans le glioblastome	84
Tableau 3 : Divers cargos exosomaux avec leurs portées diagnostiques et pronostiques ..	109
Tableau 4 : Liste des anticorps utilisés dans le cadre du Western Blot.....	115

Liste des abréviations

4-1BB : Tumor necrosis factor receptor superfamily member 9	BRAF : B-Raf serine/threonine-protein kinase
5-ALA : Acide 5-aminolevulinique	BSA : Albumine sérique bovine
α SMA : Alpha Smooth Muscle Actin	CALR : Calréticuline
ACTR3 : Actin-related protein 3	CAM : Protéine d'adhésion cellulaire
ADN : Acide Désoxyribonucléique	CCND1 / 2 : Cycline D1 / 2
ADNmt : ADN mitochondrial	CCL-22 : C-C-L motif chemokine-22
Akt : Sérine/Thréonine Kinase	CCNE2 : Cycline E2
Alix : ALG-2-interacting protein X	CCNU : Chloroethyl-cyclohexyl-nitrosouree ou lomustine
Ang : Angiogénine	CD : Cluster of Différenciation
ANXA1 : Annexine A1	CD133 : Prominine-1
APNG : Alkylpurine-DNA-N-glycosylase	CD15 : Sialyl Lewis ^X ou stage-specific embryonic antigen 1
APOBEC3G : DNA dC->dU-editing enzyme	CD20 : B-lymphocyte antigen CD20
APOBEC-3G	CD24 : Signal transducer CD24
APP : Amyloid beta A4 protein	CD28 : T-cell-specific surface glycoprotein CD28
ARF : Alternative Reading Frame	CD31 / PECAM1 : Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule 1
ARMS : Ankyrin Repeat-rich Membrane-Spanning protein	CD39 / NTPDase1 : Ectonucléoside Triphosphate Diphosphohydrolase-1
ARN : Acide Ribonucléique	CD4 : T-cell surface glycoprotein CD4
ASCL1 : Achaete-scute family bHLH transcription factor 1	CD40L : CD40 ligand
ASO : Antisense Oligonucléotide	CD43 : Leukosialine
ATRX : Transcriptional Regulator ATRX	CD44 : Epican
ATCC : American Type Culture Collection	CD63 : Granulophysin, LAMP3
B7-1 : T-lymphocyte activation antigen CD80	CD68 : Macrosialine
B7-2 : T-lymphocyte activation antigen CD86	CD8 : T-cell surface glycoprotein CD8
B7-DC : voir PD-L2	CD86 : T-lymphocyte activation antigen CD86
B7-H1 : voir PD-L1	CDC25A : Cell Division Cycle 25 homolog A
B7-H2 : ICOS ligand	CDKN2A / B / C : Cyclin Dependant Kinase inhibitor 2A / B / C
Bad : Bcl2-associated Agonist of cell Death	CDK2 / 4 / 6 : Cyclin Dependant Kinase 2/4/6
Bak : Bcl2 antagonist/killer	cGAS : Cyclic GMP-AMP synthase
Bcl2 : B-Cell Lymphoma 2	CHAMP : Chromosome Alignment-Maintaining Phosphoprotein
BCNU : Bis-chloroethylnitrosouree ou carmustine	CHI3L1 : Chitinase 3 like 1 ou YKL-40
BDNF : Brain-Derived Neurotrophic Factor	CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer
bFGF : Basic fibroblast growth factor	CMH I / II : Complexe Majeur d'Histocompatibilité I / II
BHE : Barrière hémato-encéphalique	
Bid : BH3 interacting-domain death agonist	
Bim : Bcl2-Interacting Mediator of cell death / Bcl-2-like protein 11 / Bcl-2-L-11	

CMG : Chromatin Modeling Gene
 CPA : Cellule présentatrice d'anticorps
 CpG : Cytosine-phosphate-guanine
 CREBBP : CREB binding protein
 CSC : Cellules Souches Cancéreuses
 CT : Computerized Tomography ou Tomographie assistée par ordinateur
 CTLA-4 : Cytotoxic T-Lymphocyte-associated Antigen 4
 CTSD : Cathépsine D
 CXCR4 : C-X-C chemokine receptor type 4
 DAB : 3,3'-Diaminobenzidine
 DAPI : 4',6-Diamidino-2-phenylindole
 DCX : Doublecortine
 DD : Death Domain
 DLL3 : Delta Like canonical Notch Ligand 3
 DMEM : Dulbecco's Minimum Essential Medium
 DOC : Deoxycholate
 DTI : Diffusion Tensor Imaging ou imagerie en tenseur de diffusion
 EAP40 : ELL-Associated protein of 30 kDa
 EAP45 : ELL-Associated protein of 45 kDa
 ECM1 : Extracellular matrix protein 1
 EDTA : Acide Ethylènediaminetétraacétique
 EdU : 5-Ethynyl-2'-deoxyuridine
 EGF : Epithelial Growth Factor
 EGFR : Epithelial Growth Factor Receptor
 EGFRvIII : Variant III de l'EGFR
 EP300 : E1A binding protein p300
 Erk : Extracellular signal-Regulated Kinase
 ESCRT : Endosomal Sorting Complex Required for Transport
 EV : Vésicule Extracellulaire
 FAK : Focal Adhesion Kinase
 FasL : FS-7 associated surface antigen (Fas) Ligand
 FAT1 : FAT atypical cadherin 1
 FGF2 : Fibroblast growth factor 2
 FGFR1 / 2 / 3 : Fibroblast Growth Factor Receptor 1 / 2 / 3
 FTI : Inhibiteur de Farnésyl Transférase
 GABRA1 / 6 : Gamma-aminobutyric acid type A Receptor Subunit Alpha 1 / 6
 GAPDH : Glyceraldehyde-3-Phosphate Déshydrogénase
 GBM : Glioblastome Multiforme
 G-CIMP : Glioma-CpG Island Methylator Phenotype
 GCSF : Granulocyte colony-stimulating factor
 GFAP : Glial Fibrillary Acidic Protein
 GLIPR-1 : Glioma pathogenesis-related protein 1
 GO : Gene Ontology
 GSK-3 β : Glycogen Synthase Kinase-3 β
 Gy : Gray (1 Gy = 1 J/kg)
 H3F3A : H3 histone Family member 3A
 HDAC : Histone Déacétylase
 HGF : Hepatocyte growth factor
 HIF-1 / 2 : Hypoxia-inducible factor 1 / 2
 HIST1H3B : Histone cluster 1 H3 family member B
 HLA-G / E : Human Leucocyte Antigen-G / E
 HRas : GTPase HRas
 HRP : Horseradish Peroxydase
 HRS : Hepatocyte growth factor-Regulated Tyrosine kinase Substrate
 HSP : Heat Shock Protein
 ICAM : Intercellular adhesion molecule
 ICOS : Inducible T-cell costimulator
 ID-1 : DNA-binding protein inhibitor ID-1
 IDH : Isocitrate Déshydrogénase
 IDO : Indoleamine 2,3-dioxygenase
 IFN : Interféron
 IgC : Domaine constant des immunoglobulines
 IgE : Immunoglobuline E
 IGF2R : Insulin-like growth factor 2 receptor
 IgV : Domaine variable des immunoglobulines
 IHC : Immunohistochimie
 IL : Interleukine
 ILV : Vésicule intraluminale
 INCA : Institut National du Cancer
 IPO5 : Importine-5

IRM : Imagerie à Résonance Magnétique nucléaire
ITGB1 : Intégrine beta-1
ITIM : Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif
ITSM : Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif
IV : Intraveineuse
JAK2 : Tyrosine-protein kinase JAK2
JNK : c-Jun N-terminal Kinase
Kd : Constante de dissociation
KEL : Kell metallo-endorpeptidase
Ki67 : Marker of proliferation Ki-67 (gène : *MKI67*)
Kir4.1 : Inward rectifier potassium channel 4.1
KPS : Karnosky Performance Score
KRas : GTPase KRas
L1CAM : Neural cell adhesion molecule L1
LAG-3 : Lymphocyte-Activation Gene 3
LAMP1 / 2 : Lysosome-associated membrane glycoprotein 1 / 2
LB : Lymphocyte B
LCR : Liquide céphalo-rachidien
LFA-1 : Lymphocyte Function-associated antigen 1
Lingo-1 : Leucine-rich repeat and immunoglobulin-like domain-containing nogo receptor-interacting protein 1
LNA : Locked Nucleic Acid
lncRNA : long ARN non-codant
LOH : Loss Of Heterozygoty
LT : Lymphocyte T
LTC / H : LT Cytotoxique / Auxiliaire
MAPK : Mitogen-activated Protein Kinase
MBNL : Muscleblind Like splicing regulator 1
MDM2 : Proto-oncogene mdm2, p53 E3 ubiquitin protein ligase homolog
MDM4 : Mdm4 regulator of p53
Mek : MAPK Kinase
MERTK : Proto-oncogene Mer, Tyrosine Kinase
MESNA : Sodium 2-mercaptoethane sulfonate
MET : Proto-oncogene c-Met, receptor tyrosine kinase

MGMT : Méthyl-Guanine Méthyl Transférerase
miRNA / miR : micro ARN
MLH1 : DNA mismatch repair protein Mlh1
MMR : Mis-Match Repair
MMP : Matrix Metalloproteinase
mTOR : Mammalian Target Of Rapamycin
mTORC1 / 2 : mTOR Complex 1 / 2
MVB : Corps multivésiculé
MVP : Major vault protein
MYCN : N-myc proto-oncogen, bHLH transcription factor
MyD88 : Myeloid differentiation primary response protein MyD88
NADE : Neurotrophin-Associated cell Death receptor
ncRNA : ARN non-codant
Ndfip1 : Nedd4 family interacting protein 1
NEFL : Neurofilament Light
NF1 : Neurofibromine 1
NF-κB : Nuclear Factor-Kappa B
NGF : Nerve Growth Factor
NGFR : Low-affinity NGF Receptor (voir p75^{NTR})
NK : Natural Killer
NKX2-2 : NK2 homeobox 2
Nogo-R : Nogo receptor
NOS : Not Otherwise Specified
NP-40 : Tergitol-type NP-40
NRAGE : Neurotrophin receptor-interacting MAGE homolog
NRIF : Neurotrophin-Receptor Interacting Factor
NT-3 / 4 / 5 : Neurotrophine-3 / 4 / 5
NTSR3 : Neurotensin Receptor 3 ou Sort1
OLIG2 : Oligodendrocyte transcription factor 2
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OX40 : Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 4
p14^{ARF} : Alternate Reading Frame tumor suppressor p14
p15^{INK4β} : Cyclin-dependent kinase 4 inhibitor B
p16^{INK4a} : Inhibitor of CDK4 tumor suppressor p16

p21 : Cyclin-dependant kinase inhibitor 1
 p27^{kip1} : Cyclin-dependent kinase inhibitor p27
 p53 : Tumor Protein 53 (gène : *TP53*)
 p70S6K : Ribosomal protein S6 kinase
 p75^{NTR} : p75 Neurotrophin Receptor
 p75-CTF : p75-Carboxyterminal Fragment
 p75-ECD : p75-Extracellular Death domain
 p75-ICD : p75-Intracellular Domain
 PBS : Phosphate-buffered Saline
 PDCD4 : Programmed Cell Death protein 4
 PDCD6IP : Programmed cell death 6-interacting protein
 PD-1 : Programmed cell Death protein 1
 PD-L1 / 2 : Programmed Death-Ligand 1 / 2
 PDGF : Platelet Derived Growth Factor
 PDGFRA : Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha
 PDZ : Post-synaptic Disc-Large Zona
 PET : Positron Emission Tomography ou Tomographie par émission de positons
 PFA : Paraformaldéhyde
 pH : Potentiel Hydrogène
 PI3K : Phosphatidylinositol-3-kinase
 PI3KR1 : PI3K Regulatory subunit 1
 PI3P : Phosphatidylinositol-3-phosphate
 PIK3CA : Phosphatidylinositol-4,5-biphosphate 3-kinase Catalytic subunit Alpha
 PKA : Protéine Kinase A
 PLC γ : Phospholipase C γ
 PLP : Protéolipide
 PMEL : Melanocyte protein PMEL
 PMS1 : DNA mismatch repair protein PMS1
 PMSF : Phenylmethylsulfonyl Fluoride
 PPP1R13L : Protein Phosphatase 1 Regulatory subunit 13 Like, RelA-associated inhibitor
 Pro-NT : Pro-Neurotrophine
 PrP : Protéine Prion
 PSMD2 : 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2
 PSAP : Prosaposin precursor
 PTEN : Phosphatase and Tensin homolog
 PTPRC : Protein Tyrosine Phosphatase Receptor type C
 PVDF : Polyvinylidene Difluoride
 QKI : Quaking homolog domain containing RNA binding
 Raf : Rapidly accelerated fibrosarcoma kinase
 Ras : Rat Sarcoma protein
 Rb : Retinoblastoma protein (gène : *RB1*)
 RECK : Reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs
 REMBRANDT : Repository of Molecular Brain Neoplasia Data
 RhoA : Ras homolog family member A
 RIP2 : Receptor-interacting protein 2
 RIPA : Radioimmunoprecipitation assay
 RSRC1 : Arginine and Serine Rich Coiled-coil 1
 RT : Radiothérapie
 RTK : Récepteur Tyrosine Kinase
 SDS : Sodium Dodecyl Sulfate
 SDS-PAGE : SDS–Polyacrylamide Gel Electrophoresis
 Sh3 : SRC Homology 3 Domain
 SHP-1 / 2 : Protein-tyrosine phosphatase SHP-1 / 2
 SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise
 Skp2 : S-phase kinase-associated protein 2
 Smad3 : Mothers against decapentaplegic homolog 3
 SNARE : SNAP REceptor
 SNF8 : Vacuolar-protein sorting SNF8
 Sort1 : Sortiline ou NTSR3
 SOX2 : SRY-box transcription factor 2
 SNC : Système nerveux central
 SNP : Système nerveux périphérique
 SPTA1 : Spectrin Alpha, erythrocytic 1
 STAM-1 / 2 : Signal Transducing Adapter Molecule-1 / 2
 STAT3 : Signal transducer and activator of transcription 3
 STING : Stimulator of interferon genes protein
 SYT1 : Synaptotagmin 1
 TACC : Transforming Acidic Coiled-coil

Tat-Pep5 : p75^{NTR} inhibitor Pep5
TCF4 : Transcription Factor 4
TCGA : The Cancer Genome Atlas
TCR : T-Cell Receptor
TEM : Transition Epithélio-mésenchymateuse ou MET
TERT : Telomerase Reverse Transcriptase
TGF-β : Transforming growth factor beta
THPA : The Human Protein Atlas
TIGIT : T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains
TIM-3 : T-cell immunoglobulin mucin receptor 3
TKI : Inhibiteur de Tyrosine Kinase
TMZ : Témazolomide
TNF : Tumor Necrosis Factor
TNFRSF : TNF Receptor Superfamily
TP53 : voir p53
tPA : Tissue plasminogen activator
TRAF4 / 6 : TNF Receptor-Associated Factor 4 / 6

TrkA / B / C : Tropomyosin Receptor Kinase A / B / C (gènes : *NTRKA/B/C*)
TSC1 / 2 : Tuberous Sclerosis Complex subunit 1 / 2
Tsg101 : Tumor susceptibility gene 101 protein
U87-MG : Uppsala-87 Malignant Glioma
UBAP-1 : Ubiquitin Associated Protein-1
UIM : Ubiquitin Interaction Motifs
uPA : Urokinase-type plasminogen activator
VAMP7 : Vesicle-associated membrane protein 7
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR2 : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
Vps : Vacuolar Protein Sorting
YKL-40 : voir CHI3L1
ZO-1 : Tight junction protein ZO-1

Introduction

1.1. Le glioblastome

1.1.1. Le système nerveux central : composition et fonctions

Le système nerveux central (SNC), appareil de coordination entre les différents systèmes, permet la réalisation intégrée des fonctions physiologiques. Il est composé du cerveau (fonctions supérieures de l'intellect), du cervelet (maintien de la posture, coordination des mouvements, mémoire gestuelle), du tronc cérébral (contrôle de la respiration et du rythme cardiaque) et de la moelle épinière (transmission des signaux nerveux et actions réflexes). Les deux grands types cellulaires, neuronal et glial, vont assurer ces fonctions au sein du tissu nerveux.

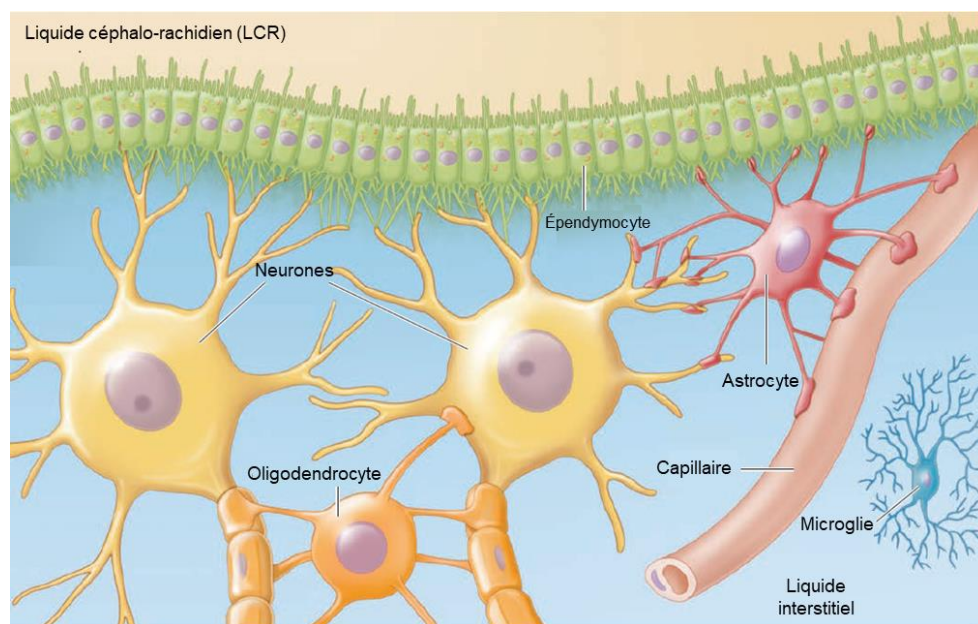


Figure 1 : Représentation schématique des population cellulaires du système nerveux central (SNC).

Les neurones vont survivre au sein du SNC par leurs interactions avec les cellules de la glie. Les astrocytes vont permettre l'interaction et les échanges entre les neurones et les capillaires cérébraux. Les oligodendrocytes vont permettre de former les gaines de myéline le long des axones. La microglie va remplir le rôle de système immunitaire dans le contexte particulier du SNC. (Adaptée de Human Physiology, Ninth Edition par Lauralee Sherwood, 2016)

Les neurones constituent l'unité fonctionnelle du système nerveux, permettant la transmission de signaux nerveux. Par ce processus, ils sont capables d'intégrer les signaux internes et externes de l'individu, de les assimiler et d'y répondre en émettant de nouveaux influx nerveux pour maintenir l'homéostasie. Si l'information est produite au sein du système nerveux central par les neurones, la conservation, la transmission de ces informations est permise par la névroglie.

La névroglie forme la majeure partie des cellules du SNC (environ 90 %) et la moitié de son volume. Elle est composée de 4 types cellulaires principaux dont la fonction est de supporter le bon fonctionnement des neurones et leur homéostasie.



Les astrocytes (du grec *astro*, étoile et *cyte*, forme) forment la population majoritaire et permettent l'organisation spatiale du système nerveux (Wallraff et al., 2006a). Près des capillaires sanguins, ils vont former et maintenir la barrière hémato-encéphalique (BHE), qui permet d'isoler et de protéger le SNC, en filtrant les nutriments (Hawkins and Davis, 2005). Ils sont capables de contrôler la concentration de neurotransmetteurs et de K⁺ dans le milieu (Anderson and Swanson, 2000; Wallraff et al., 2006b). Ils vont permettre le retour des conditions optimales à la survie des neurones dans des contextes traumatiques en favorisant la régénération neurale (He et al., 2020). Le rôle clé des astrocytes est permis par la présence de jonctions communicantes, au niveau des synapses, créant un système de communication neuro-gliale avec des synapses tripartites (Croft et al., 2015a). Les astrocytes exercent un contrôle étroit sur les synapses (formation, maturation et stabilité), contribuant à la plasticité synaptique et cérébrale (Chung et al., 2015).

Les oligodendrocytes forment les gaines de myéline isolantes entourant les axones, afin d'empêcher la déperdition de l'influx nerveux et surtout d'augmenter sa vitesse (Bercury and Macklin, 2015). La régénération de ces gaines à la suite de traumatismes nerveux est permise par la plasticité gliale, permettant une intégrité des échanges nerveux (Chamberlain et al., 2017).

Les cellules de la microglie constituent les cellules immunes du SNC. La microglie a une origine embryologique différente du reste des cellules gliales, provenant de cellules souches hématopoïétiques et sont proches des macrophages (Kettenmann et al., 2011). Leur fonctionnement va débuter lors de la maturation cérébrale en éliminant les débris cellulaires. De plus, elle change de morphologie et de physiologie en réaction à l'inflammation locale (Hanisch and Kettenmann, 2007). Ces changements sont liés à l'expression du CMH II et des cytokines pro-inflammatoires (Colton, 2009). Dans le cadre d'inflammations plus fortes, la microglie subit des transformations plus profondes, des polarisations plus spécifiques et sensibles aux conditions pathologiques et à la zone d'inflammation (Aguzzi et al., 2013; Goings et al., 2006; Kettenmann et al., 2011).

Les épendymocytes, présents au niveau des parois des cavités ventriculaires du SNC, jouent un rôle de barrière. Certaines cellules, formant les plexus choroïdes dans les 3^{èmes} et 4^{èmes} ventricules produisent le liquide céphalo-rachidien (LCR) en circuit fermé (Jiménez et al., 2014). De plus, ils représentent un pool de cellules souches limité, permettant le renouvellement des cellules gliales (Marichal et al., 2017).

Si les neurones sont dans l'incapacité de se diviser, les cellules gliales vont se renouveler et leurs transformations malignes peuvent conduire à la formation des gliomes.

1.1.2. Les gliomes et leur classification

Les gliomes sont les tumeurs cérébrales primitives les plus fréquentes, d'origine gliale. Au 17^{ème} rang des cancers, il est diagnostiqué environ 250 000 nouveaux cas de tumeurs cérébrales par an et 77 % d'entre elles sont des gliomes séparés en astrocytomes, oligodendrogliomes, oligoastrocytomes et glioblastomes, classés d'un grade de I à IV (Louis et al., 2007).

1.1.2.1. Historique des classifications des gliomes selon l'OMS

Le classement actuel de l'OMS, datant de 2016, constitue un standard international basé sur l'histopathologie et les altérations génétiques (Louis et al., 2016).

Les prémisses remontent à 1926, où est établie la première classification des gliomes. Elle se basait sur des critères histologiques (Bailey and Cushing, 1927) et sur l'idée que ces tumeurs provenaient de cellules embryonnaires dont le stade de développement conditionnait la tumeur (Bailey and Bucy, 1929). Une nouvelle classification fut établie 20 ans après ajoutant la notion d'anaplasie (Kernohan and Mabon, 1949). Il était alors proposé que les tumeurs provenaient de cellules adultes, ayant subi une dédifférenciation, avec un classement gradué pour signifier l'agressivité.

L'apport majeur de l'OMS arriva en 1979, par la formation de groupes homogènes de tumeurs au sein de la première classification afin d'améliorer le traitement (Zülch, 1979). Une deuxième version a été réalisée en 1993, ajoutant de l'immunohistochimie (Kleihues et al., 1993). La troisième version a vu le jour en 2000, actualisée en 2002, avec des critères morphologiques qualitatifs (morphologie des cellules), provoquant des biais de subjectivité sur l'identification mais intégrant les premiers éléments génétiques (Kleihues et al., 2002; Kleihues and Sobin, 2000).

Des compléments génétiques et de biologie moléculaire furent intégrés dans la 4^{ème} version de la classification de l'OMS en 2007 (Louis et al., 2007). Néanmoins, ces ajouts n'étaient qu'une aide à l'identification et non à la thérapeutique (Rousseau et al., 2008). De ce fait, cette classification restait profondément dépendante des observateurs et de l'identification de l'histologie tumorale (Giannini et al., 2001).

Un colloque en 2014 permit de combler en partie ces lacunes, en ajoutant une catégorie de tumeurs de type indéterminé appelée NOS ou « Not Otherwise Specified » (Louis et al., 2014). Le système proposé se base sur :

- la classification histologique, par une observation microscopique des échantillons de tumeurs après un marquage classique hématoxyline / éosine et d'éventuelles techniques complémentaires comme l'immunohistochimie ;
- le grade OMS, s'appuyant sur l'évolution tumorale et ses origines ;
- les informations moléculaires d'intérêt, regroupant l'ensemble des résultats des tests moléculaires effectués sur la tumeur, tels que les statuts mutationnels, les états de méthylation du promoteur de *MGMT* ;
- le diagnostic intégré synthétisant l'ensemble des informations précédentes permettra de poser un diagnostic le plus précis possible et d'adapter au mieux les traitements.

L'OMS qualifie les tumeurs à l'aide d'un grade histologique qui est défini comme suit :

- le grade I cible les tumeurs avec un potentiel prolifératif faible et dont la guérison complète est possible après résection ;

- le grade II s'attache à des tumeurs faiblement proliférantes mais dont les infiltrations environnantes peuvent provoquer une récurrence après le traitement, voire un basculement vers les grades suivants ;
- le grade III s'applique à des tumeurs présentant des signes manifestes d'agressivité, comme la présence de cellules polynucléées, une angiogenèse tumorale, pouvant basculer vers le grade IV ;
- le grade IV ne s'applique qu'aux tumeurs les plus agressives, fortement proliférantes, avec des zones nécrotiques intra- ou péri-tumorales, une forte angiogenèse acquise, à l'évolution rapide et le plus souvent délétère.

Mais l'utilisation des tests moléculaires diagnostiques est, ici, limitée à cause du manque de recul supposé de leur utilité. L'implication des tests moléculaires a été soumise à des validations préalables en raison d'un manque de recul sur ces résultats. Le recours à l'imagerie ou à d'autres mesures indirectes de la tumeur n'est jugé pertinent que pour affiner un diagnostic dans les cas indéterminés (Louis et al., 2014).

C'est donc, avec ces lignes directrices, que fut mise à jour la 4^{ème} version de la classification de l'OMS en 2016, encore appliquée de nos jours.

1.1.2.2. Classification actuelle des gliomes de l'OMS

La 4^{ème} version actualisée en 2016 est la référence de la classification des tumeurs du SNC.

C'est le développement d'outils de biologie moléculaire et de génétique qui a permis cette 4^{ème} version. Selon celle-ci, les tumeurs du SNC les plus fréquentes, les gliomes diffus, sont répartis en 3 formes majeures (Louis et al., 2016) :

- les astrocytomes, dérivés des astrocytes avec une expression caractéristique du gène *GFAP* (Glial Fibrillary Acidic Protein) ;
- les oligodendrogliomes dérivés des oligodendrocytes ;
- les oligoastrocytomes, avec des tumeurs hétérogènes aux cellules à morphologie astrocytaire et oligodendrocytaire.

Dérivent ensuite différents sous-types :

- les astrocytomes sont divisés, selon les 4 grades, en astrocytome pilocytique (grade I), astrocytome diffus (grade II), astrocytome anaplasiques (grade III) et glioblastome multiforme (grade IV) ;
- les deux autres sous-types majeurs de gliomes (oligodendrogliomes et oligoastrocytomes) sont classés en grade II et grade III (anaplasique) (Wesseling and Capper, 2018).

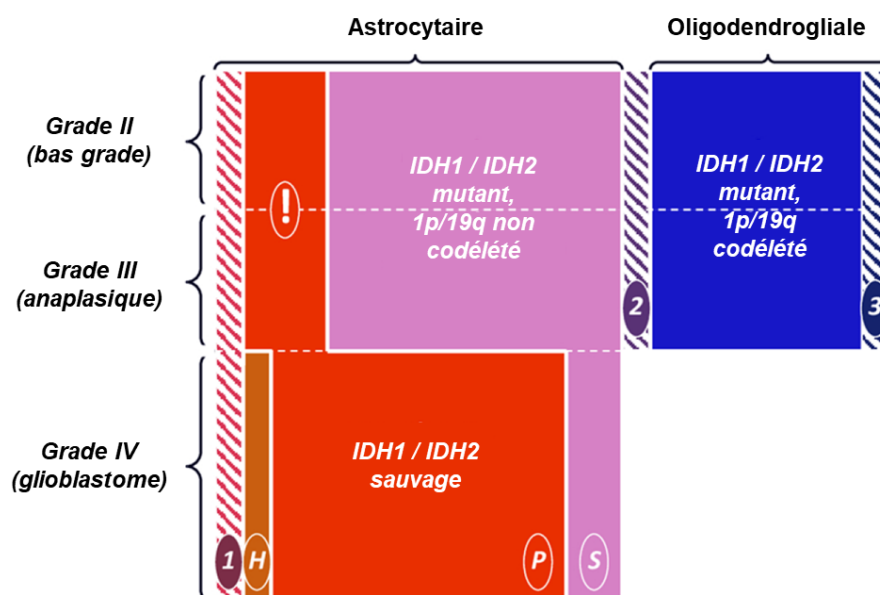


Figure 2 : Schéma de la classification OMS 2016 des gliomes diffus

La plupart des gliomes diffus tombent dans le cadre des 3 catégories : IDH-sauvage (en rouge), IDH-mutant et 1p/19q non codéléte (en rose) ou IDH-mutant et 1p/19q codéléte (en bleu). Le plus souvent, les gliomes IDH-sauvage et IDH-mutant et 1p/19q non codéléte sont de type astrocytaire et les gliomes IDH-mutant et 1p/19q codéléte sont de type oligodendrogliale. En fonction des caractéristiques histologiques (activité mitotique, angiogenèse tumorale, nécrose), les gliomes vont être classés entre les grades II à IV. La présence de la mutation K27M de l'histone H3, étant de mauvais pronostic, place les tumeurs concernées au sein du grade IV (noté H). Concernant le GBM, on distingue les lésions avec un état IDH-sauvage, le plus souvent des tumeurs primaires (noté P) et les lésions IDH-mutant et 1p/19q non codéléte, le plus souvent issu d'une récurrence et formant les tumeurs secondaires (noté S). En amont, des gliomes de grade III voire de grade II IDH-sauvage présentent les mêmes caractéristiques du GBM et évoluent vers le grade IV (noté !). Après des tests histologiques / génétiques non concluants, des entités peuvent être identifiées en tant que astrocytome, anaplasique ou non, « Not Otherwise Specified » ou NOS ou glioblastome NOS selon leur origine astrocytaire (noté 1). Dans le cas d'une origine oligodendrocytaire, il est possible d'obtenir des oligodendrogliome, anaplasique ou non, NOS (noté 3). Si l'histologie donne une population composite d'astrocytes et d'oligodendrocytes, les tumeurs sont classées en tant que oligoastrocytome, anaplasique ou non, NOS (noté 2). (Adaptée de Wesseling and Capper, 2018)

Ainsi la première approche consiste à observer la tumeur pour en tirer sa classification histologique au sein des différentes entités tumorales. Ensuite, est ajoutée une détermination génétique à partir de l'altération majeure des gliomes : la mutation *IDH1 / IDH2*. (Louis et al., 2016). Sont également recherchées des informations moléculaires / génétiques notamment les co-délétions 1p / 19q ainsi que d'autres, plus rares (Louis et al., 2016; Villa et al., 2018) :

- La délétion du gène *ATRX*,
- Les mutations de *H3F3A* et de *HIST1H3B*,
- La perte d'hétérozygotie (LOH ou *loss of heterozygosity*) 10q,
- La polysomie partielle du chr. 7,
- L'amplification du gène *EGFR*,

- Les mutations des gènes *BRAF*, *TERT* et *TP53*,
- La présence du gène de fusion *BRAF-KIAA1549*.

A l'issue des analyses histologiques et moléculaires, il est possible de définir la tumeur selon un algorithme de sélection (Louis et al., 2016).

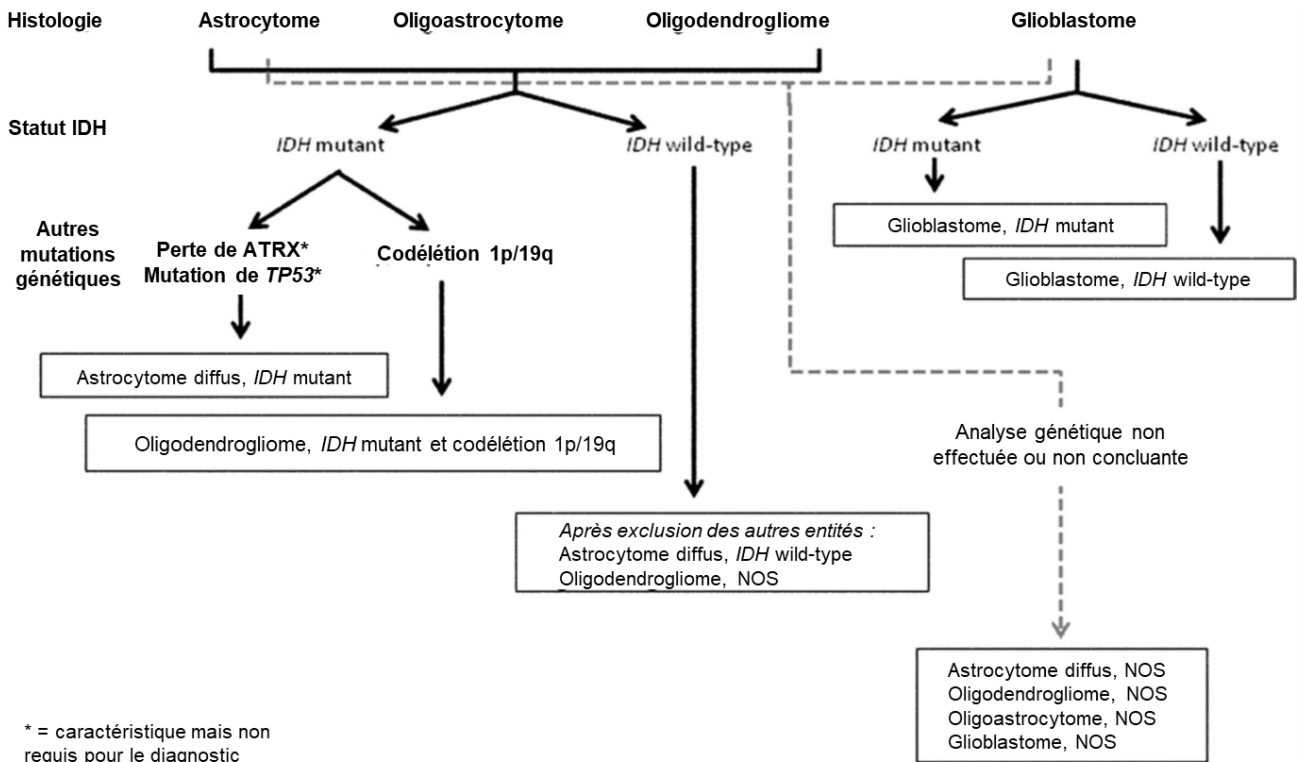


Figure 3 : Algorithme simplifié de la classification des gliomes diffus de la classification de l'OMS 2016

Cet algorithme représente les principales caractéristiques histologiques et génétiques de la classification OMS 2016 des gliomes. Il permet de définir les étapes essentielles à effectuer afin d'affiner le diagnostic chez le patient. IDH : Isocitrate Déshydrogénase ; NOS : Not Otherwise Specified. (Adaptée de Louis et al., 2016)

Dans cette nouvelle classification, l'entité « glioblastome multiforme » qui nous intéresse ici, est divisée selon le statut mutationnel des gènes *IDH* avec le glioblastome, IDH-wildtype et le glioblastome, IDH-mutant (Wesseling and Capper, 2018). La majorité des glioblastomes, IDH-wildtype correspondent à des profils majoritaires de glioblastomes dits « primaires » trouvés chez des patients plus âgés (plus de 55 ans) tandis que le profil des tumeurs IDH-mutants est principalement dans les cas de glioblastomes « secondaires » avec des patients de moins de 55 ans (Ohgaki and Kleihues, 2013).

1.1.2.3. Les facteurs de risques des gliomes

Dans un cadre élargi, différents facteurs ont été analysés en lien avec la survenue des gliomes et, plus spécifiquement, des glioblastomes, soit en termes de paramètres environnementaux soit de prédispositions génétiques.

Avec seulement 5 % des cas, seuls 7 maladies génétiques rares vont présenter des prédispositions génétiques (Ranger et al., 2014). Ces maladies génétiques sont :

- Le syndrome de Li-Fraumeni (Johansson et al., 2016; Vijapura et al., 2017) ;
- Le syndrome de Lynch ou cancer colorectal héréditaire sans polypose (Therkildsen et al., 2015; Vijapura et al., 2017) ;
- Le syndrome du naevus dysplasique (Baker et al., 2016) ;
- Le syndrome de Rubinstein-Taybi (Spena et al., 2015) ;
- Deux autres pathologies rares de défauts de développement squelettiques, le syndrome de Maffucci et la maladie d'Ollier (Ali, 2017; Prokopchuk et al., 2016).

Des risques accrus de développer des gliomes existent chez les patients atteints de phacomatoses, des syndromes dus à des anomalies de développement des tissus d'origine ectodermiques, dont le système nerveux. Ceux-ci sont :

- La neurofibromatose de type 1 ou NF1 (Friedman, 1998; Listernick et al., 1989; Ranger et al., 2014) ;
- La sclérose tubéreuse de Bourneville (Roth et al., 2013).

Néanmoins, l'ensemble de ces pathologies n'est que très minoritairement impliqué dans les gliomes, au vu de leur faible proportion (1 – 5 %) dans l'ensemble des cas documentés (Ellor et al., 2014; Ranger et al., 2014).

Au sein des facteurs endogènes, un panel de facteurs a été observé en lien avec la survenue de gliomes. Ainsi, quelques études se sont penchées sur le rôle pro tumoral des hormones ovariennes sur les gliomes et leur développement (Kabat et al., 2010). D'autres études se sont appliquées aux relations entre les réactions allergiques et la survenue des tumeurs gliales (Chen et al., 2011; Ma et al., 2015; Zhang and Zhu, 2017). L'effet est ici encore plus marqué avec les hauts grades (Zhang and Zhu, 2017; Zhao et al., 2014).

Hors de ces causes génétiques et physiologiques endogènes, une grande partie des études effectuées s'est penchée sur d'éventuels facteurs de risques environnementaux en lien avec l'apparition des tumeurs gliales.

Au premier rang de ceux-ci, les rayonnements ionisants ont été les premiers étudiés avec un impact, dès de faibles doses et dès le plus jeune âge (Neglia et al., 2006). Une corrélation inverse fut mise en lumière entre l'âge d'irradiation et le risque de développement de tumeurs gliales, avec un effet dose-dépendant (Braganza et al., 2012; Karlsson et al., 1998; Preston, 2002). Des études ont également démontré l'impact des faibles doses chez des enfants (Mathews et al., 2013; Pearce et al., 2012). Il a été également démontré que certains traitements radiothérapeutiques seraient susceptibles, en conjonction avec la pathologie elle-même, d'augmenter les risques de développer un GBM (Salvati et al., 2003). D'autres études ont observé le rôle des rayonnements non-ionisants, notamment les rayonnements électromagnétiques de téléphones portables, du par leur usage croissant et l'exposition croissante. *In fine*, les rayonnements électromagnétiques non-ionisants n'ont pas pu être liés de manière causale à l'apparition directe des tumeurs gliales et des GBM (Alifieris and Trafalis, 2015).

D'autres facettes environnementales ont été étudiées comme le régime alimentaire, avec l'effet négatif des nitrites et nitrates (Blowers et al., 1997; Huncharek et al., 2003; P. Wang et al., 2016). D'autres composés supposés carcinogènes ont été étudiés dans le prisme de leur relation avec la déclaration des gliomes mais aucun n'a pas pu être associé avec certitude, à l'instar de l'alcool ou du tabagisme (Benke et al., 2017; Galeone et al., 2013; Hou et al., 2016; H. Li et al., 2016; Qi et al., 2014).

Des différents facteurs étudiés, seul l'influence des rayonnements ionisants a pu être établi avec certitude comme facteur pro-tumoral.

1.1.2.4. Définition et épidémiologie du glioblastome

Le glioblastome multiforme est, selon la dernière définition de l'OMS, un astrocytome (voire un oligoastrocytome) de grade IV, soit la tumeur la plus agressive (Louis et al., 2016). Elles sont présentes dans 95 % des cas dans la région supratentoriale (Nakada et al., 2011). La transformation maligne des astrocytes est la principale raison de gliomagenèse (95 % des cas). Elle peut toucher des cellules progénitrices adultes au vu de leurs caractéristiques communes mais seulement dans de rares cas (Gilbertson and Rich, 2007).

Les tumeurs sont séparées entre les GBM primaires, *de novo* sans précurseur tumoral (90 % des cas) et les GBM secondaires, issus de tumeurs de grade inférieur transformées. Le profil des patients diffère selon le type de GBM : les patients atteints de GBM secondaires sont plus jeunes (40 ans en moyenne contre 55 ans pour les GBM primaires) et ont une meilleure survie (T. Wilson et al., 2014). Elles sont divisées en 4 sous-types selon les patterns d'expressions protéiques, le développement tumoral et la survie du patient : classiques, mésoenchymateux, neural et proneural (H. Wang et al., 2015). Les patients atteints d'une tumeur proneurale, plus jeunes, ont une meilleure survie. Les réponses aux traitements divergent également : seul le sous-type proneural ne répond pas avec la même intensité aux traitements (Verhaak et al., 2010a).

Le GBM possède une structure hétérogène visible à l'œil nu, avec des zones hémorragiques et nécrotiques (préférentiellement au centre de la tumeur) mais aucune structure-type ne peut être établie en raison de sa forte variabilité (Agnihotri et al., 2013). La tumeur, anaplasique, se distingue, macroscopiquement, comme une lésion irrégulière de taille inhabituelle au sein de la matière blanche. On distingue une population de petite taille indifférenciée au centre de la tumeur, entourée de populations de cellules plus grandes et différenciées (Frosch, 2012; Persano et al., 2013).

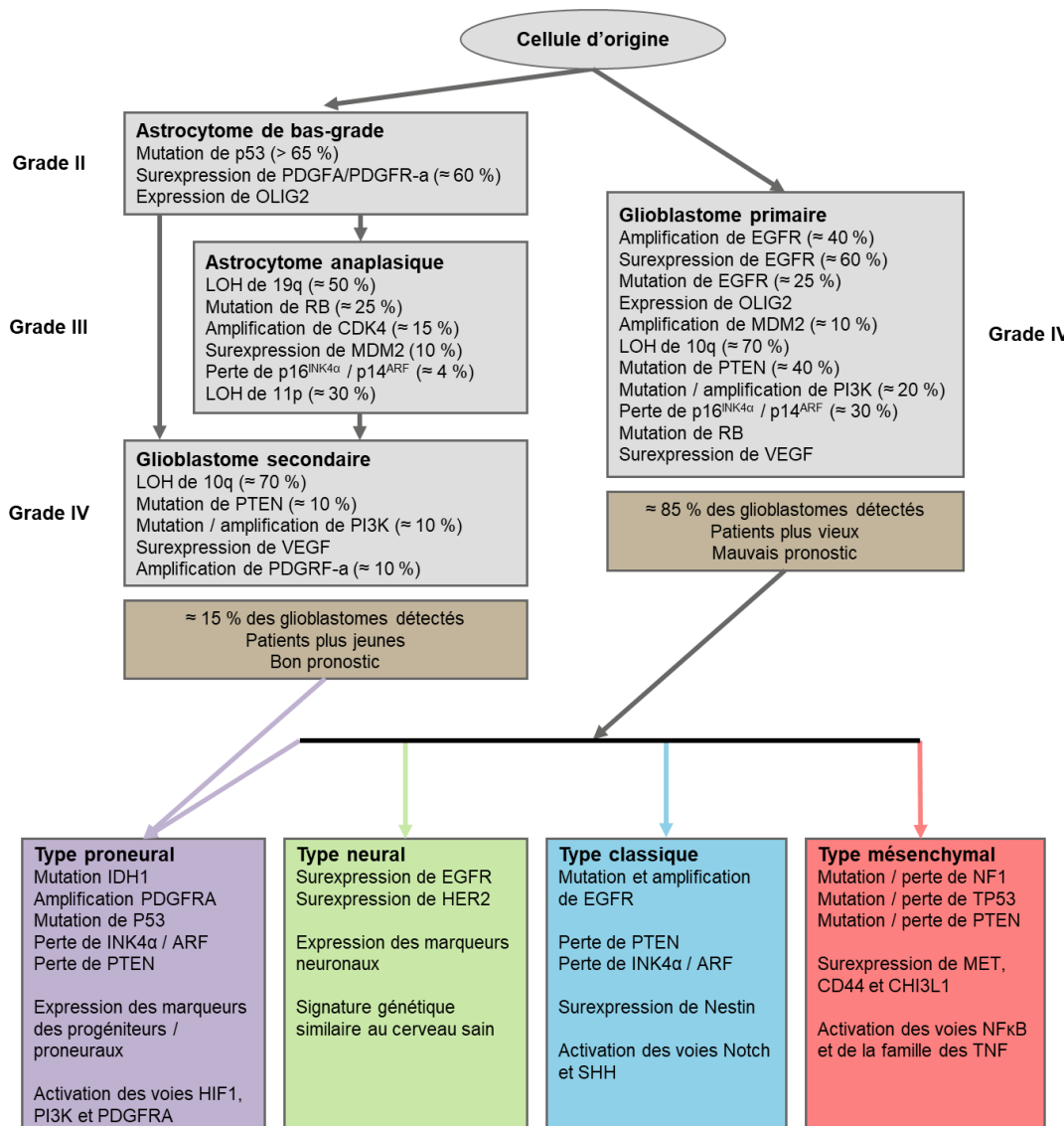


Figure 4 : Pathogenèse moléculaire et génétique du GBM

Les altérations génétiques et chromosomiques des GBM primaires et secondaires sont présentées. Les GBM primaires apparaissent de novo, tandis que les GBM secondaires proviennent d'astrocytomes de grade inférieur. Les GBM primaires et secondaires contiennent des aberrations similaires, bien que certaines aberrations soient plus fréquentes selon leur origine. Une analyse génomique intégrée permet de séparer les GBM primaires et secondaires en quatre sous-types distincts caractérisés par des altérations moléculaires spécifiques. OLIG2 : oligodendrocyte transcription factor 2, PTEN : phosphatase and tensin homolog, LOH : loss of heterozygosity, INK4A : inhibitor kinase 4A, ARF : alternate reading frame, MDM2 : mouse double minute 2, RB : retinoblastoma, PDGFR : platelet derived growth factor receptor, PI3K : phosphatidylinositol-3-kinase, VEGF : vascular endothelial growth factor, NF1 : neurofibromin 1, MET : met proto-oncogene, CHI3L1 : chitinase3-like 1, CD44 : cd44 antigen, MERTK : c-mer proto-oncogene tyrosine kinase, TNF : tumor necrosis factor, NFκB : nuclear factor kappa-B, IDH1 : isocitrate dehydrogenase 1, PIK3R1 : phosphatidylinositol 3-kinase, regulatory subunit 1. (Adaptée de Agnihotri et al., 2012)

Cette forme est l'entité la plus fréquente, avec plus de 45,6 % des tumeurs gliales et avec une incidence de 5 cas pour 100 000 personnes en France (Baldi et al., 2010; Ostrom et al., 2014). Les hommes sont plus touchés avec un ratio de 1,6 :1 contre les femmes et *idem* pour les personnes d'origine caucasienne (Ellor et al., 2014). Des cas de glioblastomes

peuvent apparaître à n'importe quel âge avec des incidences variables, allant de 0,15 cas sur 100 000 entre 0 et 14 ans, à 15,03 cas pour 100 000 entre 75 et 84 ans. Le pic de diagnostic se retrouve entre 55 et 60 ans avec l'âge médian de diagnostic de 64 ans (Ohgaki and Kleihues, 2005; Ostrom et al., 2014; Thakkar et al., 2014).

Les symptômes du GBM varient en fonction de la région cérébrale touchée et reflètent l'impact du développement tumoral sur cette région. Il existe des symptômes communs dûs à l'augmentation de la pression intracrânienne, avec des migraines et des pertes de fonctions neurologiques. Peuvent apparaître des épisodes convulsifs pour 25 % à 50 % des malades suivant le développement tumoral (Schiff et al., 2015). A l'apparition des symptômes, la détection de la tumeur se fait soit par tomographie assistée par ordinateur (CT) soit par imagerie à résonance magnétique nucléaire (IRM) (Alexander and Cloughesy, 2017). De plus, il est possible d'observer au niveau des structures environnantes un œdème vasogénique, une hémorragie cérébrale et une déformation des structures ventriculaires (Ellor et al., 2014). Si dans une grande majorité des cas les tumeurs sont restreintes à une seule région, chez 13 % des patients, la tumeur va être diffuse avec une infiltration des tissus sains ou de multiples tumeurs (Chamberlain, 2011). La localisation tumorale et sa taille jouent sur la survie du patient ; une tumeur de plus de 5-6 cm de diamètre est signe de mauvais pronostic, tout comme une présence tumorale au-dessus de la fissure longitudinale médiane (Ellor et al., 2014; Walid, 2008).

Malgré les thérapies actuelles, la survie reste très faible avec une survie médiane de 14 mois et 9,8 % de survie à 5 ans après traitement (Ostrom et al., 2014; Stupp et al., 2009). Cette survie est inégale en fonction de l'âge au moment du diagnostic, diminuant jusqu'à atteindre 2 % au-delà de 65 ans (Ostrom et al., 2014).

1.1.3. Les mutations et altérations génétiques des gliomes

L'analyse des altérations tumorales a permis de déterminer les différents sous-types et profils de ces tumeurs. Il permet également de dégager des facteurs pronostiques, diagnostiques et éventuellement de futures thérapeutiques.

1.1.3.1. Altérations génétiques récurrentes dans les gliomes

Nous savons que les mutations sur le gène *IDH* sont essentielles dans le cadre des analyses. On retrouve deux mutations majeures dans la région codante : une mutation sur le codon 132 (appelée *IDH1*) et sur le codon 172 (appelée *IDH2*) (Siegal, 2016). Elles ne se retrouvent que dans 12 % des cas de GBM chez les plus jeunes, permettant d'émettre des réserves quant à son utilisation diagnostique ainsi que dans le cadre thérapeutique (Siegal, 2016; Turkalp et al., 2014).

Se retrouvent également les co-délétions des bras chromosomiques 1p/19q, comme marqueur de bon pronostic, majoritairement présentes dans les tumeurs de grade II et III. Cette faible portée limite également son rôle dans le GBM (Rudà et al., 2015; Siegal, 2016).

Une autre altération importante se situe au niveau du gène *TP53*, gène suppresseur de tumeur, mutation la plus fréquente du GBM (The Cancer Genome Atlas Research

Network, 2008a). Malheureusement, elle n'a pas pu être connectée avec un effet pronostic (Park et al., 2017; Thakkar et al., 2014).

Au sein des gliomes, des mutations touchent également les télomérases, à savoir les gènes *ATRX* (Xq21.1) et *TERT* (5p15.33), entraînant une dysfonction télomérique, une instabilité génomique puis une apoptose (Siegal, 2016). Les mutations d'*ATRX*, rares dans les GBM primaires, se retrouvent majoritairement dans les astrocytomes de bas-grade (75-85 % des cas) des tumeurs IDH-mutés / TP53-muté (Pekmezci et al., 2017; Siegal, 2016). Les mutations de *TERT*, une des plus fréquentes des GBM primaires (dans 70 à 83 % des patients), ont un impact plus nuancé. Dans des tumeurs IDH-mutés, elles sont généralement de bon pronostic tandis qu'elles sont de mauvais pronostics dans les tumeurs IDH-sauvages ou avec un profil hypométhylé du gène *MGMT* (Park et al., 2017; Pekmezci et al., 2017).

D'autres études d'association pangénomique pourraient faire apparaître de nouvelles altérations à portées pronostiques et diagnostiques dans la mise en place des thérapeutiques des gliomes et du GBM.

1.1.3.2. Les différents patterns d'expression et altérations au sein du glioblastome

Au sein des altérations existantes, certaines sont uniques au GBM ou porteuses d'informations sur le pronostic et / ou le diagnostic. Elles permettent d'affiner la classification des tumeurs et d'adapter la thérapie du patient.

1.1.3.2.1. Les voies de survies

Lors de l'analyse des profils génétiques, trois voies de signalisation sont altérées préférentiellement : la voie RTK/Ras/PI3K, la voie p53 et la voie Rb, contrôlant la survie, la prolifération pour Ras et le cycle cellulaire, l'apoptose et la sénescence pour les voies p53 et Rb. La levée du contrôle permet une prolifération accrue, une survie cellulaire et une résistance à l'apoptose (Chen et al., 2012b; The Cancer Genome Atlas Research Network, 2008a; H. Wang et al., 2015).

10 gènes ont pu être identifiés comme étant fréquemment altérés dans les tumeurs de GBM : *TP53*, *EGFR*, *PTEN*, *IDH1*, *PIK3CA*, *PI3KR1*, *NF1*, *RB1*, *PDGFRA* (Cameron W. Brennan et al., 2013). Près de la moitié des tumeurs (46 %) présentent au moins une altération permettant une plus grande plasticité chromatinienne et donc une meilleure adaptation tumorale. Dans les altérations les plus fréquentes, se placent celles touchant *EGFR* (57 % des cas) (Cameron W. Brennan et al., 2013). L'altération majeure et la plus agressive est la forme tronquée EGFRvIII. Elle ne concerne qu'une minorité des tumeurs donc son ciblage thérapeutique ne peut être utilisable à grande échelle (Inda et al., 2010). Toutefois, elle place le gène *EGFR* comme une cible thérapeutique potentielle à l'image d'autres types de cancers comme le cancer bronchique.

D'autres Récepteurs à Tyrosine Kinase (RTK) sont ciblés en thérapeutique. On peut retrouver des mutations de *VEGFR2*, de *KIT*, de *FGFR1* induisant entre autres l'activation de voies de prolifération (par Akt par exemple) dans le GBM (Joensuu et al., 2005; Rand et al., 2005). Une autre étude, de séquençage profond, a permis de faire ressortir des mutations répandues. La voie Wnt, impliquée dans la prolifération, y est retrouvée activée, par des

mutations inactivatrices du gène *FAT1* (dans 20 % des tumeurs étudiées) mais également par de nouvelles protéines de fusions (comme *FGFR3/TACC*). Ces altérations pourraient être utilisées dans de futures thérapeutiques (Cloughesy et al., 2014).

Les mutations des 3 voies de signalisation majeures semblent être mutuellement exclusives. Des analyses WES (Whole Exome Sequencing) montrent des mutations des voies :

- p53,
- Rb,
- Ras/PI3K

touchant une grande majorité des tumeurs : 89.6 % des tumeurs ayant une mutation de la voie PI3K et 39 % avec deux mutations, 85,3 % des tumeurs avec une mutation de la voie p53 et 78,9 % avec au moins une mutation de la voie Rb (Cameron W. Brennan et al., 2013).

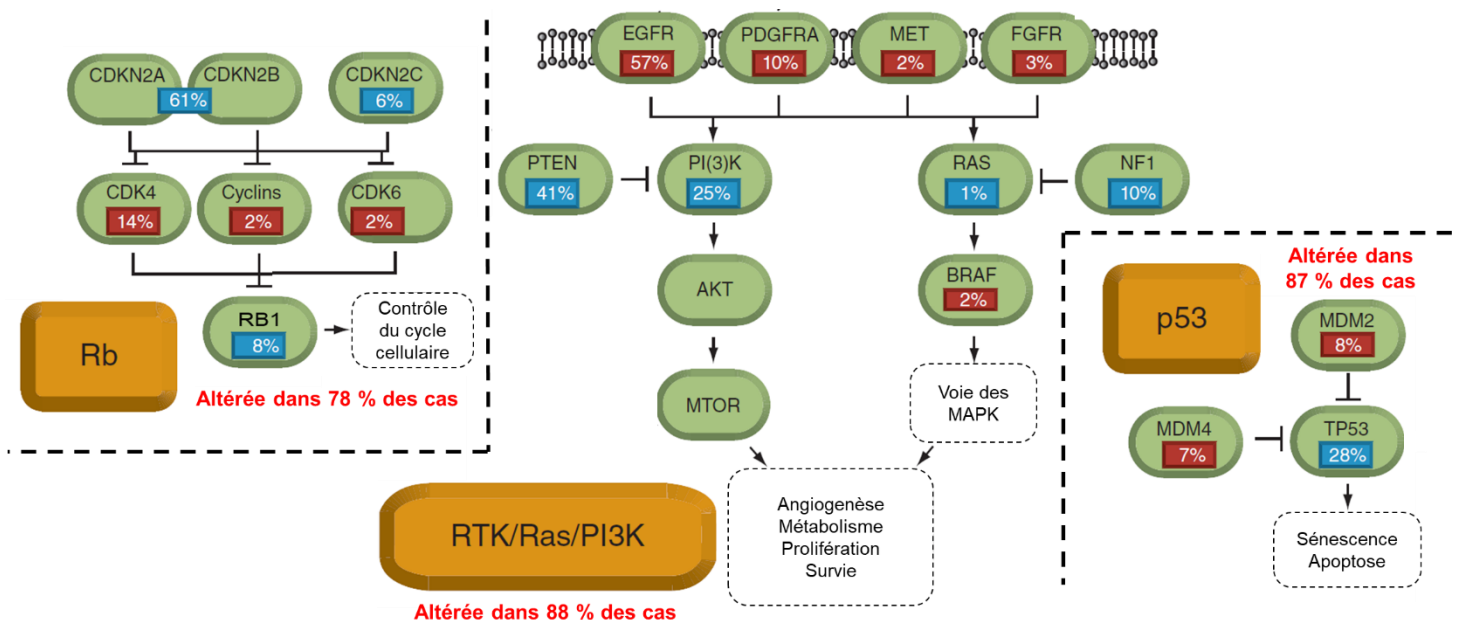


Figure 5 : Altérations des principales voies de signalisation mutées dans le glioblastome

Dans le schéma, sont représentées les principales mutations des 3 voies de signalisations majeures altérées dans le glioblastome. En rouge, est représentée la fréquence d'amplification ou de mutations activatrices ; en bleu, est représentée la fréquence de délétion ou de mutations inactivatrices. EGFR : Epidermal growth factor receptor ; PDGFRA : Platelet-derived growth factor receptor A ; MET : met proto-oncogene ; FGFR : Fibroblast Growth Factor Receptor ; PTEN : Phosphatase and Tensin homolog ; PI3K : Phosphoinositide 3-kinase ; NF1 : Neurofibromatose de type 1 ; BRAF : B-Raf serine/threonine-protein kinase ; mTOR : Mammalian Target of Rapamycin ; RTK : Récepteur Tyrosine Kinase ; MDM : Murine double minute ; CDKN2 : Cyclin dependent kinase 2 ; CDK : Cyclin-depedent kinase ; Rb : Retinoblastome. (Adaptée de Venkatesan et al., 2016)

La voie RTK/PI3K induit la prolifération, la migration, la différenciation et la survie cellulaire. Son fonctionnement repose sur les RTK activés (comme EGFR), stimulant simultanément les protéines G Ras et PI3K. Par Ras, elle active Erk, conduisant à la prolifération et à la différenciation. Par PI3K, la sous-unité catalytique p110 phosphoryle le PIP2 membranaire en PIP3, activateur d'Akt via PDK1/2 (X. Li et al., 2016). Des mutations

activatrices de ces effecteurs sont retrouvées avec des délétions inhibitrices de p85 et des mutations activatrices de p110, parmi les mutations les plus fréquentes (Knobbe and Reifemberger, 2003). Une double délétion de *PTEN* abolit le contrôle de la voie dans 40 % des GBM laissant la voie constitutivement active (Krakstad and Chekenya, 2010; Wen et al., 2012). Une autre inhibition de la voie RTK/PI3K peut se faire avec des mutations inactivatrices du récepteur inhibiteur NF1 (Lo, 2010). Akt agit sur d'autres voies : avec NF- κ B induisant la résistance tumorale, sur la prolifération avec GSK3 β et le contrôle de la cycline D1, inhibant les facteurs pro-apoptotiques, la voie p53 *via* MDM2 et stimule les facteurs anti-apoptotiques. Ces effets vont s'effectuer au travers de l'activation de mTOR, au sein du complexe mTORC1. Dans le GBM, la voie RTK/PI3K subit des altérations sur ces acteurs et ces éléments régulateurs, permettant des effets pro-survie et prolifératifs avec une résistance thérapeutique (le TMZ et la RT).

L'une des voies les plus ciblées est la voie p53. La protéine éponyme agit comme une protéine de contrôle du cycle, impliquée dans la survie, le contrôle de la prolifération et l'intégrité du génome. La fonction de contrôle se fait par une entrée en apoptose, une sénescence ou un arrêt du cycle cellulaire, en fonction des signaux et des dégâts subis par la cellule (Kastenhuber and Lowe, 2017). Elle est retrouvée dérégulée dans environ 85 % des tumeurs du TCGA (Cameron W. Brennan et al., 2013; Ishii et al., 1999). Au sein de cette voie, ce sont principalement les mutations inactivatrices de p53 qui vont suffire à produire un effet protumoral, en complément d'autres mutations extérieures à celle-ci (Ohgaki and Kleihues, 2009). Dans ce cadre, les mutations de *TP53*, représentant 35 % des cas du TCGA, sont liées à une augmentation de l'invasion, de la prolifération, de la résistance à l'apoptose et à un phénotype proche d'un caractère souche (Djuzenova et al., 2015; England et al., 2013; Park et al., 2006; The Cancer Genome Atlas Research Network, 2008a; Zheng et al., 2008). Il existe des mutations de p53, gains de fonction, capables d'induire une augmentation de la prolifération, de la migration, de l'invasion et de la résistance thérapeutique (Blandino et al., 2012; Dittmer et al., 1993; Muller et al., 2009). Néanmoins, les mutations les plus fréquentes de cette voie ciblent la protéine ARF (60 % des tumeurs), avec une accumulation de MDM2 dégradant p53 (Cerami et al., 2012; Gao et al., 2013). Cependant ces délétions n'impactent pas directement la progression et la prolifération (Kraus et al., 2000; Petitjean et al., 2007; Rich et al., 2005). En aval, les protéines inhibitrices MDM2 et MDM4 vont subir des mutations pro oncogéniques, peu présentes dans les tumeurs (14 % des cas pour MDM2 et 7 % pour MDM4) (Crespo et al., 2015; The Cancer Genome Atlas Research Network, 2008b). De plus, ces mutations n'ont pas de lien avec la survie du patient ou le développement de la tumeur (Kraus et al., 2000; Petitjean et al., 2007; Rich et al., 2005). Ces mutations de la voie p53 vont permettre d'abolir le contrôle apoptotique, entraînent une prolifération accrue et une absence de contrôle du cycle cellulaire.

La voie Rb permet de contrôler le checkpoint G1/S et la progression du cycle, une des plus touchées dans le GBM. Environ 80 % des tumeurs présentent, *a minima*, une altération de cette voie (Cameron W. Brennan et al., 2013; The Cancer Genome Atlas Research Network, 2008b; Verhaak et al., 2010b). Ces altérations provoquent la dérégulation des signaux prolifératifs de la cellule cancéreuse et son maintien dans le cycle cellulaire. La majorité des altérations sont des délétions ou mutations inactivatrices de *RB1* et des *CDKN2A/2B/2C* ou des amplifications de *CDK4/6* (The Cancer Genome Atlas Research Network, 2008b). Des mutations importantes sur le gène *CDKN2A*, codant pour p14^{ARF} et p16^{INK4a} vont donner des protéines inactives qui lèvent le contrôle des voies p53 et Rb (Tanaka et al., 2013). Toutes ces mutations vont lever le contrôle du cycle et permettre la prolifération accrue des cellules cancéreuses.

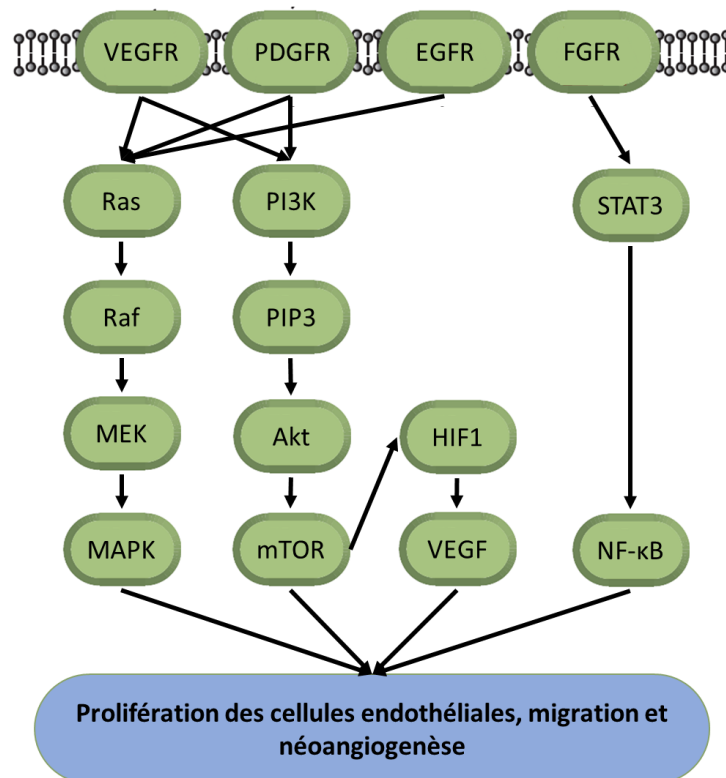


Figure 6 : Protéines membranaires et récepteurs impliqués dans l'angiogenèse du GBM

Les récepteurs VEGFR, PDGFR, EGFR et FGFR sont impliqués dans l'initiation des cascades de signalisation impliqués dans l'angiogenèse tumorale du GBM. Les cascades impliquées vont être les voies Ras et PI3K, impliquées également dans la prolifération, la migration et la survie du GBM. VEGFR : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor ; PDGFR : Platelet-derived growth factor receptor ; EGFR : Epidermal growth factor receptor ; FGFR : Fibroblast Growth Factor Receptor ; MEK : MAPK Kinase ; MAPK : Mitogen-activated Protein Kinase ; PI3K : Phosphoinositide 3-kinase ; PIP3 : Phosphatidylinositol-3-phosphate ; mTOR : Mammalian Target of Rapamycin ; HIF1 : Hypoxia-inducible factor 1 ; VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor ; STAT3 : Signal transducer and activator of transcription 3 ; NF-κB : Nuclear Factor-Kappa B. (Adaptée de Ahir et al., 2020)

L'angiogenèse tumorale, permettant d'améliorer la perfusion tumorale, joue également un rôle essentiel dans la croissance tumorale. Le rôle du RTK VEGFR se fait *via* la voie Ras, stimulant la prolifération tumorale et la néoangiogenèse. Ces processus permettent la communication étroite entre cellules tumorales et cellules endothéliales (Reardon et al., 2011).

1.1.3.2.2. Les différences entre les sous-types

Les 4 sous-types distingués préalablement peuvent être définis avec leurs patterns d'expression et vont permettre d'affiner le diagnostic et les traitements proposés. Il semble que ces patterns soient le signe d'origines oncogéniques différentes (Verhaak et al., 2010a).

Le sous-type classique est défini avec l'ensemble des altérations les plus communes. Au premier plan, se retrouve l'amplification du gène *EGFR* (dans 97 % des cas), la combinaison amplification du chr. 7 et délétion du chr. 10 (93 %) et la délétion homozygote des loci *CDKN2A* (95 %) et ce, sans mutations des gènes *TP53*, *IDH1*, *PDGFRA* et *NF1* (Cameron W. Brennan et al., 2013; Verhaak et al., 2010a). Ce sous-type peut être également associé avec une délétion des loci *CDKN2A*, l'amplification de *EGFR*, excluant les mutations de la voie Rb (Verhaak et al., 2010a). La surexpression de l'*EGFR* va également activer la voie Notch, impliqué dans la neurogenèse (Brennan et al., 2009). La voie MAPK se retrouve faiblement suractivée, avec une diminution de l'expression des facteurs pro-apoptotiques (Bid, Bak, les caspases 7 et 9) (Cameron W. Brennan et al., 2013). D'autres études ont démontré la perte homozygote des gènes *PTEN* et *CDKN2A* (Cloughesy et al., 2014). Dans ce sous-type, on retrouve surtout l'expression de marqueurs associés aux cellules astrocytaires mais ce sont les effets combinés des altérations des voies Ras et p53 qui permettent une forte polarisation cellulaire vers la survie et la prolifération.

Le sous-type mésenchymateux présente généralement une diminution de l'expression du gène *NF1* (locus 17q11.2) voire une délétion homozygote (Verhaak et al., 2010a). Cette perte d'expression peut être couplée avec celle de *TP53* et de *CDKN2A* (Cloughesy et al., 2014). Ces cellules tumorales vont exprimer divers facteurs mésenchymateux (*CHI3L1*, *MET*), astrocytaires (*CD44*, *MERTK*) et endothéliaux (*CD31*, *VEGFR2*), signes de la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) subie (Phillips et al., 2006; Thiery, 2002). Les voies de la superfamille des TNF et du NF-κB dans ce sous-type sont surexprimées avec notamment l'expression de la fibronectine, d'où la présence d'une forte nécrose tumorale et d'une inflammation (Cameron W. Brennan et al., 2013; Verhaak et al., 2010a). Les cellules vont se retrouver avec des patterns d'expression de tumeurs microgliales, avec des marqueurs tels que *CD68*, *PTPRC* et *TNF* (Verhaak et al., 2010a). De plus, la voie de Ras se retrouve spécifiquement activée, avec la phosphorylation de mTOR donnant une promotion de prolifération cellulaire (Cameron W. Brennan et al., 2013).

Le sous-type proneural présente comme altérations majeures les amplifications de *PDGFRA* et les mutations *IDH*. De plus, on retrouve dans la majorité des cas des altérations de *TP53* et dans un moindre cas l'amplification partielle du chr. 7 et la perte du chr. 10 (Verhaak et al., 2010a). Avec une forte proportion de GBM secondaires, ce sous-type conserve des caractéristiques des tumeurs de bas-grade (grade III majoritairement) (Phillips et al., 2006). La proximité entre ces cellules tumorales, les cellules oligodendrogiales et les cellules souches neurales a permis également de poser l'hypothèse d'une origine commune entre les deux types tumoraux *via* ces cellules souches (Jackson et al., 2006). Cette proximité se retrouve avec l'expression de gènes spécifiques des oligodendrogliomes (*PDGFRA*, *NKX2-2*, *OLIG2*) (Ligon et al., 2007a; Noble et al., 2004). On retrouve également l'expression de gènes de développement neuraux (*SOX*, *DCX*, *DLL3*, *ASCL1*, *TCF4*)

(Phillips et al., 2006; Whitfield et al., 2002). Au niveau des voies de signalisation, les cellules tumorales ont une forte activation de la voie PI3K et donc de mTOR, signe d'une prolifération cellulaire accrue (Cameron W. Brennan et al., 2013). En somme, le sous-type proneural se caractérise par une signature oligodendrocytaire.

Les tumeurs de sous-type neural se rapprochent le plus des tissus nerveux avec des patterns d'expression proches des tissus sains, signes de leur origine. L'expression des marqueurs neuronaux se retrouve dans ce sous-type, tel que *NEFL*, *GABRA1* et *SYT1*, associés dans le portail Gene Ontology à des fonctions neuronales (Verhaak et al., 2010a). Pour finir, ce sous-type va posséder un pattern d'expression à la fois astrocytaire, oligodendrocytaire et neuronal.

Les altérations génétiques majeures varient entre les GBM primaires et secondaires. Dans les cas de GBM *de novo*, les cellules tumorales ont une plus forte tendance à surexprimer l'EGFR, posséder des mutations de *PTEN* et une perte du bras 10q, tandis que les tumeurs secondaires présentent le plus souvent des mutations de *TP53*, d'*IDH1* avec la perte du bras 19q (T. Wilson et al., 2014; Young et al., 2015).

1.1.3.3. Impact de l'épigénétique sur les gliomes

La classification a évolué grâce à l'association de paramètres génétiques permettant de mieux caractériser les tumeurs. De nouvelles études ont ajouté un niveau d'analyse supplémentaire avec la méthylation notamment de G-CIMP (Phénotype de méthylation des îlots CpG des gliomes), les modifications chromatiniennes et surtout du promoteur du gène *MGMT*.

Un des marqueurs génétiques principaux est le gène *MGMT* (O-6-méthylguanine-ADN méthyltransférase). L'enzyme codée par ce gène permet de réparer les méthylations de la guanine sur l'ADN. En temps normal, la *MGMT* permet de déméthyle les bases guanines de l'ADN, une modification épigénétique spontanée pouvant entraîner des erreurs de réplication et donc la mort cellulaire. Dans le cadre thérapeutique, il est fréquent d'utiliser des agents alkylants, capable de stimuler notamment cette méthylation dans le but de provoquer une apoptose des cellules tumorales. Ces agents se retrouvent utilisés dans le GBM, avec le témozolomide ou TMZ. Ainsi, l'expression de la *MGMT* va conditionner la réponse à ces traitements au sein des tumeurs formées. En luttant contre les effets des agents alkylants, elle favorise la survie des cellules tumorales. La méthylation de ce promoteur est ainsi considérée comme un signe de bon pronostic puisqu'elle provoque l'accumulation de méthylations conduisant à la mort des cellules cancéreuses (Binabaj et al., 2018). Au sein des tumeurs gliales, la fréquence de la méthylation va varier, allant de 35-45 % des tumeurs de GBM jusqu'à plus de 80 % des tumeurs de bas grade (Cankovic et al., 2013; Hegi et al., 2005; Siegal, 2016). Ainsi, l'état de méthylation de *MGMT* constitue l'altération épigénétique majeure observée dans le cadre thérapeutique du GBM.

1.1.4. Les processus physiopathologiques du glioblastome

A partir de la formation des premières cellules cancéreuses, leur multiplication et la formation de la tumeur, différents processus, altérés ou détournés de leur rôle premier, vont

permettre à celle-ci de se développer au sein du microenvironnement et de s'infiltrer dans le tissu sain environnant.

1.1.4.1. L'angiogenèse tumorale

Le GBM est une tumeur dont l'importante vascularisation est un facteur majeur lié à l'agressivité tumorale. L'angiogenèse tumorale permet sa croissance et sa propagation. L'hypoxie stimule les cellules souches cancéreuses (CSCs), donnant des cellules progénitrices endothéliales et des cellules endothéliales matures. Le processus d'angiogenèse pathologique forme de nouveaux vaisseaux (Carmeliet and Jain, 2011). Ces vaisseaux immatures, plus larges forment des structures irrégulières, ramifiées et entrecroisées, avec une perméabilisation accrue favorisant le passage des nutriments (De Bock et al., 2011). L'irrégularité de ces vaisseaux est à l'origine d'une accumulation du plasma conduisant à une augmentation de la pression interstitielle et donc à une perturbation de la distribution sanguine et de l'oxygénation tumorale (Folkins et al., 2009; Stylianopoulos and Jain, 2013; Trédan et al., 2007). Cela conduit à une stimulation de l'angiogenèse (via la sécrétion de HIF-1) et aux échappements thérapeutiques (Baish et al., 2011; Semenza, 2001; Stylianopoulos and Jain, 2013). Cet enchaînement de réactions contribue à remanier le microenvironnement tumoral, à favoriser la prolifération du GBM, son invasion dans les tissus sains environnants et sa résistance thérapeutique.

Ainsi, la tumeur détourne des facteurs de vascularisation mais utilise également des facteurs non-canoniques conduisant indirectement à la prolifération de précurseurs endothéliaux (VEGF, bFGF, HGF, PDGF, TGF- β , MMPs et Angs). La surexpression de ces facteurs provient de plusieurs mécanismes comme les mutations activatrices d'oncogènes, l'hypoxie tumorale ou la perte de gènes suppresseurs de tumeurs (Siemann et al., 2017). La synergie entre les différentes altérations subies par les cellules tumorales va permettre d'induire l'ensemble des voies pro-tumorales, conduisant à la survie et à la propagation de la tumeur.

1.1.4.2. L'invasion tumorale

Bien que le GBM n'envahisse que rarement l'extérieur du SNC, il peut infiltrer le parenchyme cérébral entourant la tumeur (Claes et al., 2007; Li et al., 2019). Les cellules tumorales vont coloniser le tissu environnant par le remodelage de la matrice extracellulaire et de leurs propres cytosquelettes (Cuddapah et al., 2014). Ces mécanismes permettent la prolifération et la formation des tumeurs secondaires dans le SNC. Cette prolifération, hors de la tumeur primaire, permet aux cellules tumorales de recoloniser la niche tumorale et provoque la réapparition des tumeurs après résection et traitement. Cette hypothèse est supportée par la présence de mutations précoces communes aux tumeurs primaires et secondaires (Kim et al., 2015). La dissémination de cellules progénitrices dans le SNC permet à la tumeur primaire de former de nouvelles niches tumorales avec apparition des tumeurs secondaires (Hou et al., 2006). Elle est également le signe d'un échappement précoce des cellules tumorales et explique les phénomènes de récurrences (Friedl and Wolf, 2003).

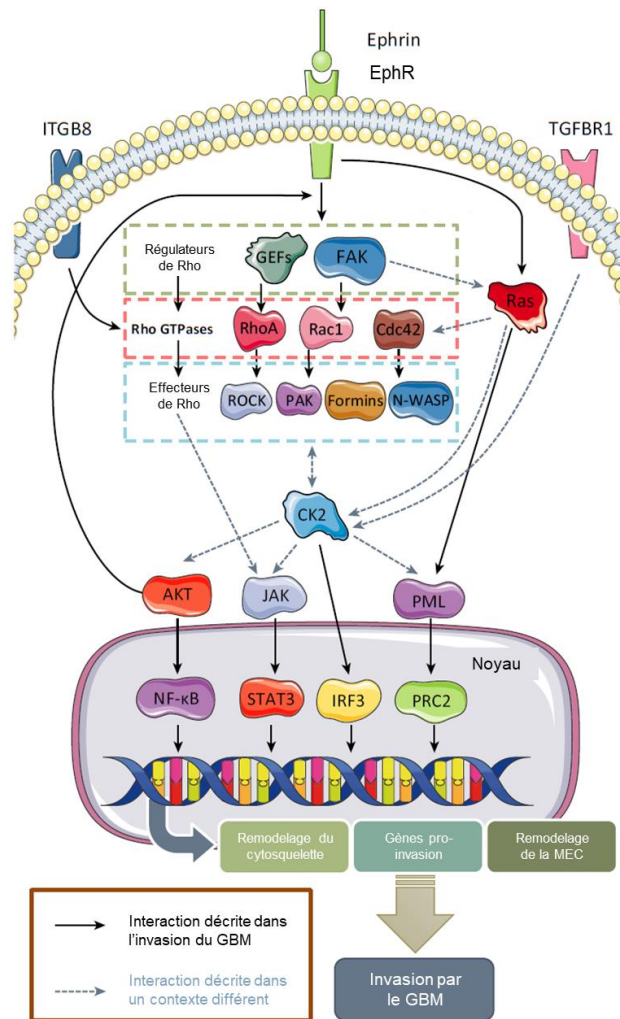


Figure 7 : Schéma des principales voies de signalisation impliquées dans l'invasion du GBM

Les flèches pleines indiquent des interactions connues dans le cadre du GBM et les flèches pointillées indiquent les interactions rapportées dans d'autres contextes tumoraux. L'EphR (Ephrin Receptor), l'ITGB8 (Intégrine- β 8) et le TGFBR1 (TGF- β receptor 1) sont présents à la membrane plasmique et vont activer en aval les régulateurs des Rho, les Rho GTPases, les effecteurs de Rho et la caséine kinase 2 (CK2). L'activation de ces protéines va induire l'expression des gènes pro-invasion. Le CK2 apparaît être la protéine pivot dans le processus d'invasion du GBM, représentant le croisement des voies de signalisation en amont. FAK : focal adhesion kinase ; GEFs : guanine nucleotide exchange factors ; IRF3 : interferon regulatory factor 3 ; JAK : Janus kinase ; NF- κ B : nuclear factor- κ B ; N-WASP : neural Wiskott-Aldrich syndrome protein ; PAK : p21-activated kinase ; PML : promyelocytic leukemia protein ; PRC : polycomb repressive complex 2 ; ROCK : Rho-associated protein kinase ; RTK : receptor tyrosine kinase ; STAT : signal transducer and activator of transcription 3. (Adaptée de de Gooijer et al., 2018)

1.1.4.3. L'échappement immunitaire de la tumeur

Dans le GBM, la tumeur peut induire dans son environnement, un contexte inhibiteur du système immunitaire, permettant un échappement immunitaire et une prolifération tumorale accrue. Ces mécanismes se retrouvent exacerbés par la singularité du système immunitaire au sein du SNC.

La BHE isolant le SNC permet, par un double système de barrières, de contrôler le passage des éléments solubles. Les cellules endothéliales de sa composante « hémato » forment à l'aide de jonctions serrées une barrière étanche. Celle-ci est perméable aux ions et aux gaz, mais oblige à un passage paracellulaire et donc à une sélection des nutriments, empêchant l'entrée des toxines et favorisant la sortie des déchets métaboliques. Elle peut également faire barrière aux agents thérapeutiques administrés (Abbott et al., 2010; McArthur et al., 2016). Sa composante « encéphalique » est constituée de macrophages, de péricytes qui régulent ses fonctions et d'astrocytes, en périphérie, qui terminent la filtration et contrôlent les échanges (Abbott et al., 2010; McArthur et al., 2016). Dans le cadre tumoral, la BHE devient plus perméable en raison de l'angiogenèse tumorale, de l'hypoxie et de la suppression des jonctions serrées. Néanmoins, cette perméabilité n'est pas uniforme au sein de la tumeur et va être à l'origine des difficultés thérapeutiques, de la délivrance inégale des agents et en partie de la faible réponse tumorale aux traitements actuels (Anderson et al., 2008; Dhermain et al., 2010; Henderson and Piquette-Miller, 2015).

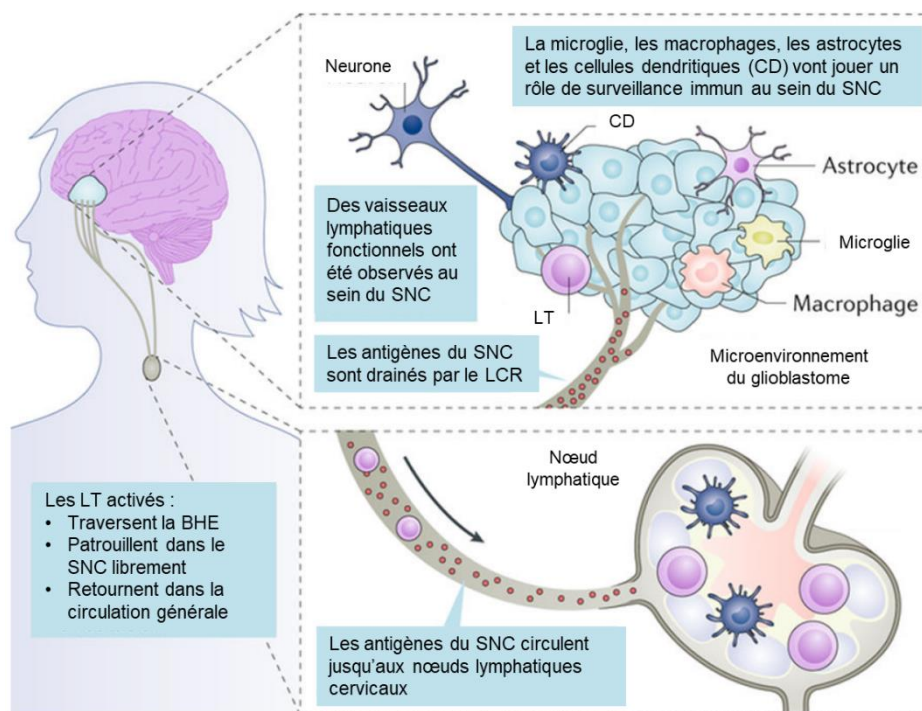


Figure 8 : Schéma de l'environnement immunitaire privilégié du SNC

Le système nerveux central (SNC) est considéré comme étant isolé du reste du système immunitaire. La présence de jonctions serrées au sein de la barrière hémato-encéphalique (BHE) et l'absence d'un système classique de drainage lymphatique contribue à cet isolement. Néanmoins, cette définition est remise partiellement en question. En effet, les vaisseaux lymphatiques présents dans le SNC sont fonctionnels et les cellules présentatrices d'antigènes, telles que la microglie, les macrophages, les astrocytes et les cellules dendritiques vont permettre l'activation du système immunitaire. De plus, le SNC n'est pas isolé des lymphocytes T (LT) activés, qui peuvent parcourir l'ensemble du système et les antigènes tumoraux sont capables d'agir localement ou au sein des ganglions lymphatiques cervicaux. (Adaptée de Sampson et al., 2020)

Cet isolement du SNC donne un environnement immunoprivilégié (Dantzer, 2018; Heimberger and Sampson, 2011). Ainsi, l'expression des molécules du CMH est plus faible dans cette région, limitant la reconnaissance antigénique (Vega et al., 2008). La majorité de la réponse immunitaire se fait par les lymphocytes T (LT) arrivant sur site par diapédèse dans le cas d'inflammation (Engelhardt and Ransohoff, 2012; Wilson et al., 2010). Les LT sont influencés par les cytokines tumorales et activées sur le site d'inflammation. Au sein du GBM, les cellules endothéliales vont intervenir en produisant et en exprimant FasL, provoquant l'anergie et l'apoptose des LT au contact (Ichinose et al., 2001). Les cellules tumorales vont également agir sur les lymphocytes pour provoquer l'immunosuppression tumorale *via* la stimulation de différents checkpoints immuns, au travers de PD-1, LAG-3, TIGIT et CD39 sur les LT CD8⁺ (Woroniecka et al., 2018).

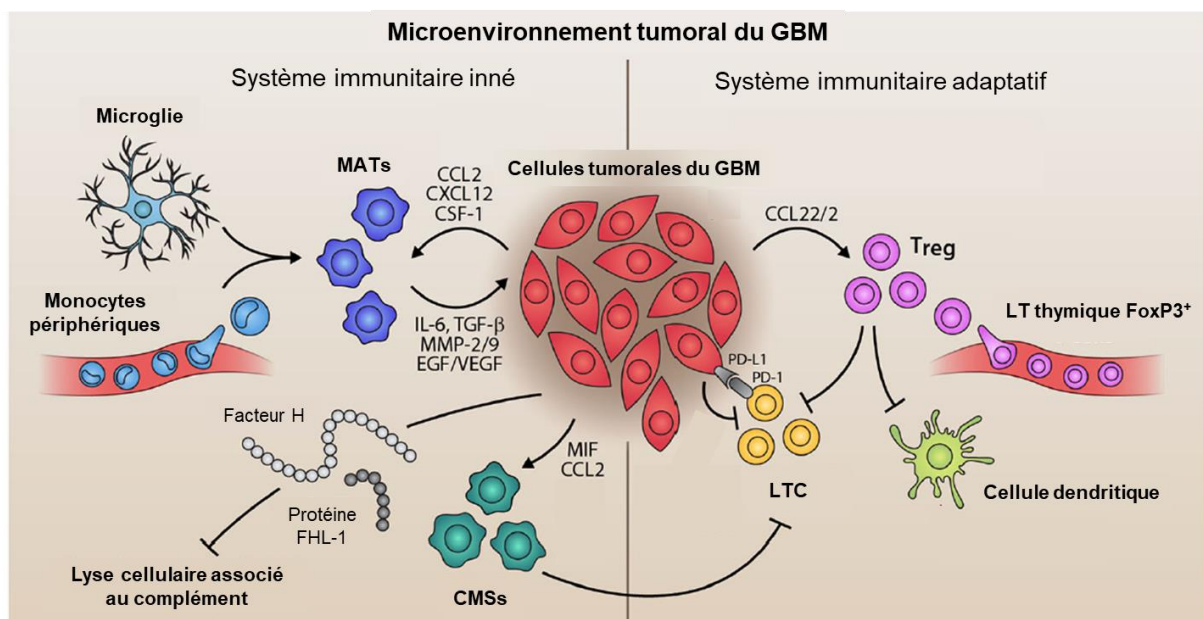


Figure 9 : Schéma de l'influence des cellules immunitaires sur les cellules tumorales du GBM

Du côté du système immunitaire inné, les macrophages associés à la tumeur (MATs), regroupant la microglie et les monocytes, sont attirés par les cellules tumorales qui relâchent des cytokines pro-inflammatoires, des protéines de remodelage de la matrice extracellulaire et des facteurs de croissance pro-tumoraux. Les cellules myéloïdes suppressives (CMSs) sont également attirées par la tumeur pour éteindre la réponse immunitaire anti-tumorale. L'expression des facteurs H et FHL-1 (FH-like protein 1) du complément permet d'étendre les effets de l'immunosuppression et empêche la lyse cellulaire associée au complément. Le système immunitaire adaptatif, pour sa part, est largement éteint par le recrutement des lymphocytes T régulateurs (T_{reg}). Ceux-ci vont permettre de stimuler l'anergie des lymphocytes T cytotoxiques (LTC) et des cellules dendritiques. Les cellules tumorales vont directement agir sur la suppression de la réponse immune adaptative notamment *via* PD-L1 et CTLA-4. CCL22/2 : C-C-L motif chemokine 22/2 ; CXCL12 : C-X-C chemokine ligand type 12 ; CSF-1 : Colony Stimulating Factor 1 ; IL-6 : Interleukin-6 ; TGF- β : Transforming Growth Factor- β ; MMP-2/9 : Matrix Metalloproteinase-2/9 ; EGF : Endothelial Growth Factor ; VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor ; MIF : Macrophage migration inhibitory factor ; PD-1 : Programmed cell Death protein 1 ; PD-L1 : Programmed Death-Ligand 1. (Adapté de DeCordova et al., 2020)

Les cellules tumorales sont au cœur des processus d'échappement immunitaire *via* le recrutement de cellules à effet immunosuppresseur et la stimulation de l'anergie et / ou la mort des LT. La protéine ICAM-1, surexprimée dans le cadre du GBM (Gingras et al., 1995) interagit avec le récepteur LFA-1 des cellules myéloïdes, les transformant en cellules myéloïdes suppressives ou MDSC (Piao et al., 2017). Ces cellules vont interagir avec les LT antitumorales notamment par le TGF- β et l'arginase pour entraîner leur mort, favorisant la mise en place d'un environnement pro-tumoral (Kamran et al., 2017; Raychaudhuri et al., 2011). L'ensemble de ces facteurs immunosuppresseurs sécrétés par la tumeur, comme l'IL-6, l'IL-10, le CCL-22, le TGF- β , vont permettre la mise en place de cet environnement (Couper et al., 2008; Crane et al., 2012; Kudo et al., 2009; Luwor et al., 2013; Platten et al., 2001; Tchirkov et al., 2001; Wagner et al., 1999). Ce cocktail de facteurs cytokiniques produits permet d'éteindre l'inflammation et la reconnaissance tumorale par les lymphocytes anti-tumorales. Le système mis en place est issu d'un détournement des mécanismes existants, notamment par les protéines du CMH I et les protéines HLA-G et HLA-E provoquant l'anergie et la mort des LT et NK (Natural Killer) (Carosella et al., 2015; Wischhusen et al., 2005). Les cellules tumorales détournent les protéines FasL et PD-L1 et agissent sur l'inflammation tumorale, ciblant et entraînant l'apoptose des LT (A. S. Berghoff et al., 2015; Chahlavi et al., 2005; Didenko et al., 2002).

Ces mécanismes s'adaptent aux traitements (chimio-radiothérapie) pour permettre le maintien de ce milieu (Alterman and Stanley, 1994; Authier et al., 2015; Pyonteck et al., 2013). En conclusion, la tumeur crée un environnement immunotolérant adaptatif à l'aide du microenvironnement pour permettre sa progression. PD-L1, dont les fonctions seront détaillées ci-après, joue un rôle prédominant puisqu'il est associé à une mauvaise survie dans les gliomes (Xue et al., 2017b).

1.1.5. Les traitements existants du glioblastome

Le GBM est traité quand la localisation le permet par une résection chirurgicale de la tumeur, suivie d'un traitement combiné radio- et chimio-thérapeutique (sous la forme d'un agent alkylant, le témozolomide ou TMZ). L'ensemble est appelé protocole Stupp, le standard thérapeutique actuel (Stupp et al., 2005b, p. 2205). Malheureusement, par la forte propension à la récurrence et à la résistance tumorales, il ne permet pas sa disparition totale. Il reste cependant le traitement le plus efficace à l'heure actuelle. De nombreuses voies sont toujours explorées afin d'améliorer la survie des patients et empêcher cette récurrence.

1.1.5.1. Mise en place historique des traitements actuels

La première approche thérapeutique est la résection chirurgicale. Cependant, en raison du contexte particulier de sa situation au sein du SNC, elle présente de nombreux risques pour le patient. En effet, elle peut provoquer des atteintes motrices, sensitives et intellectuelles. De plus, en regard de l'infiltration tumorale, cette ablation ne peut empêcher la réapparition d'une nouvelle tumeur souvent fatale (T. Wilson et al., 2014).

Dès les années 1960 et jusqu'en 2005, après la chirurgie, le patient subissait en complément un traitement par irradiation pour éliminer les cellules tumorales restantes. La

radiothérapie se faisait par irradiation de la tête entière, avec de graves effets secondaires au niveau du tissu sain : une toxicité neurocognitive, une endocrinopathie et une leucoencéphalopathie. Pour y pallier, des techniques d'irradiation plus précises ont été développées, à savoir des irradiations fractionnées et ciblées, aux résultats *a minima* identiques (Barani and Larson, 2015). La dose déterminée de 60 Gy délivrée par irradiation ciblée est définie comme optimale vis-à-vis de la balance bénéfice-risque de la radiotoxicité.

Au début des années 2000 furent introduits de nouveaux agents alkylants, la carmustine (BCNU) et la lomustine (CCNU). Leur utilisation provoquait l'apparition rapide de la résistance tumorale et de graves effets secondaires (fibrose pulmonaire et myélosuppression), entraînant leur abandon pour le TMZ (Friedman et al., 2000).

En 2005, sort une étude démontrant le bénéfice de survie apporté par l'usage de la radiothérapie avec un autre agent alkylant, le témozolomide ou TMZ (Stupp et al., 2005a). C'est cette étude qui va permettre d'établir le protocole standard de traitement des GBM, le protocole Stupp.

1.1.5.2. Les techniques diagnostiques et pronostiques du glioblastome

A partir de l'apparition des premiers symptômes, un bilan de santé neurologique est réalisé par IRM ou par CT, dans les cas jugés graves ou inadaptés à l'usage de l'IRM. La PET peut être utilisée pour affiner la vision de la tumeur dans une optique de chirurgie ou de biopsie (la Fougere et al., 2011). L'IRM permet de déterminer la position et la morphologie de la tumeur grâce à la différence de contraste avec le tissu sain, due à la perturbation de la BHE et donc à une meilleure assimilation du produit de contraste. A l'inverse, le plus faible marquage au centre est due à la nécrose et donc à sa faible assimilation (Alexander and Cloughesy, 2017). La grande variabilité tumorale oblige le recours à une biopsie pour affiner un diagnostic définitif de GBM.

En même temps que la résection tumorale, la biopsie permet de placer la tumeur au sein de la classification OMS 2016 et de poser un pronostic et une thérapeutique adaptés. Le GBM est déterminé histologiquement par la présence d'une forte population de cellules prolifératives (à l'aide des marquages *Ki67*), des zones nécrotiques et hémorragiques. Cette analyse est ensuite complétée par l'étude de certaines altérations génétiques, épigénétiques, chromosomiques. Aux analyses, s'ajoute également l'état général du patient, évalué avec l'indice de Karnofsky (KPS). Cet indice permet d'évaluer le pronostic tumoral ; un KPS faible associé à des comorbidités, une faible méthylation de *MGMT* et une altération des fonctions supérieures (Bauchet et al., 2014). Une fois l'ensemble de ces techniques utilisées, il est possible de déterminer la thérapeutique à utiliser.

1.1.5.3. Le protocole Stupp

Le protocole Stupp consiste en la combinaison d'une résection chirurgicale maximale de la tumeur (couplée avec la biopsie) suivie d'un traitement chimio- et radiothérapeutique (Stupp et al., 2009, p. 2009). Cette opération améliore la survie et la survie sans progression tumorale (Roder et al., 2014). Plusieurs solutions ont été mises en place, comme l'utilisation d'acide 5-aminolevulinique ou 5-ALA, d'une IRM préopératoire ou d'une imagerie en tenseur de diffusion ou DTI pour un meilleur ciblage tumoral (Roder et al., 2014; Senft et al., 2011; Wu et al., 2007; Zhao et al., 2013). Mais leur utilisation ne dégage qu'un très faible bénéfice de survie (Barone et al., 2014).

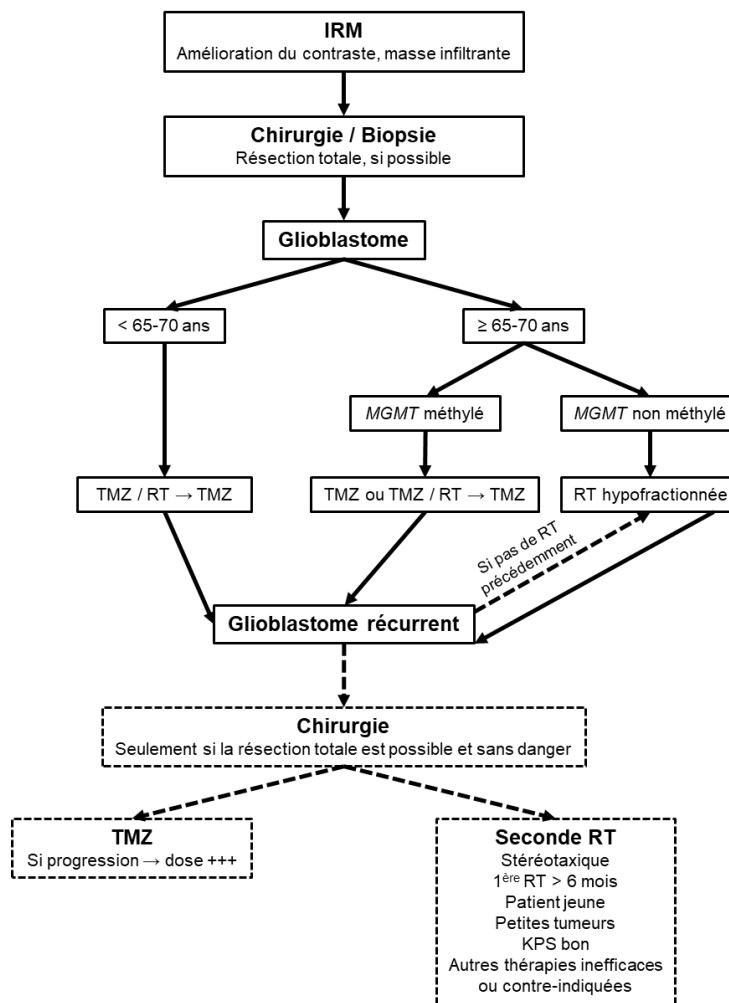


Figure 10 : Arbre décisionnel simplifié du traitement classique du GBM

Après l'identification de la tumeur comme étant un glioblastome et sa résection, les traitements vont se diviser en fonction de l'âge du patient et de l'état de méthylation du promoteur du MGMT. Les traitements vont se baser sur du témozolomide (TMZ) et / ou une radiothérapie (RT) ; l'ensemble constituant avec la résection le protocole Stupp. À l'issue de ces traitements, si le patient présente une récurrence tumorale, la tumeur sera traitée par résection puis par la combinaison TMZ et / ou RT. (Adaptée de Wirsching et al., 2016)

A l'issue de l'opération, la survie médiane est de 15 mois, avec la chimio-radiothérapie décrite ci-après (Thakkar et al., 2014). Le patient reçoit, après une période de

rétablissement de 4 semaines en général, une combinaison de radiations et de TMZ. Le traitement combiné permet une survie médiane de 14,6 mois contre 12,1 pour la radiothérapie (RT) seule et une meilleure survie à 5 ans (10 % des patients avec le traitement combiné contre 2 % sans) (Stupp et al., 2009). Souvenons-nous de la nécessité de connaître l'état de méthylation du promoteur de *MGMT*, une forte méthylation faisant donc partie des marqueurs de bon pronostic (Stupp et al., 2009).

Les effets génotoxiques et cytotoxiques des rayonnements ionisants, permettent, quant à eux, d'exercer de graves dommages aux cellules tumorales et de les mener à l'apoptose. La RT stéréotaxique permet de délivrer la dose nécessaire par traitement externe avec une marge de 2-3 cm autour la tumeur, permettant de cibler les régions environnantes contre une possible récurrence tumorale (située à 2 cm du site premier dans 80 à 90 % des récurrences) (Narayana et al., 2006). Le standard utilisé repose sur une dose de 60 Gy, administrée par fraction de 1,8 à 2 Gy, 5 jours par semaine pendant 6 semaines (Barani and Larson, 2015).

La chimiothérapie, ici le TMZ, est généralement administrée pendant 12 à 18 mois. La dose initiale de 75 mg/m² est concomitante du traitement RT et quotidienne pendant les 6 premières semaines. La chimiothérapie est arrêtée en même temps que la radiothérapie pendant un mois avant de reprendre à la dose de 150 mg/m² pendant les 5 premiers jours, dose pouvant monter à 200 mg/m² pendant les 5 premiers jours de chaque mois suivant, si tolérée par le malade. L'administration de TMZ continue le reste du temps à la dose de 75 mg/m² pendant les 6 mois après la RT, selon le protocole Stupp. Généralement, le traitement est poursuivi pendant un an supplémentaire, pour accroître les chances de survie (Johnson et al., 2015).

Pour suivre l'évolution, des IRMs sont réalisées tous les 2-3 mois. On y distingue une réponse complète, partielle, une pseudo-réponse, une tumeur stable, une progression tumorale ou une pseudo-progression. Les cas de pseudo-réponses tumorales proviennent de la perte du contraste en imagerie induite par le rétablissement de la BHE dès les premières heures du traitement anti-angiogénique. Une pseudo-progression, chez près de 30 % des patients, provient d'un contraste accentué par une inflammation accrue et une plus grande perturbation de BHE (Brandsma et al., 2008; Wen et al., 2010). Dans les cas les plus extrêmes de pseudo-progression avec une nécrose croissante induite par le traitement, une prise en charge est nécessaire afin de limiter au maximum les effets toxiques. Néanmoins, pour la majorité des patients, la pseudo-progression est due à une réponse temporaire entourant la tumeur et présente peu d'effets secondaires (Wirsching et al., 2016).

1.1.5.4. Evolution du protocole Stupp et perspectives des thérapies ciblées

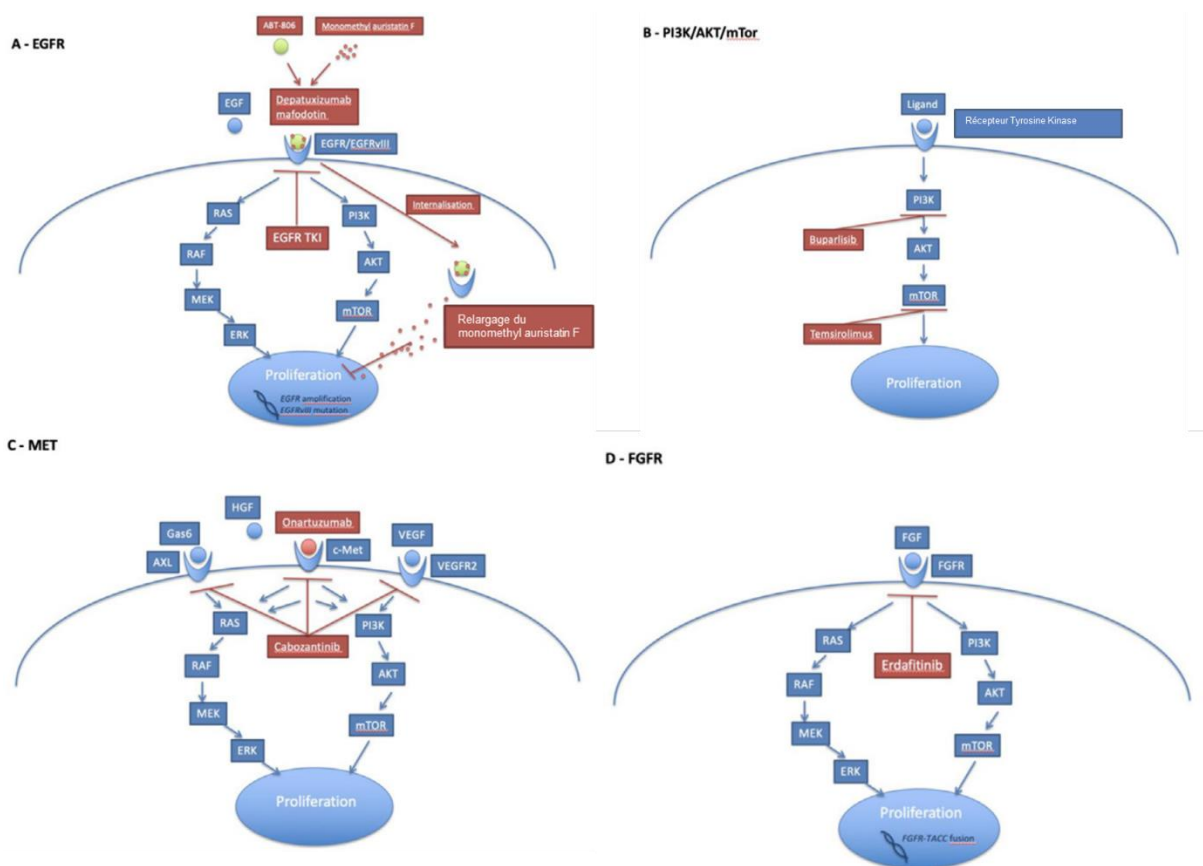
Avec le protocole Stupp, près des $\frac{3}{4}$ des patients souffrent d'une récurrence tumorale au cours de l'année suivant le diagnostic (Stupp et al., 2005a). Des thérapies ciblant les spécificités de la tumeur deviennent donc essentielles.

En 2015, fut étudiée l'utilisation de champs électromagnétiques de basse intensité et de moyenne fréquence en complément du TMZ, en vue de stopper la division cellulaire et

d'entraîner l'apoptose. Cette application fait passer la survie médiane de 15,6 mois à 20,5 mois et la survie moyenne sans progression de 4 à 7,1 mois (Stupp et al., 2015, p. 2015).

Dans le cas de patients ne répondant pas au TMZ (par exemple en absence de méthylation de *MGMT*), d'autres agents sont utilisés, avec un bénéfice moindre que le traitement classique (Iacob et al., 2009). Ces traitements sont :

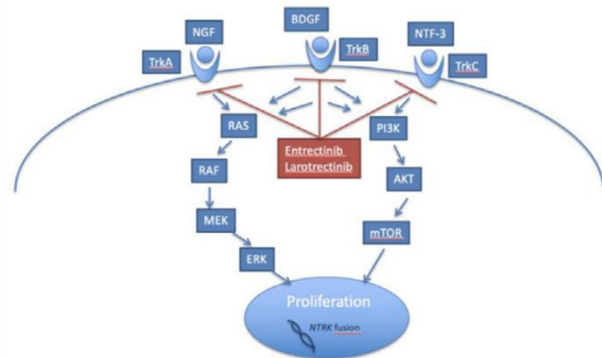
- le carboplatine, un autre agent alkylant, comme le TMZ ;
- l'oxaliplatine, un agent alkylant, avec une moindre myélotoxicité des tissus sains ;
- l'étoposide, inhibant l'ADN topoisomérase II, bloquant la réparation de cassures double brin et entraînant la mort des cellules cyclantes ;
- l'irinotécan, ciblant l'ADN topoisomérase I et provoque l'accumulation de cassures simple brins et la mort des cellules tumorales. un bénéfice de survie sans progression à 6 mois a pu être dégagé mais sans bénéfice de survie net (Zhang et al., 2012).



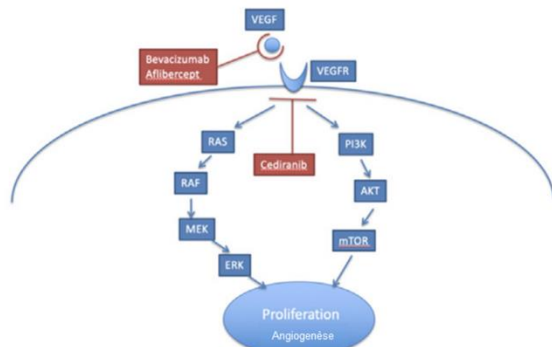
E - BRAF



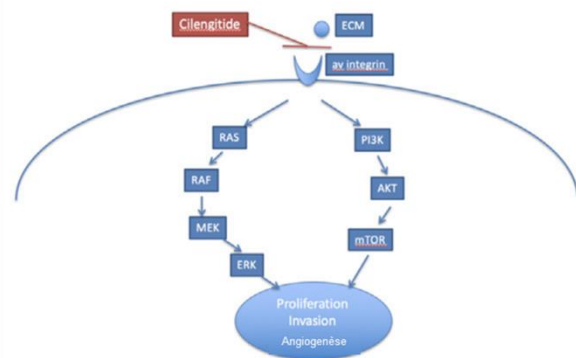
F - NTRK



G - VEGF



H - Integrin



I - TGF-β

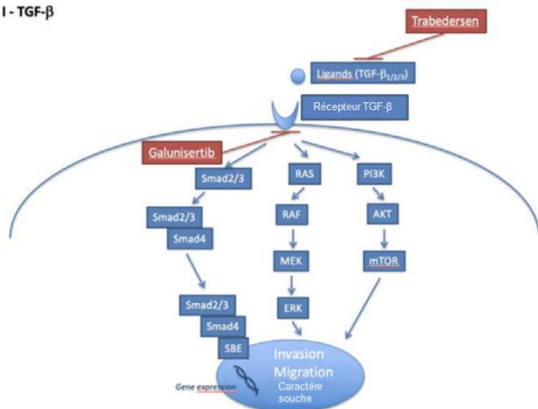


Figure 11 : Sélection de thérapies ciblées du GBM en fonction des différentes voies concernées

Est représentée une sélection des principaux agents thérapeutiques utilisés dans les thérapies ciblées, en fonction des altérations génétiques présentes dans les tumeurs de GBM. Sont représentées les voies de l'EGFR (A), de la PI3K (B), de MET (C), du FGFR (D), de la BRAF (E), des NTRK / Trks (F), du VEGF (G), de l'intégrine (H) et du TGF-β (I), avec les principaux effecteurs. (Adaptée de Le Rhun et al., 2019)

En plus du protocole Stupp, de nouveaux traitements vont cibler l'angiogénèse. Le principal est le bevacizumab, un anticorps monoclonal humanisé contre le VEGF, administré en IV à 10 mg/kg par semaine. Malheureusement, l'effet secondaire principal est l'hypertension artérielle pouvant aller, dans de très rares cas, jusqu'à des hémorragies, la formation de caillots et des perforations intestinales (Salacz et al., 2011; Taal et al., 2014). Des essais cliniques de phase III ont cependant dégagé un bénéfice net de survie sans progression (Chinot et al., 2014; Gilbert et al., 2014). Le problème se situe sur une réelle amélioration de la survie des patients mais avec une détérioration de leur qualité de vie (Chinot et al., 2014; Gilbert et al., 2014). Ce sont ces résultats mitigés combinés aux effets secondaires qui font que l'intégration de thérapies anti-angiogéniques dans les protocoles de première ligne n'est pas recommandée (Batchelor et al., 2014).

Le récepteur VEGFR a, quant à lui, été ciblé par des inhibiteurs de RTK (TKI). Avec le cediranib, il a été observé une résorption des vaisseaux tumoraux, une nécrose accrue au centre de la tumeur, une résorption de l'œdème péri-tumorale et une inhibition de l'angiogenèse, qui augmente les effets du traitement au TMZ (di Tomaso et al., 2011; Gerstner et al., 2010; Wachsberger et al., 2011). Un autre TKI pouvant s'appliquer au VEGFR, le cabozatinib a été démontré comme ralentissant la TEM, augmentant ainsi la survie sans progression pour les tumeurs récurrentes. L'action de la drogue est néanmoins freinée par le faible passage de la BHE (Navis et al., 2013; Yakes et al., 2011).

Pour lutter contre ces processus angiogéniques et migratoires, d'autres traitements ciblent les intégrines, fortement exprimées dans le GBM (Tabatabai et al., 2011). Le cilengitide, en inhibant leur activation et, couplé au traitement classique, augmente la survie et la survie sans progression avec une méthylation de MGMT (Scaringi et al., 2012; Stupp et al., 2010, p. 2010; Tabatabai et al., 2011).

Les mutations sur les voies PI3K, p53 et Rb ont conduit à la mise en place de thérapies luttant contre leur effet prolifératif. Le récepteur EGFR et son variant EGFRvIII, en amont de la voie Ras, est ciblé, notamment par le cetuximab, le gefitinib ou l'erlotinib. Les traitements au cetuximab seul, un anticorps monoclonal, n'ont d'effets significatifs qu'en présence du récepteur natif seul (Lv et al., 2012). Quant au gefitinib, un TKI, il ne permet pas d'augmenter la survie chez les patients traités (Chakravarti et al., 2013; Uhm et al., 2011). Les nouvelles générations de TKI, avec l'erlotinib et le lapatinib, ne présentent également aucun avantage clinique (Peereboom et al., 2010; Thiessen et al., 2010). Seuls certains inhibiteurs irréversibles, comme le nimotuzumab, ont permis d'obtenir un effet bénéfique sur la survie (Cabanas et al., 2013; Hong et al., 2012, p. 201). Les meilleurs effets ont été obtenus avec des inhibiteurs de EGFRvIII, avec le TKI NSC154829, inhibant la prolifération et induisant l'apoptose. Avec la combinaison d'un TKI AG1478 et de l'anticorps mAb806, il est possible d'obtenir les mêmes effets (Johns et al., 2003; Trembath et al., 2007). Si le ciblage de l'EGFR donne quelques résultats, ceux-ci n'ont été obtenus qu'avec le variant tronqué, souvent en combinaison avec d'autres traitements et avec une portée limitée.

D'autres traitements ont été testés sur les acteurs des voies de prolifération, notamment des voies PI3K/Akt/mTOR et Ras/Raf/MAPK. Les principaux traitement bloquant la PI3K permettent de potentialiser les effets du TMZ, de diminuer la résistance tumorale, d'augmenter la sensibilité aux rayons et l'effet anti-prolifératif (Jiang, 2011; Millet et al., 2013). Les inhibiteurs de mTOR, avec un meilleur effet sur des tumeurs PTEN⁻, permettent, couplés avec le TMZ ou la RT, de sensibiliser la tumeur mais avec des effets limités sur la survie (Omuro et al., 2007; Weiler et al., 2013). Cependant, le temsirolimus couplé à la chimio-radiothérapie entraîne une immunosuppression, ayant fait stopper les essais cliniques (Sarkaria et al., 2010). Afin de cibler la voie Ras, des inhibiteurs de farnesyl transférase (FTI) ont été utilisés bloquant la voie PI3K ; le lonafartinib a permis d'améliorer les effets de la chimio-radiothérapie (Chaponis et al., 2011; Desjardins et al., 2011).

Des cibles plus larges furent tentées pour obtenir des traitements efficaces. Ainsi, des inhibiteurs du protéasomes furent utilisés avec des résultats limités, même en complément du traitement standard (Phuphanich et al., 2010; Yin et al., 2005). Des inhibiteurs des HDAC,

utilisés pour cibler les changements épigénétiques, ont montré des résultats modestes d'éventuelle radiosensibilisation de la tumeur (Galanis et al., 2009; Iwamoto et al., 2011; Shabason et al., 2011).

A ce jour, les différents traitements ciblant les récepteurs, les voies et les mécanismes, utilisés seuls ou en combinaison avec les traitements actuels ou expérimentaux n'ont pas permis de mettre en place de protocoles capables efficacement de freiner sur le long terme le développement tumoral. Ces échecs répétés laissent la porte ouverte à de nouvelles pistes thérapeutiques efficaces.

En plus des voies de signalisation traditionnelles, des traitements ciblent l'expression de certains miRs, soit de manière négative avec des oligonucléotides antisens (ASO) pour les oncomirs, soit de manière positive avec des miRNA mimics pour les miRs anti-tumoraux, pour restaurer les points de contrôles ou stimuler les voies pro-apoptotiques (Gagliardi and Ashizawa, 2021; Trang et al., 2011; Wang, 2011).

Comme dans de nombreux cancers, le recours à l'immunothérapie a été tenté pour améliorer les effets du traitement actuel, en jouant sur des inhibiteurs de checkpoints immunitaires comme PD-1 ou CTLA-4. Le premier essai, CheckMate 143, avec un anti-PD-1 seul ou combiné avec un anti-CTLA-4, a donné des résultats décevants avec des gains de survie nuls et une forte toxicité du traitement combiné par rapport au traitement seul (Omuro et al., 2018). La phase III de l'essai clinique, testant l'effet de l'anti-PD-1 (nivolumab) contre celui du bévacizumab (anti-VEGF) chez des patients en récurrence, n'accorde aucune amélioration de survie significative (9,8 mois avec le nivolumab contre 10 mois avec le bévacizumab) (Reardon et al., 2020). D'autres essais cliniques ont été réalisés en appui de la chimio-radiothérapie ; on peut citer les CheckMate 498 et 548, qui ne présentaient aucun bénéfice (Squibb, 2019a, 2019b). Une autre approche a été tentée avec des vaccins anti-tumoraux, pour restaurer la reconnaissance et le ciblage immunitaire. Le premier vaccin ciblant le variant EGFRvIII, exprimé seulement dans une minorité des tumeurs a donné des bénéfices de survie minimes, avec une tendance favorable en complément avec le bévacizumab (12 mois contre 8,8 mois avec le bévacizumab seul) (Reardon et al., 2015; Weller et al., 2017). Une autre tentative de vaccin se basait sur une exposition de cellules dendritiques à des peptides tumoraux, avec des résultats préliminaires encourageants mais dont les études ne furent pas menées à terme (Liau et al., 2018; Phuphanich et al., 2013; Wen et al., 2019).

Étant données l'hétérogénéité tumorale, l'immunosuppression induite, la résistance induite et l'anergie du système immunitaire, la mise en place d'une thérapeutique efficace contre le GBM est complexe et nécessite d'acquérir une meilleure connaissance de l'ensemble des mécanismes mis en œuvre par la tumeur. Pour le moment, l'ensemble des tentatives pour améliorer la thérapeutique n'a pu donner de résultats concluants, nécessitant encore de découvrir des cibles pertinentes et efficaces.

1.1.6. La récurrence tumorale et leurs processus d'échappement thérapeutique

Au sein du GBM, la rechute est fréquente. Cette nouvelle masse tumorale, issue des cellules résiduelles, est reconstituée à partir de clones résistants et sélectionnés par le

traitement. Cette résistance empêche toute tentative de se débarrasser de la tumeur récurrente et elle est la cause majeure de létalité du GBM.

1.1.6.1. Caractéristiques et épidémiologies des récurrences du GBM

Lors de l'analyse des tumeurs récurrentes, il a été démontré que l'ensemble des sous-types peuvent entraîner une récurrence tumorale sans distinction, dans les 5 ans suivant le diagnostic (Verhaak et al., 2010a).

Les tumeurs secondaires apparaissent dans 2/3 des cas à moins de 2 cm de la tumeur primaire (Burger et al., 1983; De Bonis et al., 2013). Des études ont pu démontrer, du fait de la forte proximité de leur fond génétique et de leurs mutations, que ces tumeurs secondaires proviennent d'une migration de cellules de la tumeur primaire. Ces tumeurs proviendraient donc dans la majorité des cas, de cellules résistantes issues de la tumeur primaire ayant des capacités de clonogénicité, puisque séparées de celle-ci au cours de la croissance tumorale (van Niftrik et al., 2006). Plus la tumeur secondaire est éloignée dans le temps et dans le site, plus celle-ci pourrait être éloignée phylogénétiquement de la tumeur primaire, obligeant une nouvelle analyse et une adaptation des traitements (Kim et al., 2015).

L'hétérogénéité tumorale est conservée, les mêmes populations sont retrouvées entre tumeurs primaires et secondaires (7 en moyenne par tumeur), appuyant la théorie d'un ensemencement précoce des tumeurs (Andor et al., 2014). Si les traitements pourraient être à l'origine d'une réduction ou d'une sélection des clones, il est tout de même possible de distinguer 3 patterns possibles sur l'évolution de ces populations (Andor et al., 2014):

- les populations dominant la tumeur survivent et se retrouvent dans la même configuration dominante lors de la récurrence ;
- seules les populations minoritaires survivent et deviennent dominantes dans la tumeur secondaire ;
- de nombreux clones vont disparaître de la tumeur et les rapports vont être modifiés dans la nouvelle tumeur.

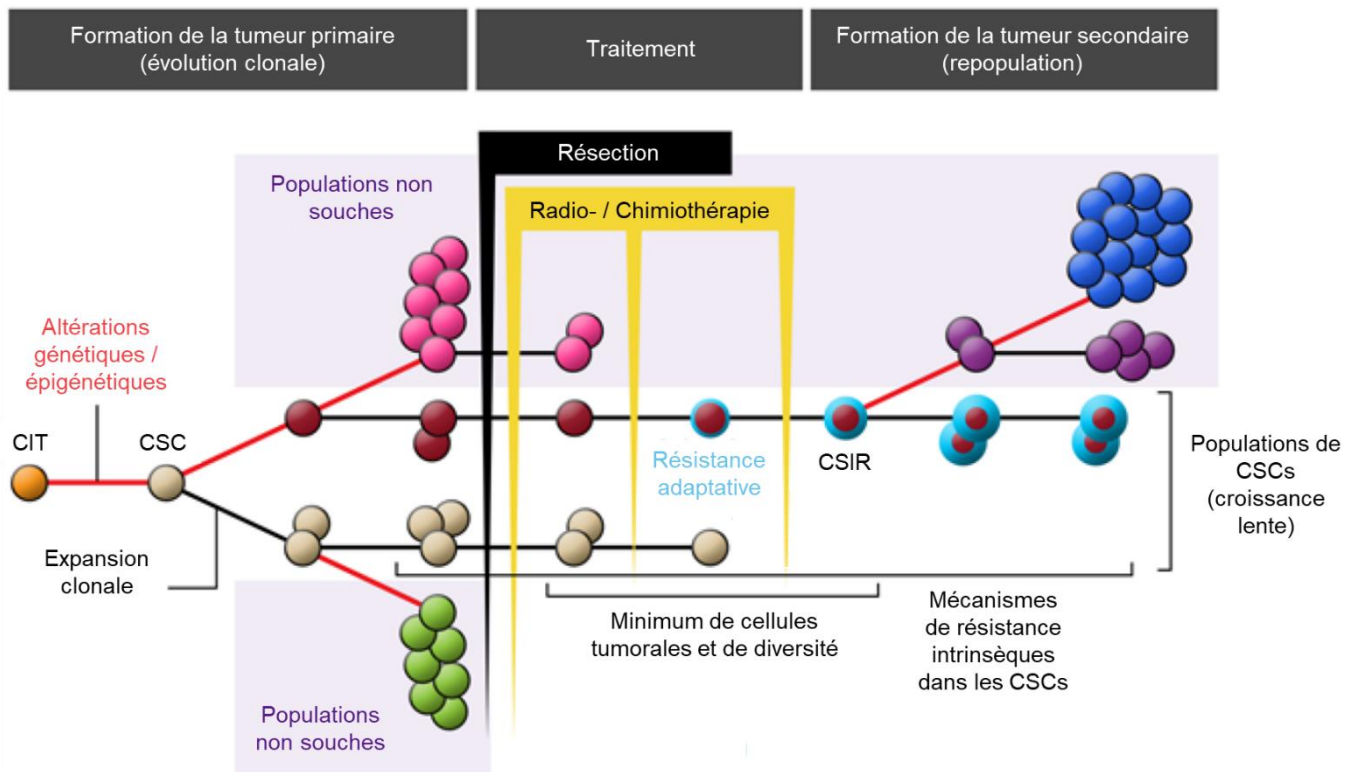


Figure 12 : Schéma sur l'apparition des récurrences tumorales du GBM

La tumeur primaire de GBM est hétérogène et composée de plusieurs populations cellulaires, à partir d'une ou plusieurs cellules initiatrices de tumeurs (CIT). Parmi celles-ci, sont retrouvées des populations aux capacités prolifératives variables (rose et vert), des cellules souches cancéreuses (CSCs, gris et rouge). Des cellules souches sont en mesure de résister et de survivre à l'issue du traitement classique du GBM, menant à un minimum tumoral. Ces cellules souches initiatrices de récurrence (CSIR) vont pouvoir résister par le biais de mécanismes de résistance adaptatifs et intrinsèques (rouge à anneau bleu). Elles vont pouvoir initier la formation d'une tumeur secondaire présentant le phénotype de résistance. (Adaptée de Osuka and van Meir, 2017)

La résection chirurgicale plus large, par ablation d'une région de 1 à 2 cm autour de la tumeur, permet une meilleure survie (survie sans progression multipliée par 4 et survie totale par 2,5) et diminue significativement aussi la probabilité de récurrence tumorale proche (De Bonis et al., 2013; Smets et al., 2013). Un traitement de la tumeur primaire, par le TMZ notamment, sélectionne des clones avec une résistance acquise à la molécule (Shinsato et al., 2013; Stark et al., 2010). Concernant la radiothérapie, il a été montré une corrélation positive entre la quantité de radiation reçues au niveau de la région tumorale et la fréquence de la non-méthylation de *MGMT* tumoral (Brandes et al., 2009). Des processus de résistance au bévacizumab ont également été décrits dans le cas de tumeurs récurrentes sous-exprimant le VEGFR après le traitement, signe d'une assimilation et du contournement par la tumeur (T. Furuta et al., 2014). Le même principe est retrouvé dans le cadre des immunothérapies, ici contre EGFRvIII, signe d'un processus d'adaptation tumorale permanent (Sampson et al., 2010). C'est ainsi que les tumeurs récurrentes peuvent mettre en place des mécanismes de résistance inédits à la tumeur primaire et proliférer sans pouvoir être ciblées par les traitements existants, ce qui est fatal au patient dans la grande majorité des cas.

1.1.6.2. Pronostic, diagnostic et traitement des tumeurs récurrentes

Sachant que les GBM ont une forte tendance à présenter des récurrences, les patients ne peuvent se voir administrer qu'une variation limitée des traitements préalablement établis et ne présentent qu'une faible survie (5% pour une survie à 5 ans). Les options thérapeutiques sont limitées et reposent sur les précédentes thérapies mises en place pour la tumeur primaire. Il n'existe aucun standard de traitement pour les tumeurs récurrentes (Weller et al., 2013).

La première possibilité repose sur une nouvelle résection chirurgicale, (Brandes et al., 2013). Elle ne permet de produire des effets bénéfiques que pour 25 % des patients, dans le cas d'une résection maximale de la tumeur et si les conditions optimales sont réunies (Suchorska et al., 2016). Les patients au meilleur pronostic à l'issue de la résection ont moins de 70 ans, un score KPS de plus de 80 % et des tumeurs de moins de 50 cm³ (Park et al., 2010).

Une nouvelle campagne de RT peut être considérée en fonction de l'état de santé des patients mais le risque de dommages radiotoxiques est plus important. Le tissu cérébral peut dépasser sa limite de récupération et donc les effets de la RT sont limités (Davis and Mulligan Stoiber, 2011). Pour limiter la toxicité, la RT doit être utilisée relativement éloignée des premiers épisodes d'irradiation (plus de 6 mois minimum), seulement si la chimiothérapie est contre-indiquée ou inefficace. Dans ce cas précis, est utilisée une radiothérapie hypo-fractionnée stéréotaxique de 30 à 36 Gy (Combs et al., 2007).

La possibilité de recourir à la chimiothérapie se fait avec l'utilisation du TMZ couplée aux corticostéroïdes pour pallier aux symptômes mais ne freine la progression tumorale que pour une durée de 3 à 6 mois (Franceschi et al., 2009). En combinaison au TMZ, de nouvelles molécules sont utilisées pour freiner le développement tumoral (Cohen et al., 2009). Plus fréquemment, la chimiothérapie se présente en combinaison de lomustine, bevacizumab et TMZ, en général bien tolérée (Weller et al., 2013). Le lomustine permet 19 à 25 % de survie à 6 mois (Batchelor et al., 2014). Une dose optimale de TMZ de 150-200 mg/m² administrée les 5 premiers jours de chaque mois, donne de meilleurs résultats pour les tumeurs avec une méthylation de *MGMT* (Weller et al., 2015, 2014). Le bevacizumab a été mis en routine dans le cadre des tumeurs récurrentes et donne des bons résultats de survie des patients, à l'inverse des molécules ciblant la voie du VEGF (Batchelor et al., 2014; Friedman et al., 2009; Wick et al., 2010). De plus, la combinaison du lomustine et du bevacizumab détermine un bénéfice de survie plus grand (12 mois combinés contre 8 mois pour les agents seuls), les seuls à améliorer la survie des patients (Taal et al., 2014).

Les champs électromagnétiques de basse intensité et de moyenne fréquence ont démontré les mêmes effets que la chimiothérapie standard, avec moins d'effets secondaires dangereux, ouvrant leur utilisation (Davis, 2013).

Malheureusement, l'ensemble des protocoles mis en place n'apporte qu'un bénéfice limité et nécessite de déterminer au préalable les patients possédant les meilleures caractéristiques de réponse à ces traitements.

1.1.6.3. Les différentes hypothèses de l'échappement thérapeutique

L'apparition d'une résistance et donc d'un échappement thérapeutique se fait par la sélection des mutations présentes au sein de l'ensemble des populations cellulaires de la tumeur sous l'effet des divers traitements.

Les premiers mécanismes d'échappement thérapeutique vont être la BHE, isolant le SNC (cf. 1.1.4.3.). Certains traitements ont tenté de cibler la BHE et ses constituants mais sans succès entraînant même, dans certains cas, une toxicité supplémentaire (Hart et al., 2011; Jahangiri et al., 2017; Shin et al., 2012).

Les traitements agissent sur les tumeurs par un biais de sélection. L'hétérogénéité tumorale explique que les populations cellulaires plus sensibles vont disparaître, ne laissant que des cellules résistantes. Ainsi, l'émergence plus ou moins rapide de clones résistants entraîne un réarrangement de la tumeur qui peut devenir totalement résistante aux traitements utilisés (Parker et al., 2015).

Lors de la résection, des cellules tumorales périphériques peuvent persister. De plus, les mutations induites par des traitements concomitants peuvent contribuer à la résistance tumorale chimio- et / ou radio-thérapeutique et à l'apparition de tumeurs secondaires le plus souvent résistantes aux traitements précédents (Lemée et al., 2015).

Au sein de l'hétérogénéité tumorale, le GBM va présenter des cellules particulières appelées Cellules Souches Cancéreuses ou CSCs. Ces cellules participent à la résistance tumorale. Ces cellules sont représentées par plusieurs sous-populations, aux caractéristiques différentes. Certaines vont présenter un fort potentiel clonogénique, capable de recréer la structure tumorale tandis que d'autres vont se présenter comme non-cyclantes et possédant un plus potentiel de résistance au stress environnemental (Binda et al., 2012; Dantas-Barbosa et al., 2015; Hiddingh et al., 2014; Sharifzad et al., 2019). C'est du fait de cette hétérogénéité qu'elles sont en mesure de se protéger du protocole Stupp. Du fait de leur caractère indifférencié, ces cellules sont capables de reformer une tumeur présentant leur phénotype, donnant ainsi une tumeur secondaire résistante et proliférante (Galli et al., 2004; Lathia et al., 2015).

1.1.7. Les cellules souches cancéreuses (CSC) et leurs marqueurs spécifiques

Dans les tissus sains, que ce soit au cours du développement ou des processus homéostatiques cellulaires, les cellules souches vont permettre la croissance et le renouvellement des tissus et organes durant la vie de l'individu. Ce système présent dans la majorité des tissus serait détourné par les tumeurs de toute origine, soit *via* le détournement des cellules souches soit par la dédifférenciation de cellules tumorales. On retrouve donc des cellules souches cancéreuses, dont l'existence est encore controversée mais qui seraient fortement impliquées dans les processus de croissance et de résistance tumorales.

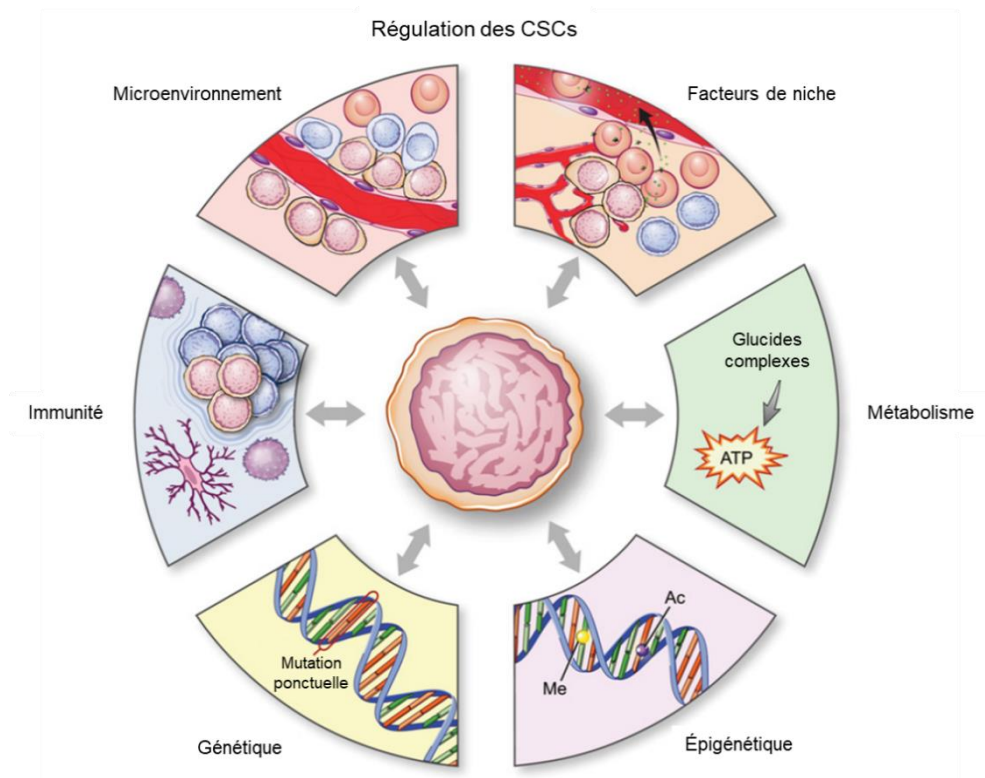


Figure 13 : Régulation tumorale par les CSCs

Les cellules souches cancéreuses (CSCs) sont au cœur de la résistance, en influençant les divers paramètres de l'adaptation tumorale (facteurs de croissance, métabolisme, microenvironnement, immunité, génétique et épigénétique). Cette influence se fait dans les deux sens, l'environnement va induire des changements dynamiques au sein des CSCs, permettant leur remodelage constant. (Adaptée de Lathia et al., 2015)

1.1.7.1. Historique

L'hypothèse de l'existence de cellules capables de reformer une tumeur entière a été soulevée par les travaux de Furth et al, datant de 1937. Il a été démontré que l'injection d'une unique cellule leucémique murine est capable de transmettre ce cancer et de tuer en seulement 2 semaines la souris receveuse (Furth et al., 1937). Cette tumorigénicité a pu être confirmée lorsque des sous-populations de cellules leucémiques furent identifiées, comme capables de coloniser la moelle osseuse et de former de nouvelles cellules tumorales. Ces cellules initiatrices de tumeurs furent les premières cellules cancéreuses dites souches à être individualisées et caractérisées en tant que telles (Bonnet and Dick, 1997; Lapidot et al., 1994).

Dans les années qui suivirent, des cellules de même nature ont été identifiées dans de nombreux types de tumeurs, du cancer du sein au cancer du pancréas (Hemmati et al., 2003; Li et al., 2007). Dans le cadre du GBM, la présence de ces sous-populations fut confirmée en 2004, de même qu'au sein des autres types de tumeurs gliales (Galli et al., 2004).

La mise en évidence de leur capacité de résistance aux thérapeutiques anticancéreuses classiques a permis de démontrer l'implication forte de cette sous-population dans la survie tumorale (Bao et al., 2006b; Chen et al., 2012a).

1.1.7.2. Les propriétés des CSC

Les CSCs peuvent être définies selon leurs capacités fonctionnelles d'auto-renouvellement et de clonogénicité, comme pouvant reconstituer l'intégralité de la tumeur avec sa complexité et son hétérogénéité (Gimple et al., 2019). Les CSCs vont également subir une évolution dynamique, preuve de leur forte plasticité et adaptabilité. Ces sous-populations évoluent entre différents états de différenciation et ce, en fonction des conditions du microenvironnement, à savoir la disponibilité des nutriments, le degré d'hypoxie ou la présence d'agents thérapeutiques (Gimple et al., 2019). La persistance de ces cellules et de leur état est dû à l'ensemble de ces conditions environnementales (Heddleston et al., 2009; Seidel et al., 2010; Tafani et al., 2011).

Comme pour les cellules souches adultes, les CSCs semblent être sous la forte dépendance de l'hypoxie des tissus (Seidel et al., 2010). Les facteurs HIF-1 et HIF-2, dans les cadres respectifs de l'hypoxie aiguë et chronique, sont connus pour induire l'angiogenèse mais permettent également d'activer les voies de signalisations du caractère souche (avec Erk d'un côté, Sox2 et Oct4 de l'autre côté) (Covello et al., 2006; Forsythe et al., 1996; Hambardzumyan and Bergers, 2015; Joseph et al., 2015; Marampon et al., 2014; Moreno-Manzano et al., 2010). Cet état est maintenu en jouant sur un large panel de gènes dont les expressions sont modulées en fonction de l'environnement, par des modifications épigénétiques (Banerji et al., 2013; MacArthur and Lemischka, 2013). Ce sont notamment les effets des divers traitements qui peuvent jouer sur le potentiel prolifératif des CSCs (Furusawa and Kaneko, 2012; Pisco et al., 2013). Les différences de stimuli devraient conduire ces cellules à réduire leur niveau d'entropie et à se différencier en précurseurs de moindre pluripotence pour permettre la prolifération tumorale, tout en conservant un pool de cellules de plus grande plasticité (Furusawa and Kaneko, 2009). Leur fréquence va donc être variable dans le temps et entre les tumeurs. Les traitements antitumoraux vont jouer sur cette fréquence afin de diminuer cette sous-population et donc le potentiel de survie et de résistance tumorale. Si une sous-population cellulaire possède un plus haut potentiel prolifératif, il existe également des cellules plus différenciées mais ayant conservé un faible potentiel d'auto-renouvellement pour maintenir la tumeur et l'ensemble des structures qui la soutiennent (Gimple et al., 2019). Concernant le GBM notamment, l'effet du TMZ sur ces cellules est donc limité par leur quiescence (des cellules avec un cycle réduit et donc une moindre accumulation de mutations dus au TMZ). Ce sont ces différentes sous-populations plus ou moins résistantes aux traitements antitumoraux qui vont être à l'origine de la survie et de la récurrence tumorale.

Outre leur rôle dans la croissance tumorale, les CSCs du GBM (ou GSCs) ont été impliquées dans de nombreux autres processus tumoraux comme la transmission des phénomènes de résistances chimio- et radio-thérapeutiques (Bao et al., 2006a; Chen et al., 2012a; Liu et al., 2006). Par un système de sélection darwinienne, les CSCs capables de survivre aux traitements sont également capables de reformer l'intégrité tumorale, avec des

cellules ayant acquis ces résistances (McGranahan et al., 2016; Pisco et al., 2013). On retrouve les mêmes capacités de transmission autour de l'angiogenèse et de l'invasion tumorale (Bao et al., 2006b; Cheng et al., 2013; Wakimoto et al., 2009).

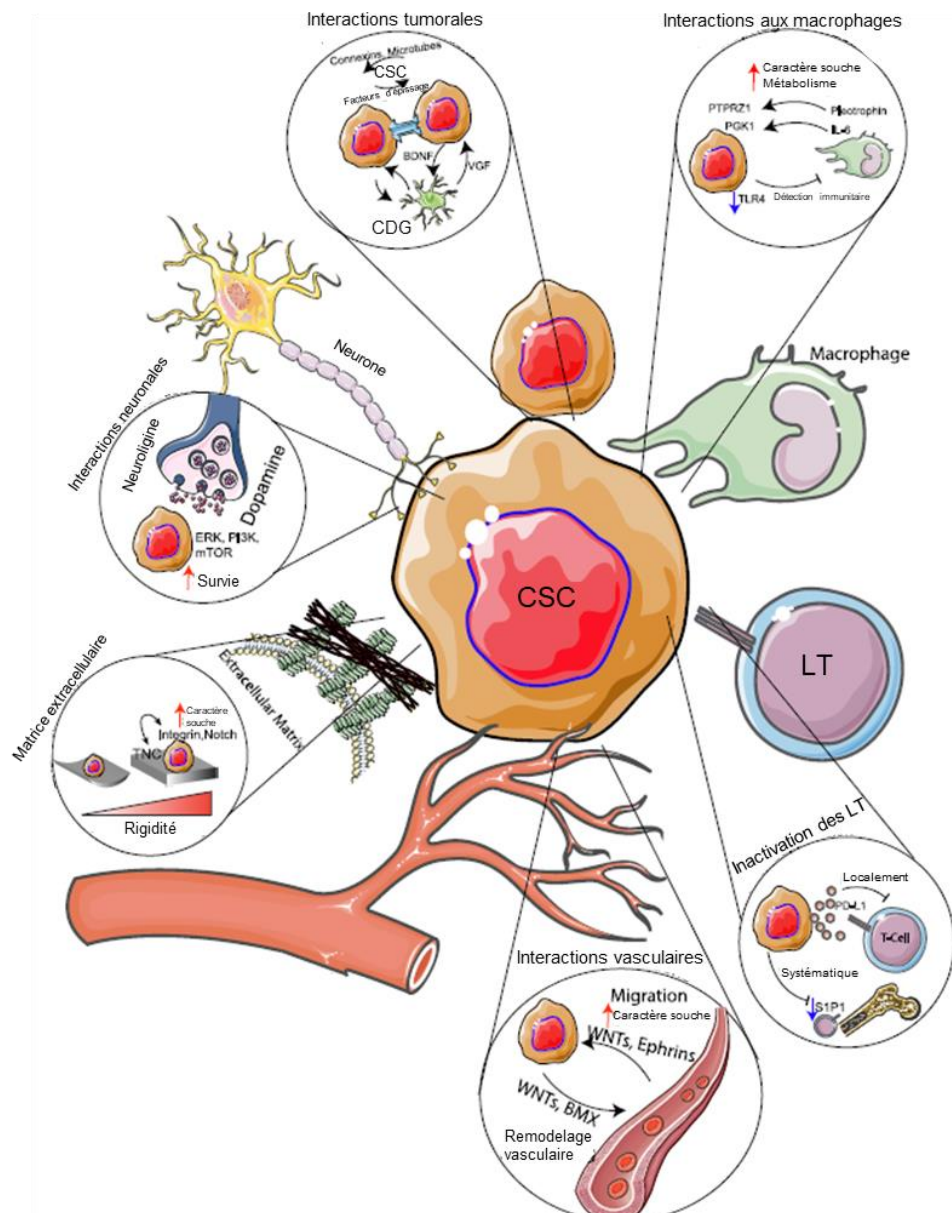


Figure 14 : Contexte d'interaction des CSCs

Les cellules souches cancéreuses (CSCs) vont interagir avec les autres cellules tumorales, les neurones, les macrophages, les lymphocytes (LT) et les cellules vasculaires, permettant la survie des CSCs et donc celle des cellules tumorales. (Adaptée de Gimble et al., 2019)

L'hétérogénéité tumorale du GBM laisse penser que les GSCs regroupent différentes sous-populations (Patel et al., 2014; Sottoriva et al., 2013). Chacune d'entre elle pourrait reformer des tumeurs secondaires, aux phénotypes différents et représentant les différentes populations de la tumeur primaire (Meyer et al., 2015; Soeda et al., 2015). La polydispersité de ces CSCs explique la difficulté d'identifier une signature type de ces cellules au sein du GBM.

1.1.7.3. Les marqueurs des CSC dans le glioblastome

L'hétérogénéité des tumeurs est associée à celle du phénotype des CSCs et donc à celle des marqueurs exprimés par ces cellules. Néanmoins, certaines protéines sont communément associées au caractère souche sans être limitantes ou exclusives, comme CD133, CD24 ou CD44 (Dantas-Barbosa et al., 2015; Hiddingh et al., 2014).

Le CD133 ou prominine 1 joue le rôle de marqueur des CSCs avec une spécificité élevée mais avec une faible sensibilité. Si les cellules CD133⁺ sont des CSCs, certaines sous-populations CD133⁻ spécifiques possèdent les mêmes capacités que les CSCs (Lottaz et al., 2010; Singh et al., 2004). L'expression du marqueur à la surface de la cellule est inversement corrélée à la dédifférenciation de la cellule mais n'est pas régulée directement par les voies de signalisations activées par le phénotype souche (Kemper et al., 2010). Les autres marqueurs d'identification des CSCs sont ceux traditionnellement associés aux cellules progénitrices adultes. Parmi ceux-ci, on retrouve l'expression des protéines Sox2, Nanog, Olig2, Myc, Bmi-1, Nestin, ID-1 et Musashi-1 (Anido et al., 2010; Ben-Porath et al., 2008; Hemmati et al., 2003; Kim et al., 2010; Ligon et al., 2007b; Suvà et al., 2014; Tunicci et al., 2004). La majorité de ces marqueurs sont intracellulaires. Cependant, afin de sélectionner spécifiquement les CSCs au sein de la population tumorale, d'autres études se sont focalisées sur des marqueurs membranaires. Ces protéines, tel que CD133, mettent en évidence des interactions entre les cellules et le microenvironnement tout en maintenant leur phénotype. On peut citer les protéines CD15, l'intégrine $\alpha 6$, CD44, L1CAM et AB25 (Bao et al., 2008; Lathia et al., 2010; Liu et al., 2006; Ogden et al., 2008; Son et al., 2009).

Néanmoins, au vu des problèmes rencontrés pour déterminer un marquage unique des CSCs, des tests fonctionnels doivent compléter leur caractérisation. Reposant sur leurs capacités d'auto-renouvellement et de clonogénicité, différentes techniques vont permettre d'estimer leur présence et leur proportion au sein de la tumeur. Il existe une technique de transplantation par dilution limite, par xénogreffe, avec un passage en série pour déterminer la clonogénicité de cette tumeur, la quantité de CSCs au sein de la tumeur et son hétérogénéité. Malheureusement, les résultats obtenus peuvent être relativement différents de la réalité tumorale, du fait de la différence entre le microenvironnement tumoral réel et celui recréé lors de la xénogreffe (Lee et al., 2019). Plus simplement, des tests de clonogénicité sont réalisés afin de mesurer leur capacité d'auto-renouvellement. Il peut également être testé la capacité cellulaire à reformer des sphères tumorales (ici des gliomasphères), dans un environnement 2D ou 3D (par l'utilisation de gels) (Dontu et al., 2003). Il est également possible d'étudier ces sous-populations par des analyses *single-cell*, plus coûteuses et plus longues mais plus complètes. Ces analyses permettent d'obtenir l'entièreté du transcriptome tumoral et d'avoir une cartographie de l'hétérogénéité tumorale, afin d'identifier les cellules possédant un pattern d'expression proche des cellules souches (Lee et al., 2019).

Pour conclure, les GSCs représentent une population de cellules exprimant des marqueurs des cellules souches et possédant des propriétés d'auto-renouvellement, de tumorigénicité et de résistance détournée par la machinerie tumorale.

1.2. Les neurotrophines et leurs récepteurs

Les neurotrophines consistent en une famille de protéines impliquée dans le développement, la survie et le bon fonctionnement du système nerveux central et périphérique. Leurs récepteurs sont répartis en différentes familles protéiques, liant avec une affinité variable leurs ligands (matures et immatures), internalisant le message de ces facteurs et stimulant donc des voies de survie ou apoptotiques.

1.2.1. Historique

Le Nerve Growth Factor (NGF) a été découvert en 1949 et ses fonctions ont pu être reliées à la survie neuronale (Cohen et al., 1954; Hamburger and Levi-Montalcini, 1949; Levi-Montalcini, 1987). Cette découverte découle de l'hypothèse d'une protéine capable d'induire l'innervation tumorale d'une xéno greffe murine dans un embryon de poulet (Hamburger and Levi-Montalcini, 1949). A la suite de cette découverte, d'autres protéines aux mêmes fonctions ont été recherchées. En 1982, le BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) a été mis en évidence au sein de cerveaux de porc, avec une forte similarité structurelle et fonctionnelle au NGF (Barde et al., 1982; Leibrock et al., 1989). Une nouvelle hypothèse fut alors posée : une famille de ligands serait capable, au sein du système nerveux, d'induire la prolifération et la survie des cellules nerveuses. Cette hypothèse fut confirmée par la découverte, au cours de la décennie suivante, de nouvelles protéines semblables aux NGF et BDNF : en 1990, la neurotrophine 3 ou NT-3 fut associée à la survie neuronale et à l'embryogenèse du tube neural (Ernfors et al., 1990; Maisonpierre et al., 1990) ; en 1991, la neurotrophine 4/5 (NT-4/5) qui fut découverte en parallèle chez *Xenopus laevis* (NT-4) et chez l'Homme (NT-5) comme orthologues puis regroupées au vu de leur forte identité en NT-4/5 (Berkemeier et al., 1991; Hallböök et al., 1991). Les neurotrophines-6 et -7, ayant un rôle très proche de celui des autres neurotrophines, ont été trouvées en 1994 et 1998 respectivement mais absentes chez l'Homme (Götz et al., 1994; Lai et al., 1998). Les neurotrophines vont avoir des fonctions comparables, sur des populations cellulaires proches voire identiques, démontrant une certaine redondance de leur fonction et de leur utilisation spatio-temporelles, dues à une origine commune de duplication génique (Eide et al., 1993; Hallböök, 1999; Ibáñez, 1995).

Les neurotrophines vont interagir avec deux familles de récepteurs distinctes : les récepteurs Tropomyosine-related kinase ou Trk et le NGFR ou p75^{NTR}. En 1986, est découvert le premier des récepteurs Trk, TrkA (ou NTRK1) dans le cadre de tumeurs coliques, puis démontré comme se liant avec de nombreuses neurotrophines (Kaplan et al., 1991; Klein et al., 1991a; Martin-Zanca et al., 1986). Dans les années qui suivirent, les deux récepteurs TrkB et TrkC (ou NTRK2 et NTRK3) ont pu être identifiés, présentant des structures proches (Klein et al., 1991b, 1990, p. 1991, 1989; Lamballe et al., 1991). Leur découverte a pu démontrer une fois de plus des proximités de fonctions et de ligands. Le NGFR a été découvert, quant à lui, en 1973 comme le premier récepteur capable de fixer le NGF (Herrup and Shooter, 1973). Ce récepteur a été démontré comme pouvant lier l'ensemble des neurotrophines, avec une affinité de l'ordre du nanomolaire, d'où le nom de p75^{NTR}, soit récepteur de 75 kDa capable de lier l'ensemble de ces ligands (Rodríguez-Tébar et al., 1990; Rodríguez-Tébar et al., 1992).

1.2.2. Les neurotrophines

Chez les humains, les 4 neurotrophines, NGF, BDNF, NT-3 et NT-4/5, codées par des gènes sur les chromosomes 1, 11, 12 et 19 respectivement, sont produites en premier lieu en tant que précurseurs protéiques glycosylés (Hallböök, 1999). Les protéines matures vont ensuite être obtenues par clivages successifs, donnant des protéines de faibles poids moléculaires (environ 15 kDa). Dans le réticulum endoplasmique, les pré-proneurotrophines vont être clivées pour éliminer leurs peptides signaux et donner des pro-neurotrophines (pro-NT). Ces protéines vont pouvoir alors s'homodimériser, *via* des ponts disulfures entre les 6 résidus cystéines présents sur chacune d'entre elles (Lessmann et al., 2003). Ces protéines passent par différentes phases de maturation : i) les protéines sont clivées *via* des protéases intracellulaires avant d'être sécrétées ; ii) elles sont sécrétées puis clivées par des protéases extracellulaires ; iii) elles sont sécrétées et agissent directement sur leurs cibles (Lee et al., 2001; Lu et al., 2005; Seidah et al., 1996b, 1996a). Les pro-NT et les neurotrophines sécrétées vont former des homodimères et se fixer sur leurs récepteurs, principalement les Trks et p75^{NTR} (Lessmann et al., 2003).

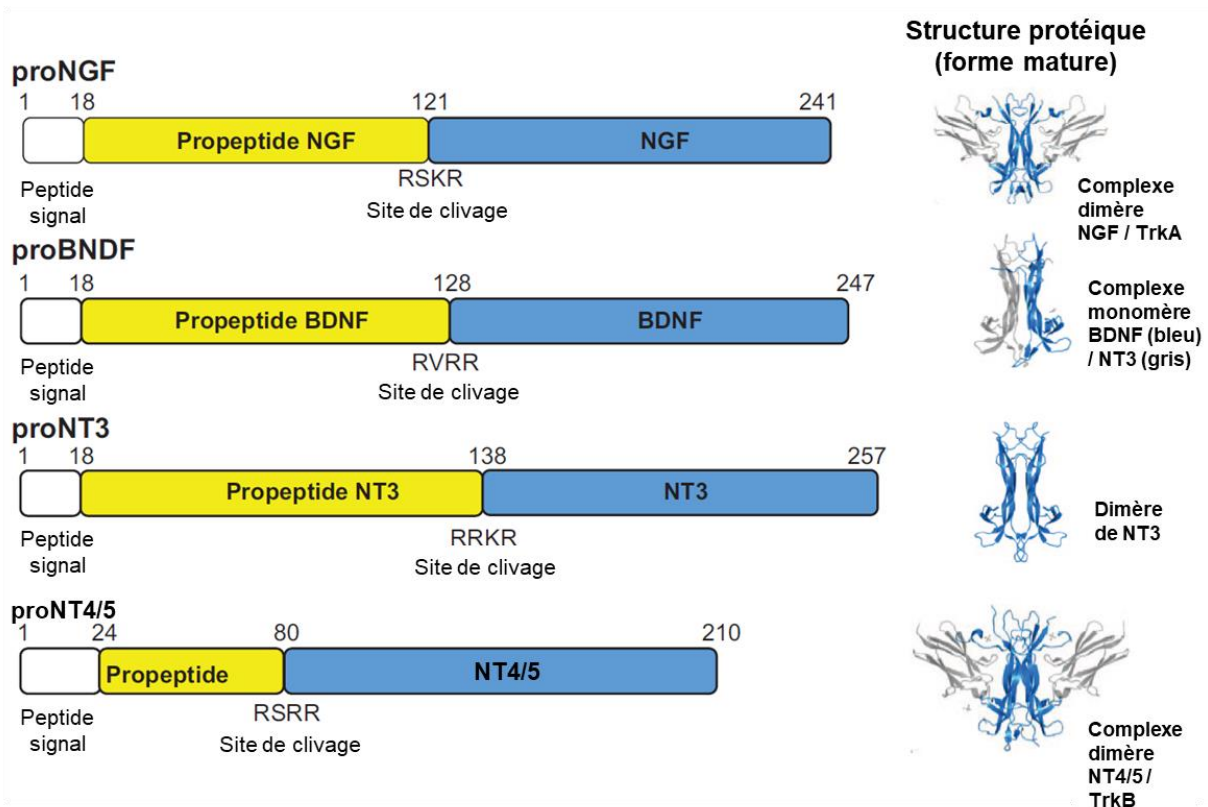


Figure 15 : Représentation des structures protéiques des proneurotrophines et neurotrophines

Les neurotrophines humaines (NGF, BDNF, NT-3 et NT-4/5) sont représentées sous leur forme immature avec leur peptide signal et leur propeptide. Sont représentées également les structures protéiques seules ou avec leurs récepteurs. (Adaptée de Gibon and Barker, 2017)

Dans le cadre du GBM, les neurotrophines se fixent sur des récepteurs spécifiques : le NGF va se fixer sur TrkA, le BDNF sur TrkB, le NT-3 sur TrkC (plus faiblement sur TrkA et TrkB) et le NT-4/5 sur TrkB (Kaplan et al., 1991; Klein et al., 1991a, 1990; Lamballe et al.,

1991; Squinto et al., 1991). p75^{NTR}, lui, peut fixer l'ensemble des neurotrophines et pro-NT, avec une faible affinité à l'inverse des Trks (Hempstead, 2014).

1.2.3. Les récepteurs aux neurotrophines et la sortiline

Au sein des récepteurs aux neurotrophines, deux types de récepteurs sont distingués par leur capacité à fixer les neurotrophines et leurs formes immatures. Le premier type représente la famille des récepteurs Trks soient TrkA, TrkB et TrkC, des récepteurs de forte affinité pour les ligands. Le second type ne regroupe qu'un seul récepteur, NGFR ou p75^{NTR}, récepteur de faible affinité (Chao and Hempstead, 1995). Il existe également la sortiline / Sort1 dans ce cadre, capable également de fixer les proneurotrophines (Nykjaer and Willnow, 2012).

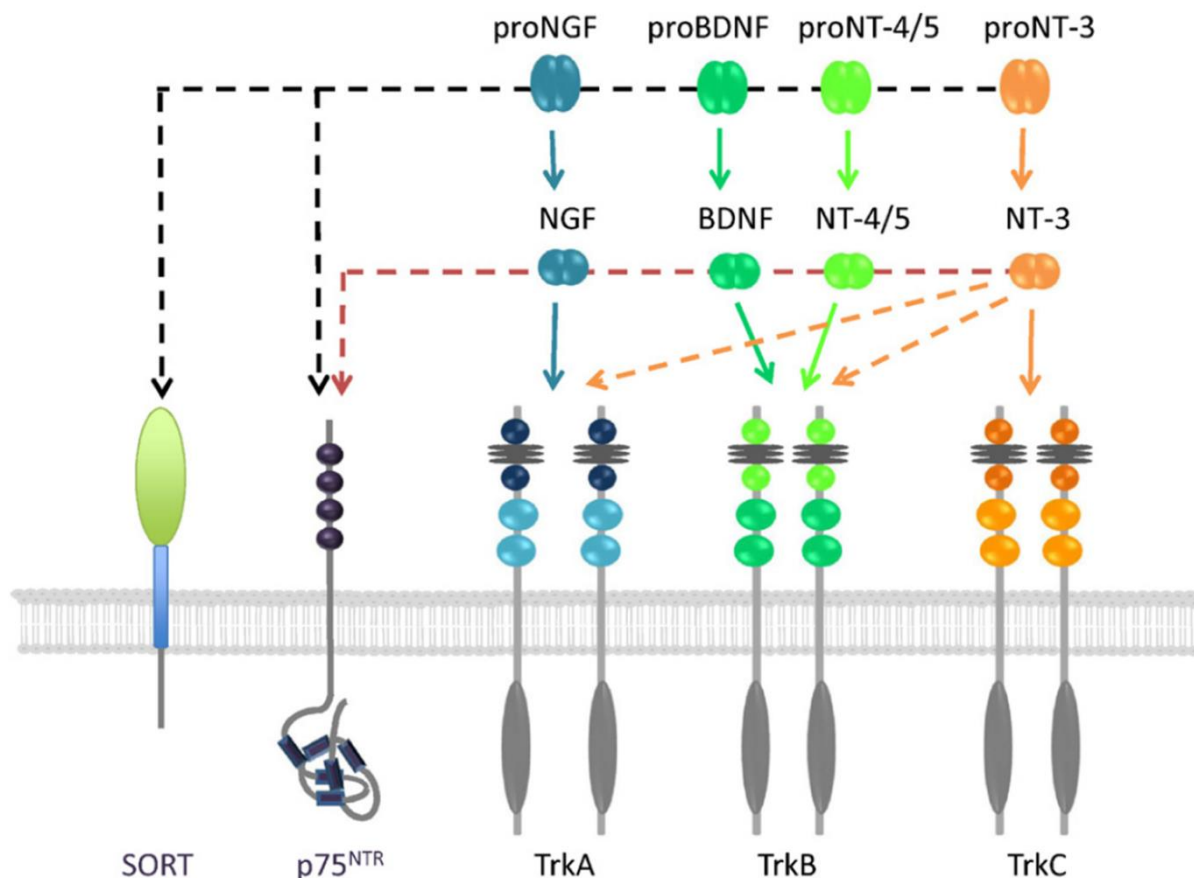


Figure 16 : Spécificité des neurotrophines et de leur forme immature avec leurs principaux récepteurs

Si les formes matures et immatures des neurotrophines (NGF, BDNF, NT-3, NT-4/5) sont en mesure de se fixer au récepteur p75^{NTR}, les autres récepteurs aux neurotrophines (Sort ou Sortiline, TrkA, TrkB et TrkC) vont avoir des affinités plus restreintes. Sort peut fixer l'ensemble des proneurotrophines, tandis que TrkA fixe le NGF et NT-3, TrkB fixe le BDNF, NT-3 et NT-4/5 et TrkC fixe seulement NT-3. (Adaptée de Hondermarck, 2012)

Les Trks, récepteurs à tyrosine kinase, seraient issus des duplications successives d'un gène ancestral (sur les chromosomes 1, 9 et 15 pour TrkA, B et C), d'où la forte proximité de séquences entre ces trois protéines (Nakagawara et al., 1995; Valent et al., 1997; Weier et al., 1995). Elles sont divisées en trois domaines : un domaine extracellulaire liant le ligand, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire activant les

cascades de signalisation. Pour être actif, lier le ligand et permettre la transmission du signal, le récepteur va s'homodimériser. La portion interne des récepteurs va ensuite catalyser la phosphorylation du récepteur puis des effecteurs en aval, *via* son domaine catalytique à 5 résidus tyrosine (Y490, Y785, Y670, Y674, Y675) (Huang and Reichardt, 2003). Ce domaine va permettre l'activation de la PLC γ , la PI3K et Ras, correspondant aux voies de la PLC γ , de la PI3K-Akt et des MAPK (Huang and Reichardt, 2003).

Physiologiquement, la liaison entre TrkA et le NGF va entraîner l'activation de la voie Ras-MAPK, stimulant la prolifération et la croissance cellulaires (Amatu et al., 2016; Nakagawara, 2001). Avec l'activation de TrkB, les 3 voies de signalisation vont entraîner la différenciation neurale et favoriser la survie (Amatu et al., 2016; Nakagawara, 2001). La fixation de dimères de NT-4 sur TrkC entraîne l'activation de la voie PI3K anti-apoptotique (Amatu et al., 2016; Nakagawara, 2001). On retrouve donc l'expression des Trks au sein du tissu nerveux sain, permettant la croissance et la mise en place des structures nerveuses centrales lors du développement embryonnaire (Barbacid et al., 1991; Reichardt, 2006). Par la suite, ces récepteurs vont permettre le maintien et la différenciation dans les ganglions sensoriels, la survie des neurones et la neurogenèse (Huang and Reichardt, 2003; Reichardt, 2006; Vaishnavi et al., 2015). Associés aux fonctions intellectuelles, ces récepteurs se retrouvent dans les fonctions de mémorisation, de nociception et de proprioception (Chen et al., 1997; Huang and Reichardt, 2001). Plus largement, ils ont également un effet pro-survie au sein des systèmes sanguins, immunitaires et des ovaires (Coppola et al., 2004; Dissen et al., 1996; Kermani et al., 2005; Kermani and Hempstead, 2007).

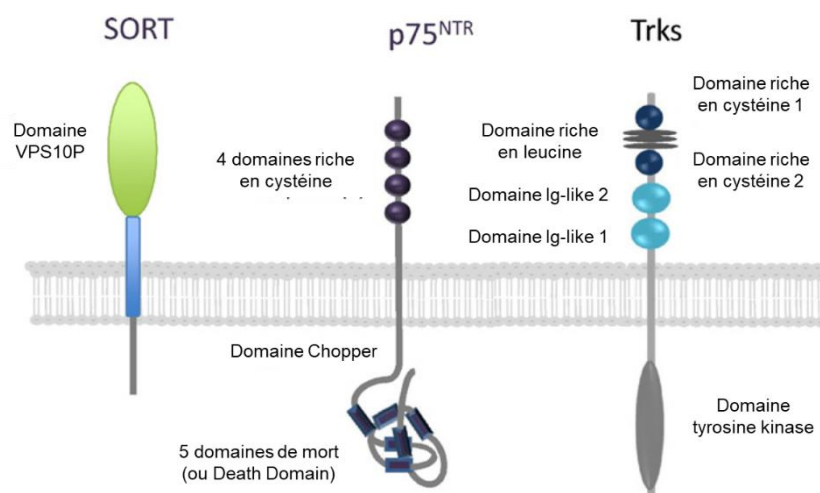


Figure 17 : Structure des récepteurs aux neurotrophines

Chacun des récepteurs aux neurotrophines va posséder une partie extracellulaire, une partie transmembranaire et une partie intracellulaire. Néanmoins, la structure va varier entre les trois grands types. Les Trks vont posséder, en extracellulaire, 2 domaines riches en cystéine entourant un domaine riche en leucine puis 2 domaines Immunoglobulin-like (Ig-like) et un unique domaine Tyrosine kinase en intracellulaire, capable d'activer les voies en aval. La sortiline ou Sort va présenter comme domaine extracellulaire d'intérêt, le domaine Vps10p (Vacuolar protein sorting 10 protein), caractéristique de sa famille protéique. Enfin, p75^{NTR} présente 4 domaines riches en cystéine en extracellulaire, un domaine Chopper en juxtamembranaire, puis 5 domaines de mort ou Death domain pour activer en intracellulaire les voies de signalisation adaptées. (Adaptée de Hondermarck, 2012)

Dans le contexte du GBM et dans différentes tumeurs de gliomes, les neurotrophines et leurs récepteurs sont associés à différents processus tumoraux, de tumorigenèse, d'angiogenèse, d'invasion tumorale et de survie des CSCs (Giraud et al., 2011, 2005; Wadhwa et al., 2003; Washiyama et al., 1996). L'activation de TrkA va avoir un rôle ambivalent soit en stimulant la prolifération tumorale soit en inhibant la transformation maligne vers les gliomes de haut grade (Engebraaten et al., 1993; Oelmann et al., 1995; Singer et al., 1999; Wadhwa et al., 2003; Wang et al., 1998). L'activation de TrkB, quant à elle, ainsi que son transfert par des exosomes, ont un lien direct avec l'agressivité en favorisant la prolifération des cellules tumorales (Pinet et al., 2016). Enfin, TrkC, en l'absence de son ligand NT-3, est connu pour avoir un rôle suppresseur de tumeurs au sein des gliomes en activant l'apoptose par la libération d'un fragment pro-apoptotique (Genevois et al., 2013; Zhang et al., 2014). Cet effet disparaît en présence du NT-3, qui va favoriser la prolifération des cellules tumorales souches et différenciées (Lawn et al., 2015; Louie et al., 2013).

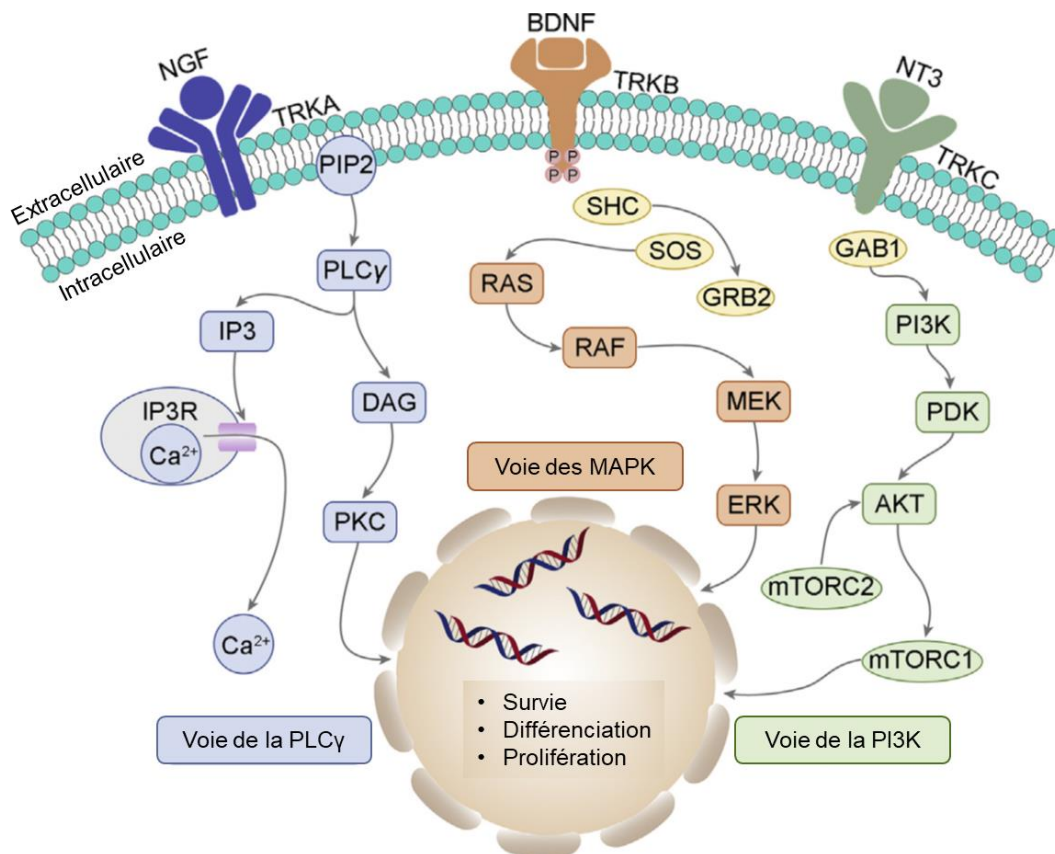


Figure 18 : Les voies de signalisation des récepteurs aux neurotrophines Trks

L'activation des récepteurs Trks par leur ligand respectif va induire la survie, la différenciation et la prolifération des cellules tumorales via les voies des MAPK, de la PI3K-Akt et de la PLCγ. (Adaptée de Jiang et al., 2021)

Autour des récepteurs aux neurotrophines, se place un co-récepteur appelé NTSR3 (Neurotensin Receptor 3 ou Sortiline ou Sort1) liant la neurotensine et dont l'association avec les Trks et p75^{NTR} permet de jouer le rôle de balance survie / apoptose. Sort1 est un récepteur de la famille des Vps10 (Vacuolar protein sorting 10 protein), codé par le gène

SORT1 sur le chr. 1 et exprimé notamment dans le SNC (Petersen et al., 1997). La protéine peut suivre trois voies après avoir atteint la membrane de la cellule. Elle est clivée pour être relarguée ou servir de récepteur pour la portion restante (représentant 5-10 % du pool de sortiline). Elle peut également intervenir dans le transport antérograde à la membrane plasmique ou se complexer avec divers récepteurs pour améliorer la transduction du signal (Massa et al., 2013; McCormick et al., 2008; S.-Y. Xu et al., 2018). Sous la forme d'un complexe avec les Trks, la sortiline va favoriser leur activation et promouvoir la prolifération. A l'inverse, lorsqu'elle est couplée à p75^{NTR}, le complexe va favoriser la mort cellulaire (Navarro et al., 2001; Nykjaer et al., 2005, 2004). Ainsi, la sortiline se retrouve impliquée dans de nombreuses pathologies, comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, le diabète et le cancer (Szegő et al., 2013; Walter et al., 2001; C. M. Wilson et al., 2014). Dans le cadre du GBM, la sortiline a pu être associée *via* TrkB, p75^{NTR} et YKL-40 (glycoprotéine jouant un rôle dans l'agressivité et la prolifération du GBM) à l'agressivité du GBM (Pinet et al., 2016). Elle est également associée à un mauvais pronostic, à l'invasion tumorale et à la TEM au travers de la voie GSK-3 β (Yang et al., 2019). Ainsi, au sein des voies de survie pro-tumorales, le récepteur NGFR, en s'associant avec les autres récepteurs aux neurotrophines, possède une place cruciale dans le développement du GBM.

1.2.4. La récepteur NGFR / p75^{NTR} et ses propriétés

Le récepteur NGFR est une protéine retrouvée dans le SNC notamment, dont le nom provient de sa capacité à fixer le NGF avec une faible affinité (Johnson and Taniuchi, 1987). Par la suite, il a été renommé Neurotrophin Receptor p75 ou p75^{NTR}, de par sa capacité à fixer avec une affinité égale ($K_d = 1$ nM) l'ensemble des neurotrophines (Rodriguez-Tébar et al., 1990; Rodríguez-Tébar et al., 1992).

1.2.4.1. Structure du récepteur p75^{NTR}

Le récepteur p75^{NTR} est codé par le gène *NGFR*, sur le chromosome 17 et compte 6 exons. Ce gène code pour une protéine de 399 acides aminés, composée de 3 domaines (un domaine extracellulaire, transmembranaire et intracellulaire), d'un poids pouvant aller de 45 à 75 kDa en fonction des différents clivages et des états de glycosylation. Le domaine extracellulaire, permettant sa dimérisation, contient 4 régions riches en cystéines formant des ponts disulfures, les 2^{ème} et 3^{ème} régions intervenant dans la fixation du ligand (Yan and Chao, 1991). Le domaine transmembranaire contient une hélice α et une cystéine permettant l'homodimérisation de p75^{NTR} (Nadezhdin et al., 2016). Le domaine intracellulaire, très conservé entre les espèces, présente un domaine de mort (DD, death domain) avec 6 hélices α et un domaine d'activation des protéines G (Chapman, 1995; Roux and Barker, 2002).

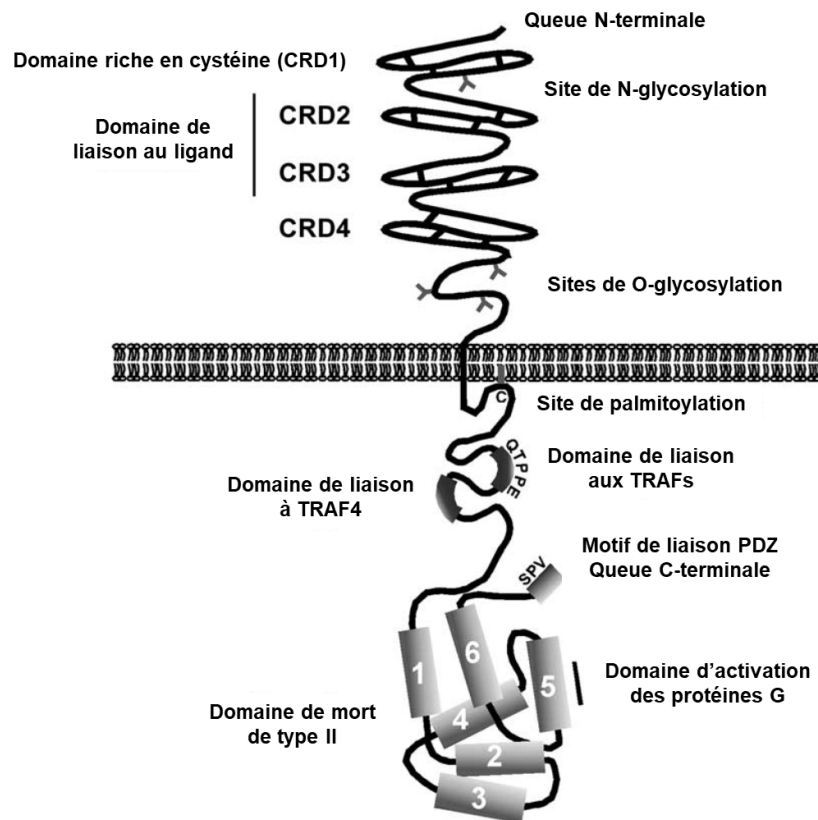


Figure 19 : Structure du récepteur aux neurotrophines p75^{NTR}

Récepteur transmembranaire de type I (unique domaine transmembranaire), avec un domaine extracellulaire contenant 4 régions riches en cystéine (CRD) et de nombreux sites de N- et O-glycosylation. Le domaine intracellulaire contient un site de palmitoylation sur la cystéine 279, deux sites de fixations aux TRAF, un domaine de mort ou Death Domain de type II, un domaine d'activation des protéines G et un motif de liaison au domaine PDZ. (Adaptée de Roux and Barker, 2002)

Cette portion protéique présente également un domaine Chopper, liant les protéines TRAF4 et TRAF6 (TNF Receptor-Associated Factors) et un motif Sérine-Proline-Valine, liant des protéines à domaines PDZ (Post-synaptic Disc-large Zona) (Khursigara et al., 1999; Krajewska et al., 1998; Sheng and Sala, 2001). La présence de ce DD et des 4 régions riches en cytéines le classe parmi les récepteurs de mort (Death Receptors) de la famille des TNFRSF (Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily), parmi 29 récepteurs impliqués dans de nombreux processus allant de la survie cellulaire à l'apoptose (Vilar, 2017). Il existe 3 sites de modifications post-traductionnelles le long de cette structure : un site de N-glycosylation sur la 1^{ère} région riche en cystéine, un site de N- et O-glycosylation en juxtamembranaire extracellulaire et un site de palmitoylation et de phosphorylation en intracellulaire (Barker, 2004; Taniuchi et al., 1986). L'apport de ces modifications favorise, en plus de l'adressage et de la maturation de la protéine, les interactions avec des protéines partenaires (Bronfman and Fainzilber, 2004). L'épissage alternatif du gène va donner plusieurs isoformes, avec notamment un unique domaine riche en cystéine (Dechant and Barde, 1997). Mais les variations notables reposent sur la présence de plusieurs versions tronquées de la protéine en intra- et extracellulaire, par clivages successifs. Via un clivage catalysé par une métalloprotéase, le récepteur sera divisé en p75-ECD (Extracellular Cell Death Domain) liant les neurotrophines comme un récepteur leurre et p75-CTF

(Carboxyterminal Fragment) induisant toujours la signalisation du récepteur. Le p75-CTF sous l'action d'une γ -sécrétase peut se transformer en un fragment p75-ICD (Intracellular Domain), également capable d'induire une signalisation intracellulaire (Bronfman, 2007). Le p75-ICD, par l'activation de la kinase PKA, peut également réguler le déplacement et la concentration du récepteur complet au sein de radeau lipidique, permettant notamment une meilleure dynamique et une meilleure transduction du signal (Fujitani et al., 2005; Gil et al., 2007; Higuchi et al., 2003). C'est par la multiplicité de ses actions que p75^{NTR} est impliqué dans les voies de survie et de mort des cellules au sein du système nerveux notamment.

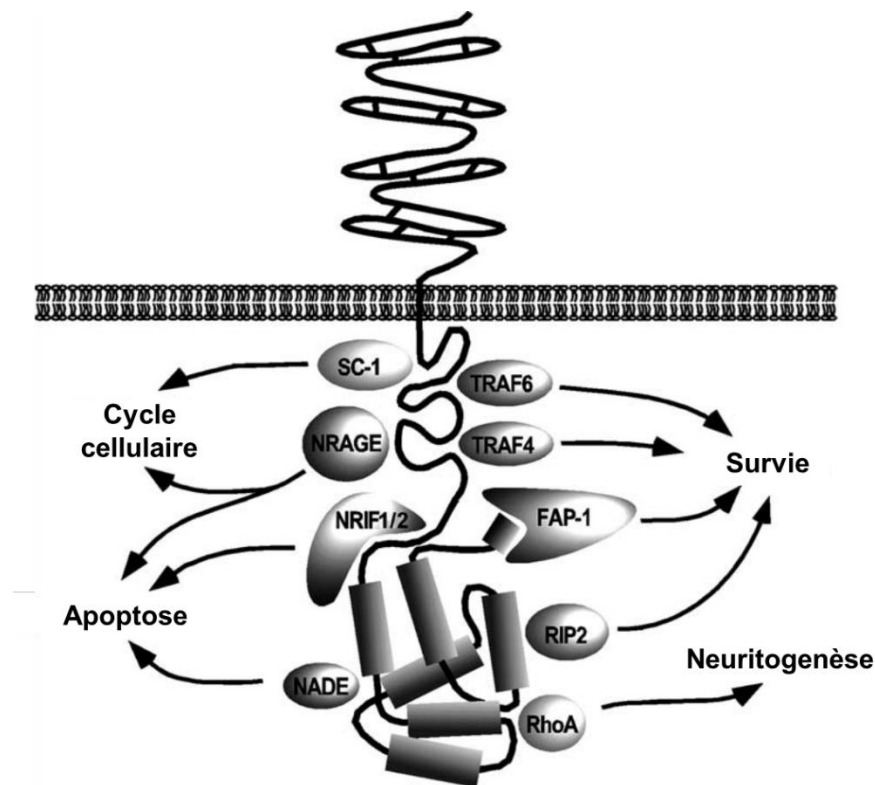


Figure 20 : Les protéines adaptatrices de p75^{NTR} et l'activation des différentes signalisations

La portion intracellulaire du récepteur p75^{NTR} va interagir avec de nombreuses protéines adaptatrices pour permettre d'induire l'activation des différentes voies de signalisation et leurs effets associés. NRAGE (Neurotrophin receptor-interacting MAGE homolog), SC-1 (Schwann cell factor-1), TRAF4 (Tumor necrosis factor receptor-associated factor 4), TRAF6 se lie au domaine juxtamembranaire du récepteur pour agir sur le cycle cellulaire, l'apoptose et la survie. NRIF1/2 (Neurotrophin receptor-interacting factor 1/2) interagit avec le domaine juxtamembranaire et le Death Domain, stimulant l'apoptose. NADE (p75^{NTR}-associated death executor), RIP2 (Receptor-interacting protein-2), RhoA se lie au seul Death Domain, jouant sur l'apoptose, la survie et la neuritogenèse. FAP-1 (Fas-associated phosphatase-1) se lie à la queue C-terminale, agissant sur la survie. (Adaptée de Roux and Barker, 2002)

1.2.4.2. Fonctions physiologiques du récepteur

Le récepteur p75^{NTR} va se retrouver au milieu de voies de signalisation antagonistes, la survie et l'apoptose. Comme beaucoup de récepteurs TNFSFR, p75^{NTR} ne présente pas d'activité enzymatique intrinsèque mais va potentialiser les effets des récepteurs auxquels il peut se lier. Ainsi, en association avec les récepteurs Trks, il va renforcer l'effet pro-survie alors qu'en association avec la sortiline, il pourra induire la mort cellulaire.

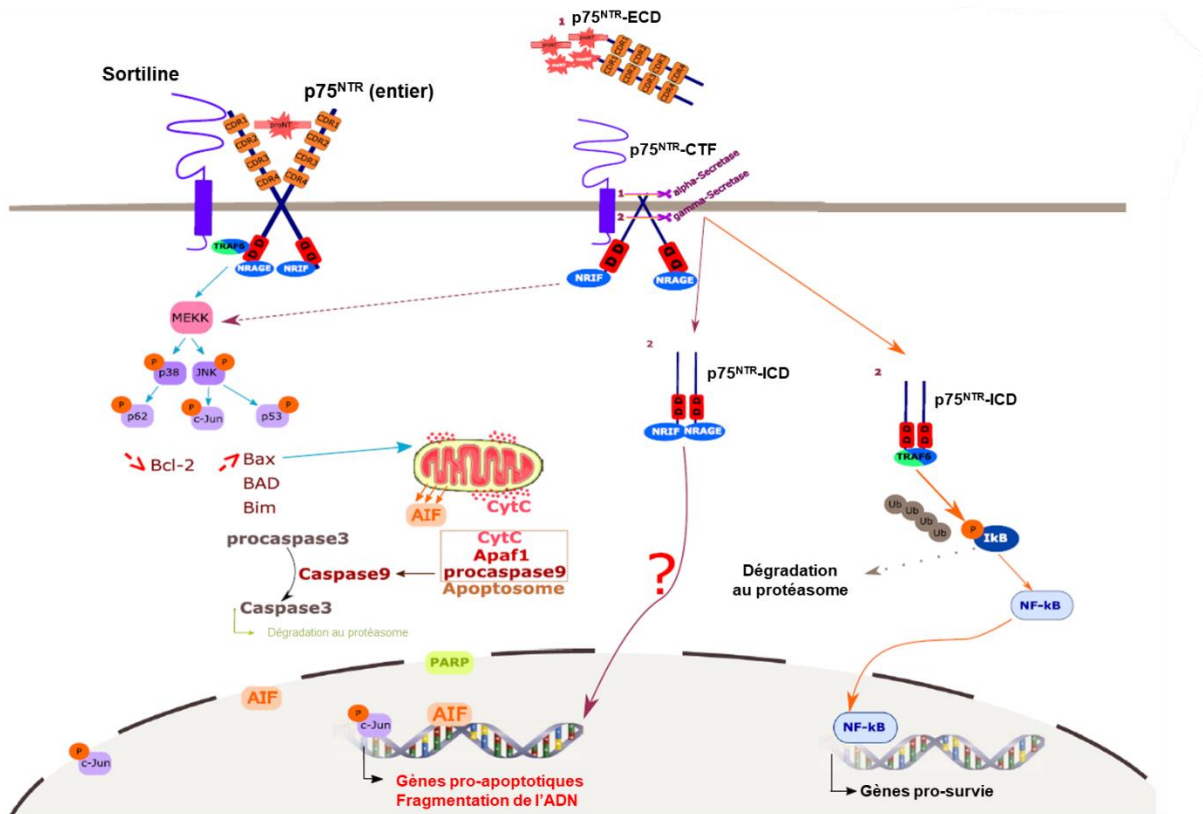


Figure 21 : Clivage du récepteur p75^{NTR} et effets des fragments extracellulaire ECD et intracellulaire ICD

La liaison entre le récepteur p75^{NTR} et la sortiline avec les proneurotrophines permet majoritairement d'induire l'activation de voies pro-apoptiques. Le récepteur p75^{NTR} peut également être clivé par le biais de 2 sécrétases. L' α -sécrétase libère la portion extracellulaire du récepteur le p75^{NTR}-ECD et la portion C-terminale p75^{NTR}-CTF capable d'activer chacune une signalisation différente. La γ -sécrétase libère une portion C-terminal du récepteur p75^{NTR}-ICD, qui peut en fonction de ses associations activer des voies de survie ou des voies apoptotiques. (Adaptée de Blondy et al., 2019)

Les voies de survie activées par p75^{NTR} liées aux neurotrophines peuvent être Trk-indépendantes ou Trk-dépendantes.

En fixant le NGF, p75^{NTR} peut induire la prolifération en activant la translocation de NF- κ B dans le noyau, via l'utilisation de protéines adaptatrices telle que TRAF-6 ou RIP2 (Ahmad et al., 2014; Carter et al., 1996; Khursigara et al., 2001; Wooten et al., 2001). Sans neurotrophines, p75^{NTR} interagit avec RhoA, une GTPase impliquée dans l'organisation du cytosquelette d'actine, l'active et inhibe la croissance axonale, via l'utilisation de protéines adaptatrices tels que les récepteurs Nogo-R et Lingo-1. Dès que les neurotrophines se fixent sur p75^{NTR}, celui-ci se détache de RhoA, l'inactivant et stimulant la croissance axonale

(Arévalo and Wu, 2006). Le récepteur est également capable d'activer la voie PI3K, menant à la survie cellulaire (Roux et al., 2001).

L'association de p75^{NTR} aux Trks, permet notamment d'augmenter son affinité pour son ligand (K_d de 1 nM à 10 pM) (Dechant, 2001; Eggert et al., 2000; Hantzopoulos et al., 1994; Hempstead et al., 1991) ainsi que la fixation de différentes protéines adaptatrices telles que ARMS et la cavéoline favorisant la formation de rafts de signalisation et la transduction du signal (Arévalo et al., 2004; Bilderback et al., 1999; Roux and Barker, 2002).

Les voies pro-apoptotiques, quant à elles, vont être induites par la fixation de pro-NT sur p75^{NTR}, par le recrutement sur les domaines DD ou Chopper des protéines adaptatrices NRIF (NT-receptor interacting factor), NRAGE (NT-Receptor interacting MAGE homolog), TRAF (TNF Receptor-Associated Factor) ou NADE (NT-Associated cell death receptor). Pour permettre cette fixation et la faciliter, p75^{NTR} peut former un complexe avec la sortiline, associé à ses ligands : le pro-NGF, le pro-BDNF, la pro-NT-3 (Jansen et al., 2007; Nykjaer et al., 2005, 2004; Nykjaer and Willnow, 2012). Ces protéines vont ensuite activer la voie JNK (Jun Kinase), entraînant l'apoptose. Les effecteurs finaux de cette voie vont être les caspases 1, 2 et 3, *via* p53 et c-Jun et les protéines pro-apoptotique Bad, Bax et Bim (Nykjaer et al., 2005; Roux and Barker, 2002; Yeiser et al., 2004). Dans la cascade de signalisation, la kinase JNK phosphoryle c-Jun, active p53 et l'activation mitochondriale de l'apoptose (libération du cytochrome c par la translocation de Bax *via* Bad et Bim) par l'activation des caspases 3, 6 et 9 (Nykjaer et al., 2005). L'activation de p75^{NTR} par le BDNF entraîne également une augmentation de l'expression de p53 dans les neurones, probablement due à l'activation de la voie JNK (Aloyz et al., 1998). Le récepteur peut également s'associer avec la sortiline, pour augmenter son affinité pour les pro-NTs et favoriser la transduction du signal apoptotique au sein de la cellule (Nykjaer and Willnow, 2012).

En plus d'agir sur ces voies de survie et de mort, le récepteur p75^{NTR} agit sur le transport des neurotrophines et des Trks dans le neurone, permettant leur transport axonal, ainsi que l'internalisation des NGF, BDNF et NT-3 (Curtis et al., 1995). C'est donc seul mais surtout en association avec d'autres récepteurs, formant alors des plateformes de transduction du signal tant pro-survie que pro-apoptose, que p75^{NTR} joue un rôle crucial dans le système nerveux central.

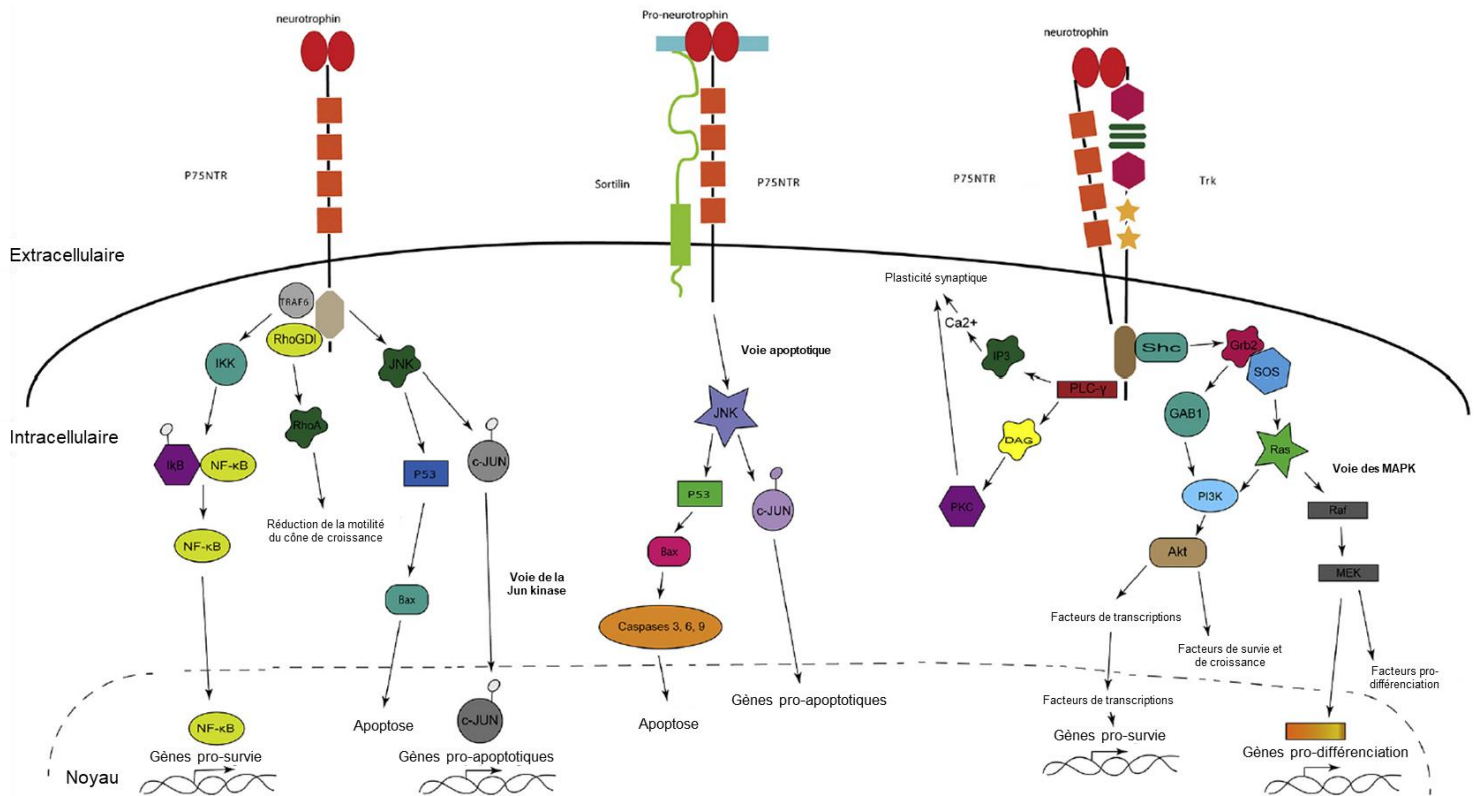


Figure 22 : Les voies de signalisation du récepteur $p75^{NTR}$ avec ses partenaires

Le récepteur $p75^{NTR}$ et ses partenaires *Trks* et la sortiline sont en mesure d'activer des voies de signalisation aux effets antagonistes, les plaçant dans une balance survie / apoptose. Les neurotrophines interagissant avec $NF-\kappa B$ induisent la survie cellulaire par l'interaction avec TRAF-6 alors que l'activation de *c-Jun* induit l'apoptose cellulaire. Avec la sortiline, l'activation de *JNK* et des effecteurs en amont (*p53*, *c-Jun*, *caspases 3, 6 et 9*) entraîne également la mort de la cellule. Quant à son association avec les *Trks*, elle va promouvoir l'activation des voies des MAPK, de la *PLC γ* et de la *PI3K*, stimulant la survie des cellules concernées. (Adaptée de Jiang et al., 2021)

1.2.4.3. $p75^{NTR}$ dans le cancer et le glioblastome

Le récepteur $p75^{NTR}$ est impliqué dans les processus de tumorigenèse d'un large panel de tumeurs comme les cancers du sein, digestifs, de la thyroïde et du mélanome (Blondy et al., 2019; Marchetti et al., 2004; Menter et al., 1994; Rocha et al., 2006; Verbeke et al., 2010). Néanmoins, le rôle tumorigénique de $p75^{NTR}$ a été la plus souvent démontré dans le cadre des métastases cérébrales (Herrmann et al., 1993; Menter et al., 1994; Shonukan et al., 2003). Dans la majeure partie des cas, les cellules tumorales vont détourner le rôle de $p75^{NTR}$ pour stimuler les voies de croissance et de prolifération dépendantes du récepteur. Dans certaines formes de tumeurs, le récepteur va se retrouver associé directement avec l'agressivité de celle-ci. Dans le cas du mélanome, l'expression de $p75^{NTR}$ se retrouve associée avec les CSCs, comme marqueur spécifique (Boiko et al., 2010). Dans ce cas, les cellules exprimant fortement la protéine vont avoir une plus forte tendance à réaliser une TEM et former des métastases au sein de l'organisme. De manière plus générale, il a été démontré qu'une forte expression de $p75^{NTR}$ au sein de certains cancers était associée à une plus faible survie (Biagiotti et al., 2006; Kim et al., 2012; Murillo-

Sauca et al., 2014; J. Tian et al., 2014). Néanmoins, si l'expression du récepteur est fortement liée à l'agressivité et donc aux CSCs, il a été démontré qu'elle est également présente au sein de cellules différenciées (Cheli et al., 2014). A l'inverse, certaines formes de cancers ont une forte expression de p75^{NTR} associée avec une meilleure survie des patients et une plus forte activation des voies pro-apoptotiques (cancer du sein, ostéosarcomes, neuroblastomes, carcinomes tête et cou) (Jin et al., 2007a, 2007b; Khwaja et al., 2006; Tabassum et al., 2003). Ces effets, variables entre les formes de cancers, démontrent une ambivalence du récepteur au sein même du cadre physiopathologique.

Au sein des gliomes, p75^{NTR} joue un rôle protumoral essentiel dans différents processus de gliomagenèse, comme l'invasion, la prolifération ou la TEM (Ahn et al., 2016, p. 75; J. Berghoff et al., 2015; Forsyth et al., 2014; Johnston et al., 2007; Wang et al., 2008). Dans ces tumeurs, le récepteur est donc surexprimé, provoquant une stimulation de ces voies protumorales, avec une stimulation de la migration et de l'invasion (Johnston et al., 2007). Une forte expression du récepteur est retrouvée dans 85 % des cas de GBM étudiés pour seulement 22 % des gliomes de grades II et III, reliant cette surexpression au phénotype agressif (Johnston et al., 2007). Ces liens sont confirmés par l'analyse des bases de données du TCGA, THPA (The Human Protein Atlas) et REMBRANDT (Repository of Molecular Brain Neoplasia Data), au niveau transcriptomique et protéique. Elle corrèle négativement la surexpression de p75^{NTR} à la médiane de survie des patients (Alshehri et al., 2017). Une étude menée au sein de notre laboratoire a montré que la séquestration Golgienne des récepteurs entraîne un effet anti-apoptotique dans la lignée tumorale U87-MG (Giraud et al., 2011). Néanmoins, au sein du contexte tumoral, la lignée tumorale gliale de rat C6 a démontré que la concurrence entre la fixation du BDNF et pro-BDNF était toujours présente, d'où une certaine sensibilité des cellules aux signaux apoptotiques du récepteur (Xiong et al., 2013b, 2013a). Les cellules tumorales dans ce cadre vont activer une boucle autocrine avec du BDNF endogène, pour promouvoir les voies de survie et de prolifération (Ahn et al., 2016; Johnston et al., 2007; Wang et al., 2008). Cette polarisation accrue des voies activées par le récepteur se fait par la prédominance de l'existence de la forme entière et de la forme p75-ICD du récepteur (J. Berghoff et al., 2015). Au sein des CSCs des gliomes, la forte expression du récepteur et de ses ligands va permettre de renforcer ces boucles d'activation protumorale, augmentant l'agressivité tumorale. Il a été démontré que, dans ce cadre, la stimulation de p75^{NTR} par le NGF favorise la libération du fragment intracellulaire et donc la stimulation des processus invasifs (Forsyth et al., 2014). L'action de p75^{NTR} dans ce contexte va se faire également à l'aide des récepteurs Trks. En effet l'inhibition permet indirectement de bloquer l'action protumorale de p75^{NTR} (Wang et al., 2008). L'interconnexion entre les récepteurs et le lien avec l'agressivité tumorale a été démontrée par notre équipe, au sein de lignées de GBM, laissant entrevoir le rôle crucial qu'il pourrait jouer (Pinet et al., 2016). L'ensemble de ces découvertes permettent de souligner le rôle protumoral de p75^{NTR} dans le cadre du GBM, notamment au sein des récepteurs aux neurotrophines. Ce rôle du récepteur, à l'interface entre les voies pro- et antiapoptotiques, rend l'intérêt de son étude d'autant plus important.

1.3. L'implication de l'axe PD-L1 / PD-1 en oncologie

Le système immunitaire fait partie des mécanismes détournés par les tumeurs pour survivre et proliférer hors d'atteinte de l'organisme. Parmi les fonctions de ce système détourné par le GBM, l'immunité à médiation cellulaire est en premier lieu ciblée par les cellules tumorales. Dû à l'isolement particulier du SNC, la manipulation des voies contrôlant cette immunité est primordiale pour la survie de la tumeur ou, au contraire, peut constituer une cible antitumorale efficace, notamment *via* l'axe PD-1 / PD-L1.

1.3.1. Le système immunitaire et l'immunité acquise à médiation cellulaire

Le système immunitaire, chargé de la distinction du soi et du non-soi, permet de reconnaître tant les menaces externes que les menaces internes à l'organisme. L'ensemble des leucocytes et les organes du système lymphoïde vont reconnaître les cellules cancéreuses et les éliminer.

Ce système peut être divisé en immunité innée et immunité acquise. La première va permettre la reconnaissance et l'élimination du non-soi dans un contexte de libération cytokinique. L'ensemble des barrières physiques (peau et muqueuses) et physiologiques (pH, température corporelle, mucus, ...) vont être associée avec les cellules du système immunitaire aspécifique (à opposer aux cellules à reconnaissance spécifique, capables de cibler des pathogènes précis). Ces cellules vont regrouper les granulocytes (basophiles, mastocytes, neutrophiles, éosinophiles), les phagocytes (neutrophiles, cellules dendritiques, macrophages) et les cellules NK. L'ensemble de ce système va permettre de former un premier barrage efficace au sein de l'organisme. Ces cellules immunitaires se mobilisent rapidement, à la suite d'une inflammation, pour éliminer de manière aspécifique les cellules du non-soi sur le site (Gasparri et al., 2017; Olszanski, 2015). La production de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1, IL-6, ...) va réguler la fonction de cette immunité et mettre en place une réponse généralisée si nécessaire (fièvre, production de cortisol, hématopoïèse accrue, ...) (Dunn et al., 2005b, 2005a; Gasparri et al., 2017). Si l'inflammation persiste, une réponse plus lente mais plus spécifique prend le relais, l'immunité acquise.

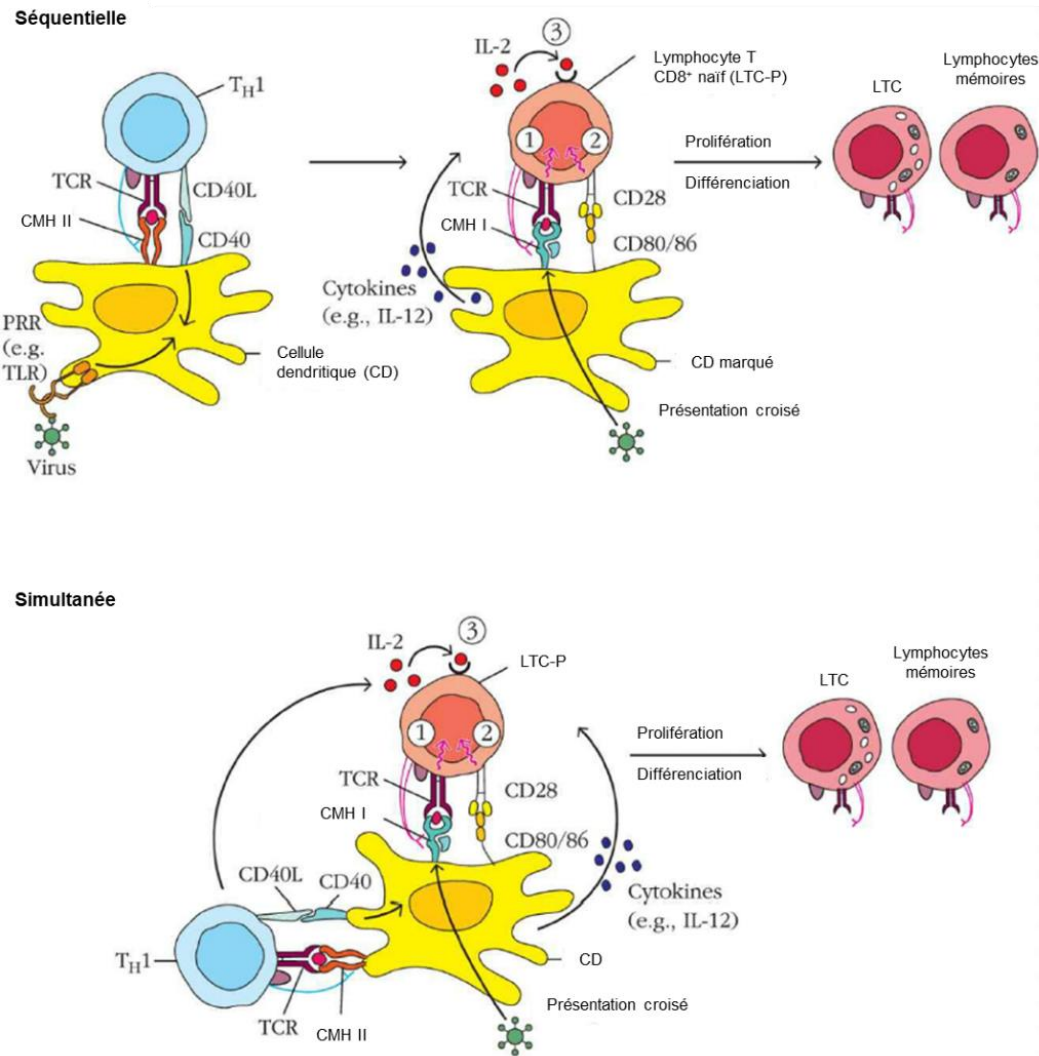


Figure 23 : Activation des effecteurs de l'immunité adaptative à médiation cellulaire

La différenciation d'un lymphocyte T naïf $CD8^+$ (LTC-P) en LTC fonctionnel nécessite une suite d'événements précis. La cellule, ici en présence d'un antigène viral, va réagir avec un complexe CMH I – peptide et des signaux de co-stimulation (CD28 – CD80/86) sur une cellule présentatrice d'antigène (CPA). L'activation des CPA nécessite la complexation avec des lymphocytes T auxiliaires $CD40^+$ (T_H1). L'activation séquentielle nécessite que le T_H1 se fixe auparavant sur la CPA puis que le LTC-P se fixe sur la CPA. L'activation simultanée passe par la fixation concomitante du T_H1 et du LTC-P pour donner la stimulation de la réponse immune des LTC. (Adaptée de Punt et al., 2018)

L'immunité acquise va se mettre en place après la reconnaissance du non-soi, pour une meilleure efficacité de son élimination. Elle regroupe l'immunité acquise à médiation humorale, avec les lymphocytes B (LB) et l'immunité acquise à médiation cellulaire avec les lymphocytes T (LT). Le processus mis en place des 2 côtés de cette immunité est séquentiel pour affiner au mieux la réponse et optimiser la réponse à un antigène précis (Gasparri et al., 2017; Olszanski, 2015). Une des caractéristiques de l'immunité acquise est la formation d'une mémoire immune, pour une reconnaissance ultérieure du non-soi. Dans un premier temps, les cellules sont activées à l'aide des cellules de l'immunité innée. Les cellules dendritiques activées par la reconnaissance et la phagocytose du non-soi vont migrer au

sein des ganglions lymphatiques et permettre la présentation de l'antigène aux lymphocytes. Si les LB vont constituer une défense contre les agresseurs du milieu extracellulaire, les LT vont cibler les menaces cellulaires, que ce soient des cellules modifiées par un agent pathogène (virus, unicellulaires, ...) ou des cellules modifiées cancéreuses.

Les LT répondent à la reconnaissance de peptide du non-soi au travers des CPA (Cellules Présentatrices d'Antigènes). C'est par la reconnaissance de la molécule du CMH présentant un peptide du non-soi que les LT sont activés par contact avec le récepteur TCR, soit par le CMH I pour les LT CD8⁺ (LT cytotoxiques / LTC), soit par le CMH II pour LT CD4⁺ (LT auxiliaires / LTH). Ce sont ces complexes TCR / CD8 ou TCR / CD4 des LT, associés à des protéines de co-stimulation, qui permettent l'activation de cette immunité cellulaire. Si cette co-stimulation est absente, la cellule T va entrer en anergie et ne sera plus en mesure de s'activer même lors de la représentation de l'antigène (Appleman and Boussiotis, 2003; Schwartz et al., 1989). Cette inactivation peut être également obtenue par la présence sur les LT de signaux co-inhibiteurs, intervenant physiologiquement comme checkpoints immunitaires contrôlant ainsi l'auto-immunité (Nishimura et al., 2001, 1999; Tivol et al., 1995; Waterhouse et al., 1995). Parmi ces molécules co-récepteurs, les ligands de la famille B7, exprimés par les CPA, vont avoir un rôle pivot en se liant la famille des récepteurs CD28, formant une superfamille de protéines membranaires et jouant sur la balance activation / anergie (Chambers et al., 2001; Karandikar et al., 1998; Oosterwegel et al., 1999; Salomon and Bluestone, 2001; Sansom, 2000). Dans cette famille, on peut retrouver les ligands et récepteurs suivants (Ahmad Mir et al., 2014; Ni and Dong, 2017) :

Tableau 1 : Liste des protéines de la famille B7-1 et de leurs récepteurs (de la famille CD28 notamment)

Ligands	Récepteurs	Ligands	Récepteurs
B7-1 (CD80)	CD28, CTLA-4, PD-L1	B7-H3 (CD276)	?
B7-2 (CD86)	CD28, CTLA-4	B7-H4 (B7S1)	?
B7-DC (CD273, PD-L2)	PD-1	B7-H5 (PD-1H)	?
B7-H1 (CD274, PD-L1)	PD-1	B7-H6 (NCR3LG1)	?
B7-H2 (CD275, B7RP1)	ICOS	B7-H7 (HHHLA2)	?

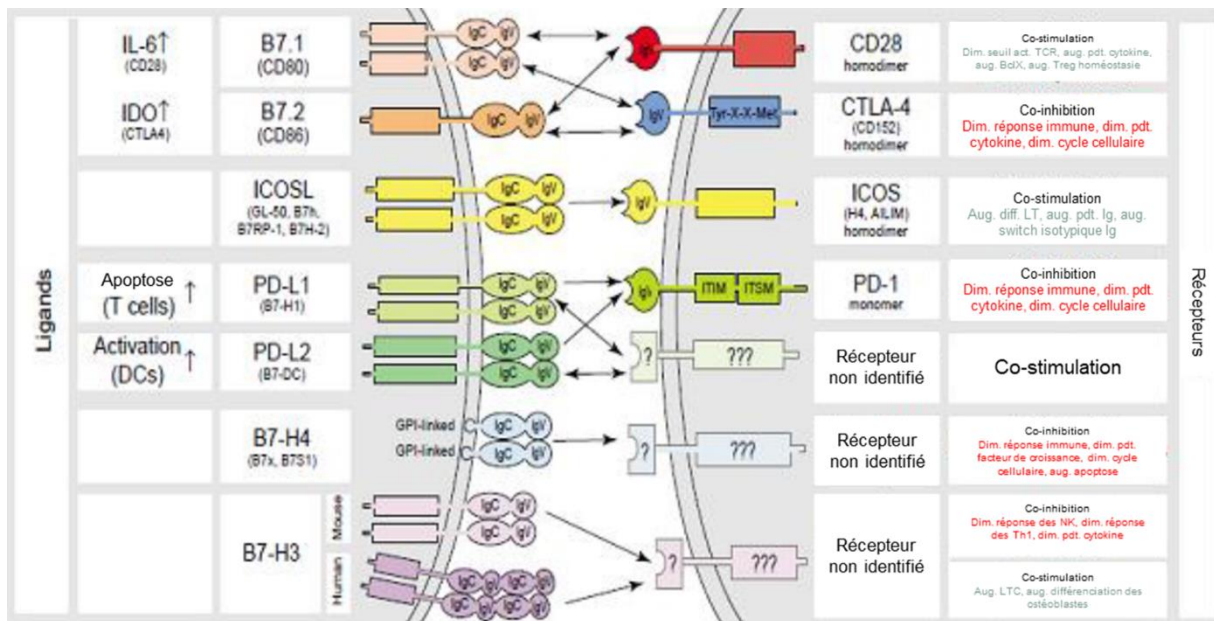


Figure 24 : Représentation schématique des interactions entre les ligands de la famille B7 et les récepteurs de la famille CD28.

Les membres de la famille des ligands B7 vont agir sur les récepteurs de la famille CD28 au niveau du système immunitaire (lymphocytes B/T/NK), avec des effets variables sur la balance inhibition / stimulation, lors de la mise en place de la réponse immunitaire. IgC : domaine constant des immunoglobulines ; IgV : domaine variable des immunoglobulines ; ITIM : Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif ; ITSM : Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif ; Tyr-X-X-Met : motif Tyrosine-X-X-Méthionine (Adaptée de Ahmad Mir et al., 2014)

Cette balance repose sur l'action activatrice du CD28 et l'action inhibitrice du CTLA-4. Ces protéines vont partager une structure commune d'une protéine transmembranaire de type I (unique passage transmembranaire, extrémités N-ter extracellulaire et C-ter cytosolique), avec un domaine Ig variable (IgV) suivi d'un domaine Ig constant (IgC) (Ahmad Mir et al., 2014). C'est dans ce cadre que fut décrit l'axe PD-1 / PD-L1, agissant sur l'inactivation des LT notamment dans le contexte d'échappement immunitaire des cancers (Francisco et al., 2010; Schildberg et al., 2016).

1.3.2. PD-1 / PD-L1 et l'immunité acquise à médiation cellulaire

En 1992, PD-1, une protéine de 299 acides aminés présente à la surface des LT, a été découverte en lien avec la promotion de l'apoptose (Agata et al., 1996; Chemnitz et al., 2004; Ishida et al., 1992; Kinter et al., 2008; Terawaki et al., 2011). Bien que sa surexpression n'induit pas une apoptose accrue, son inhibition a pu être reliée à l'apparition de maladies auto-immunes. Elle est également reliée à la maturation des LT et à leur activation comme régulateur négatif (Agata et al., 1996; Nishimura et al., 2001). En 1999, une protéine homologue à B7-1 et B7-2 appelée B7-H1 a été découverte d'abord comme co-récepteur activant les LT au contact (Dong et al., 1999, p. 1) puis comme un des ligands de PD-1 renommée alors PD-L1 (ou *Pdcd11g1* ou CD274). On trouve également un deuxième ligand appelé PD-L2 (ou *Pdcd11g2* ou CD273) (Freeman et al., 2000; Latchman et al., 2001).

PD-L1 est exprimée dans les LT, les LB, les cellules dendritiques, les cellules souches mésenchymateuses et les mastocytes (Keir et al., 2008; Nishimura et al., 1996; Yamazaki et al., 2002) et PD-1 dans les LT CD4+ et CD8+ activés (également dans les LB, les NK, les cellules dendritiques et les monocytes). PD-L1 est une glycoprotéine transmembranaire de type I de 290 acides aminés, avec un domaine IgC et un domaine IgV, de structures proches des autres membres de la famille B7 (40 % avec PD-L2, 20 % avec B7-1 et B7-2) (Lin et al., 2008; Zhang et al., 2004). Son expression dans les monocytes est sous la dépendance de l'IFN- γ et de l'IL-10 (Selenko-Gebauer et al., 2003). Il a également été montré que l'expression de PD-L1 peut être induite dans les LT par la présence d'IL-2, IL-7 ou IL-15, dans les LB par l'IL-21 (Liang et al., 2003). PD-L1 est également largement exprimée hors systèmes sanguin et immunitaire (astrocytes, neurones, poumons, îlots pancréatiques, ...) (Keir et al., 2008). Hors du système immunitaire, l'IFN- γ va également pouvoir induire l'expression de PD-L1 (Eppihimer et al., 2002). Plus largement, au sein des cellules, l'activation des voies oncogéniques PI3K / Akt et STAT3 vont permettre la production de PD-L1 au sein des CPA (Fujita et al., 2015; Marzec et al., 2008; Parsa et al., 2007). Accessoirement, les facteurs MyD88, TRAF6, MEK et JAK2 sont également nécessaires pour le contrôle de l'expression du ligand de PD-1 (Lee et al., 2006; Liu et al., 2007; Parsa et al., 2007).

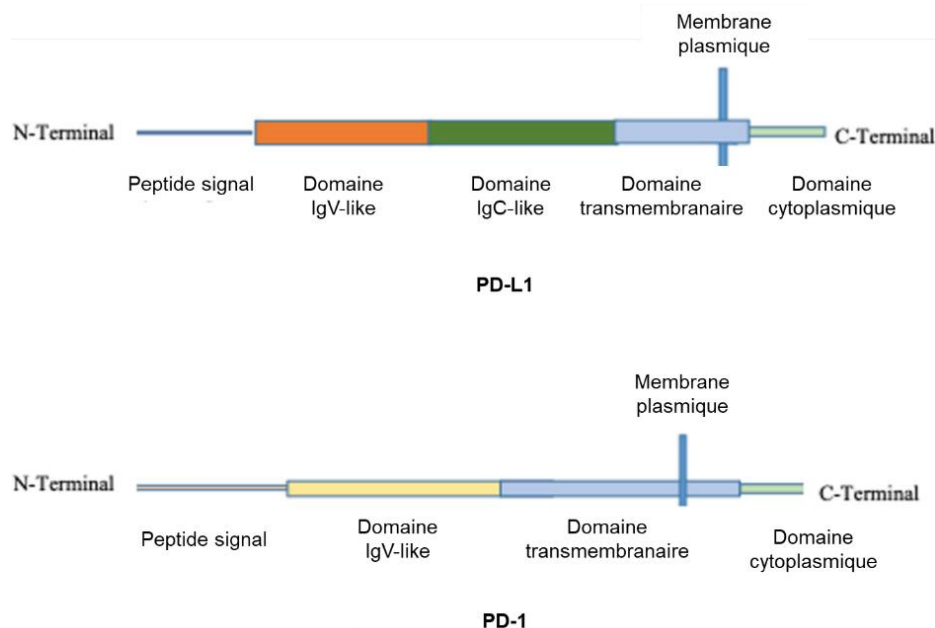


Figure 25 : Structure protéique des protéines PD-1 et PD-L1

Les protéines PD-1 et PD-L1 sont toutes deux des protéines transmembranaires, interagissant l'une avec l'autre. Leur structure est relativement proche, PD-L1 présentant un domaine IgC-like (domaine constant des immunoglobulines / Ig) et un domaine IgV-like (domaine variable des Ig) contre un seul domaine IgV-like en extracellulaire pour PD-1. (Adaptée de Akinleye and Rasool, 2019)

Les effets induits par l'interaction PD-1 / PD-L1 sont liés à l'anergie lymphocytaire. En se liant au TCR des LT, PD-1 activé va contrôler l'activité des cellules en jouant sur leur métabolisme glucidique, la production cytokinique et donc plus largement sur leur prolifération et leur survie (Freeman et al., 2000; Latchman et al., 2001). Physiologiquement, les domaines ITIM (Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif) et ITSM

(Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif) vont permettre la phosphorylation du co-récepteur et sa liaison avec les protéines SHP-1 et SHP-2. Ces protéines vont, elles, déphosphoryler les premiers effecteurs activés par le complexe TCR / CD28, bloquant leur action (Chemnitz et al., 2004; Okazaki et al., 2001). Précisément, la liaison de SHP-2 à l'Y248 phosphorylé de l'ITSM va bloquer l'activation de la voie PI3K / Akt dans les LT (Chemnitz et al., 2004; Parry et al., 2005). Par le même recrutement, dans les LB, le co-récepteur va pouvoir inhiber la voie PLC γ et Erk (Okazaki et al., 2001). De son côté, l'effecteur Erk va également être inhibé de manière réversible (*via* IL-2, IL-7 et IL-15) par le co-récepteur et toucher les processus de survie et de prolifération (Bennett et al., 2003). Finalement, c'est par l'inhibition des voies PI3K / Akt et Ras / Erk que PD-1, activé par PD-L1 notamment, peut induire l'anergie des LT (Parry et al., 2005; Patsoukis et al., 2012). Néanmoins, il est possible d'outrepasser les effets inhibiteurs de l'axe PD-1 / PD-L1 par l'activation du co-récepteur CD28 exprimé sur les LT ou *via* les effets de l'IL-2 (Carter et al., 2002; Freeman et al., 2000).

Si les LT immatures sont des cellules non-cyclantes en phase G₀, le passage à des cellules cyclantes est permis grâce à l'ubiquitination de p27^{kip1}, inhibiteur de Cdk2, et donc à sa dégradation (Appleman et al., 2002, 2000; Boonen et al., 1999). Dans ce cas, l'activation du complexe TCR / CD28 permet la production de Skp2, un ligand de l'ubiquitine ligase SCF^{skp2} et donc la dégradation de p27^{kip1} mais seulement lors de l'activation combinée des voies PI3K et Ras (Appleman et al., 2006; Carrano et al., 1999). Les effets de PD-1 vont empêcher l'expression de SCF^{skp2} et donc la levée d'inhibition de Cdk2, empêchant les LT de progresser en phase S (Patsoukis et al., 2012). L'inhibition de Cdk2 a également pour effet i) d'inhiber l'activation de Rb et donc son activité de remodelage chromatinien ; ii) d'inhiber l'activité de Smad3 ce qui entraîne l'accumulation de p15^{INK4 β} (inhibiteur des Cdk de phase G₁) et la sous-expression de Cdc25A (activateur des Cdk) (Boutros et al., 2006; Matsuura et al., 2004; Patsoukis et al., 2012). L'inhibition de Cdk2 et de Smad3 a également pour effet de polariser l'activation des LT immatures vers des LT auxiliaires, par l'activation de voies TGF- β -dépendantes (Francisco et al., 2009; Patsoukis et al., 2012). Le blocage de PD-L1 dans ce contexte a pu démontrer, à contrario, une inhibition de la formation de ces LT auxiliaires (Francisco et al., 2010, 2009; Haxhinasto et al., 2008; Strauss et al., 2007). Comme énoncés précédemment, les signaux issus de CD28 permettent de faire basculer le métabolisme énergétique des cellules d'une phosphorylation oxydative à une glycolyse, mieux adaptée aux besoins énergétiques du LTC (LT cytotoxique) activé (Chang et al., 2013; Frauwirth et al., 2002; Frauwirth and Thompson, 2004; Rathmell et al., 2000; Wieman et al., 2007). Pour les LTH (LT auxiliaires ou *helper*), la transition énergétique se fait vers la β -oxydation des acides gras (Pearce et al., 2009). Comme pour l'activation des voies du TGF- β , l'axe PD-1 / PD-L1 va favoriser la transition vers la voie de la β -oxydation et la production de espèces oxydatives au sein des LT. En modifiant les taux d'acidification de la cellule, cette activation va avoir pour fonction d'inhiber la différenciation vers les LTC (dépendante d'un *switch* métabolique vers la glycolyse) et de stimuler dans un second temps l'apoptose des cellules (Patsoukis et al., 2015; Tkachev et al., 2015).

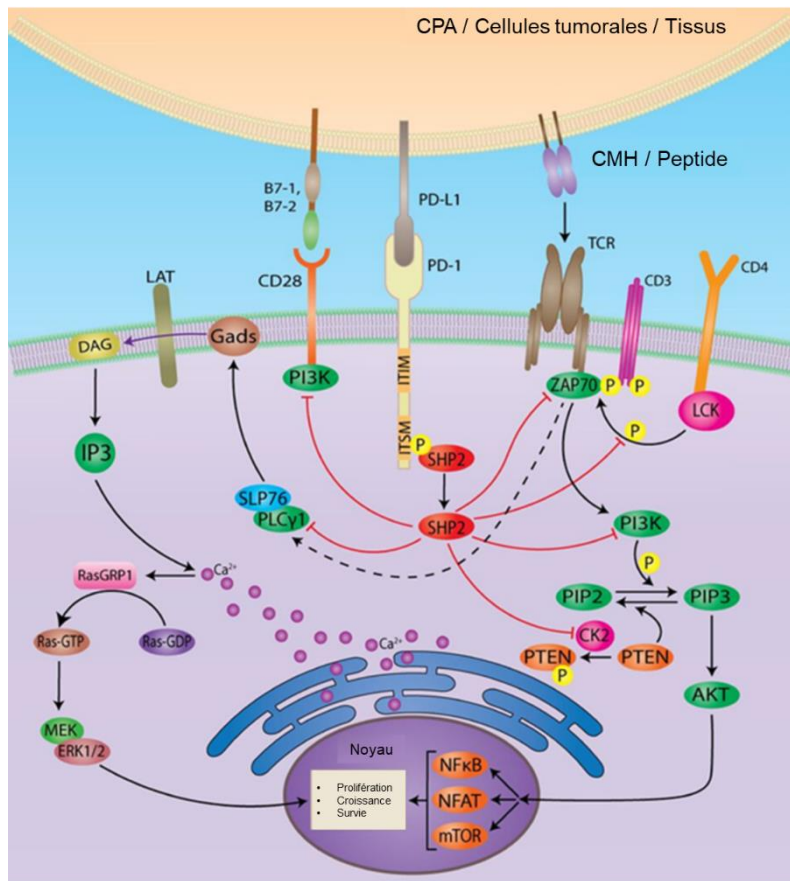


Figure 26 : Voies de signalisation PD-1 / PD-L1

Le récepteur PD-1 possède un domaine ITIM (Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibitory Motif) et ITSM (Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif) capables notamment de lier SHP2. Le recrutement de cette protéine va permettre l'inhibition de ZAP70, cible du TCR activé et plus largement celle de la voie PI3K-Akt et de la voie Ras-Erk. L'inhibition simultanée de ces voies va provoquer le blocage des voies de prolifération, de croissance et de survie dans les lymphocytes T ciblés par cette voie. Les LT vont devenir moins proliférants, perdant leur activité et adoptant un phénotype anergique et dysfonctionnel. CPA : cellule présentatrice d'antigène ; mTOR : mammalian target of rapamycin ; NF- κ B : nuclear factor κ B ; PD-1 : programmed cell death protein 1 ; PD-L1 : programmed death-ligand 1 ; PTEN : phosphatase and tensin homolog ; SHP : Src homology region 2 domain-containing phosphatase ; TCR : T-cell receptor. (Adaptée de Salmaninejad et al., 2019)

Ainsi, les fonctions immunes de l'axe PD-1 / PD-L1 vont permettre d'éteindre la réaction immunitaire et d'éviter un épuisement de l'organisme ainsi que la survenue éventuelle de maladies auto-immunes. Ce fonctionnement se met en place notamment lors d'infections virales dans un contexte normal d'arrêt de la réponse immunitaire mais également dans le cadre du SIDA causé par le VIH (Blackburn et al., 2009; Buggert et al., 2014; Urbani et al., 2006). L'expression de PD-L1 dans de nombreux tissus permet, de plus, l'inhibition de réponses non désirées comme par exemple dans le cadre de greffes. En effet, il est possible de relier l'expression de PD-L1 à la survenue d'un rejet de greffons chez les patients ou à l'apparition de maladies auto-immunes tel que le diabète de type I (Blazar et al., 2003; Liu et al., 2014; Saha et al., 2016).

Récemment, il a été également démontré que PD-L1 pourrait se lier au CD80, lors de l'interaction entre les CPA et les LT, provoquant un signal inhibiteur au sein de ces cellules

immunitaires (Butte et al., 2007). Néanmoins, son impact dans l'immunotolérance n'est pas encore connu dans ce cadre.

Les tumeurs agressives vont le plus souvent porter une altération de la voie PD-1 / PD-L1 ce qui perturbe ses effets immunomodulateurs et favorise l'immunotolérance de la tumeur et donc son développement.

1.3.3. Les fonctions de PD-L1 dans le cancer

La présence de PD-L1 dans les cellules tumorales a rapidement conduit à l'étude du rôle de cette protéine et de son récepteur PD-1 dans le développement tumoral ainsi que de leur implication dans la survie des cellules cancéreuses (Latchman et al., 2001). Une corrélation entre l'expression de PD-L1 (et celle de PD-L2) et un mauvais pronostic a été retrouvée dans de nombreux cas de cancers solides (Hamanishi et al., 2007; Hino et al., 2010; Nakanishi et al., 2007; Nomi et al., 2007; Ohigashi et al., 2005; Thompson et al., 2004; Wu et al., 2006). Cependant, seules certaines mutations oncogéniques sont associées à une surexpression de PD-L1 dans les cellules tumorales (Marzec et al., 2008). Une inflammation locale, causée notamment par la présence de la tumeur et entraînant la libération d'IFN- γ par les LT activés, permet d'induire également l'expression de PD-L1 dans les cellules tumorales et environnantes (Taube et al., 2012). PD-L1 est exprimée par les cellules du microenvironnement tumoral (macrophages, cellules dendritiques, fibroblastes, cellules endothéliales, cellules immunitaires infiltrantes ...), sa forte expression étant là aussi reliée à un mauvais pronostic mais également à une bonne réponse aux immunothérapies (Herbst et al., 2014; Robert et al., 2015a). L'activation de l'axe PD-1 / PD-L1 conduit à l'activation des voies de survie dans les cellules exprimant PD-L1 et permet d'inhiber la cytotoxicité des LT (Azuma et al., 2008; Dong et al., 2002). Par la suite, les LT vont subir une polarisation vers des LTH ou deviennent des LT anergisés (Ahmadzadeh et al., 2009). Dans ce cadre oncogénique, des voies de signalisation inflammatoires, passant par l'IL-4, l'IL-10, le VEGF, le GCSF peuvent également induire l'expression de PD-L1. Ces voies permettent de canaliser les effets du ligand au centre de l'inflammation tumorale, formant une boucle amplificatrice de l'immunotolérance, signe de ce détournement oncogénique (He et al., 2015).

La présence accrue de PD-L1 au sein de la tumeur ne se limite pas aux cellules cancéreuses ni à celles du microenvironnement. Il a été démontré que la protéine, utilisée alors comme cargo, peut être libérée dans le milieu extracellulaire, soit sous une forme soluble, soit au sein d'exosomes (des vésicules extracellulaires de communication). Des variants d'épissage de PD-L1 dépourvus de domaine transmembranaire donnent les formes sécrétées de PD-L1 (sPD-L1) capables d'induire l'anergie des LT *in vitro* (Okuma et al., 2017; Zhou et al., 2017). L'apparition de ces formes est stimulée par la présence de l'IFN- α , de l'IFN- γ et du TNF- α , plaçant ainsi sPD-L1 au centre des mêmes mécanismes d'activation que ceux décrits précédemment pour l'axe PD-1 / PD-L1 (Zhou et al., 2017). Dans le cadre du cancer bronchique non à petites cellules, les grades les plus élevés présentent une plus forte concentration de sPD-L1 sérique. Elle induit l'immunotolérance des LT, une réponse réduite aux anti-PD-1 et est associée à une faible survie des patients (Gong et al., 2019; Okuma et al., 2018, 2017). Le transfert de PD-L1 par des exosomes a également été

démontré comme étant impliqué dans la progression tumorale et l'immunotolérance de divers autres modèles cancéreux (Chen et al., 2018; Poggio et al., 2019; Theodoraki et al., 2018; Yang et al., 2018). L'importance de ce transfert de PD-L1 semble également en lien avec le grade de la tumeur, corrélant celui-ci à son agressivité. Ainsi, le blocage de la production de ces exosomes, dépendante également de l'IFN- γ , permet de réduire d'autant plus leurs effets, que les actions cellule – cellule et cellule – exosome de PD-L1 seront diminuées (Chen et al., 2018). L'effet de l'immunotolérance des exosomes PD-L1⁺ se fait également à distance, jusqu'aux ganglions lymphatiques, permettant de démontrer les impacts systémiques de ces vésicules et leur importance (Poggio et al., 2019).

Les expressions de PD-1 et PD-L1 sont donc utilisés à des fins pronostiques dans de nombreux cancers. Une forte expression de PD-L1 a ainsi pu être associée à un mauvais pronostic, voire à un phénotype plus indifférencié dans les cancers bronchiques non à petites cellules (Iacovelli et al., 2016; Massi et al., 2014; A. Wang et al., 2015; Wu et al., 2006). Sa surexpression a été également reliée à l'agressivité tumorale, à savoir une plus grande taille de la tumeur et à son potentiel invasif (Massi et al., 2014; Wu et al., 2006). Dans de rares cas, l'inverse a pu être observé, notamment dans le cancer du sein, le carcinome ovarien, grâce à une surreprésentation des LTC dans ces tumeurs (Baptista et al., 2016; Darb-Esfahani et al., 2016; Sabatier et al., 2015). PD-1 et PD-L1 peuvent servir de facteurs prédictifs, une forte expression de PD-L1 maximisant les effets d'un traitement contre cet axe (Garon et al., 2015; Topalian et al., 2012). Paradoxalement, une bonne réponse aux anti-PD-L1 est obtenue dans de rares cas contre des tumeurs PD-L1⁺, exemples des tumeurs bronchiques non à petites cellules (Carbognin et al., 2015).

L'approche des immunothérapies décrite dans la partie I.1.5.4 pour l'axe PD-1 / PD-L1 relatait l'existence de 3 anticorps bloquants de PD-1 (nivolumab, pembrolizumab et pidilizumab) et 3 anticorps pour PD-L1 (avelumab, atezolizumab et durvalumab). Ils sont utilisés comme agents thérapeutiques ou sont en cours de validation pour divers cancers (Guan et al., 2017; Qin et al., 2019). Les premiers essais cliniques bloquant l'axe PD-1 / PD-L1 furent menés avec le nivolumab, donnant de bons résultats sur des tumeurs solides (mélanome, carcinome à cellules rénales, cancer bronchique non à petites cellules), avec une régression tumorale et un bénéfice de survie dépassant un an dans environ 20 % des cas (Topalian et al., 2012). Pour le pembrolizumab, dans le cas du mélanome et du cancer bronchique non à petites cellules, les mêmes résultats furent obtenus dans 33,7 % et 19,4 % des patients traités (Garon et al., 2015; Robert et al., 2015b). Dans le cas de PD-L1, l'atezolizumab et le durvalumab ont démontré également un effet bénéfique pour la survie des patients et la régression tumorale (Antonia et al., 2016; McDermott et al., 2016; Rosenberg et al., 2016; Stewart et al., 2015). Les effets de ces immunothérapies ont pu être améliorés par combinaisons avec d'autres inhibiteurs des voies de survie, d'autres checkpoints immuns, des chimiothérapies ou des vaccins tumoraux (Guan et al., 2017). Les effets secondaires de ces immunothérapies sont pour la plupart du temps limités à de la fatigue et de la fièvre, allant jusqu'à des événements plus graves dans 7 à 12 % des cas (Guan et al., 2017).

Ainsi, dans le cadre du cancer, l'axe PD-1 / PD-L1 va être détourné notamment pour son rôle d'immunotolérance et d'extinction de la réponse immunitaire au sein des tumeurs et

de leurs microenvironnements. C'est du fait de ces effets dans divers cancers que l'expression de cet axe et de son implication dans l'agressivité du GBM ont été recherchée, toujours dans l'optique de mieux le comprendre.

1.3.4. L'implication de PD-L1 dans le glioblastome

De nombreuses explorations du checkpoint immunitaire PD-1 / PD-L1 ont été réalisées dans le GBM. Tout comme d'autres cellules cancéreuses, celles du GBM expriment fortement PD-L1 ce qui impacte la réponse immune au contact de ces cellules tumorales (A. S. Berghoff et al., 2015; Liu et al., 2016; Nduom et al., 2016; Wainwright et al., 2014). La surexpression des deux partenaires dans le GBM va présenter 6,21 mois de survie moyenne en moins par rapport aux patients présentant une expression plus faible ; ce résultat est néanmoins nuancé et contesté (Nduom et al., 2016; Xue et al., 2017a).

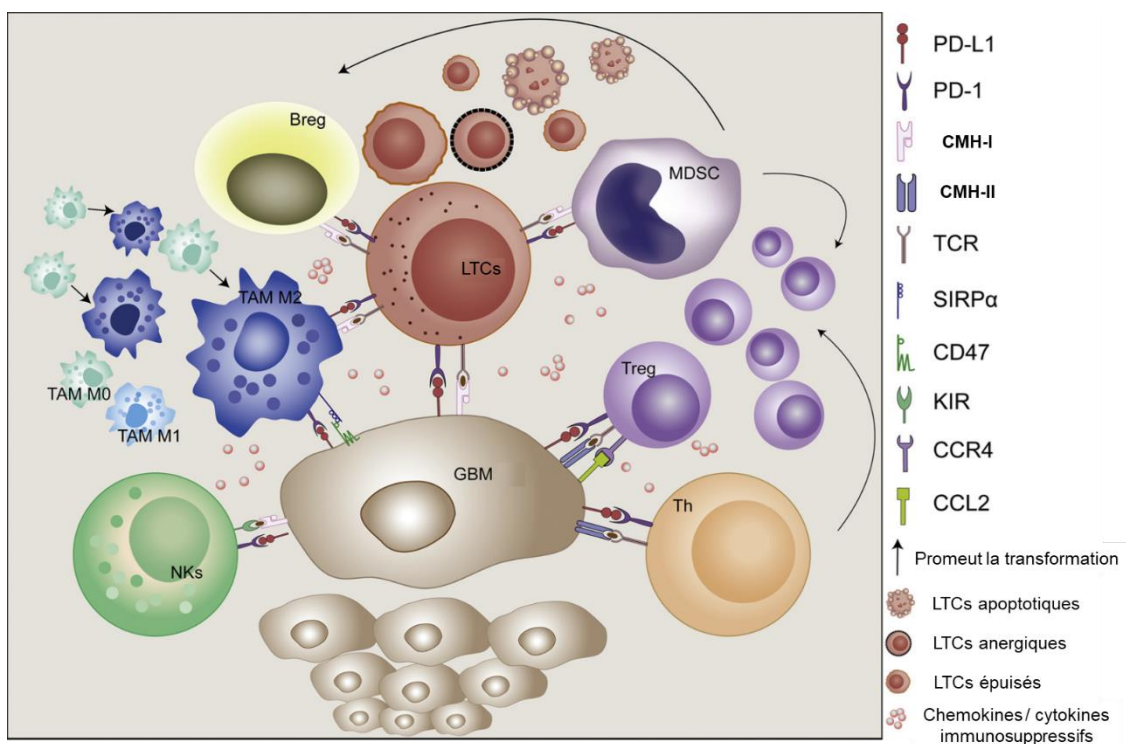


Figure 27 : Effets immunosuppresseurs de PD-L1 dans le microenvironnement du GBM

La voie PD-1 / PD-L1 va activer les réactions en chaînes d'anergie / apoptose / immunotolérance. Lorsque les cellules tumorales se lient aux cellules immunitaires reconnaissant le CMH-I/II, PD-L1 exprimé à la surface des cellules tumorales va se lier au PD-1 des cellules immunitaires. Ces cellules seront « éteintes » afin de créer un environnement pro-tumoral capable de soutenir la croissance du GBM. Cette interaction va induire l'anergie, l'épuisement et l'apoptose des lymphocytes T cytotoxiques (LTCs), les cellules myéloïdes suppressives (MDSCs) vont réguler l'activité des LBreg et LTreg en combinaison avec la voie PD-1 / PD-L1 des LTCs. (Adaptée de Shu and Li, 2020)

La présence de PD-L1 a été démontrée comme étant variable dans de nombreuses lignées et dans les tumeurs de gliomes étudiées, avec une présence pour environ 45 % des échantillons étudiés (Xue et al., 2017a). De plus, cette variabilité entre les tumeurs s'exprime au travers des marquages obtenus par l'IHC : modèle diffus ou fibrillaire et modèle membranaire. Aucune différence n'a pu être observée entre les modèles d'expression et les caractéristiques tumorales des GBM étudiés (A. S. Berghoff et al., 2015). Néanmoins, en

mutations des protéines des voies PI3K, JAK / STAT3, et EGFR sont reliées à la surexpression de la protéine (Akabay et al., 2013; Lastwika et al., 2016; Marzec et al., 2008). De plus, les miRs vont permettre cette surexpression, notamment les miR-34a et miR-200 (Chen et al., 2014; X. Wang et al., 2015). Tout comme au sein d'autres tumeurs, l'IFN- γ joue le rôle d'inducteur de l'expression transcriptomique et protéique de PD-L1 (Avril et al., 2010; Wintterle et al., 2003). Le contexte tumoral, par le biais de l'hypoxie et de l'HIF-1, a également un impact sur l'induction de sa production (Noman et al., 2014).

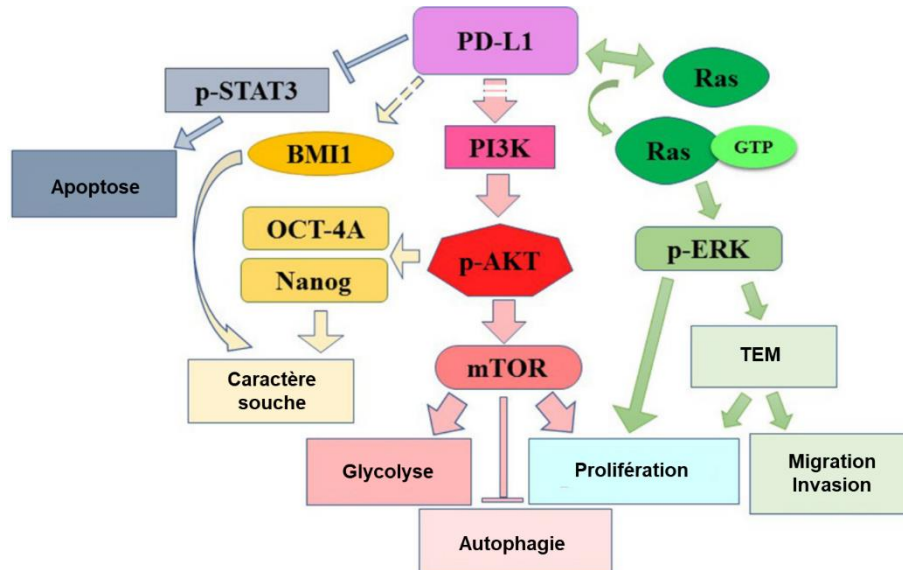


Figure 29 : Effets intrinsèques de l'expression de PD-L1 dans les cellules du GBM

La stimulation de l'expression du ligand PD-L1 va induire l'activation de la voie PI3K-Akt, stimulant le métabolisme glycolytique, la prolifération et inhibant l'autophagie. Elle inhibe l'apoptose via celle de STAT3. Par la voie Ras-Erk, PD-L1 va activer la prolifération, la migration et l'invasion tumorale au travers de la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM). Il lui est même possible de stimuler la transition phénotypique vers les cellules souches, par BMI1, Oct4 et Nanog. (Liens encore inconnus : flèches hachurées ; liens connus : flèches pleines) (Adaptée de Chen et al., 2019)

Malheureusement, bien que ces deux protéines aient des impacts comparables à ceux décrits pour d'autres tumeurs, l'efficacité des immunothérapies complémentaires est encore très limitée, n'offrant qu'une faible réponse tumorale et un bénéfice de survie limité. Si l'impact de PD-L1 a été démontré comme critique sur la survie des patients, les études menées sur des tumeurs de GBM ont donné des résultats ambigus (A. S. Berghoff et al., 2015; Han et al., 2017, p. 1; Nduom et al., 2016; Topalian et al., 2012; Zeng et al., 2016). Néanmoins, ces études ont démontré que l'action de PD-L1 sur la tumeur était dépendante d'autres protéines à fonction pro-tumorale, nécessitant l'étude de PD-L1 parmi d'autres facteurs d'agressivité tumorale.

cliniques sont en cours de réalisation, là encore couplant des anti-PD-1 avec d'autres anticorps bloquants, mais leurs phases trop précoces ne permettent pas d'estimer efficacement les bénéfices éventuels. On peut noter l'utilisation d'anti-TIM-3 (inhibiteur à l'origine d'inhibitions globales de LT dans, NCT02817633), d'anti-LAG-3 (rôle similaire à PD-1 mais fixe le CMH II, NCT03250832), d'anti-IDO (polarisation des LT en LTH *via* la production de tryptophane, NCT03343613), d'anti-4-1BB (co-stimulateur des LT, NCT02179918), d'anti-OX40 (co-stimulateur présent dans les LTH, pouvant inverser la polarisation forcée des LT) (Croft et al., 2015b; Han et al., 2014; Li et al., 2017; Messenheimer et al., 2017; Munks et al., 2004; Munn et al., 2005; Prendergast et al., 2017; Shindo et al., 2015; Tolcher et al., 2017).

Tableau 2 : Essais cliniques des inhibiteurs des points de contrôle PD-1/PD-L1 dans le glioblastome

Type d'essai	N° d'essai	Nbre de patients	Bras	Caractéristiques	Cible	Phase	Résultats
GBM néoadjuvant	NCT 02550249	29	Nivo + chirurgie	GBM primaire et secondaire	PD-1	II	
	NCT 02852655	35	Pem + chirurgie + Pem	GBM récurrent / progressif	PD-1	NA	
	NCT 02337686	18	Pem + chirurgie + Pem	GBM récurrent	PD-1	II	
GBM nouvellement diagnostiqué	NCT 02667587	550	Nivo + RT vs TMZ + RT	<i>MGMT</i> non méthylé	PD-1	III	
	NCT 02617589	693	Nivo+RT+TMZ vs RT+TMZ	<i>MGMT</i> méthylé	PD-1	II	
	NCT 03047473	30	Ave + RT + TMZ		PD-L1	II	
	NCT 02530502	50	Pem + RT + TMZ		PD-1	I/II	
	NCT 02311920	32	Bras I : TMZ + Ipi Bras II : TMZ + Nivo Bras III : TMZ + Nivo + Ipi		PD-1 / CTLA-4	I	
	NCT 03347097	40	LT PD-1-PIK		PD-1	I	
GBM récurrent	NCT 02658279	44	Pem	Phénotype hypermutateur	PD-1	NA	
	NCT 02968940	43	Ave + HFRT	GBM <i>IDH</i> -mut		II	
	NCT 02311582	58	Pem + MLA vs Pem		PD-1	I	
	NCT 02430363	58	Pem vs inhibiteurs de la voie PI3K/Akt		PD-1	I/II	
	NCT 02054806	26	Pem	Expression de PD-L1 ≥ 1 %	PD-1	I	mPFS : 2.8 m ; mOS : 14.4 m ; G3-4 TRAEs : 15.4%
	NCT 02336165	159	Bras A : MEDI4736 + RT ; Bras B : MEDI4736 ; Bras B2 : MEDI4736 + Bev (10 mg/Kg) ; Bras B3 : MEDI4736 + Bev (3 mg/Kg) ; Bras C : MEDI4736 + Bev	Bras A : <i>MGMT</i> non méthylé ; Bras B : Bev-naïf ; Bras B2 : Bev-naïf ; Bras B3 : Bev-naïf ; Bras C : Bev-résistant	PD-L1 / VEGF	II	Bras B : 6 m-PFS : 20% ; 12 m-OS : 44.4% ; G3-4 TRAEs : 9.7% ; Bras C : OS ≥ 22sem : 36% ; PFS ≥ 8sem : 50% ; G3-4 TRAEs : 4.5%
	NCT 02337491	80	Pem + Bev vs Pem		PD-L1 / VEGF	II	Innocuité ; mOS : 6.8 m
	NCT 0279488	36	Dur vs Tre + Dur		PD-L1 / CTLA-4	II	
	NCT 02017717	369 40	Nivo vs Bev Nivo vs Nivo+Ipi (Nivo3mg = 10 ; Nivo1mg + Ipi3mg = 10 ; Nivo3mg + Ipi1mg = 20)		PD-1 / CTLA-4 / VEGF	III I	mPFS : 1.5 m vs 3.5 m ; mOS : 9.8 m vs 10.0 m ; ORR : 8% vs 23% ; G3-4 TRAEs 18% vs 15% ; Innocuité, Nivo3mg mieux toléré, 12 m-OS : Nivo3mg : 40% ; Nivo1mg + Ipi3mg : 30% ; Nivo3mg + Ipi1mg : 35%

Tableau 2 (suite) :

Type d'essai	N° d'essai	Nbre de patients	Bras	Caractéristiques	Cible	Phase	Résultats
GBM récurrent	NCT 0265898	100	Bras A1 : Anti-LAG-3 ; Bras A2 : Anti-CD137 ; Bras B1 : Anti-LAG3 + Nivo ; Arm B2 : Anti-CD137 + Nivo		PD-1 / LAG-3 / CD137	I	
	NCT 0233591	175	Var + Nivo		PD-1 / CD27	II	
	NCT 0293784	20	LT anti-PD-L1 CSR		PD-L1	I	
Virothérapie oncolytique	NCT 0279840	48	DNX-2401+ Pem	GBM récurrent et gliosarcome	PD-1	II	
Radiothérapie	NCT 02648633	4	Valproate + SRS + Nivo	GBM récurrent	PD-1	I	
	NCT 02313272	23	HFSRT + Pem + Bev	Gliomes de grade III / IV	PD-1 / VEGF	I	6 m-OS : 94% ; 12 m-OS : 64% ; ORR : 53%
	NCT 0282993	26	HFSRT + Ipi + Nivo + Bev	Gliomes de grade III / IV récurrent	PD-1 / CTLA-4 / VEGF	I	
	NCT 02866747	62 20	HFSRT vs HFSRT + Dur Pem / Nivo + RT	GBM récurrent Gliomes de grade III / IV récurrent	PD-L1 PD-1	I / II NA	NA mPFS : 4 m ; mOS : 10 m ; ORR : 35%
Vaccin tumoral	NCT 02529072	7	Bras A : Nivo+chir.+Nivo/vaccin DC ; Bras B : Nivo/vaccin DC+chir.+Nivo/vaccin DC	Gliomes de grade III / IV récurrent	PD-1	I	
	NCT 03422094	30	NeoVax + Nivo/NeoVax + Nivo + Ipi	GBM nouvellement diagnostiqué	PD-1	I	
	NCT 03018288	108	RT + TMZ + Pem + HSPPC-96 vs RT + TMZ + Pem	GBM nouvellement diagnostiqué	PD-1	II	
	NCT 03014804	30	CVax-L vs DCVax-L + Nivo	GBM récurrent	PD-1	II	
anti-CSF-1R	NCT 0252601	295	Cabiralizumab + Nivo	GBM	PD-1	I	

Nivo : Nivolumab, anticorps anti-PD-1 ; Pem : Pembrolizumab, anticorps anti-PD-1 ; TMZ : Temozolomide ; Ave : Avelumab, anticorps anti-PD-L1 ; LT PD-1-PIK T cells : lymphocytes T tueurs pluripotents exprimant l'anticorps anti-PD-1 ; HFRT : Radiothérapie hypofractionnée ; IDH : Isocitrate Déshydrogénase ; MLA : Ablation laser guidée par IRM; Ipi : Ipilimumab, anticorps anti-CTLA-4 ; VEGF : Vascular endothelial growth factor ; Tre : Trémélimumab, anticorps anti-CTLA-4 ; Dur : Durvalumab, anticorps anti-PD-L1 ; Var : Varlilumab, anticorps anti-CD27 ; HFSRT : Radiothérapie hypofractionnée stéréotaxique ; LT anti-PD-L1 CSR : LT autologues à récepteurs chimériques dirigés vers PD-L1 ; DNX-2401A : adénovirus oncolytique génétiquement modifié ; DC : Cellule dendritique ; HSPPC-96a : vaccin fabriqué à partir de la tumeur fraîche prélevée au moment de la chirurgie ; DCVax-L : vaccin autologue de DC pulsé avec l'antigène du lysat tumoral ; Cabiralizumab : anticorps anti-CSF-1R. (Adaptée de Wang et al., 2019)

Du fait de sa présence accrue au sein des GBM, PD-L1 constitue un élément majeur de la tumorigenèse mais également de la tolérance immunitaire, au même titre que la majeure partie des cancers chez l'Homme. Malheureusement, dans ces tumeurs, la réponse aux immunothérapies simples ou couplées avec d'autres acteurs du processus tumoral ne donne pas de résultats satisfaisants. L'environnement de PD-L1 doit donc être encore prospecté afin de découvrir des partenaires et des mécanismes capables d'outrepasser l'absence de réponses.

1.3.5. Les connexions existantes entre PD-L1 et p75^{NTR}

L'IFN- γ , produit par les LTC peut stimuler la production de PD-L1 (Dong et al., 2002; Eppihimer et al., 2002). Dans le contexte tumoral et notamment au sein du mélanome, les lymphocytes infiltrant PD-1⁺ vont excréter une grande quantité d'IFN- γ dans le microenvironnement (Ahmadzadeh et al., 2009; Inozume et al., 2010). Toujours dans le mélanome, il a été démontré que cette production est capable d'induire la production de

p75^{NTR} par les cellules tumorales (J. Furuta et al., 2014). L'expression combinée des deux protéines entraîne une forte extinction de la réponse cytotoxique des LTC envers les cellules tumorales, en provoquant une diminution de l'expression des antigènes de mélanome. Cette étude proposait également que PD-L1 et p75^{NTR} seraient liées par leur stimulation *via* l'IFN- γ et que ces deux protéines agiraient de manière additive ou synergique (J. Furuta et al., 2014), créant un environnement pro-tumoral. Leur présence combinée pourrait éventuellement être ciblée dans le cadre thérapeutique (J. Furuta et al., 2014).

Le lien supplémentaire connectant PD-L1 et p75^{NTR} se retrouve au sein des vésicules extracellulaires, les exosomes. En effet, ces vésicules jouent un rôle important au sein du microenvironnement tumoral. Elles contiennent de nombreuses molécules ayant un rôle potentiellement oncogénique et reflètent le contenu cytoplasmique des cellules tumorales. Ainsi, il a été démontré que les exosomes produits par ces cellules contenant PD-L1 vont pouvoir agir en anergisant les LT infiltrant la tumeur (Daassi et al., 2020; Ricklefs et al., 2018).

Dans le cas du GBM, la libération des exosomes PD-L1⁺ au sein du microenvironnement et dans la circulation générale a un effet immunomodérateur. Les exosomes tumoraux vont provoquer la séquestration des LT au sein de la moelle osseuse (Chongsathidkiet et al., 2018; Ricklefs et al., 2018). Les cellules de GBM du sous-type mésenchymateux expriment plus fortement PD-L1 que celles du sous-type proneural et les exosomes qu'elles sécrètent sont toujours sous la dépendance de l'IFN- γ , (Ceccarelli et al., 2016; Ricklefs et al., 2016). Dans ce contexte de production accrue de PD-L1, le ligand est fortement retrouvé à la surface des exosomes et se fixe aux lymphocytes (Ricklefs et al., 2018). Il a été également démontré que la transmission de PD-L1 par des exosomes issus de CSCs de GBM est impliquée dans la résistance des cellules tumorales au TMZ (Zheng et al., 2021). Ces résultats montrent l'importance de la transmission exosomale de PD-L1 dans l'extinction de la réponse immune et la progression tumorale.

p75^{NTR} a été retrouvé dans les exosomes (Pinet et al., 2016) ainsi que les autres récepteurs aux neurotrophines (Trks et Sort1). La présence de ces protéines et leur transmission *via* ces exosomes ont été décrites comme promotrices de l'agressivité tumorale (Pinet et al., 2016).

L'ensemble des résultats de la littérature concourent à relier PD-L1 et p75^{NTR} à l'agressivité tumorale. Ces protéines se retrouvent en lien avec les processus de résistance, de prolifération et d'immunotolérance, critiques dans le processus de développement tumoral. En plus de leur lien transcriptomique dans le mélanome, un intérêt supplémentaire s'est porté sur leur libération au sein du milieu extracellulaire par le biais d'exosome.

1.4. Les exosomes (biogenèse et impact)

Les exosomes sont des vésicules extracellulaires de communication entre les cellules. Ces vésicules délimitées par une double membrane lipidique vont contenir de nombreux types de molécules : protéines, lipides, acides nucléiques et sucres. L'émission et la capture de ces exosomes font partie des mécanismes détournés par la machinerie cancéreuse pour promouvoir la survie et le développement de la tumeur.

1.4.1. Définition et historique

La première preuve de l'existence de vésicules extracellulaire a été démontré pour des chondrocytes, relarguant des vésicules d'environ 100 nm dans le milieu. Mais leurs origines n'étant pas clairement définies, ces vésicules semblaient provenir d'un bourgeonnement membranaire. (Anderson, 1969; Bonucci, 1967). Parallèlement, fut identifiée la production de « poussière » plaquettaire, une émission sanguine de vésicules de taille similaire (Wolf, 1967).

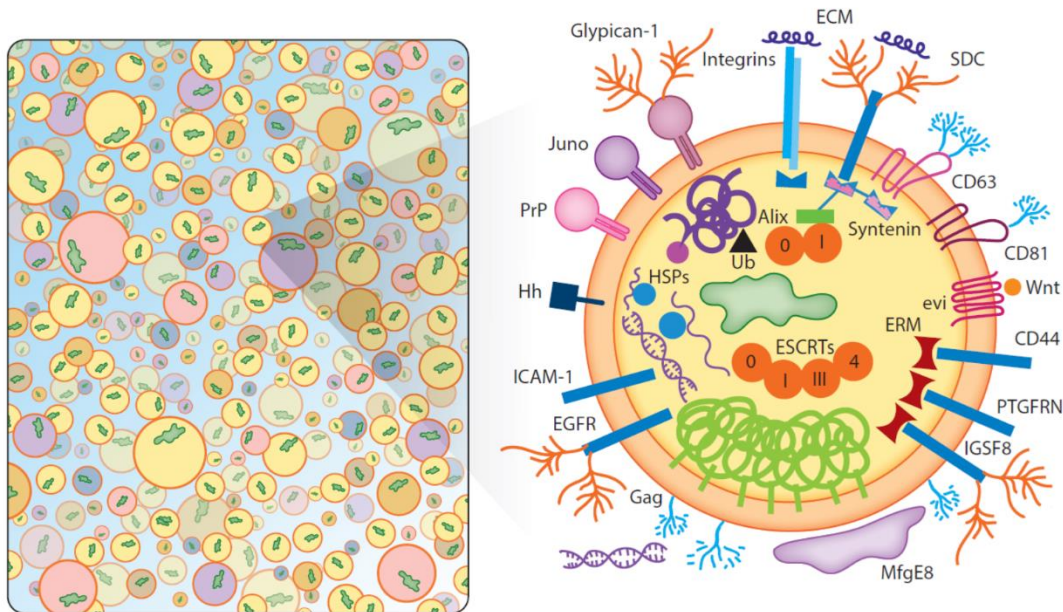


Figure 31 : Schéma de la composition hétérogène des exosomes

Les exosomes ont une taille et une composition hétérogènes avec des complexes protéiques membranaires. Bien que leur composition soit variable, ils sont tous être enrichis en tétraspanines, en molécules d'adhésion, en enzymes, ARN, ADN et en glycanes complexes. Est représentée sur ce schéma une liste non exhaustive de l'ensemble des cargos pouvant se retrouver au sein des exosomes. (Adaptée de Pegtel and Gould, 2019)

La première utilisation du terme exosome remonte à 1981, par la production spécifique de vésicules au sein d'une lignée de gliomes de rat C-6 et de neuroblastome de souris N-18 (Trams et al., 1981). Il fut également déterminé que les vésicules produites provenaient d'un mécanisme actif de tri de leurs constituants (sphingolipides et phospholipides insaturés) avant leur sécrétion. De par la variété de contenu et de taille (40 à 1000 nm), il fut supposé que ces vésicules remplissaient une fonction physiologique, encore inconnue (Trams et al., 1981). C'est également à l'issue de cette étude, que ces vésicules furent appelées exosomes. La présence des exosomes fut ensuite retrouvée dans le milieu de nombreuses lignées cellulaires et les mécanismes sous-jacents commencèrent à être découverts, notamment la formation et la libération des exosomes. C'est ainsi que furent décrits les endosomes multivésiculés (ou corps multivésiculaires ou MVBs), organites formés à partir d'endosomes précoces. Ils possèdent des vésicules intraluminales pouvant être relarguées dans le milieu extérieur par leur fusion avec la membrane plasmique (Harding et al., 1983; Pan and Johnstone, 1983). Après leur découverte *in vitro*, leur présence a été confirmée dans un cadre *in vivo* plus large, au sein des fluides physiologiques, laissant

supposer un rôle et une production plus larges de ces vésicules. La présence d'exosomes a pu être confirmée au sein du sang, du LCR, de l'urine, du mucus, du liquide séminal et du lait (Admyre et al., 2007, 2003; Chiasserini et al., 2014; Gatti et al., 2005; Gonzales et al., 2010; Sharma et al., 2010). Il a été également démontré que la production d'exosomes est ubiquitaire au sein du vivant, confirmant l'importance de leur production (Deatherage and Cookson, 2012; Robinson et al., 2016; Schorey et al., 2015). Par la suite de nombreuses études ont permis d'affiner nos connaissances sur les exosomes, à savoir :

- ils proviennent d'un bourgeonnement de la membrane plasmique ou d'une membrane endosomale (Anderson, 1969; Bianchi et al., 2014; Harding et al., 1984; Pan and Johnstone, 1983) ;
- ils permettent une communication intercellulaire par le transport de macromolécules (Arienti et al., 1997; Frenette and Sullivan, 2001) ;
- ils se forment au sein d'un mécanisme de sélection actif, des protéines notamment (Harding et al., 1983; Pan and Johnstone, 1983) ;
- ils interviennent dans des processus physiologiques et physiopathologiques (Bakhshian Nik et al., 2017; Melki et al., 2017).

Les exosomes et les vésicules extracellulaires furent alors définis par consensus au sein des MISEV2018 (Théry et al., 2018). Les vésicules extracellulaires sont définies comme étant des particules pourvues d'une double membrane lipidique et d'un diamètre d'ordre nanométrique. Elles sont dépourvues de toute fonction répliquative et d'organites internes mais présentent néanmoins des activités enzymatiques aux niveaux luminal et membranaire. Enfin, ces vésicules sont émises naturellement par l'ensemble des cellules de l'organisme (Théry et al., 2018). Au sein de ce groupe, se détache une nomenclature issue des différentes tailles de ces vésicules. On retrouve les petites vésicules extracellulaires ou sEVs, d'un diamètre inférieur à 200 nm et les grandes vésicules extracellulaires ou IEVs, au diamètre supérieur à 200 nm (Théry et al., 2018). Les exosomes font donc parties des petites vésicules extracellulaires, avec un diamètre compris entre 30 et 200 nm et une densité comprise entre 1,1 et 1,2 g/mL (Arraud et al., 2014; Pegtel and Gould, 2019; Raposo et al., 1996). Néanmoins, un des critères définissant les exosomes est celui des voies de biosynthèse, qui leur sont propres.

1.4.2. Les voies de biogenèse des exosomes

La majorité des exosomes vont provenir de la voie de biosynthèse des corps multivésiculaires (MVB), formant des vésicules intraluminales (ILVs).

1.4.2.1. Formation des corps multivésiculaires (MVB)

Les MVBs se forment par endocytose de la membrane plasmique. Ce processus est également décrit comme étant impliqué dans la fluidité membranaire, l'internalisation de complexe ligand-récepteur et l'internalisation et le recyclage de composants membranaires (Gould and Lippincott-Schwartz, 2009; Klumperman and Raposo, 2014). Par ce processus, la cellule va former des endosomes précoces qui seront, par la suite, orientés vers différentes voies dépendantes des *stimuli* externes et des besoins de la cellule. Les endosomes vont passer par des étapes de maturation, grâce aux échanges entre la membrane cellulaire et les divers compartiments intracellulaires, pour donner des endosomes tardifs. Si les protéines membranaires ou le contenu de l'endosome précoce sont destinés à la dégradation, il y a fusion avec un lysosome pour former un endolysosome (Luzio et al., 2010). L'endosome tardif peut également se transformer en MVB, par le biais d'invaginations de sa membrane formant des ILVs.

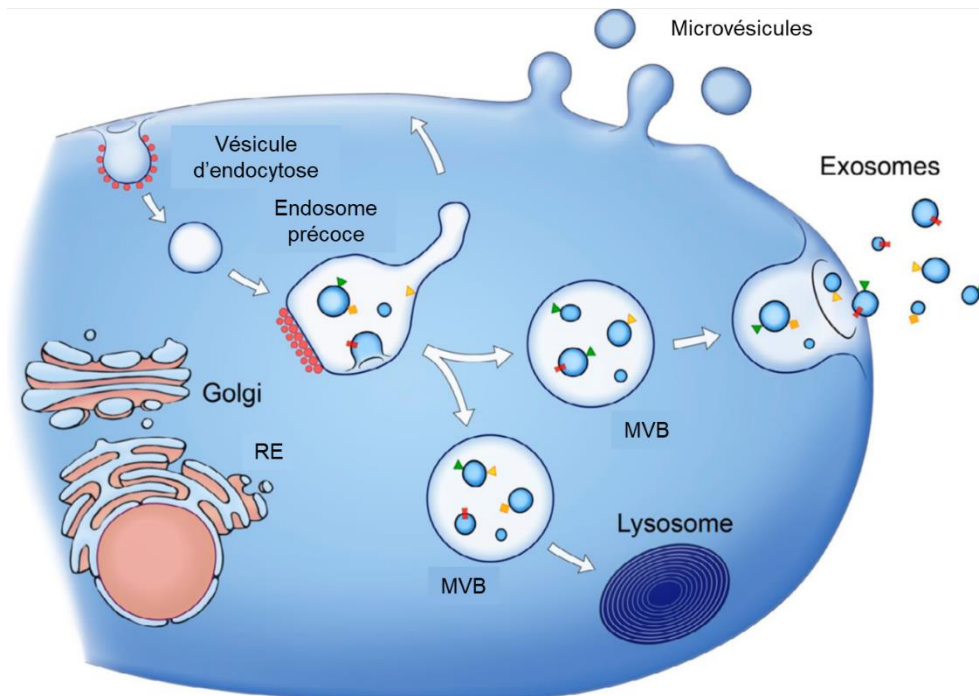


Figure 32 : Production des MVBs et libération des exosomes

Les vésicules d'endocytose vont bourgeonner à partir de la membrane plasmique pour former des endosomes précoces. En devenant matures les endosomes précoces vont devenir des endosomes tardifs, lesquels vont subir un bourgeonnement interne pour donner des corps multivésiculés (MVBs). Ces MVBs peuvent ensuite fusionner avec des lysosomes pour dégrader leur contenu ou bien fusionner avec la membrane pour libérer les exosomes. En parallèle, la formation des microvésicules est possible par le bourgeonnement direct de la membrane plasmique. (Adaptée de Raposo and Stoorvogel, 2019)

Ce processus d'invagination va se faire par le biais d'une sélection membranaire et cytosolique des contenus d'intérêt (Jaiswal et al., 2002; Mathivanan and Simpson, 2009; Raposo et al., 1996). C'est à ce stade que des protéines vont, par la plasticité membranaire et les échanges entre les organites, se retrouver dans les MVBs puis dans les ILVs, au fil de leur maturation. Ces protéines, caractéristiques des processus de maturation et finissant dans les exosomes, vont constituer des marqueurs protéiques permettant d'identifier ces

vésicules par la suite. A ce stade, se retrouvent comme marqueurs la tétraspanine CD63 et les marqueurs lysosomaux LAMP1 et LAMP2 (Jaiswal et al., 2002; Raposo et al., 1996). C'est la disparité des protéines internalisées au sein des endosomes précoces qui serait à l'origine de la large diversité des population de MVBs (Vidal and Stahl, 1993). C'est cette diversité qui explique qu'il ne peut exister des marqueurs consensus de ces vésicules. Ainsi, la formation, l'adressage des MVBs et la fusion des vésicules avec la membrane plasmique sont permis par un ensemble de protéines regroupées au sein des complexes ESCRTs notamment. Ces MVBs vont suivre des processus variés, dépendants des contenus vésicaux et du type cellulaire (Keller et al., 2006).

1.4.2.2. Rôle des complexes ESCRT

Les complexes ESCRTs (*Endosomal Sorting Complex Required for Transport*) permettent la formation des ILVs, avec la sélection de protéines et leur devenir au sein de la cellule, *via* les 4 complexes ESCRT-0 à -III (Juan and Fürthauer, 2018). A l'initiation, se retrouvent l'ubiquitination des protéines d'intérêt qui vont permettre le recrutement des premières protéines du complexe et la formation des futures ILVs (Hanson and Cashikar, 2012; Migliano and Teis, 2018; Schmidt and Teis, 2012).

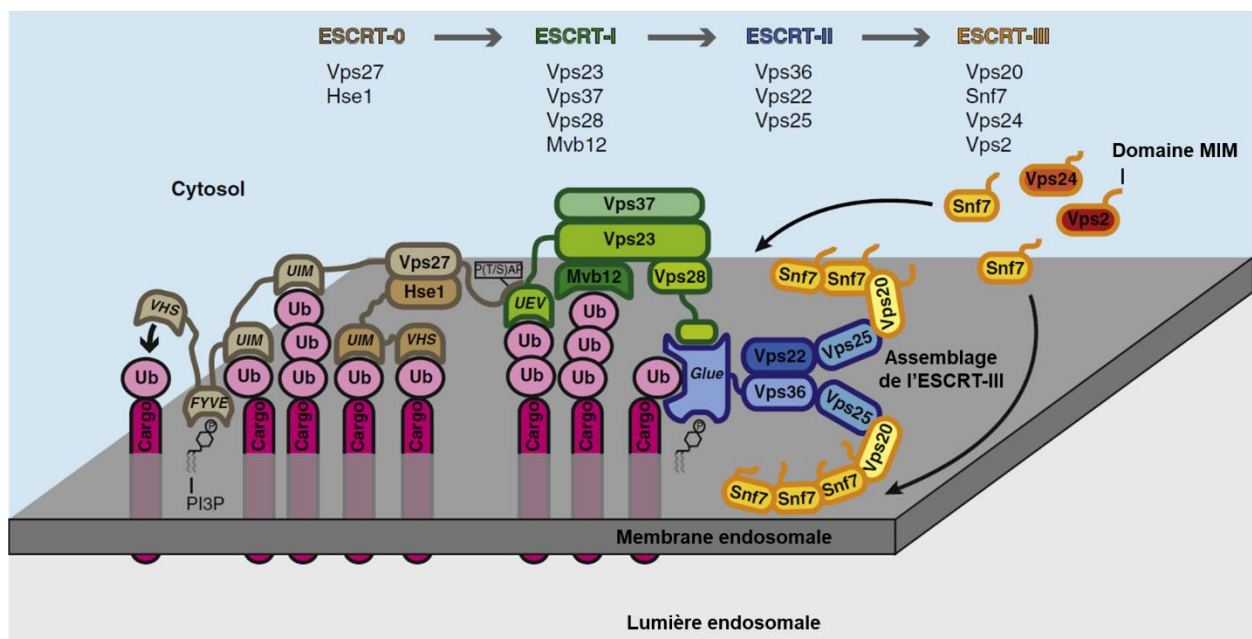


Figure 33 : Rôle du complexe ESCRT dans la sélection du cargo et la formation des exosomes

Le complexe ESCRT-0 (brun) va initier la formation des MVBs (corps multivésiculés) en se liant à la PI3P et en regroupant les protéines membranaires ubiquitinylées par ses domaines de liaisons à l'ubiquitine. Le complexe ESCRT-I (vert) est recruté par ESCRT-0 (via Vps27) et se lie également au cargo protéique. Le complexe ESCRT-II (bleu) interagit par le domaine Glue de Vps36 avec ESCRT-I, PI3P et le cargo. La sous-unité Vps25 de ESCRT-II sert de point de nucléation pour l'assemblage du complexe filamenteux ESCRT-III (jaune et orange), qui permettra l'internalisation du cargo et le bourgeonnement de la vésicule intraluminaire. (Adaptée de Schmidt and Teis, 2012)

Le complexe ESCRT-0 est le premier complexe à se mettre en place pour permettre la formation des MVBs. Les protéines monoubiquitinylées vont permettre le recrutement des protéines HRS (*Hepatocyte growth factor-Regulated Tyrosine kinase Substrate* ou Vps27) et

de la protéine STAM-1/2 (*Signal Transducing Adapter Molecule-1/2* ou Hse) (Hurley, 2010; McCullough et al., 2018; Mosesso et al., 2019; Schmidt and Teis, 2012). L'initiation de cette formation va se faire par le biais de la fixation de HRS sur les motifs ubiquitine des protéines par ses domaines UIM (*Ubiquitin Interaction Motifs*) (Norris and Grant, 2020). La protéine HRS va également se fixer sur le PIP3 (Phosphatidylinositol-3-phosphate) *via* Tsg101 et sur la clathrine pour permettre la cohérence de l'ensemble (Bache et al., 2003; Katzmann et al., 2003; Norris and Grant, 2020). Les deux protéines HRS et STAM-1/2 vont former le complexe d'initiation ESCRT-0, qui permettra de recruter le prochain complexe ESCRT-I.

Le complexe ESCRT-I, le premier découvert, se compose de 4 protéines (Tsg101, Vps28, Vps37 et MVB12) (Flower et al., 2020; Katzmann et al., 2003; Kostelansky et al., 2007). Il va être initié par la présence de Tsg101 immobilisé à la membrane par HRS (Norris and Grant, 2020; Schmidt and Teis, 2012). Le complexe, une fois formé sur le précédent complexe, permet de reconnaître et de sélectionner les protéines ubiquitinylées et notamment d'induire la formation des ILVs par Tsg101. Il permet également de recruter la protéine UBAP-1 pour la maturation des MVBs (Hanson and Cashikar, 2012; Norris and Grant, 2020; Schmidt and Teis, 2012). Autour de ce complexe, la protéine Alix va permettre de recruter les complexes ESCRT suivants, par une suite de recrutements protéiques (Babst et al., 2002b, 2002a; Falguières et al., 2008).

Le complexe ESCRT-II est un hétérotétramère composé d'un dimère Vps36 / Vps22 lié à un dimère Vps25. Ce complexe se fixe aux protéines ubiquitinylées par les protéines Vps36 (ou EAP45 / *ELL-Associated protein of 45 kDa*) par son domaine *Glue* et Vps22 (ou SNF8) (Hurley and Hanson, 2010; Teis et al., 2010; Teo et al., 2004). L'ancrage du complexe va se faire principalement avec le domaine *Glue* de la protéine Vps36, qui va lier la protéine Vps28 du complexe ESCRT-I et le PI3P de la membrane endosomale (Frankel and Audhya, 2018; Gatta and Carlton, 2019; Schmidt and Teis, 2012). La présence du complexe au niveau de la membrane va permettre l'invagination de la membrane et donc la formation des ILVs au sein des endosomes tardifs (Babst et al., 2002b).

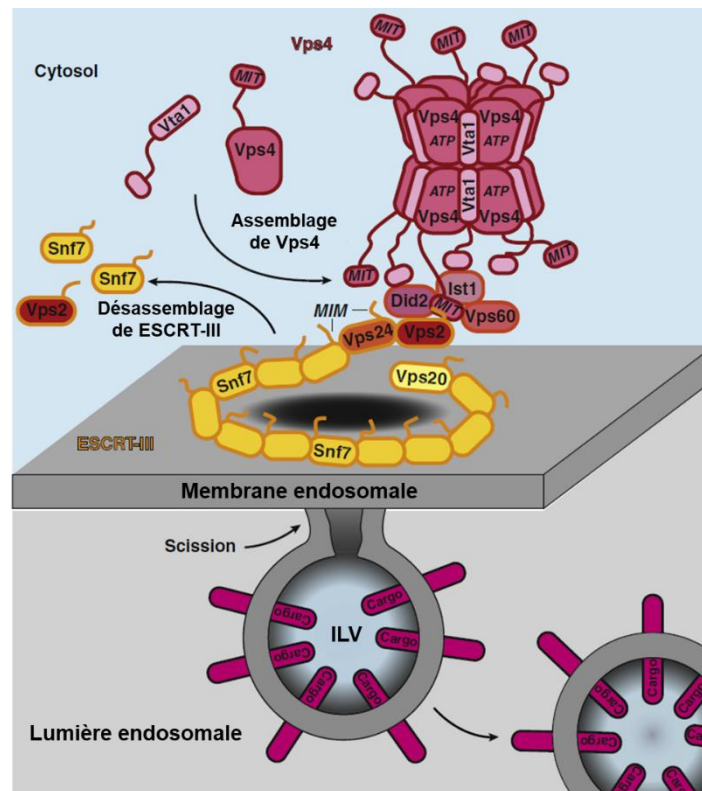


Figure 34 : Rôle du complexe ESCRT-III et Vps4 dans la scission membranaire des ILVs

Les sous-unités de ESCRT-III Vps24 et Vps2 terminent l'assemblage des filaments ESCRT-III (orange) à la surface endosomale. Les sous-unités Vps2, Did2, Ist1 et Vps60 vont permettre de recruter l'AAA-ATPase Vps4 et son co-facteur Vta1. Une fois assemblé, le complexe Vps4 (rose) permet le désassemblage des filaments ESCRT-III par la consommation d'ATP. Ce désassemblage va permettre la formation des vésicules intraluminales (ILV) au sein des corps multivésiculés. (Adaptée de Schmidt and Teis, 2012)

Le complexe ESCRT-III va finaliser la formation des vésicules lumineuses, à partir de la base protéique des complexes précédents. Ce complexe va regrouper 4 protéines différentes : Vps2 (CHAMP2), Vps24 (CHAMP3), Vps32 (Snf7 ou CHAMP4) et Vps20 (CHAMP6). L'initiation de ce complexe va se faire par la liaison de protéines Vps20 sur les sous-unités Vps25 du complexe ESCRT-II. Ainsi, le complexe va former des filaments par l'ajout des autres protéines du complexe (Vps2, Vps24 et Vps32) (Chiaruttini and Roux, 2017; Teis et al., 2010). Lorsque les filaments se forment autour de l'invagination membranaire, des désubiquitinasés vont être recrutés pour agir sur les protéines sélectionnées. La perte d'ubiquitine va provoquer un changement de conformation induisant une dissociation des complexes (Rusten et al., 2011). Afin de libérer les vésicules au sein du MVB, le complexe ESCRT-III va permettre de recruter un dernier complexe de protéines Vps4, par les sous-unités Vps2 et Vps24. Ces protéines vont agir comme des ATPases de la famille des AAA-ATPase, permettant la libération totale des complexes ESCRTs et des ILVs au sein du MVB (Alonso Y Adell et al., 2016; McCullough et al., 2018).

Néanmoins, la formation des MVBs peut se faire par des mécanismes ESCRT-indépendants.

1.4.2.3. La voie exosomale des tétraspanines

Une des voies de formation des MVBs implique des tétraspanines, protéines membranaires retrouvées en fortes concentrations au sein des vésicules extracellulaires. Il est notamment reconnu que leurs enrichissements spécifiques au sein des vésicules extracellulaires en font des marqueurs fréquemment utilisés pour leur identification. Parmi les 33 protéines de cette famille, CD9, CD63 et CD81 sont les plus observées et les plus souvent associées comme marqueurs des vésicules extracellulaires (Buschow et al., 2009; Chairoungdua et al., 2010; Theos et al., 2006; van Niel et al., 2011).

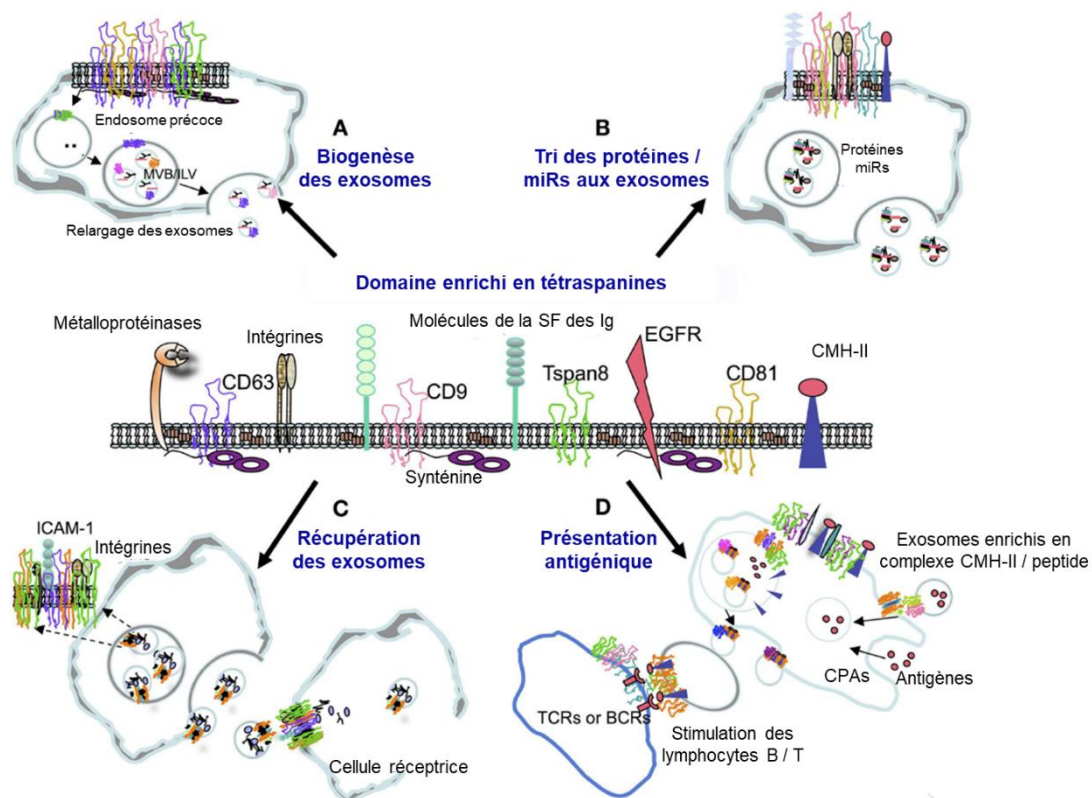


Figure 35 : Implication des tétraspanines dans la formation et le rôle des exosomes

Les tétraspanines ont la capacité d'interagir avec différents types de récepteurs et de molécules de signalisation à la membrane, formant des domaines enrichis en tétraspanines. Ces domaines vont agir au niveau de la biogenèse des exosomes (A), la sélection du cargo protéique et des miRs exosomaux (B), la fixation et récupération des exosomes (C) et la capacité des exosomes à effectuer une présentation antigénique (D). (Adaptée de Andreu and Yáñez-Mó, 2014)

Les tétraspanines vont, au sein des endosomes, s'associer avec d'autres protéines membranaires pour former des microdomaines, en association au cholestérol et à l'actine (Buschow et al., 2009; Chairoungdua et al., 2010; Delaguillaumie et al., 2004; Zimmerman et al., 2016). Ces microdomaines entraînent ensuite l'invagination de la membrane et leur internalisation luminale (Hemler, 2003). De manière générale, il a été démontré l'importance des tétraspanines dans le bon adressage des protéines au sein des ILVs (Buschow et al., 2009). Dans les endosomes précoces, le CMH-II ubiquitiné est internalisé et adressé au

lysosome *via* sa liaison au CD9. Mais dans des contextes cellulaires particuliers tels que des cellules dendritiques activées, le CMH-II permet avec les tétraspanines l'invagination de la membrane endosomale et la création d'ILVs (Segura et al., 2005). CD63 peut également intervenir dans le processus de formation de ces vésicules, notamment sur la protéine PMEL (van Niel et al., 2011). Une troisième tétraspanine CD81, peut, par sa structure conique se lier au cholestérol et entraîner l'internalisation des microdomaines dans lesquels elle se trouve concentrée au sein des endosomes. De plus, cette structure conique étant partagée avec les autres membres de la famille, il serait possible d'imaginer que ces processus soient possibles avec d'autres tétraspanines (Zimmerman et al., 2016). En plus d'intervenir dans la formation des ILVs, les tétraspanines peuvent interagir avec le trafic intracellulaire et donc dans le contrôle du contenu de ces vésicules (Odintsova et al., 2013).

Ainsi, les tétraspanines, utilisées comme marqueurs des vésicules extracellulaires du fait de leur constante présence dans celles-ci, interviennent au sein des endosomes dans la formation des ILVs et la sélection de son contenu, indépendamment des complexes ESCRTs.

1.4.2.4. La voie exosomale des céramides

Au sein de la membrane, les céramides sont des lipides possédant, tout comme les tétraspanines, une structure conique. Celle-ci leur permet de provoquer, par son accumulation, une torsion de la membrane endosomale, son internalisation et la formation des ILVs de manière ESCRT-indépendante (Verderio et al., 2018). Si la voie exosomale des céramides est rarement prédominante dans la plupart des types cellulaires, elle apparaît comme indispensable pour la formation des exosomes au sein des oligodendrocytes (Trajkovic et al., 2008). De plus, les lipides ont été démontrés comme régulant le contenu des vésicules luminales par le biais de la formation des rafts lipidiques, notamment par la présence de glycophospholipides et des flotilines 1 et 2 (Phuyal et al., 2014).

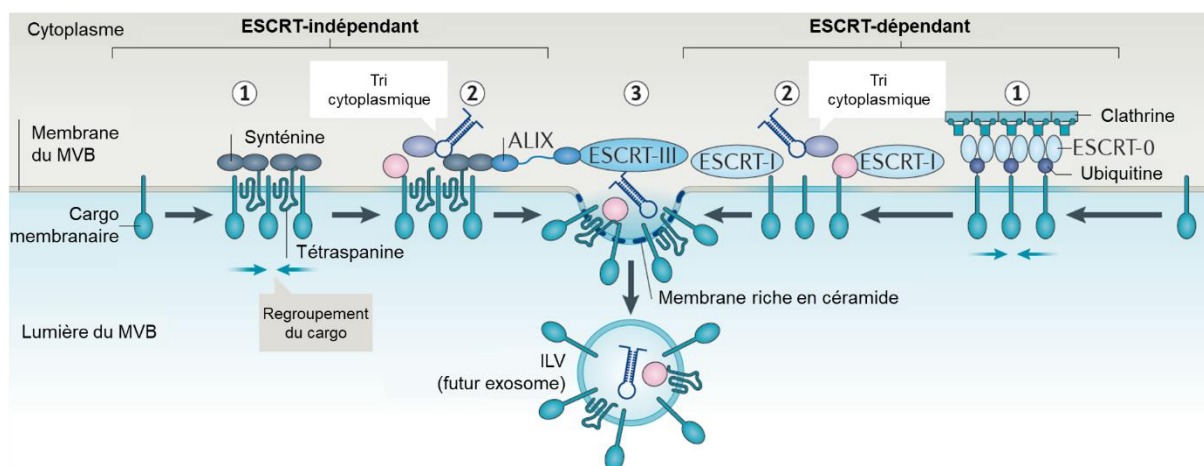


Figure 36 : Biogenèse des exosomes

La formation des vésicules intraluminales (ILV) peut se faire de manière dépendante ou indépendante des complexes ESCRT, mais certaines étapes leur sont communes. Tout d'abord, les lipides et les protéines membranaires vont se regrouper et former des régions atypiques au sein de la membrane endosomale (étape 1). Les domaines formés vont permettre de recruter divers partenaires protéiques solubles qui vont se retrouver au sein des futurs exosomes (étape 2). Ensemble, ces complexes vont promouvoir la formation de machineries cellulaires induisant l'internalisation et la formation des ILVs (étape 3). (Adaptée de Van Niel et al., 2018)

1.4.2.5. L'oligomérisation des protéines dans la biogenèse

Il existe également une voie de synthèse des exosomes impliquant les protéines elles-mêmes, par formation d'agrégats. S'ils peuvent permettre de ralentir voire d'empêcher la dégradation lysosomale, les agrégats protéiques peuvent détourner les endosomes impliqués vers la voie de formation des MVBs (Muntasell et al., 2007). Au sein des LB, il a été démontré que des agrégats de complexes CMH-II / peptide antigénique vont entraîner les endosomes dans lesquels on les retrouve vers la voie des MVBs (Muntasell et al., 2007). Un mécanisme comparable a été observé avec CD43 au sein des LT et la transferrine dans les érythrocytes (Howitt and Hill, 2016; Lim and Lee, 2017; Shen et al., 2011; Vidal et al., 1997). Si ces processus ont été démontrés dans plusieurs types cellulaires, les mécanismes sous-jacents de cette voie ne sont pas encore entièrement connus.

Toutes ces voies de biogenèse des ILVs et donc des exosomes ESCRT-dépendantes et ESCRT-indépendantes ne sont pas mutuellement exclusives mais forment une synergie, favorisant la diversité des exosomes produits par les cellules. Que ce soit par la diversité des types cellulaires ou par les différents *stimuli* reçus, ces voies vont permettre de produire les différents types d'exosomes nécessaires à la l'homéostasie cellulaire ou individuelle (Maas et al., 2017).

1.4.3. La composition des exosomes

Au cours de leur biogenèse au sein des MVB, de nombreux acteurs vont permettre de sélectionner le contenu des exosomes, parmi lesquels se retrouvent des protéines, des lipides et des acides nucléiques qui seront transportés vers les cellules cibles.

Il existe à l'heure actuelle plusieurs bases de données permettant de connaître la composition moléculaire d'exosomes produits par différentes lignées cellulaires. Deux bases de données majeures sont à noter : Exocarta (<http://exocarta.org/>) et Vesiclepedia (<http://www.microvesicles.org/>) (Keerthikumar et al., 2016; Pathan et al., 2019).

1.4.3.1. La composition protéique des exosomes

Le contenu protéique des exosomes varie selon leur processus de biogenèse, le type cellulaire observé et les *stimuli* reçus par les cellules productrices (Raposo et al., 1997, 1996; van Niel et al., 2006a; Zitvogel et al., 1998). A cause de la multiplicité des cas possibles, il est seulement possible de déterminer des contenus protéiques récurrents dans une grande majorité des cas. Ces protéines membranaires ou luminales vont le plus souvent se retrouver comme marqueurs exosomaux (Théry et al., 2002). On retrouve parmi ceux-ci :

- les tétraspanines comme CD9, CD63, CD81 ;
- des protéines de la biogenèse des exosomes comme Tsg101 et Alix ;
- des protéines du cytosquelette (actine, myosine, tubuline, ...) ;
- des protéines d'adhésion telle que l'intégrine ;
- des protéines du raft lipidique comme les flotilines (Street et al., 2012) ;
- des protéines chaperonnes comme l'HSP70, l'HSP90 ;

- des protéines de signalisation ;
- des protéines du métabolisme cellulaire ;
- des protéines de la famille du CMH (CMH-I et CMH-II) (Lamparski et al., 2002) ;
- des protéines du transport vésiculaire comme les Rab et les annexines.

1.4.3.2. La composition en acide nucléique des exosomes

En plus de protéines membranaires et luminales, il est possible de retrouver au sein des exosomes les différents acides nucléiques retrouvés dans les cellules productrices (ADN, ARNm, ARNt, ARNr, miR, ...) (Kim et al., 2017; Schmid and Jensen, 2019; Thakur et al., 2014; J. Zhang et al., 2015). Il a été démontré que les exosomes pouvaient contenir près d'un millier d'ARNm et d'une centaine de miRs différents, à même d'induire les changements souhaités au sein des cellules cibles, tout comme les protéines transportées (Valadi et al., 2007). C'est par ce biais que les cellules saines ou cancéreuses peuvent influencer leur microenvironnement, notamment en les concentrant dans ces exosomes (Hong et al., 2009).

Les ARN non codants et principalement les miRs sont également enrichis dans ce compartiment pour favoriser la communication intercellulaire (Ohshima et al., 2010; Skog et al., 2008; J. Zhang et al., 2015). Des études ont démontré que, dans certains cas, le transfert des miRs peut induire la majorité des effets observés au sein des cellules ciblées par les exosomes, majoritairement dans le cadre tumoral (Sun et al., 2018; J. Zhang et al., 2015).

Bien que moins documenté, le transfert d'ADN double brin par les exosomes a également été décrit dans le cadre tumoral, notamment du GBM (Balaj et al., 2011). L'ADN tumoral est transmis aux cellules environnantes et permet l'activation des voies de signalisation cellulaires pro-tumorales. L'intérêt de la dispersion de l'ADN tumoral dans la circulation générale permet la détection des mutations tumorales par simple biopsie liquide (Sharma and Johnson, 2020).

L'intégration des acides nucléiques au sein des vésicules extracellulaires n'est pas encore entièrement comprise. (Valadi et al., 2007). Néanmoins, il semble que le complexe ESCRT-II interviendrait au cours du processus d'intégration des ARNs au sein des exosomes (Irion and St Johnston, 2007).

1.4.3.3. La composition lipidique des exosomes

Comme dit précédemment, le contenu lipidique des membranes peut influencer sur la formation des exosomes et est au centre d'une voie indépendante des complexes ESCRTs. De plus, l'incorporation de certains lipides au sein des rafts lipidiques permet de jouer sur la composition des futurs exosomes. On retrouve donc des membranes enrichies en cholestérol, en triacylglycérols, en diacylglycérols en céramides, en glycérophospholipides et en sphingolipides (Skotland et al., 2019, 2017; Subra et al., 2007; Trajkovic et al., 2008; Wubbolts et al., 2003). A l'inverse, ces membranes vont être déplétées en cardiolipides et en acide lysobisphosphatidique. Néanmoins, ces proportions semblent être également dépendantes des conditions cellulaires étudiées et des processus d'extraction de ces vésicules (Skotland et al., 2019, 2017). Il est toutefois important de noter que la composition

lipidique est proche de celle des rafts lipidiques, à l'origine des ILVs et leur permet de maintenir la cohérence membranaire au sein de l'organisme (de Gassart et al., 2003).

1.4.4. Sécrétion et capture des exosomes

Lorsque les futurs exosomes ont été produits au sein des MVBs, ceux-ci sont adressés à la membrane et libérés dans le milieu extracellulaire. Ces vésicules peuvent rester dans le microenvironnement proche des cellules ou atteindre des cellules plus éloignées par voie systémique. Celles-ci vont pouvoir se fixer aux cellules cibles pour être internalisées et permettre l'intégration du contenu vésiculaire. Ces mécanismes continus d'excrétion et de capture permettent une communication intercellulaire et contribuent au maintien de l'homéostasie de l'organisme.

1.4.4.1. Les mécanismes de sécrétion des exosomes

Une fois formés, les MVBs sont adressés à la membrane, par les systèmes de transports vésiculaires, puis vont fusionner avec la membrane et libérer les vésicules luminales. Ces mécanismes vont être soumis à des systèmes de régulation, permettant de moduler la sécrétion des vésicules en fonction des besoins cellulaires.

Avant tout adressage à la membrane, il est nécessaire de protéger le MVB des fusions lysosomales, par le contrôle protéique de la balance sécrétion / dégradation. Le déséquilibre de cette balance a été démontré comme déterminant dans la déclaration de maladies neurodégénératives, bloquant la dégradation et adressant les MVBs à la membrane (Alvarez-Erviti et al., 2011; Eitan et al., 2016). De nombreux facteurs sont impliqués dans le blocage de la dégradation lysosomale. L'inhibition de la pompe V-ATPase endosomale permet d'augmenter le relargage des exosomes par la cellule (Edgar et al., 2016; Villarroja-Beltri et al., 2016). En parallèle, d'autres protéines vont permettre d'adresser directement les MVBs à la membrane. La protéine Alix, avec l'intermédiaire du syndécan et de la synténine, permet aux MVBs d'être orienté vers cette voie (Baietti et al., 2012; Willms et al., 2016). Également impliqué dans la formation des MVBs, le CMH-II non ubiquitiné conduit vers la sécrétion, à l'inverse du CMH-II ubiquitiné (Buschow et al., 2009; van Niel et al., 2006b). En plus de la voie lysosomale, les MVBs ne doivent pas être adressés vers la macroautophagie (dégradation des organites cellulaires). Ainsi, la protéine prion PrP avec la cavéoline permet d'empêcher la dégradation des MVBs par cette voie (Dias et al., 2016; Papandreou and Tavernarakis, 2017). Si la cellule doit contrôler la sécrétion et la dégradation endosomale, les mécanismes sous-jacents et les protéines impliquées sont encore largement méconnus.

Une fois correctement adressés, les MVBs doivent être déplacés vers la membrane à l'aide du cytosquelette et de ses protéines associées (Bonifacino and Glick, 2004; Cai et al., 2007). Les protéines Rab vont permettre de mener les MVBs vers la membrane, notamment Rab7 (Möbius et al., 2003; Rocha et al., 2009; Song et al., 2016). Ces petites GTPases monomériques de la famille Ras vont permettre de lier les organites avec le cytosquelette pour permettre leur déplacement dans le cytosol. Les protéines Rab27b et Rab27a permettent respectivement la mobilité des MVBs vers la membrane et leur ancrage à celle-ci. Les deux formes vont agir de concert pour permettre la fusion entre les MVBs et la

membrane, notamment par l'action de Rab27a sur l'actine (Ostrowski et al., 2010; Sinha et al., 2016). D'autres membres de la famille des Rab dont les expressions varient selon le type cellulaire sont également impliqués (Hsu et al., 2010; Savina et al., 2003). La surexpression de Rab35 est associée à la stimulation de l'ancrage des MVBs à la membrane et donc à la libération des exosomes dans le milieu extracellulaire (Hsu et al., 2010).

La fusion avec la membrane plasmique est l'étape ultime de libération des exosomes. Une fois les MVBs ancrés à la membrane, la fusion va être possible par le biais du complexe SNARE notamment (Jahn and Scheller, 2006). La variété des protéines impliquées dans la fusion dépend elle-aussi de la diversité des MVBs et des cellules observées (Koles and Budnik, 2012; Wei et al., 2017). De plus, la présence de Ca^{2+} est un élément essentiel à la formation de ce complexe, retrouvé dans tous les cas (Fauré et al., 2006; Raposo et al., 1997; Savina et al., 2005). Cependant, le mécanisme de sécrétion des exosomes n'est pour le moment pas entièrement connu.

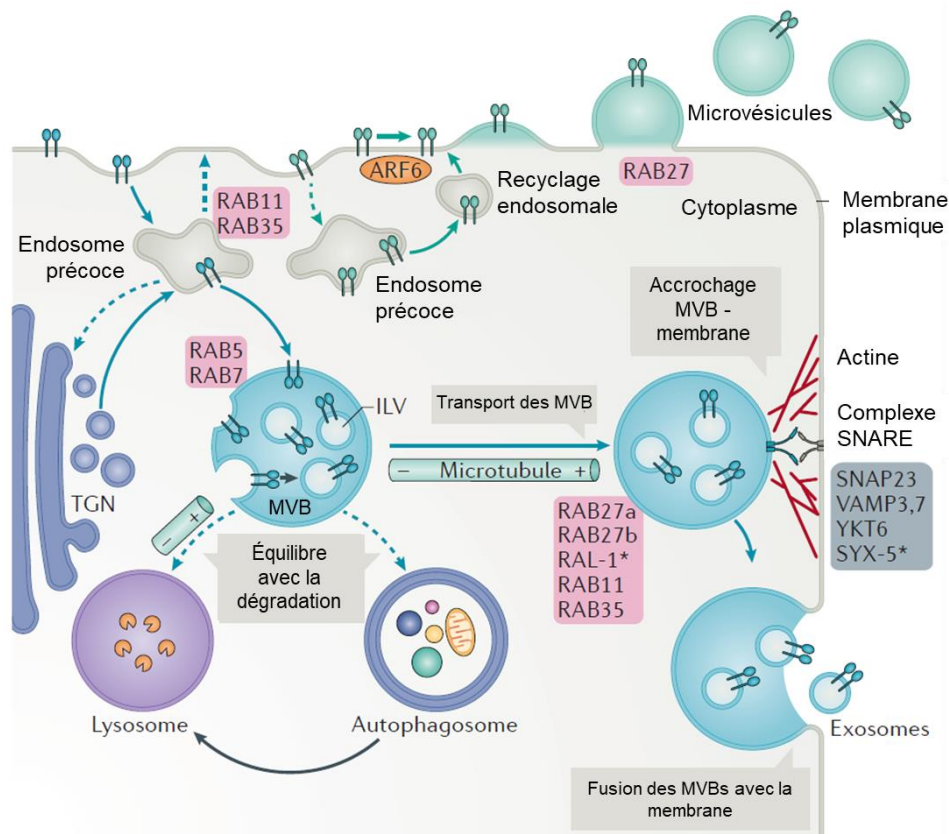


Figure 37 : Devenir des MVBs, trafic intracellulaire et production de vésicules extracellulaires

La production des vésicules extracellulaires nécessite l'utilisation du trafic intracellulaire pour le devenir des corps multivésiculés (MVBs). Les cargos ciblés vers les MVBs proviennent de l'endocytose membranaire ou du réseau trans-golgien (TGN). Les échanges entre la membrane et le TGN vont permettre de faire le tri des protéines des vésicules intraluminales (ILVs). Le contrôle de ces trafics intracellulaires va pouvoir se faire via les protéines Rab GTPases. Après maturation, les MVBs, en équilibre avec les voies de dégradation au lysosome, vont pouvoir être entraînés vers la membrane par le réseau de microtubules. Une fois en juxtamembranaire, les MVBs vont s'accrocher et fusionner avec la membranaire, à l'aide du complexe SNARE, de l'actine et des Rabs. (Adaptée de Van Niel et al., 2018)

Une fois libérés dans le milieu, les exosomes vont pouvoir agir sur les cellules environnantes ou sur des cellules plus lointaines *via* leur dissémination par voie systémique.

1.4.4.2. Les mécanismes de capture des exosomes

Une fois les cellule cibles atteintes, les exosomes vont devoir s'ancrer à la membrane avant de pouvoir être internalisés. De par la grande diversité des exosomes et des cellules cibles, les mécanismes impliqués ne sont pas totalement élucidés (Mulcahy et al., 2014).

En premier lieu, les exosomes doivent se lier à leurs cibles donc avoir une affinité suffisante pour les protéines membranaires. Cette affinité est permise par la présence de protéines spécifiques de la membrane exosomale, reconnaissant les protéines membranaires de la cellule cible (Chivet et al., 2014; Denzer et al., 2000; Hoshino et al., 2015; Mallegol et al., 2007; Nolte-t Hoen et al., 2009). Parmi ces protéines, figurent les tétraspanines, les intégrines, les lectines mais interviennent également des lipides, des protéoglycanes à héparane sulfate et d'autres constituants de la matrice extracellulaire. Les intégrines agissent avec des protéines d'adhésion (CAMs) et des protéines de la matrice (fibronectine, laminine) pour guider les exosomes vers la cellule d'intérêt (Leiss et al., 2008; Morelli et al., 2004; Purushothaman et al., 2016; Sung et al., 2015). Les tétraspanines interagissent également avec les intégrines pour provoquer l'adhésion des exosomes à la cellule cible (Nazarenko et al., 2010; Rana et al., 2012, 2011). Il est à noter également l'intervention des glypican 1 et de CD44 pour l'adhésion (Melo et al., 2015). Au niveau lipidique, les phosphatidylsérines vont interagir avec les protéines de la cellule cible (Barrès et al., 2010; Frey and Gaipf, 2011; Morelli et al., 2004).

Pour permettre l'intégration du signal au sein de la cellule, les exosomes vont mobiliser de nouveaux mécanismes, clathrine-dépendants et clathrine-indépendants (Denzer et al., 2000; Feng et al., 2010; Kamerkar et al., 2017; Laulagnier et al., 2018; Nakase et al., 2015; T. Tian et al., 2014; Vargas et al., 2014). De manière clathrine-indépendante, sont mobilisés les mécanismes de macropinocytose (endocytose aspécifique), de phagocytose et d'endocytose. La mobilisation des voies dépende notamment de la taille et du nombre d'exosomes fixés à la membrane (Feng et al., 2010). La composition moléculaire des vésicules va également conditionner les voies d'internalisation utilisées. Par exemple, la forte présence de CD47 sur la membrane des vésicules empêche leur dégradation par phagocytose (Kamerkar et al., 2017). La présence de filipodes ou de raft lipidiques sur les cellules peuvent favoriser la récupération des vésicules (Escrevente et al., 2011; Heusermann et al., 2016). Une fois internalisées, les vésicules peuvent suivre une voie de dégradation par un adressage au lysosome (Chen et al., 2016; Tian et al., 2010). L'ensemble des mécanismes régulant le devenir des exosomes vont se situer entre dégradation et intégration des cargos vésiculaires et débutent dès l'étape de fixation des exosomes. L'intégration des vésicules et de leurs contenus peut se faire après l'endocytose, dans l'endosome obtenu. Les vésicules peuvent fusionner avec la membrane endosomale pour libérer leurs contenus ou directement fusionner avec la membrane plasmique (Bissig and Gruenberg, 2014). Une fois la fusion avec l'une ou l'autre des membranes, les constituants membranaires des exosomes (protéines et lipides) vont intégrer ceux de la cellule et agir sur la signalisation intracellulaire (Record et al., 2014). A l'inverse, il est possible que les

exosomes intégrés dans les endosomes soient relargués par la cellule cible (Heusermann et al., 2016). Néanmoins, les processus à l'origine de ces mécanismes de récupération des exosomes sont encore mal connus.

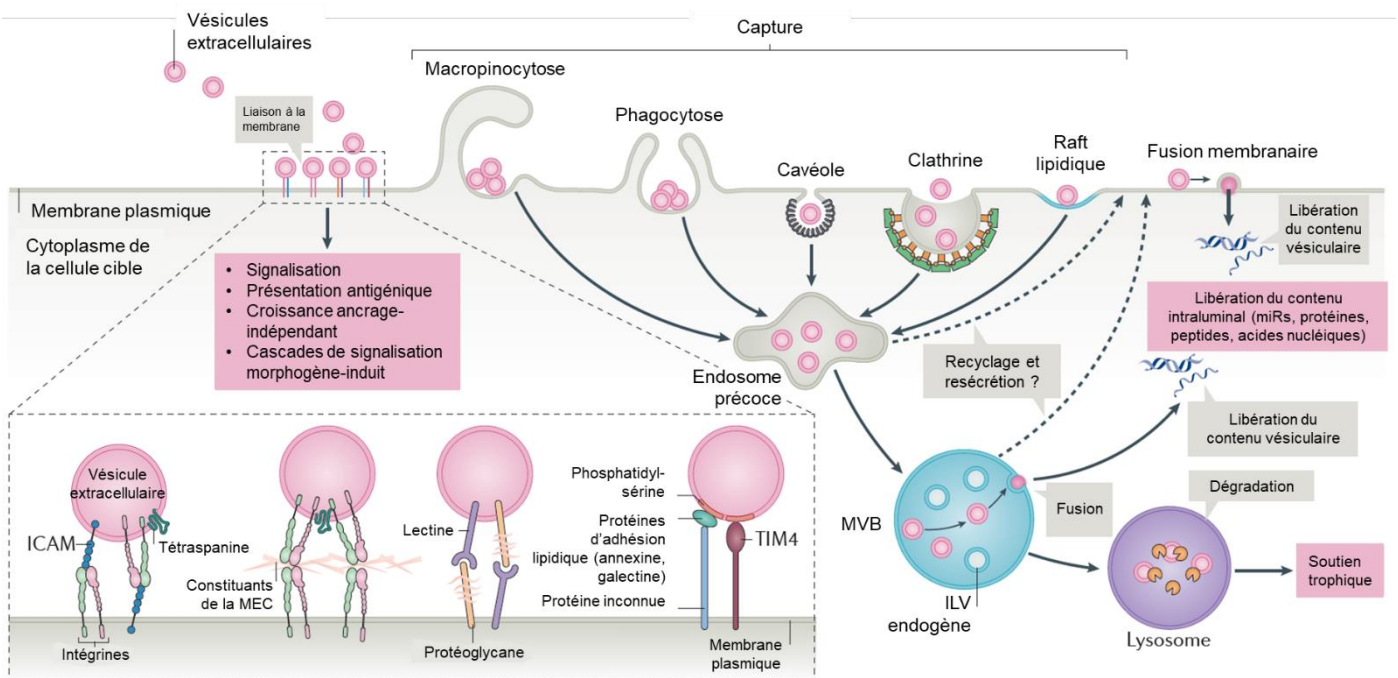


Figure 38 : Capture et devenir des vésicules extracellulaires

Dans la cellule cible, les vésicules extracellulaires exogènes vont s'attacher à la membrane plasmique. Dépendant de la cellule cible, le devenir des vésicules va se faire au travers de différentes voies de signalisations. Les vésicules vont ensuite subir différents types d'internalisations. Par la voie canonique, les vésicules vont se retrouver dans des corps multivésiculés (MVB), où les exosomes vont se retrouver avec des vésicules intraluminales endogènes. Ces constructions vont pouvoir soit être adressées aux lysosomes pour dégradation, soit les exosomes peuvent fusionner avec le MVB endogène ou la membrane plasmique pour libérer leur contenu. (Adaptée de Van Niel et al., 2018)

Il est possible dans certains cas que la simple fixation des exosomes à la membrane cellulaire suffise à stimuler la cellule. Pour exemple, la fixation d'exosomes de LB ou de CPA induit une activation des LT (Raposo et al., 1996; Zitvogel et al., 1998). Ces mêmes exosomes internalisés peuvent activer les cellules par leur contenu, en réutilisant les peptides antigéniques dans les protéines du CMH (Mallegol et al., 2007; Morelli et al., 2004). Néanmoins, la majeure partie des réactions induites par les exosomes se font par le biais de leur contenu et non de leurs présences elle-même.

1.4.5. Les fonctions physiologiques des exosomes

Les exosomes, étant un moyen de communication intercellulaire, sont impliqués dans de nombreuses fonctions physiologiques. Entre les cellules immunitaires, les exosomes vont jouer le rôle de présentation d'antigène en permettant la présentation et la formation du complexe CMH / peptide antigénique (Bobrie et al., 2011; Chaput and Théry, 2011). Dans le SNC, les exosomes induisent la régénération, la réparation et la plasticité neurales (Bakhti et al., 2011; Fauré et al., 2006; Krämer-Albers et al., 2007; Lachenal et al., 2011; Wang et al., 2011). Au sein du système reproducteur mâle, ils sont impliqués dans la mise en place de la

spermatogenèse, du contexte immunitaire des spermatozoïdes, voire même un frein au développement précoce du VIH (Madison et al., 2015; Sullivan et al., 2005; Vojtech et al., 2014; Welch et al., 2018, 2017). Cet effet immunitaire des exosomes se retrouve durant la grossesse, où ils seront porteurs d'une résistance infectieuse ; cette résistance se poursuit par leur transfert au sein du lait maternel (Admyre et al., 2007; Delorme-Axford et al., 2013; Foster et al., 2016).

Les exosomes vont avoir un effet pro-angiogénique, notamment au sein des LT. Après activation des LTs et leur retour dans la circulation systémique, ces derniers vont produire des exosomes CD47⁺. Ces derniers vont agir sur les cellules endothéliales puis provoquer leur prolifération, entraînant le développement des vaisseaux sanguins (Kaur et al., 2014). Les mêmes effets ont été retrouvés par le transfert de certains miRs (miR210, miR126, miR132, miR21) de cellules mésenchymateuses, stimulant la prolifération et la différenciation des cellules endothéliales (Chen et al., 2010; Ma et al., 2018; Yoo et al., 2012).

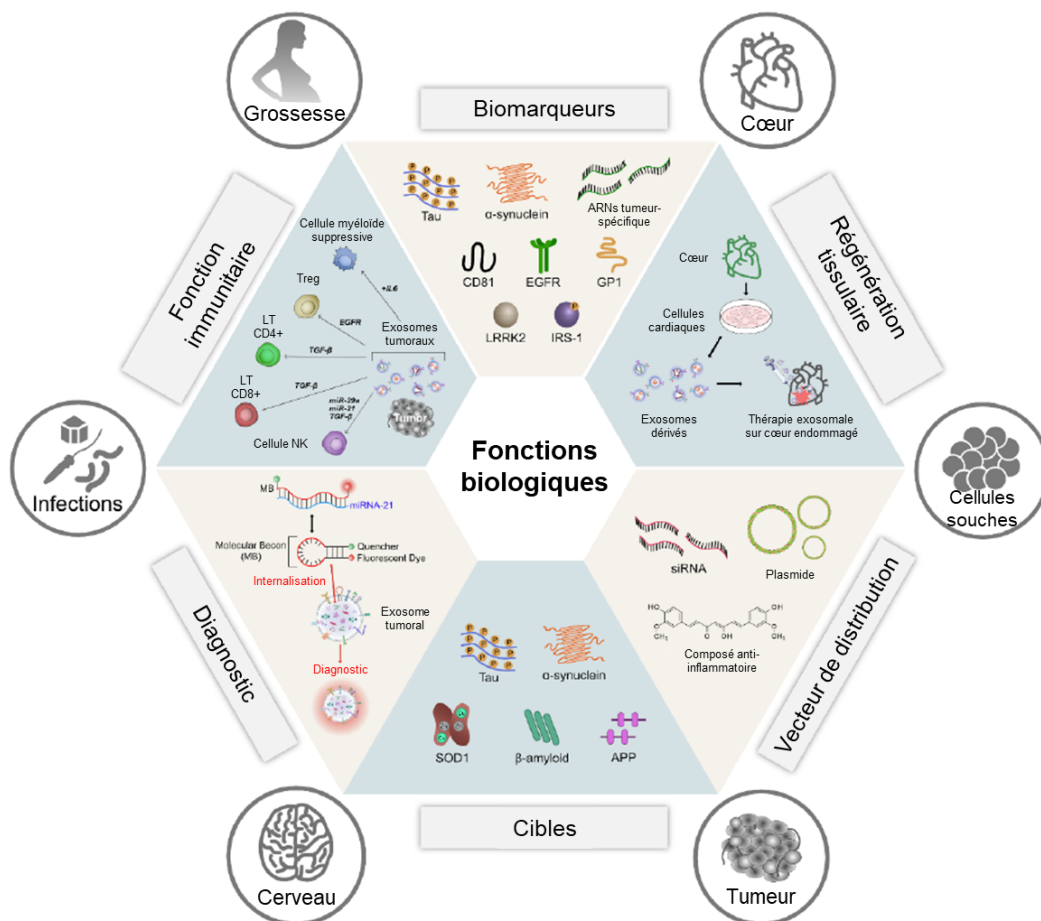


Figure 39 : Fonctions biologiques des exosomes

Les exosomes vont avoir de multiples fonctions au sein de l'organisme, telles que la régénération tissulaire, la distribution au sein de cellules plus ou moins éloignées de nombreux types de molécules possibles, pouvant influencer la physiologie des cellules cibles. Elles vont dans un cadre pathologique remplir un but thérapeutique, abolir la reconnaissance immunitaire de la tumeur, permettre un suivi pathologique par leurs utilisations comme biomarqueurs, voire constituer des cibles thérapeutiques. (Adaptée de Gurunathan et al., 2019)

Les exosomes peuvent également réguler l'induction de l'apoptose dans les cellules cibles (Gregory and Pound, 2010). Les exosomes sécrétées par les cellules apoptotiques induisent l'apoptose des cellules environnantes (Atkin-Smith et al., 2015; Atkin-Smith and Poon, 2017; Caruso and Poon, 2018). Les cellules stromales peuvent, en condition de stress, produire des exosomes susceptibles d'induire soit la prolifération, soit l'apoptose (Vallabhaneni et al., 2016).

De manière générale, les exosomes peuvent stimuler des voies de signalisation de prolifération ou de différenciation au niveau des cellules cibles (H Rashed et al., 2017; Maia et al., 2018). Dans le cadre des cellules souches, ces *stimuli* peuvent induire une différenciation. Des exosomes pro-ostéogéniques ou monocytaires peuvent stimuler la différenciation de cellules souches mésenchymateuses, par le transfert de diverses protéines ou de miRs (Cui et al., 2016; Ekström et al., 2013; Narayanan et al., 2016) ; des vésicules contenant du miR223, induisent la transformation des monocytes en macrophages (Ismail et al., 2013). Des exosomes endothéliaux sont capables d'induire, à partir des cellules musculaires ischémiques la différenciation des cellules progénitrices de la moelle osseuse en cellules endothéliales (Katsuda et al., 2013). Il est possible également d'observer le rôle des exosomes de cellules souches hématopoïétiques dans l'orientation de la différenciation des cellules progénitrices de cette voie dans l'inhibition de la voie Notch, par l'échange du miR126(Liao et al., 2018).

Un des rôles les plus étudiés est l'impact immunitaire des exosomes en infectiologie (Gehrmann et al., 2014; Kurywchak et al., 2018; Robbins and Morelli, 2014). Comme énoncé précédemment, les exosomes de CPA induisent l'activation des LT ciblés *via* le complexe CMH-II / peptide antigénique, réponse toutefois plus faible qu'avec les CPA (Raposo et al., 1996; Vincent-Schneider et al., 2002; Zitvogel et al., 1998). L'effet des exosomes peut être une activation de la réponse immunitaire mais peut aussi être détourné par les agents infectieux et l'inhiber (Ahmadi Badi et al., 2017; Cheng and Schorey, 2013; Giri and Schorey, 2008; Smythies and Smythies, 2014). Ainsi, bactéries ou parasites peuvent, par transfert d'ADN génomique ou de miRs, stimuler la réponse immunitaire innée (Montecalvo et al., 2012; Nandakumar et al., 2019; Sisquella et al., 2017). C'est pour ces biais que les agents infectieux sont en mesure de stimuler leur immunotolérance et donc leur prolifération au sein de l'organisme (Crenshaw et al., 2018; Lenassi et al., 2010; Pegtel et al., 2010; Ramakrishnaiah et al., 2013; Sims et al., 2018). Dans un cadre physiologique, les exosomes échangées peuvent induire une polarisation de la réponse vers la réponse adaptative à médiation cellulaire (Ying et al., 2016). Au sein de ceux-ci, le transfert et l'action de PD-L1 et FasL *via* les exosomes vont induire cette polarisation (Abusamra et al., 2005; Andreola et al., 2002; Chen et al., 2018; Ning et al., 2018; Poggio et al., 2019). C'est pour ces multiples effets que les exosomes sont considérés comme acteur de la réponse immunitaire et de la régulation de celle-ci (Wang et al., 2014).

Plus largement et dans un contexte cellulaire diversifié, les exosomes sont capables de modifier le métabolisme des cellules cibles, dans un but d'adaptation des modifications du milieu extérieur. Les exosomes vont pouvoir indirectement agir sur le stockage énergétique, la régulation métabolique et la consommation énergétique. Ces effets ont été démontrés dans les cellules hépatiques, adipeuses, pancréatiques et musculaires squelettiques (Guay

and Regazzi, 2017). Il s'agit notamment d'un moyen pour les cellules tumorales de s'adapter pour survivre (Chitti et al., 2018).

Étant donnée leur potentiel d'implication dans de nombreux processus physiologiques, ces vésicules seront détournées au sein de nombreuses pathologies. Parmi celles-ci, on retrouve les maladies neurodégénératives et le transfert d'agrégats protéiques (Alvarez-Llamas et al., 2008; Simpson et al., 2009). Mais c'est surtout dans le cancer que le détournement de la machinerie exosomale a été étudié, comme pouvant promouvoir la survie et la prolifération de la tumeur.

1.4.6. L'implication des exosomes dans le cancer et le glioblastome

Le détournement des fonctions contrôlées par les exosomes permet le développement et la prolifération des cellules tumorales (Hanahan and Weinberg, 2011). Les exosomes vont ainsi être reliés à la croissance tumorale, la formation de métastase, la résistance aux thérapies et l'apparition des syndromes paranéoplasiques, notamment en détournant l'ensemble des mécanismes décrits précédemment.

Il a été démontré que les exosomes peuvent être à l'origine des processus néoplasiques ou promouvoir le développement de la tumeur. Par exemple, il a été observé que des exosomes de cellules tumorales pancréatiques peuvent induire la tumorigenèse de fibroblastes embryonnaires murins (Stefanius et al., 2019). De même, les exosomes tumoraux issus de tumeurs mammaires ou prostatiques peuvent induire la tumorigenèse des cellules adipocytaires par la transmission de miRs (miR-125b, miR-130, miR-155) et des ARNm de HRas et KRas (Abd Elmageed et al., 2014; Melo et al., 2014). Cependant, les mécanismes de mise en place des processus néoplasiques au travers des échanges exosomaux entre cellules tumorales et cellules environnantes saines ne sont pas totalement connus.

Les exosomes tumoraux peuvent également transformer les cellules tumorales en favorisant leur transformation, par la TEM notamment. Ainsi, le transfert exosomal du miR-200 dans une tumeur de cancer du sein peut entraîner la TEM de ces cellules et la formation de métastases (Le et al., 2014). Si les exosomes peuvent agir directement sur la transformation des cellules tumorales, ils peuvent agir indirectement sur la mise en place d'un environnement favorable sur les cellules saines. Par exemple, des exosomes TGF- β^+ vont pouvoir activer des fibroblastes et créer un environnement prône à la formation de métastases par l'augmentation de l'expression de l' α SMA et du FGF2 (Webber et al., 2010). Ces effets peuvent être tissus- ou organes-spécifiques afin de permettre la survenue ciblée de métastases. Ainsi, la production d'exosomes de tumeurs gastriques EGFR⁺ agit sur les cellules hépatiques afin de promouvoir les métastases *via* la production d'HGF (Zhang et al., 2017). Les effets des exosomes ne se limitent à l'action de protéines mais reposent également au moins partiellement sur l'action d'acides nucléiques (Sansone et al., 2017; L. Zhang et al., 2015).

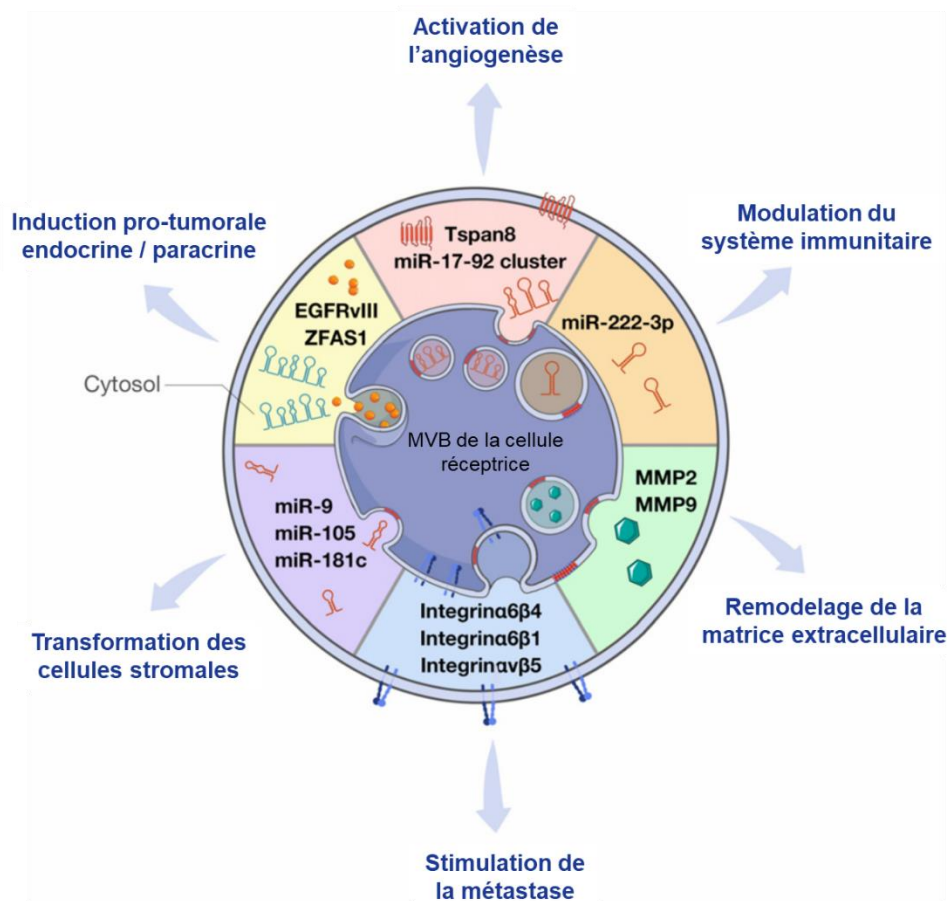


Figure 40 : Schéma des fonctions des exosomes tumoraux

Les exosomes produits par les cellules tumorales vont permettre de stimuler de façon endocrine et paracrine le développement tumoral, la transformation des cellules stromales, la stimulation de la transition épithélio-mésenchymateuse avec une stimulation de la formation des métastases. De plus, pour permettre ce développement tumoral, les exosomes vont entraîner le remodelage de la matrice extracellulaire entourant les cellules tumorales, l'adaptation du système immunitaire pour la tolérance tumorale et la stimulation de l'angiogenèse. (Adaptée de Tai et al., 2018)

Comme dans le cadre du développement tumoral, les exosomes vont permettre aux cellules tumorales de détourner les processus angiogéniques au profit de la tumeur. Ce sont principalement les CSCs qui vont détourner ces processus afin de stimuler la néoangiogenèse (Ribatti, 2012; Sugimori et al., 2015; Sun et al., 2017).

Les exosomes tumoraux vont transformer le microenvironnement et donc les connexions entre cellules tumorales et environnementales pour favoriser le développement tumoral et la migration des cellules tumorales. Ainsi par le transfert du miR-105, les cellules tumorales mammaires vont perdre l'expression de la protéine ZO-1 et donc la présence des jonctions serrées, leur permettant une plus grande dissémination tumorale (Zhou et al., 2014). Les exosomes provenant de cellules hypoxiques de GBM entraînent la reprogrammation des cellules endothéliales environnantes favorisant la néoangiogenèse et donc la prolifération du GBM (Kucharzewska et al., 2013).

Un des aspects les plus ambivalents du rôle des exosomes dans le développement des tumeurs se situe au niveau du transfert d'ADN. Ce transfert peut freiner le développement tumorale par l'activation de la voie cGAS-STING dans les LT (Kitai et al., 2017; Torralba et al., 2018). Cette activation serait due à la libération d'ADN cytosolique par les cellules tumorales, comme moyen d'adaptation aux changements environnementaux (Takahashi et al., 2017). Malheureusement, cette activation des LT peut provoquer une augmentation de l'inflammation, aggravant la santé globale du patient (Chennakrishnaiah et al., 2018; Montermini et al., 2015).

Les exosomes vont également pouvoir intervenir dans le cadre thérapeutique en favorisant l'émergence des résistances et de l'échappement thérapeutiques. Par exemple, des cellules de lymphomes B peuvent émettre des exosomes CD20+ servant de leurres thérapeutiques dans le cadre de traitements anti-CD20 (Aung et al., 2011). Dans le cancer colorectal, le dialogue entre les CSCs et des fibroblastes malins favorise la propagation de la chimiorésistance tumorale (Hu et al., 2015). Dans le cadre de la radiorésistance, il a été démontré également que des fibroblastes malins peuvent transmettre cette résistance par le transfert d'ARNm et d'éléments transposables aux cellules tumorales (Boelens et al., 2014). Ainsi, il est essentiel d'intégrer les exosomes dans la prise en charge thérapeutique et l'évolution des tumeurs chez les patients.

Dans le cadre du GBM, les exosomes vont jouer un rôle majeur dans le développement de la tumeur. En effet, il a été démontré qu'une seule cellule tumorale peut produire environ 10 000 vésicules extracellulaires en 48 h (Whitehead et al., 2019). Si les cellules saines et les cellules tumorales sont capables de produire des exosomes, leur contenu diffère, permettant de différencier les deux types d'exosomes (Basu and Ghosh, 2019). La transmission des molécules protumorales avec les cellules stromales permet de modifier le microenvironnement, pour favoriser la prolifération tumorale (Basu and Ghosh, 2019; Cheng et al., 2020; Kros et al., 2015). Entre cellules tumorales, le transfert de protéines peut induire une modification de l'agressivité tumorale. Par exemple, le transfert de PTEN est capable de stimuler l'agressivité du GBM quand il est relargué par les cellules (Quezada et al., 2018). Également, la transmission des récepteurs EGFRvIII, HER2, PDGFR, TrkB, p75^{NTR} et NTSR3 s'associe à une stimulation de la prolifération des cellules

cancéreuses et donc au développement tumoral (Pinet et al., 2016; Quezada et al., 2018). Les ARN non codants vont également permettre le transfert de ces caractéristiques dans le cadre de la tumeur, avec notamment les miRs (miR-21, miR-29a, miR-221 et miR-222) (Quezada et al., 2018). Certains miRs, comme le miR-451, montrent un effet ambivalent, en stimulant la prolifération quand surexprimé et l'invasion lors de son inhibition (Zhao et al., 2017).

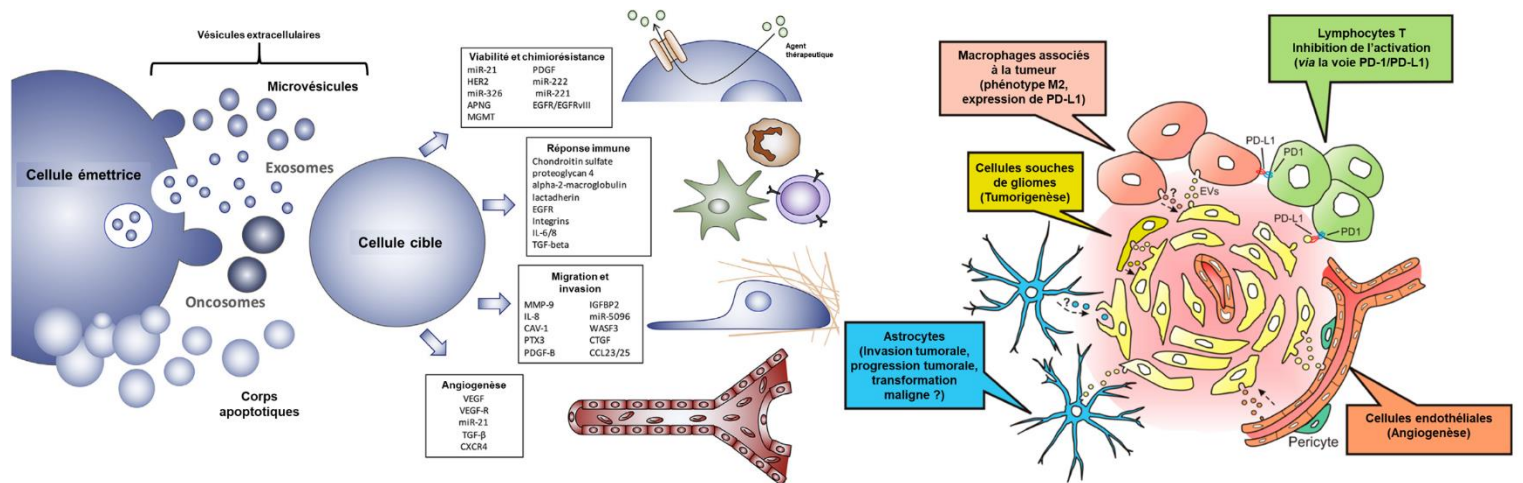


Figure 41 : Rôle des vésicules extracellulaires dans le cadre des glioblastomes

Les vésicules extracellulaires produites par les cellules donneuses vont agir sur les cellules cibles au sein de la niche tumorale, cellules du microenvironnement. L'intégration de ces exosomes dans les cellules va induire l'activation de différentes voies de prolifération, conduisant au développement tumoral, telles que la viabilité, la chimiorésistance, la tolérance immunitaire, la migration, l'invasion et l'angiogenèse. L'ensemble du microenvironnement va être remodelé pour favoriser cette prolifération de la tumeur, notamment au travers de l'action de la voie PD-1/PD-L1. (Adaptée de Quezada et al., 2018 ; Matarredona and Pastor, 2019)

Dans le cadre thérapeutique du GBM, les exosomes ont été démontrés comme étant impliqués dans la résistance tumorale, notamment au sein des CSCs (Quezada et al., 2018; Uribe et al., 2017). Ainsi, il a été démontré que la transmission des marqueurs CD133 et CD44 *via* des exosomes de CSCs permettent la transmission de caractères de résistance aux cellules tumorales différenciées (Quezada et al., 2018). Avant même l'apparition des caractères de résistance, les exosomes ont notamment dans le GBM la capacité d'excréter les drogues utilisées sur la tumeur ou de transférer des enzymes de résistances tumorales (MGMT, APNG) (Shao et al., 2015).

Pour survivre, la tumeur de GBM est capable d'utiliser les exosomes pour contrôler et éteindre la réaction immunitaire environnante. Ces exosomes vont notamment toucher les monocytes, les macrophages et la microglie en les transformant en macrophages associés à la tumeur. Ces changements vont entraîner le passage d'un environnement inflammatoire antitumoral en protumoral (de Vrij et al., 2015). Il y a même une augmentation de la polarisation des macrophages M1 en M2, inoffensifs pour la tumeur et une augmentation de l'activité des macrophages pour dégrader la matrice extracellulaire et favoriser l'invasion tumorale (Matarredona and Pastor, 2019; Mills and Ley, 2014; Quezada et al., 2018). La sécrétion de miRs dans ce cadre va également permettre de maintenir l'environnement protumoral (Gabrusiewicz et al., 2018; Godlewski et al., 2010; van der Vos et al., 2016). Les

exosomes interviennent également dans l'extinction de la réponse immunitaire antitumorale et donc dans le maintien de l'immunotolérance du GBM. Un des biais mis en place par les cellules tumorales passe par la libération et la transmission de PD-L1, éteignant l'activité antitumorale des LT (Grimaldi et al., 2019; Ricklefs et al., 2018). Comme expliqué précédemment, PD-L1 présent à la membrane peut activer la voie PD-1 au sein des LT mais également au sein de la microglie pour y éteindre la réponse immunitaire (Litak et al., 2019). L'effet de la protéine au travers de sa transmission exosomale semble nécessaire à l'immunotolérance et donc à la croissance tumorale. Néanmoins, l'extinction de la réponse cellulaire s'effectue au niveau des LTH, les LTC conservant leurs propriétés (Quezada et al., 2018).

Les exosomes du GBM peuvent également activer l'angiogenèse tumorale, nécessaire à la croissance tumorale. Cette stimulation des cellules endothéliales est permise par la transmission de facteurs angiogéniques tels que le VEGF, le TGF- β 1, CXCR4, certains miRs et des enzymes de dégradation de la matrice, émis notamment par les CSCs (Giusti et al., 2016; Ping et al., 2011, p. 12; Quezada et al., 2018).

Au sein des cellules environnantes du GBM, une des cibles préférentielles des exosomes tumoraux sont les astrocytes, favorisant l'apparition et la transmission des transformations du microenvironnement et donc la croissance tumorale (Hallal et al., 2019). Ces changements vont être sous la dépendance de certaines protéines telles que l'annexine 1, l'intégrine β 1 ou la calréticuline et de miRs comme le miR-5096 (Mallawaarachy et al., 2017; Thuringer et al., 2017).

Du fait des effets multiples sur de nombreux systèmes de l'organisme, les exosomes se placent au cœur des processus tumoraux du GBM. C'est par leurs effets sur les mécanismes d'agressivité tumorale que les exosomes constituent un sujet d'étude crucial afin d'obtenir une meilleure compréhension de ceux-ci. Grâce à ces connaissances, une utilisation des exosomes en tant qu'outil diagnostique ou thérapeutique permettrait une meilleure prise en charge du GBM. C'est par l'accumulation de découvertes des mécanismes impliquant les exosomes, par leur disponibilité et par leur possible utilisation que les exosomes sont considérés comme source de biomarqueur dans le GBM.

1.4.7. L'utilisation des exosomes comme biomarqueur

Une des caractéristiques du GBM est sa forte hétérogénéité, définie par de nombreuses sous-populations plus ou moins indifférenciées. Pour approcher et comprendre cette hétérogénéité, les seules techniques existantes sont l'analyse par biopsie et l'IRM. Malgré tout, il est difficile de dresser un profil complet de la tumeur, du fait des limites techniques de l'IRM, de la faible portée de la biopsie et de leur risque pour le patient (Balasa et al., 2016; Chittiboina et al., 2012; De la Garza-Ramos et al., 2016; Gourlay et al., 2017; Jackson et al., 2001; Klekner et al., 2019). Pour envisager de compléter ces techniques, le recours à des biopsies liquides, moins invasives, est de plus en plus mis en avant, en se focalisant sur les éléments tumoraux circulants. Ces biopsies liquides permettent de détecter les cellules cancéreuses circulantes, l'ADN tumoral et les exosomes. La technique repose sur l'isolement et l'analyse notamment des exosomes tumoraux au sein des fluides physiologiques, le plus souvent le sang et le LCR dans le cadre du GBM. L'analyse régulière

des exosomes tumoraux permet de suivre l'évolution de la tumeur au cours du temps, sans présenter de risque pour les patients (Gonda et al., 2013; Klekner et al., 2019; Whitehead et al., 2019). Le LCR présente comme avantage de posséder une plus grande proportion d'exosomes tumoraux que dans le sang, dûe à l'absence de passage de la BHE et à une relative absence d'exosomes extérieurs au SNC. Malheureusement, la faible quantité de LCR disponible et sa difficulté d'obtention chez les patients expliquent la prédominance de l'utilisation du sang dans le cadre des biopsies liquides (Gourlay et al., 2017; Klekner et al., 2019).

Ainsi, l'accès direct au profil moléculaire de la tumeur peut être obtenu par les vésicules extracellulaires, avec la détection des protéines et des ARN non codants. La détection de ce contenu vésical peut donc être associé à des estimations diagnostiques et pronostiques (Bălașa et al., 2020).

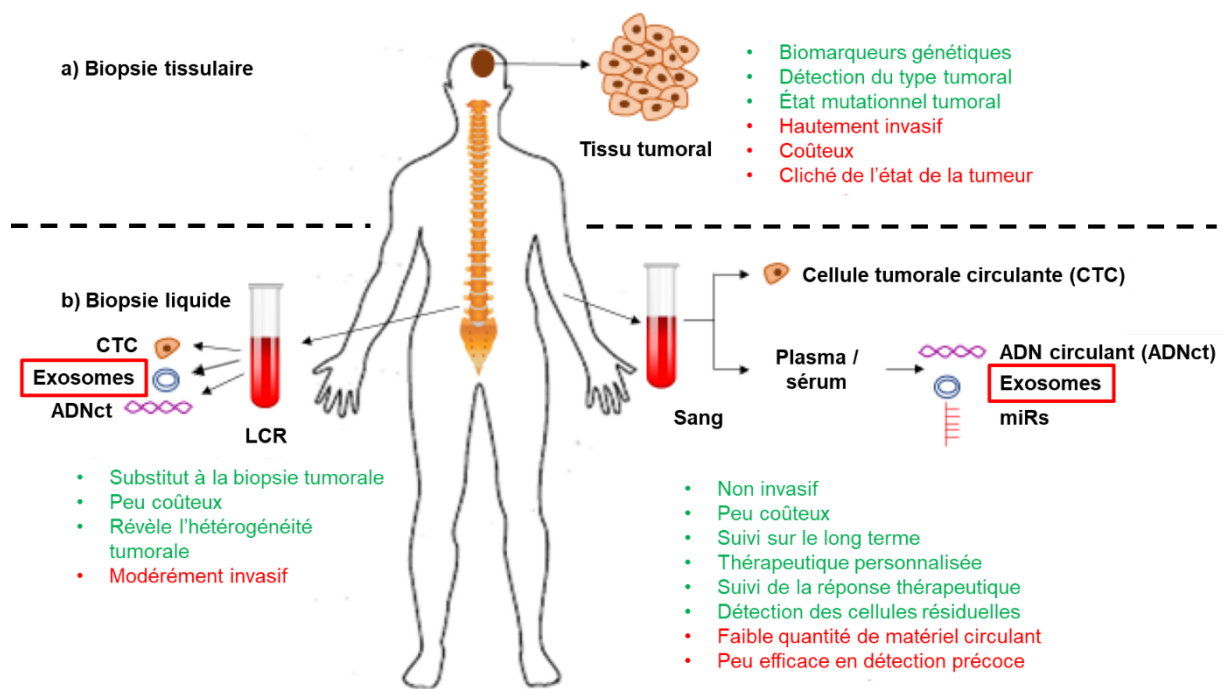


Figure 42 : Comparaison entre les biopsies solides et les biopsies liquides

Traditionnellement, les biopsies solides (a) sont utilisées pour atteindre la tumeur et connaître ses caractéristiques (type, état mutationnel) et adapter la thérapeutique. Mais les conséquences sont les risques encourus par le patient et les coûts importants, d'où le développement ces dernières années de nouvelles méthodes plus efficaces et moins risquées. Les biopsies liquides de liquide céphalorachidien (LCR) ou de sang présentent un risque moindre et permettent de visualiser l'état tumoral et son évolution de manière rapide, par la récupération d'exosomes, de miARNs, d'ADN circulant et de cellules tumorales circulantes. Une définition plus fine des éléments de suivi permettra d'optimiser l'utilisation de ces biopsies liquides. (Adaptée de Sareen et al., 2020)

Tableau 3 : Divers cargos exosomaux avec leurs portées diagnostiques et pronostiques

Cargo exosomal	Impact	Références
ANXA1, ITGB1, CALR, PDCD6IP, PSMD2, ACTR3, APP, CTSD, IGF2R, ECM1, GAPDH, IPO5, MVP, PSAP	Stimule l'invasion tumorale	(Mallawaarachy et al., 2017)
miR-5096	Augmente l'invasion et la prolifération <i>via</i> Kir4.1	(Thuringer et al., 2017)
miR-21, miR-29a, miR-222, miR-221, miR-30a, miR-92b, miR-23a	Augmente la prolifération et la résistance à l'apoptose	(Chistiakov and Chekhonin, 2014)
Ndfip1	Induit la survie et la prolifération (si inhibé)	(Putz et al., 2012)
PDGFR	Augmente la prolifération (mauvais pronostic, si amplifié)	(Kucharzewska et al., 2013)
PTEN muté	Induit une forte prolifération	(Han et al., 2016)
Promoteur de TERT	Induit une forte prolifération	(Mosrati et al., 2015)
EGFR / EGFRvIII	Lié au sous-type classique, induit une résistance à l'apoptose et à la chimiothérapie	(Roth and Weller, 2014)
TGF-β1	Stimule l'angiogenèse, la prolifération et la migration	(Seystahl et al., 2015)
VEGF, CXCR4, MMPs (pro-MMP-9, pro-MMP-2, MMP-2) activateurs du plasminogène (tPA, uPA), miR-21	Stimule l'angiogenèse	(Giusti et al., 2016)
miR-2	Stimule la voie du VEGF et donc l'angiogenèse	(Sun et al., 2017; Vallée et al., 2018)
Sémaphorine 3A	Augmente la perméabilité vasculaire	(Treps et al., 2016)
MGMT, APNG	Stimule la chimiorésistance ; si le promoteur de MGMT est méthylé, la tumeur est de sous-type proneural et est de bon pronostic	(Shao et al., 2015)
MiR-151a	Induit la résistance au TMZ	(Zeng et al., 2018)

CD133, CD44	Potentiels marqueurs de chimiorésistance	(Uribe et al., 2017)
Adénosine nucléotide	Induit une chimiorésistance	(Uribe et al., 2017)
IDH-1 muté	Lié au sous-type proneural, bloque les réparations à l'ADN, induit l'apoptose (bon pronostic)	(Szopa et al., 2017)
PD-L1	Induit l'immunotolérance (mauvais pronostic)	(Litak et al., 2019)
TrkB, p75^{NTR}, Sort1	Induit la prolifération tumorale	(Pinet et al., 2016)

ANXA1 : Annexine A1 ; ITGB1 : Intégrine beta-1 ; CALR : Calréticuline ; PDCD6IP : Programmed cell death 6-interacting protein ; PSMD2 : 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 2 ; ACTR3 : Actin-related protein 3 ; APP : Amyloid beta A4 protein ; CTSD : Cathépsine D ; IGF2R : Insulin-like growth factor 2 receptor ; ECM1 : Extracellular matrix protein 1 ; GAPDH : Glyceraldehyde-3-Phosphate Déshydrogénase ; IPO5 : Importine-5 ; MVP : Major vault protein ; PSAP : Prosaposin precursor ; Kir4.1 : Inward rectifier potassium channel 4.1 ; Ndfip1 : Nedd4 family interacting protein 1 ; PDGFR : Platelet-derived growth factor receptor ; PTEN : Phosphatase and Tensin Homolog ; TERT : Telomerase reverse transcriptase ; EGFR/EGFRvIII : Epidermal growth factor receptor / Epidermal growth factor receptor variant III ; TGF-β1 : Transforming growth factor-beta 1 ; VEGF : Vascular endothelial growthfactor ; CXCR4 : C-X-C Motif Chemokine Receptor 4 ; MMP : Matrix metalloproteinase ; tPA : Tissue plasminogen activator ; uPA : Urokinase-type plasminogen activator ; MGMT : O6-methylguanine-DNA-methyltransferase ; APNG : Alkylpurine-DNA-N-glycosylase ; IDH-1 : Isocitrate dehydrogenase 1 ; PD-L1, Programmed death-ligand 1 ; TrkB : Tropomyosin-related kinase B ; p75^{NTR} : Low affinity neurotrophin receptor p75NTR ; Sort1 : Sortiline.

Les modifications observées au sein du cargo exosomal peuvent refléter les évolutions de la tumeur, néfastes comme bénéfiques, d'où l'importance d'un suivi régulier par biopsies liquides. De plus le développement des techniques de biopsies et la détection de biomarqueurs diagnostiques et pronostiques permettent d'améliorer les résultats de la thérapeutique et la prise en charge des GBM.

Objectifs

Le glioblastome (GBM) est la forme la plus agressive des tumeurs cérébrales, présentant le pronostic le plus défavorable. Les thérapies classiques (chimio-, radiothérapie et chirurgie) n'apportent qu'un effet limité dans le temps ce qui ne permet pas de réduire la fréquence de récurrences et d'améliorer la médiane de survie des patients depuis de nombreuses années. Ces taux de récurrences proviennent notamment de l'agressivité du GBM qui repose en particulier sur la présence d'une population de cellules possédant des caractéristiques de cellules souches cancéreuses. Ces cellules souches cancéreuses (CSCs) sont en effet capables de résister aux traitements radio- et chimio-thérapeutiques ce qui leur permet de régénérer la masse tumorale. Afin d'essayer d'enrayer la résistance thérapeutique de ce type de tumeur, l'immunothérapie apparaissait comme une des pistes les plus prometteuses. Néanmoins, les premiers essais cliniques sur le GBM avec des anticorps anti-PD1 ou -PD-L1 ont donné des résultats peu convaincants, avec parfois de graves effets secondaires totalement (Wang et al., 2019). Ces résultats étaient totalement en opposition avec ceux obtenus avec cette approche thérapeutique dans le mélanome dans lequel on observe une réduction du risque de récurrence (Carretero-González et al., 2018; De Sousa Lihares et al., 2019). Une meilleure compréhension des mécanismes de résistance mis en jeu par la tumeur afin de favoriser l'échappement thérapeutique s'avère donc essentielle. Ces mécanismes pourraient notamment dépendre de cross-talk ou transactivations entre différents acteurs impliqués dans la progression tumorale qui seraient susceptibles d'être en interaction directe ou indirecte avec PD-L1 ou PD-1.

Les récepteurs des neurotrophines (Trks et p75^{NTR}) sont impliqués depuis plusieurs décennies dans la progression et l'agressivité tumorales. Des travaux menés au sein de notre équipe ont porté sur leurs effets et ceux de leurs ligands, sur différents types de tumeurs : cancer colorectal, lymphome, cancer bronchique non à petites cellules et GBM (Al-Akhrass et al., 2017; Blondy et al., 2021; Deluche et al., 2019; Jawhari et al., 2017; Pinet et al., 2016; Saada et al., 2012; Talbot et al., 2019). Notre étude s'est focalisée sur le récepteur p75^{NTR} qui est transféré par les vésicules extracellulaires et assure ainsi la dissémination de l'agressivité avait été démontré (Pinet et al., 2016). Il est connu pour son implication dans la balance prolifération / mort, au sein des gliomes notamment. Son activation et la stimulation accrue de ses voies de signalisation sont observées lorsqu'il est complexé à des partenaires protéiques, propriété commune à la majorité des récepteurs de la famille des TNFRSF. De plus, il a été démontré que sa libération par les exosomes de GBM est liée à l'agressivité tumorale et qu'il pourrait donc constituer un biomarqueur d'intérêt (Pinet et al., 2016).

PD-L1 est une protéine liée également à l'agressivité tumorale du GBM ainsi que d'autres formes tumorales. Ce ligand joue un rôle dans la progression tumorale par son implication dans la résistance immunitaire en provoquant l'extinction de la réponse immune. Il a donc été largement étudié à des fins thérapeutiques et utilisé comme cible en immunothérapies. Si les résultats sont positifs dans de nombreux cancers, aucune amélioration significative de la survie des patients avec l'utilisation d'anti-PD-L1 n'a été observée pour le GBM. Ces résultats négatifs relayés par divers essais cliniques semblent indiquer que les cellules puissent détourner les mécanismes d'inhibition du ligand seul. Notre

hypothèse de travail reposait alors sur le postulat que PD-L1 puisse échapper à son inhibition grâce à une association à d'autres protéines.

Les travaux de Furuta et al. ont mis en évidence que, sous l'influence de l'IFN- γ , les cellules tumorales de mélanome expriment PD-L1 et les niveaux d'expression de ce ligand sont corrélés à ceux de p75^{NTR}. La présence des deux protéines semblent permettre abolir la réponse cytotoxique des LTC autour de la tumeur (J. Furuta et al., 2014).

Mes travaux qui s'inscrivent dans la continuité des thématiques développées par l'équipe portent sur l'étude des mécanismes d'échappement thérapeutique dépendant des exosomes et de leur fonction associée au transfert de récepteurs de neurotrophines vers le microenvironnement tumoral. Nous nous focaliserons sur les interactions entre p75^{NTR} et PD-L1 dans le glioblastome avant de démontrer l'existence d'un complexe p75^{NTR}/ PD-L1 impliqué dans les mécanismes d'agressivité, de progression et de résistance tumorales. L'étude a été menée à partir de différentes approches *in vitro*, *ex vivo* aussi ce qui a permis la mise en évidence du complexe aussi bien au niveau cellulaire qu'au niveau des exosomes. L'objectif principal de ces travaux a abouti à la caractérisation d'un lien inédit entre ces deux protéines dans le glioblastome et ouvre de nouvelles perspectives concernant l'utilisation de ce complexe en tant que biomarqueur pronostique et/ou diagnostique afin d'améliorer la prise en charge du GBM. La mise en évidence d'un transfert de ce complexe au sein des exosomes et de sa dissémination dans les cellules du microenvironnement pourrait favoriser la résistance à l'immunothérapie et nous conduit à proposer ce complexe comme une cible thérapeutique potentielle.

Matériel et méthodes

1.5. Quantification transcriptionnelle de NGFR (p75^{NTR}) et PD-L1 (CD274) et effets sur la survie des patients

Les profils d'expression génique et les données cliniques des cohortes de gliomes de bas grade et du GBM sont obtenus au travers des bases de données RNA-seq du TCGA (The Cancer Genome Atlas) (Rahman et al., 2015). Les données brutes de 154 GBM et 479 LGG sont normalisées en utilisant le package DESeq2 et les données normalisées concernant p75^{NTR} et PD-L1 sont ainsi utilisées (Love et al., 2014, p. 20). Les cohortes issues du TCGA sont divisées en 229 tumeurs de grade II, 250 tumeurs de grade III et 154 tumeurs de grade IV selon la gradation de l'OMS en vigueur et en 119 oligoastrocytomes, 178 oligodendrogliomes, 182 astrocytomes et 154 glioblastomes selon la classification actuelle. Un test de Wilcoxon apparié avec une correction de Benjamini-Hochberg est utilisé afin d'analyser les données transcriptomiques des tumeurs et de comparer entre eux les niveaux d'expressions en fonction de leur grade et de leur classification histologique. L'analyse de données de survie issues des tumeurs est effectuée sur la base de courbes de Kaplan-Meier, avec test log-rank et des modèles de régression de Cox (uni- et multivariés), en utilisant les packages survival et survminer (Heagerty et al., 2000). L'utilisation de ces outils permettent d'analyser et d'évaluer le potentiel pronostic de p75^{NTR} et PD-L1, en fonction du niveau d'expression des transcrits.

Toutes ces analyses statistiques sont effectuées au sein de la suite R (version 3.6.1) et sont considérées comme significatives avec un p inférieur à 0,05.

1.6. Analyse Tissue Micro Array (TMA) de tumeurs de glioblastome

Les échantillons de gliomes sont issus de la banque tumorale de CRBioLim (<http://www.crbioim.fr>) du Centre Hospitalier Universitaire de Limoges, après agrément du projet de recherche par le Comité de Protection des Personnes (AC-2013-1853, DC-2011-1264).

Les TMA sont réalisés à partir de carottes tumorales de 2 mm de long inclus en paraffine. Des sections de 5 µm d'épaisseur sont déposées sur des lames Superfrostplus® et laissées au repos sur la nuit. Les lames sont ensuite déparaffinées (2 bains de 10 minutes de toluène) puis réhydratées (2 bains de 5 minutes d'éthanol absolu). Après 2 bains d'eau et de PBS 1X (Gibco, 14190144), elles sont perméabilisées et démasquées par 3 bains de tampon citrate pH 7,0 (préalablement chauffé 5 minutes au four à micro-onde à 750 W). Les échantillons sont refroidis pendant 3 heures à température ambiante puis rincés au PBS 1X. Pour améliorer le marquage, l'inhibition des peroxydases endogènes est réalisée par une solution de méthanol – 5 % H₂O₂ 10 minutes à température ambiante. Après un lavage à l'eau distillée puis deux lavages au PBS 1X, les lames sont saturées avec une solution de PBS 1X – 3 % BSA pendant 30 minutes (BSA / Albumine sérique bovine ; Seqens, 1000-70). Enfin, les lames sont mises à incuber avec les anticorps d'intérêt dilués dans la solution de saturation (anti-PD-L1, lapin, Diagnostics, 1/200; anti-NGFR, lapin, Santa Cruz Biotechnologies, 1/300) à 4°C sur la nuit.

Pour poursuivre le marquage, les lames sont lavées trois fois au PBS 1X puis incubées avec des anticorps secondaires couplés à l'HRP (Dako, K2003) pendant 30 min puis l'excédent retiré par trois bains de PBS 1X. La révélation est permise par une brève incubation des échantillons avec du DAB (Sigma-Aldrich, D8001) et la réaction est arrêtée avec trois nouveaux bains d'eau distillée. Les TMA sont finalisées par un contre-marquage hématoxyline et une amplification du marquage au carbonate de lithium. Les lames sont déshydratées par deux bains d'éthanol absolu et un bain de toluène. Enfin, les échantillons sont montés à l'aide du milieu de montage Eukit (Fluka, 03989).

1.7. Séra et culture primaire de patients atteints de GBM

Les échantillons sériques et tissulaires sont obtenus à partir de patients atteints de glioblastome n'ayant, à la date de prélèvement, pas reçus de chimio- et/ ou de radiothérapie, opérés au sein du CHU de Limoges. Les échantillons sont obtenus de la banque tumorale de CRBioLim (<http://www.crbiochim.fr>) du Centre Hospitalier Universitaire de Limoges, après agrément du projet de recherche par le Comité de Protection des Personnes (AC-2013-1853, DC-2011-1264).

1.8. Lignées cellulaires de glioblastome et culture cellulaire

Les lignées cellulaires humaines de glioblastome, U87-MG et LN18 ont été obtenus auprès de l'ATCC (American Type Culture Collection).

Toutes les lignées cellulaires ont été cultivées dans un milieu complet composé de :

- Dulbecco's Minimum Essential Medium (DMEM, Gibco, 31966-047) ;
- 10 % de sérum de veau fœtal (Seqens) ;
- 1 % de Peniciline / Streptomycine (Gibco, 15-140-163) ;
- 1 % de bicarbonate de sodium (Gibco, 25-080-102) ;
- 1 % d'acides aminés non-essentiels (Gibco, 11-140-035).

Les cellules sont ensuite incubées dans un environnement contrôlé à 37°C, avec une atmosphère humide à 5 % de CO₂. Pour obtenir des exosomes, les cellules U87-MG et LN18 sont préalablement placées dans un milieu appauvri en vésicules extracellulaires. Ce milieu possède la même composition que le milieu complet mais complétement par le sérum de veau fœtal ayant subi une étape d'ultracentrifugation à 120 000 g pendant 16 h. Les cellules sont ensuite incubées pendant 48 h, avec un ratio de 10 000 cellules/cm². Les surnageants de culture sont ensuite récupérés et utilisés ultérieurement.

1.9. Vésicules extracellulaires

Extraction : les vésicules extracellulaires (EVs) sont récupérées puis analysées selon les consignes de l'ISEV (Théry et al., 2018). L'extraction des EVs se fait par le biais d'ultracentrifugation différentielle. Ces centrifugations sont, comme suit, de :

- 500 g pendant 5 minutes ;
- 18 000 g pendant 30 min ;

- 120 000 g pendant 2 h ;
- 120 000 g pendant 2 h, de nouveau, dans du DPBS 1X (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, Gibco, 14190-004).

Analyse : la distribution en taille des EVs est observée avec le Nanosight NS300 (Malvern Panalytical) et analysée par le biais du logiciel NTA, après une dilution au 10^{ème} des échantillons dans du DPBS 1X.

Traitement des lignes GBM par EVs : resuspendus dans du milieu appauvri en EVs après ultracentrifugation, les EVs sont incubés avec du Tat-Pep5, un inhibiteur de p75^{NTR} (10 µM, Sigma-Aldrich, 506181) et / ou un anticorps bloquant de PD-L1 (5 µg/mL, Invitrogen, 16-5983-82) à 37°C pendant 30 min. Ensuite, pour éliminer l'excédent d'inhibiteurs et reconcentrer les EVs, une nouvelle ultracentrifugation à 120 000 g pendant 2 h est effectuée puis les EVs sont repris dans du milieu appauvri en EVs avant une incubation sur cellules. Les cellules sont placées une densité de 10 000 cellules/cm² sur la nuit, avant d'être traitées avec les EVs.

1.10. Western blot

La lyse des cellules et des exosomes est effectuée à l'aide d'un tampon de lyse RIPA (50 mM Tris-HCl pH 8.0, 150 mM NaCl, 1 % NP-40, 0,5 % sodium deoxycholate, 0.1 % SDS, 100 µg/mL PMSF, complete EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail [Roche, 11873580001]) puis le lysat est soniqué pour dégrader l'ensemble des structures restantes (Vibra-Cell VCX130). La concentration des protéines est déterminée à l'aide du Quick Start Bradford 1X Dye Reagent (Bio-Rad, 5000205). Les échantillons sont ensuite préparés avec du tampon Laemmli 4X (Bio-Rad, #161-0747).

Les protéines sont ensuite séparées par électrophorèse en gel de polyacrylamide SDS-PAGE puis transférées sur membrane de PVDF. Les membranes obtenues sont ensuite saturées avec une solution de TBS 1X – 0,1 % Tween-20 – 5 % m/v BSA pendant 1 h à température ambiante puis incubés avec l'anticorps primaire adéquat dilué dans la solution de saturation à 4°C sur la nuit. Les membranes sont incubées après lavage avec un anticorps secondaire couplé à l'HRP pendant 1 h à température ambiante. Les anticorps utilisés sont listés le tableau 3 :

Tableau 4 : Liste des anticorps utilisés dans le cadre du Western Blot

Anticorps	Fournisseur	Références	Dilution utilisé
Anti-p75 ^{NTR}	Santa-Cruz Biotech.	sc-8317	1/500
Anti-PD-L1	Origene	CF808771	1/1 000
Anti-actine	Sigma-Aldrich	A5441	1/10 000
Anti-CD63	Abcam	ab59479	1/1 000
Anti-CD9	Sigma-Aldrich	SAB1402143	1/500

Anti-CD81	Santa-Cruz Biotech.	sc-166029	1/500
Anti-HSC70	Santa-Cruz Biotech.	sc-7298	1/500
Anti-lapin, couplé HRP	Agilent Dako	P0447	1/1 000
Anti-souris, couple HRP	Agilent Dako	P0448	1/1 000

La présence des protéines d'intérêt est révélée par l'utilisation de l'Immobilon ECL Ultra Western HRP Substrate (Merck, WBKLS0500) dans un imageur G:BOX (Syngene)

1.11. Immunoprécipitation

Les cellules et les EVs sont lysées dans du tampon IP (50 mM Tris-HCl pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 % Triton X-100, 2 mM EDTA) pendant 15 min sur la glace. Les lysats sont ensuite centrifugés à 17 000 g pendant 15 min. Les surnageants protéiques sont récupérés et dosés. Des billes DynabeadsTM Protein G for Immunoprecipitation (Invitrogen, 10004D) sont incubées avec des anticorps anti-PD-L1 (Origene, CF808771, 1/100) ou anti-p75^{NTR} (Santa-Cruz Biotechnologies, sc-8317, 1/100) dilués dans le tampon IP pendant 1 h à température ambiante. Les billes sont ensuite lavées avec du tampon IP puis elles sont incubées avec 200 µg de protéines des lysats cellulaire ou vésiculaire sur roue à 4°C sur la nuit. Après lavage des billes, le complexe protéine – anticorps est élué dans du tampon Laemmli 4X 5 min à 95°C. L'ensemble des éluats sont ensuite analysés par Western Blot.

1.12. Immunofluorescence

Les cellules sont incubées en Lab-Tek II Chamber Slide (Nunc, 154534) sur la nuit, à densité de 2.10⁴ cellules par puits. Les cellules sont ensuite fixées par du PBS 1X - PFA 4 % v/v (Sigma-Aldrich, F1635) pendant 10 min à température ambiante, puis lavées 5 min à température ambiante au PBS 1X. Elles sont ensuite perméabilisées par une solution de PBS 1X –Triton X-100 0,1 % v/v 10 min à température ambiante. Après un lavage de 5 min à température ambiante au PBS 1X, les puits sont saturés avec une solution de PBS 1X - BSA 3 % m/v pendant 30 min à température ambiante. Les cellules sont ensuite incubées avec la solution d'anticorps primaires anti-p75^{NTR} (Santa-Cruz Biotechnologies, sc271708, souris, 1/50) et anti-PD-L1 (Abcam, ab205921, lapin, 1/200) dilués dans la solution de saturation, sous agitation sur la nuit à 4°C. Après 3 lavages de 5 min au PBS 1X, les cellules sont incubées avec une solution d'anticorps secondaires (anti-souris Alexa Fluor 594, Invitrogen, R37115, 1/10 000 ; anti-lapin Alexa Fluor 488, Invitrogen, A11034, 1/10 000) dilués dans la solution de saturation durant 1 h à l'obscurité et à température ambiante. Les lames sont ensuite lavées trois fois au PBS 1X pendant 5 min à température ambiante et à l'obscurité. Les lames sont ensuite récupérées et les lamelles montées à l'aide de milieu de montage au DAPI (Sigma, F6057) puis laissées à sécher pendant 15 min à l'obscurité à température ambiante.

Les lames sont observées et photographiées avec le microscope inversé Leica DMi8 et sa suite logicielle LAS X.

1.13. Prolifération (Click-iT Edu Imaging Kit)

Pour observer les effets sur la prolifération des différents traitements en imagerie, il a été utilisé le Click-iT™ Edu Cell Proliferation Kit for Imaging, Alexa Fluor™ 594 dye (Invitrogen, C10339). Les cellules sont cultivées en plaques 96-puits sur la nuit, à la densité de 2.10^4 cellules par puits. Les cellules sont incubées 2 h avec la solution d'EdU 1X puis fixées avec une solution de PFA-PBS 1X 3,7 % v/v durant 15 min à température ambiante. La perméabilisation se fait avec une solution de Triton X-100-PBS 1X 0,5 % v/v pendant 20 min à température ambiante avant que les cellules soient incubées avec le mélange réactionnel Click-iT Plus pendant 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante. Après lavage, les cellules sont incubées 30 min à l'obscurité et à température ambiante avec une solution 1X de Hoechst® 33342. Les cellules sont rincées au PBS1X puis analysées au microscope inversé Leica DMI8 et sa suite logicielle LAS X.

1.14. Biotinylation de surface de PD-L1

Les cellules sont incubées sur la nuit à une densité de 5.10^3 cellules / cm^2 puis lavées avec du PBS-CM8 (PBS 1X, 1mM $MgCl_2$, 0,1 mM $CaCl_2$, pH 8,0) pendant 5 min à 4°C. Les protéines de surface sont biotinyllées avec une solution de PBS-CM8 – 0,5 mg/mL EZ-link Sulfo-NHS-SS-Biotin (Thermo Scientific™, 21331) pendant 25 min à 4°C puis les cellules sont rincées trois fois 5 min au tampon Quenching (PBS-CM8, 0,5 % (p/v) BSA, 50 mM glycine) à 4°C. Les cellules sont ensuite incubées avec le traitement exosomal pendant 24 h dans l'incubateur.

Le métabolisme cellules est ensuite bloqué à 4°C puis les cellules sont débiotinyllées avec 6 bains de 20 min de tampon Stripping (50 mM Tris, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0,2 % (p/v) BSA, 100 mM MESNA, pH 8,6) à 4°C. La réaction est ensuite arrêtée par 3 bains de tampon Quenching. Les cellules sont lysées avec le tampon de lyse (10 mM Tris, 0,5 % (p/v) DOC, 1 % (v/v) NP-40, 1 mM Pefabloc protease inhibitor cocktail, pH 7,5) pendant 30 min sur glace. Les surnageants sont récupérés après une centrifugation de 5 min à 16 000 g à 4°C. Les protéines internalisées sont alors récupérées en incubant 2 μg / μL de lysat protéique avec 15 μL de billes d'agarose couplées à la streptavidine (Thermo Scientific™, 20357) sur roue à 4°C sur la nuit. Une portion des protéines est utilisée comme contrôle pour le Western Blot. Les billes sont récupérées et lavées au tampon NET (50 mM Tris, 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, 0,05 % (v/v) NP-40, pH 7,4). Les protéines biotinyllées sont alors éluées avec du tampon Laemmli 4X à 95°C pendant 5 min et analysées par Western Blot.

Résultats

Le glioblastome multiforme (GBM) est la forme la plus fréquente et la plus agressive des tumeurs cérébrales existantes chez l'adulte. Dans les conditions actuelles, le taux de survie reste faible avec une médiane de 14 mois et une survie à 5 ans de 9,8 % (Ostrom et al., 2014; Stupp et al., 2009). Malgré l'application du protocole Stupp combinant radio- et chimiothérapie, la médiane de survie des patients n'a pas évolué au cours des 15 dernières années en raison de mécanismes de résistances thérapeutiques responsables de nombreuses récurrences (Osuka and Van Meir, 2017; Stupp et al., 2005b). Les hypothèses permettant d'expliquer le risque de récurrence du glioblastome reposent sur l'existence d'une forte hétérogénéité tumorale ainsi que sur la présence de cellules résistantes aux traitements conventionnels, les cellules souches cancéreuses. En raison de l'absence de cibles tumorales clairement identifiées, ces cellules restent très difficiles à cibler avec les approches thérapeutiques classiques. Ainsi, les recherches s'orientent vers les mécanismes responsables de cette résistance ainsi que sur le mode de transmission de l'agressivité tumorale. La sécrétion des exosomes par les cellules tumorales et leur diffusion dans le microenvironnement contribuent à la transmission des caractères agressifs des cellules tumorales (Becker et al., 2017; Huang et al., 2018; Tkach and Théry, 2016). Ainsi, la libération des exosomes tumoraux dans la circulation et leur détection par les biopsies liquides pourraient permettre indirectement d'accéder au profil moléculaire de la tumeur et donc au profil agressif de celle-ci (Keller et al., 2011; R. Xu et al., 2018). L'effet pro-tumoral de récepteurs aux neurotrophines (Trks, p75^{NTR}) transmis par les exosomes a été mis en évidence dans des tumeurs de GBM (Pinet et al., 2016). Une forte expression du récepteur p75^{NTR} est associée à l'agressivité tumorale, tout comme celle de PD-L1 (Lawler et al., 2020; Meldolesi, 2017). Si ces deux facteurs sont liés de manière indépendante à une faible survie des patients, leur combinaison au sein des mêmes cellules tumorales pourrait constituer un biomarqueur potentiel de l'évolution et du suivi tumoral (Alshehri, Robbins, et Senger 2017 ; Hao et al. 2020). Le ligand protéique, PD-L1, produit par les cellules tumorales peut stimuler une immunotolérance tumorale et ainsi permettre le développement du GBM (Hirano et al., 2005; Keir et al., 2008; Lawler et al., 2020; Ricklefs et al., 2018). Les immunothérapies ciblant l'axe PD-1 / PD-L1 restent actuellement inefficaces ce qui conduit à repenser la place de cet axe en thérapeutique et à étudier le rôle de ses partenaires (Lukas et al., 2018; Reardon et al., 2019, 2017). Des preuves de lien entre p75^{NTR} et PD-L1 sont apparues avec leur expression conjointe par des cellules de mélanome stimulées par l'IFN- γ (Furuta et al. 2014 ; Qian et al. 2018). Ce dernier résultat rapportant une corrélation d'expression entre ces 2 protéines nous a conduit à étudier le lien étroit qu'elle semble entretenir dans le contexte des GBM et leur potentielle association sous-forme d'un complexe p75^{NTR}/PD-L1.

Nous avons d'abord réalisé une analyse *in silico* et *in vitro* des protéines PD-L1 et p75^{NTR} au sein de plusieurs lignées cellulaires (U87-MG et LN18), de cultures primaires et de sérums de patients atteints de GBM. Nous avons ensuite recherché une interaction physique entre les deux protéines dans les cellules et dans les exosomes par immunoprécipitation. Enfin, nous avons étudié les effets combinés des deux protéines sur la prolifération des cellules tumorales et les voies de signalisation impliquées en utilisant différents inhibiteurs.

Nous avons pu confirmer *in silico* la surexpression de PD-L1 et de p75^{NTR} dans les GBM. Comparativement aux études précédentes, leurs expressions génétiques ont été observées à un niveau plus élevé dans les GBM que dans les gliomes de bas grade (Winterle et al. 2003 ; Yao et al. 2009 ; A. S. Berghoff et al. 2015 ; Johnston et al. 2007 ; J. Berghoff et al. 2015). Ainsi, nous avons pu établir, pour la première fois dans cette forme de tumeur, une corrélation entre ces deux facteurs et la survie. L'approche par immunoprécipitation a permis de mettre en évidence la présence du complexe p75^{NTR} / PD-L1 dans les cellules et les EVs. Son importance et son intérêt potentiel en termes de diagnostic et/ou de pronostic dans le GBM a été prouvée à partir de sa caractérisation dans des cultures primaires. Ce complexe pourrait ainsi constituer un excellent biomarqueur d'évaluation de l'agressivité et de la progression tumorale. Le traitement des cellules par les EVs (avec ou sans inhibiteurs) montre qu'une seule inhibition peut induire un switch conduisant à l'activation de la voie Ras ; l'action du complexe serait donc pro-tumorale et expliquerait l'inefficacité de l'immunothérapie unique PD-L1. De plus, la restauration des effets anti-prolifératifs observée avec les deux inhibiteurs ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques en limitant l'échappement thérapeutique à la suite du traitement anti-PD-L1.

En combinant nos résultats avec les études précédentes, nous pouvons affirmer que le complexe p75^{NTR}/PD-L1 pourrait être utilisé comme biomarqueur, étant donné son impact sur la survie des patients, la prolifération tumorale, et sa disponibilité dans le sérum. Il pourrait également représenter une nouvelle cible thérapeutique étant donné son implication dans la prolifération tumorale. La présence et la transmission de ce complexe dans les EVs pourrait permettre également de l'utiliser comme traitement indirect. La découverte de ce nouveau complexe pourrait représenter une avancée dans la compréhension des mécanismes de prolifération des GBM ainsi qu'une perspective d'optimisation de la prise en charge diagnostique et thérapeutique des patients.

A novel complex NGFR/PD-L1 released in glioblastoma extracellular vesicles induces tumor proliferation

Axel Boukredine^{1,*}, Sofiane Saada^{1,*}, Aude Brunel^{1,*}, Stéphanie Durand¹, Elise Deluche^{1,2}, Barbara Bessette^{1,‡}, Gaëlle Bégaud^{1,‡} and Fabrice Lalloué^{1,‡,#}

1: EA 3842-CAPTUR, GEIST Institute, Faculty of Medicine, University of Limoges, 2 rue du Dr Marcland, CEDEX, 87025 Limoges, France; 2: Department of Medical Oncology, Limoges University Hospital, 2 rue Martin Luther King, 87042 Limoges, France

* These authors contributed equally to this work

‡ Equal contribution

Corresponding author: fabrice.lalloue@unilim.fr

Abstract:

Glioblastoma (GBM) is the most common and aggressive form of brain tumor in adults. Current treatments are not able to block tumor recurrence and the development of resistant clones. It is therefore necessary to characterize new therapeutic targets to limit tumor development. Preliminary work has demonstrated the function of p75NTR on tumor proliferation and survival as well as its transfer to extracellular vesicles (EVs). PD-L1 has also been shown to enable tumor growth and the establishment of a supportive microenvironment. Recent studies have shown that in melanoma, the two proteins, expressed in concert, favor the establishment of these favorable conditions. Their effects are notably due to their release into the extracellular vesicles involved in the control of the microenvironment. The close link between PD-L1 and p75NTR and their common release in EVs led us to investigate the link between these two proteins in GBM. In addition to their poor prognosis demonstrated *in silico*, the two proteins interact in the form of a p75NTR / PD-L1 complex. The presence of this complex was confirmed *in vitro* and *ex vivo* in tumor lines and primary cultures of GBM, as well as in their exosomes and those of patient sera. The dissemination of exosomes carrying the complex promotes the proliferation of recipient cells. therefore, our work suggests that this complex could represent a new circulating biomarker to monitor tumor progression, but also a potential therapeutic target to circumvent the escape from immunotherapies observed in GBM.

Keywords: Glioblastoma, p75NTR, PD-L1, biomarker, exosomes, aggressiveness

Introduction:

Glioblastoma multiforme (GBM) is the most frequent and aggressive brain tumor in adulthood, exhibiting a low rate survival within five years of diagnosis (Ostrom et al. 2014). Currently, the gold standard treatment is the Stupp protocol, a combination of both chemo- and radiotherapy after surgical resection (Stupp et al. 2005). Nevertheless relapses are frequent due to the emergence of resistant clones (Stupp et al. 2005; Osuka et Van Meir 2017). Their capacity to regenerate a new tumor explains the high lethality of GBM and therefore the necessity to develop more efficient therapeutics. The current aim is to better understand how new factors might promote tumor resistance and escape in order to identify new biomarkers or putative targets likely to improve patient management favoring non-invasive approaches.

Since previous studies found that extracellular vesicles (EVs) are involved in the communication between tumor cells and their microenvironment through the transfer and releasing of various factors, they could promote tumor resistance (Tkach et Théry 2016; Becker et al. 2017; Huang et al. 2018). Thus, EVs could afford an interesting source for characterizing circulating biomarkers (Keller et al. 2011; Xu et al. 2018). Furthermore, these vesicles allow protein exchange to transmit aggressive phenotype and promoting tumor growth (Skog et al. 2008; Pinet et al. 2016). The spreading of tumor aggressiveness *via* EVs is not restricted to cancer cells but can be expanded to healthy cells (Skog et al. 2008; Al-Nedawi et al. 2008). Indeed, astrocytes, microglia or lymphocytes can also undergo malignant transformation (Broekman et al. 2018; Matarredona et Pastor 2019; Quezada et al. 2018). Thus, these changes create a protumoral environment, through notably an accumulation of anti-inflammatory cytokines (Wolfers et al. 2001; Clayton et al. 2007; Chalmin et al. 2010). The release of survival factors is increased and, more problematic, a shared therapeutic resistance will also emerge of this microenvironment (Maacha et al. 2019). The EVs large dissemination in circulation permits the monitoring of its constituents in various bodily fluids (blood, urine, cerebrospinal fluid). Detection of those circulating factors allows us to follow the evolution of tumors in real time, targeting their impact on progression and aggressiveness. The link between tumor factors, their effects and their dissemination allows their use in the prognostic and diagnostic framework of liquid biopsies (Vasconcelos et al. 2019). Thus, several biomarkers involved in GBM tumor progression and aggressiveness have already been characterized in EVs which could improve tumor monitoring.

This intra- and extratumoral communication has prompted numerous studies to identify the crucial factors in the development of tumor resistance and to short-circuit this tumor progression. Among numerous factors reviewed for their impact, PD-L1 (Programmed Death Ligand 1 or CD274), a PD-1 (Programmed Death protein 1) ligand capable of inducing immunotolerance in normal context, has been frequently linked to tumor progression and aggressiveness (Keir et al. 2008; Hirano et al. 2005). Thus, in GBM, PD-L1 expression at the membrane promotes immune escape from T-cell induced cytotoxicity and influences directly cell proliferation, migration, and epithelial-mesenchymal transition (EMT) (Parsa et al. 2007; Nduom et al. 2016; Dermani et al. 2019; Keir et al. 2008). Therefore, PD-L1 is closely linked and involved in numerous tumor proteins and mechanisms and it currently considered as a

relevant therapeutic target (Litak et al. 2019; Qiu et al. 2018). Although the effect of PDL-1 has been mostly described in the context of cell-cell contact, it has also been found in the tumor microenvironment through its dissemination by EVs. It plays a role in immunotolerance providing a tumor-promoting environment. (Lawler et al. 2020; Ricklefs et al. 2018). Since current therapeutic strategies are inefficient in glioblastoma, new treatments based on PD-1/PD-L1 targeted immunotherapy have been assessed or on going evaluated to improve the management of its tumor. To this day, no major improvements have been achieved, in combination with Stupp protocol in GBM tumors. Neither simple nor combined therapy resulted in a significant advantage towards patient survival (Lukas et al. 2018; Reardon et al. 2017; 2019). In those cases, tumors seem able to use a therapeutic escape around the PD-L1/PD-1 axis for reducing direct targeting by blocking antibodies. In order to avoid these emerging resistances, a thorough understanding is required regarding the ligand and its cross-interactions with other proteins involved in tumor growth. Thus, further studies could facilitate the identification of new potential partners, their connection, and their impact on tumor aggressiveness.

In previous studies, we demonstrated the presence of NGFR in TrkB-containing EVs which promote the transfer of glioblastoma aggressiveness (Pinet et al. 2016). NGFR (Neurotrophic Growth Factor Receptor, or p75^{NTR}) is involved in survival pathways in both normal and cancer cells, mainly through control of p53 functions (Arévalo et Wu 2006; Zhou et al. 2016). Thus, NGFR has been found implicated in many tumoral processes, such as invasion, axonal growth, and apoptosis, in numerous tumor types, including GBM tumors (Johnston et al. 2007; He et Koprivica 2004; Ibáñez 2012). Since its tumor growth and survival impact, NGFR affords a potential target useful for GBM treatments. In both tumor cell and on their neighboring, NGFR expression is linked to the aggressiveness and tumor growth potential. If a low NGFR expression usually acts as an anti-tumor effector, some gliomas express a higher expression, sustaining cancer process (Meldolesi 2017). A correlation has been established between the expression levels of PD-L1 expression and those of this neurotrophin receptor on melanoma cells (Furuta et al. 2014). In this study, they focused on NGFR because this molecule was reported as being crucial in identifying the tumor-initiating populations in melanoma tissues. They demonstrated that melanoma cells that express PD-L1 also express NGFR after stimulation with IFN- γ , and that both PD-L1 and NGFR suppress tumor-specific cytotoxic T-lymphocytes activation.

The search for biomarkers in glioblastoma patients is a major issue for monitoring the aggressiveness and thus tumor progression and its therapeutic response. Thus, considering the knowledge of the effects of NGFR on the aggressiveness of the tumor and the role played by PDL-1 on the therapeutic resistance in both cells and EVs, our work consisted in searching for the existence of a putative NGFR-PDL-1 complex in cells and exosomes.

We will demonstrate the existence of a novel association between NGFR and PD-L1 in GBM that could potentially be used as both a marker of aggressiveness and poor prognosis on overall survival. This association is in the form of a protein complex, first discovered in EVs from patient sera and primary culture and then in tumor cells. While the complex shows involvement in tumor proliferation, its action may be inherent to tumor

heterogeneity and protein expressions. The complex may act as a more sensitive target on cells with low expression of NGFR and PD-L1.

Materials and methods:

Transcript quantification of NGFR and CD274 (PDL-1) and impact on glioma patient's survival

Gene expression profiling and clinical data of Brain Lower Grade Glioma (LGG) Glioblastoma multiform (GBM) cohorts were obtained from pan-cancer RNA-Seq data of The Cancer Genome Atlas project (TCGA) (GSE62944, Rahman M. *et al.*, 2015). Raw counts from 154 GBM and 479 LGG were normalized using *DESeq2* package (Love MI. *et al.*, 2014) and normalized expression data for NGFR and CD274 (PDL-1) were collected. Brain tumors cohorts of TCGA were subdivided onto 229 grade II, 250 grade III and 154 grade IV, according to TNM staging and 119 oligoastrocytoma, 178 oligodendroglioma, 182 astrocytoma and 154 glioblastoma, according to histological classification. Pairwise Wilcoxon test with Benjamini-Hochberg correction were applied for differential analysis between different groups of brain tumors according to grade or histology classification. Kaplan-Meier curves with log-rank test and Cox regression models (univariate and multivariate) were applied using *survival* and *survminer* packages (Terry M. *et al.*, 2000) for survival analysis and evaluation of prognostic potential of NGFR and CD274 transcript level. All analysis were performed into R environment (version 3.6.1) and $p < 0.05$ were considered significant for all statistical analysis.

Tissue Micro Array (TMA) analysis from glioblastoma patient samples

Glioma samples were obtained from the Tumor Biobank (CRBiolim; <http://www.crbiolim.fr/>) of Limoges University Hospital, following research project approval by the Institutional Review Board (AC-2013-1853, DC-2011-1264). TMA were produced by 2 mm long tumor carrot in paraffin.

Slides were obtained with 5 μm thick sections on Superfrostplus[®] and left overnight, before eliminating paraffin (two 10-minutes toluene baths) and rehydrate tissues (two 5-minutes absolute ethanol baths). After two washes in water and PBS 1X (Gibco, 14190144), slides were permeabilized and demasked with three baths of citrate buffer pH 7.0 (micro-waved 5 min at 750 W), then cooled down 3 h at RT and washed in PBS 1X. Peroxydase inhibition was achieved with methanol – 5 % H_2O_2 (10 min at RT), then washed once with distilled water and twice with PBS 1X. Slide saturation was made with PBS 1X – 3 % BSA for 30 min (BSA : Seqens, 1000-70), then slides were incubated with their respective antibody diluted in saturation buffer (anti-PD-L1, rabbit, Diagnostics, 1/200; anti-NGFR, rabbit, Santa Cruz Biotechnologies, 1/300) overnight at 4°C. After three PBS 1X washes, slides were incubated with HRP-coupled secondary antibody (Dako, K2003) 30 min and washed again thrice with PBS 1X. Revelation was obtained a short DAB incubation (Sigma-Aldrich, D8001) and stopped with repeated water washes. After a counterstaining with hematoxylin and a marking enhancement with lithium carbonate, slides were dehydrated with two baths of absolute ethanol and one toluene bath. Finally, slides were mounted with Eukit mounting medium (Fluka, 03989).

Glioblastoma patient sera and primary cell cultures

Glioma samples were obtained from patients, naïve from chemo- and radiotherapy, who underwent surgery at Limoges. Glioma samples were obtained from the Tumor Biobank (CRBiolim; <http://www.crbiolim.fr/>) of Limoges University Hospital, following research project approval by the Institutional Review Board (AC-2013-1853, DC-2011-1264).

Glioblastoma cell lines and culture

Human glioblastoma cell lines, U87-MG and LN18, were provided from the ATCC (American Type Culture Collection).

All GBM cell lines were cultivated within complete medium composed of Dulbecco's Minimum Essential Medium (DMEM, Gibco, 31966-047) completed with 10 % FBS (Foetal Bovine Serum, Seqens), 1 % Penicilin/Streptomycin (Gibco, 15-140-163), 1 % sodium bicarbonate (Gibco, 25-080-102) and 1 % non-essential amino acid (Gibco, 11-140-035) in an incubator with controlled environment (37°C, humidified atmosphere with 5 % CO₂).

To produce EVs, cells from U87-MG and LN18 were placed in an EV-depleted complete DMEM. This medium contains the same supplements; the only difference resides in the use of depleted FBS (depleted by a 16h centrifugation at 120,000 g). Cells were then incubated 48 h at the ratio of 2.10⁶ cells per T175 flask, for each condition. The supernatant was recovered and processed for further use.

EVs extraction and analysis

EVs were extracted and characterized according to ISEV guidelines (Théry et al., 2018). The EVs extraction was obtained through differential ultracentrifugation. The first round was at 300 g for 5 min. Then, the supernatant was submitted to 18,000 g for 30 min, then to 120,000 g for 2 h. To clean EVs, another round is done with DPBS 1X (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, Gibco, 14190-004) at 120,000 g for 2 h.

EVs size distribution was analyzed by Nanosight NS300 (Malvern Panalytical), hyphenated with the NTA software after a 1/10 dilution in DPBS 1X.

EVs are collected in EV-depleted medium and then incubated 30 min with Tat-Pep5 (10 µM, Sigma-Aldrich, 506181) and/or anti-PD-L1 blocking antibody (5 µg/mL, Invitrogen, 16-5983-82) at 37°C. To remove the excess of inhibitors and concentrate EVs again, we ran a last run of 120,000 g in 2 h and recover them in EV-depleted medium to use it on cells.

Western blot

Lysis of cells or exosomes was made with a home-made lysis buffer (50 mM Tris-HCl pH 8.0, 150 mM NaCl, 1 % NP-40, 0,5 % sodium deoxycholate, 0.1 % SDS, 100 µg/mL PMSF, complete EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail [Roche, 11873580001]) and using sonication (Vibra-Cell VCX130). Protein concentration was determined with Quick Start Bradford 1X Dye Reagent (Bio-Rad, 5000205). Samples were then prepared in 4X Leammli Sample Buffer (Bio-Rad, #161-0747).

Proteins are then made through SDS-PAGE gel electrophoresis and then a PVDF membrane. Obtained membranes are then blocked with a TBS 1X – 0.1 % Tween-20 – 5 %

BSA solution for 1 h at room temperature and then incubated with the right primary antibody at 4°C overnight. Depending on the species used, membranes are incubated with secondary HRP-linked antibodies for 1h at room temperature. Antibodies used are listed below:

Antibody	Supplier	Ref.	Dilution used
Anti-NGFR	Santa-Cruz Biotech.	sc-8317	1/500
Anti-PD-L1	Origene	CF808771	1/1,000
Anti-actin	Sigma-Aldrich	A5441	1/10,000
Anti-CD63	Abcam	ab59479	1/1,000
Anti-CD9	Sigma-Aldrich	SAB1402143	1/500
Anti-CD81	Santa-Cruz Biotech.	sc-166029	1/500
Anti-HSC70	Santa-Cruz Biotech.	sc-7298	1/500
Anti-rabbit, HRP-linked	Agilent Dako	P0447	1/1,000
Anti-mouse, HRP-linked	Agilent Dako	P0448	1/1,000

Protein presence is revealed with the use of Immobilon ECL Ultra Western HRP Substrate (Merck, WBKLS0500) on G:BOX (Syngene).

Immunoprecipitation

Cells or EVs were lysed in IP Buffer (50 mM Tris-HCl pH7,5, 150 mM NaCl, 1 % Triton X-100, 2 mM EDTA) for 15 min on ice and centrifuged for 15 min at 17,000 g. Protein supernatants are then extracted and used for the rest of the experiment. Dynabeads™ Protein G for Immunoprecipitation (Invitrogen, 10004D), first incubated with proteins, are then incubated with anti-PD-L1 (Origene, CF808771, 1/100) or anti-NGFR (Santa-Cruz Biotechnologies, sc-8317, 1/100) antibodies diluted in IP Buffer 1 h at RT. After washing beads with IP Buffer, 200 µg of cell or EV lysate were incubated with beads on a wheel ON at 4°C. After cleaning the beads, the antibody-protein complex was resuspended in 4X Leamml Sample Buffer 5 min at 95°C and the rest followed the WB protocol.

Immunocytofluorescence

Cells were incubated on Lab-Tek II Chamber Slide (Nunc, 154534) overnight at 2.10^4 cells per well. After, they were fixed with PBS – 4 % PFA (Sigma-Aldrich, F1635) for 10 min at RT, washed 5 min at RT with PBS 1X and then permeabilized 10 min at RT with TBS 1X – 0,1 % Triton X-100. After a 5 min wash with PBS 1X at RT, plates were saturated with a PBS 1X – 3 % BSA solution for 30 min at RT before being incubated with primary antibodies in saturation solution (anti-NGFR antibody, mouse, Santa-Cruz Biotechnologies, sc271708, 1/50; anti-PD-L1 antibody, rabbit, Abcam, ab205921, 1/200) overnight at 4°C. After incubation, cells were washed three times 5 min at RT with PBS 1X and then incubated with

secondary antibody solutions, based on saturation solution, for 1h at RT in the dark: donkey anti-mouse IgG (H+L) ReadyProbes™ Secondary Antibody Alexa Fluor 594 (Invitrogen, R37115, 1/10,000) and goat anti-rabbit IgG (H+L) Highly Crossed-Adsorbed Secondary Antibody Alexa Fluor 488 (Invitrogen, A11034, 1/10,000). After three last 5 min washes at RT with 1X PBS, the slides have been mounted with Fluoroshield™ with DAPI (Sigma, F6057) and dried for 15 min at RT in obscurity.

Slides were observed and images were obtained with the inverted microscope Leica DMI8 and the software suite LAS X.

Click-iT Edu Imaging Kit

To observe differential proliferation rates, we used the Click-iT™ Edu Cell Proliferation Kit for Imaging, Alexa Fluor™ 594 dye (Invitrogen, C10339). Cells were incubated on 96-well plates overnight at 2.10^4 cells per well. Then, cells were incubated 2 h with 1X Edu Solution and fixed with a 3,7 % PFA – PBS 1X, 15 min at RT. Permeabilization was then realized with 0,5 % Triton X-100 – PBS 1X for 20 min at RT and Cells were incubated with Click-iT Plus reaction cocktail, for 30 min protected from light at RT. After washing, staining was carried out with a 1X Hoechst® 33342 for 30 min away from light at RT. After last washings, plates were observed, and images were obtained with the inverted microscope Leica DMI8 and the software suite LAS X.

PD-L1 surface biotinylation

Cells are incubated overnight with 5.10^3 cells / cm^2 and then with PBS-CM8 (PBS 1X, 1mM $MgCl_2$, 0,1 mM $CaCl_2$, pH 8,0) for 5 min. Membranous proteins were biotinylated with 0,5 mg/mL EZ-link Sulfo-NHS-SS-Biotin (Thermo Scientific™, 21331) – PBS-CM8 for 25 min at 4°C and washed thrice with Quenching Buffer (PBS-CM8, 0,5 % (p/v) BSA, 50 mM glycine) 5 min at 4°C. Cells were then incubated with the appropriate EV treatment 24 h in cell incubator. Recovered cells were frozen at 4°C, debiotinylated with 6 20-min baths in Stripping Buffer (50 mM Tris, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0,2 % (p/v) BSA, 100 mM MESNA, pH 8,6) at 4°C. After 3 Quenching Buffer baths, cells were lysed with Lysis Buffer (10 mM Tris, 0,5 % (p/v) DOC, 1 % (v/v) NP-40, 1 mM Pefabloc protease inhibitor cocktail, pH 7,5) 30 min on ice. Supernatant was recovered after 16 500 g centrifugation, for 5 min à 4°C. 2 $\mu g/\mu L$ protein lysate was used with 15 μL of Pierce™ High-Capacity Streptavidin Agarose (Thermo Scientific™, 20357) ON at 4°C to recover remaining biotinylated protein and the rest is used as control for WB. After washing beads with NET Buffer (50 mM Tris, 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, 0,05 % (v/v) NP-40, pH 7,4), biotinylated proteins were eluted with 4X Leammli Sample Buffer 5 min at 95°C.

Results:

Both NGFR and PD-L1 high expressions are linked with bad prognosis in GBM patients, proving their potentials as prognosis markers

As NGFR and PD-L1 are known pro-tumor factors, we investigated The Cancer Genome Atlas (TCGA) to see their expression in our tumor model. First, *NGFR* is shown growing with the glioma grades, peaking its highest level with grade IV (aka glioblastoma) (**fig 1A**). However, a significant increase of *NGFR* gene levels irrespective of grades is only shown in glioblastoma compared to other subtypes (**fig 1B**). Both these analyses show with both aspects significant *NGFR* overexpression only present in glioblastoma, compared to other glioma types. Similar observations can be done with *PD-L1* expression on the platform suggesting that changes of both biomarkers could be linked. On glioma grades, *PD-L1* shows a significant overexpression on grade IV, compared to the other grades (**fig 1C**). On the same comparison as previously studied, *PD-L1* expression is also significantly more expressed in GBM than in other histological types (**fig 1D**). These findings confirm that both genes are more expressed in GBM than any other form of gliomas, justifying their studies in this aggressive type of glioma. In addition, the analysis of NGFR and PD-L1 protein expression confirms higher expression in GBM in tissue microarray (TMA) (**fig 1E**). Altogether, these data suggest that changes of both biomarkers could be closely linked and might play a key role in tumor progression.

To confirm their significance on GBM progression and patients outcome, we used the GlioVis tool to determine the link between their expression and the overall survival. First, a higher expression of *NGFR* is significantly associated with a lower survival, compared to patients with a lower expression (**fig 1F**). In a similar manner, the median survival of high *PD-L1* harbored patients is significantly decreased compared to those with lower *PD-L1* expression (**fig 1G**). Univariate and multivariate analyses show elevated Hazard Ratios for *NGFR* (4.06 and 3.62 respectively) and for *PD-L1* (2.56 and respectively 2.11) suggesting a bad prognosis value on overall survival in GBM for both genes (**fig 1H**). . In parallel, a lower expression of each gene, with a lower HR, tends to give a better survival among patients. These results emphasize that both NGFR and PD-L1 as prognosis factors, which their high expressions connect to a poor overall survival. Altogether these results indicated that both gene are implicated on patient's survival, independently.

To build up a possible link between them on the same subject, we analyzed in a second time the overall survival of patients with the same expression level of both genes, with the GlioVis tool. Our results confirm that a combined high expression of *NGFR* and *PD-L1* lead to poor overall survival, compared to patients with a low expression of both genes (**fig 1J**). This result suggests a synergic effect between the two genes within GBM tumors. The potential effect of both genes on overall survival and their prognosis value in GBM led us to search a direct link between both proteins as previously described (Furuta et al. 2014). We therefore investigated *ex vivo* and *in vitro* the possibility of a greater association between these two factors in GBM patients.

***Ex vivo* and *in vitro* insights of NGFR and PD-L1 shows a brand-new protein complex in EVs that could highlight the mechanism by which GBM is able to overcome immunotherapy treatment.**

Based on our previous findings demonstrating the presence of NGFR in EVs (Pinet et al., 2016) and in order to establish the link between NGFR and PD-L1 proteins in GBM patients. We decided to study further the potential protein association NGFR-PD-L1 by analyzing the presence of NGFR and PD-L1 inside EVs released in patients serum. The analysis of EVs allows to detect both NGFR and PD-L1 in 7 GBM patients suggesting both proteins might be used as circulating biomarkers (**fig 2A**).

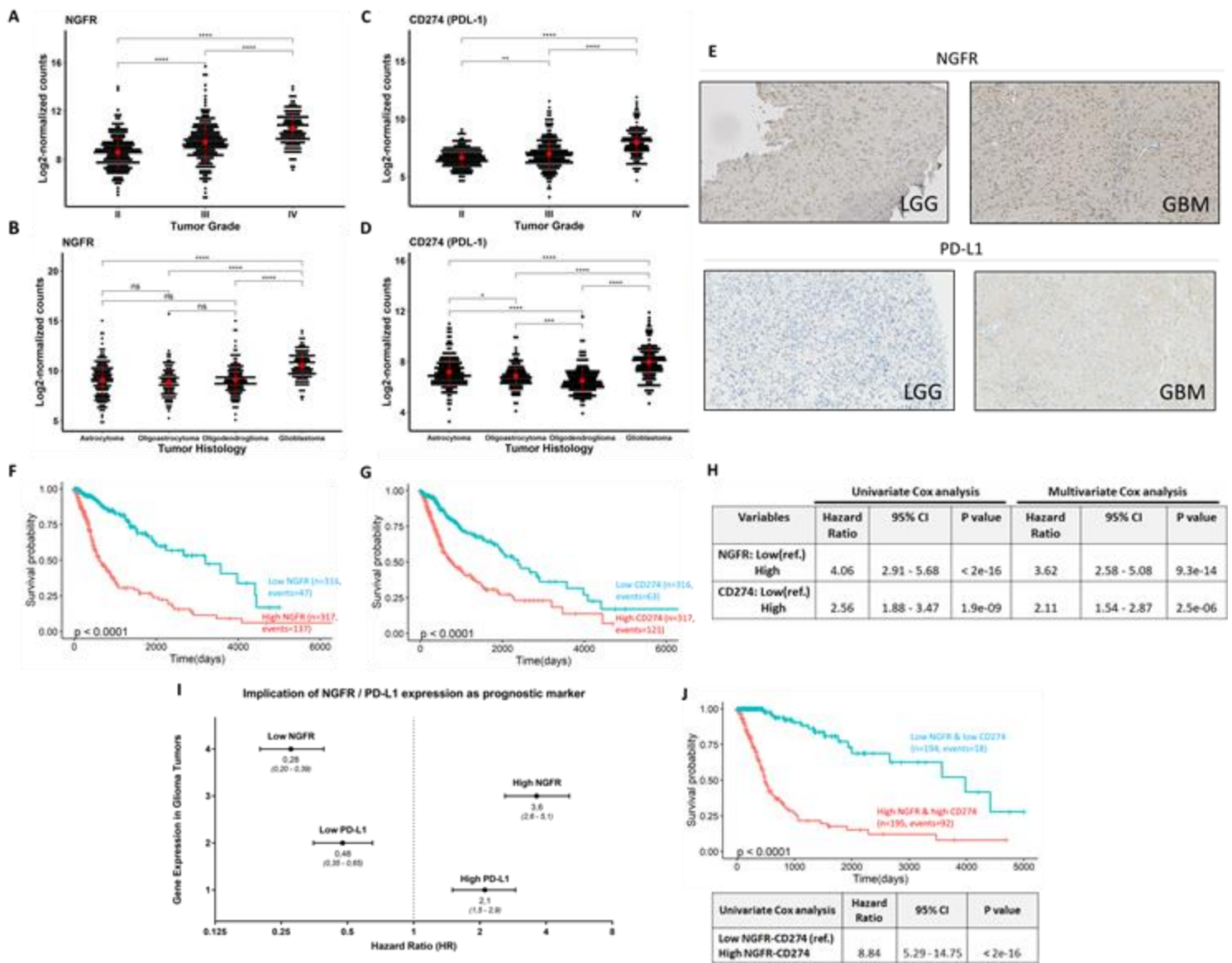


Figure 1: High level of NGFR and PD-L1 expression are both linked to bad survival in gliomas altogether

Except to panel E, differential expression and survival analysis were based on RNAseq transcript levels of patients composed the LGG (Low-Grade Gliomas, n=479) and GBM (Glioblastoma, n=154) cohorts from The Cancer Genome Atlas (TCGA).

A to D - *NGFR* and *CD274* mRNAs are significantly overexpressed in GBM, compared to other lesser aggressive grades / histological types of gliomas. Red symbols correspond to average expression level for considered grade/histological group. ns, no significant; *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001, ****: p<0.0001 according to Mann & Whitney test with Benjamini-Hochberg correction.

E - Immunoblots show greater protein levels of NGFR and CD274 (PD-L1) in GBM compared to LGG.

F & G - Kaplan-Meier plot of LGG and GBM based on stratification according to mRNA level of NGFR (F) and CD274 (G) (high level vs. low level, threshold: median expression). P value correspond to log-rank test. High *NGFR* and *CD274* expression show a negative impact on patients' survival, compared to patients with low expression level.

H - Univariate and multivariate Cox regression results of NGFR and CD274 expression level related to overall survival. CI, Confidence interval of Hazard ratio.

I - Impact of factors on survival analysis were summarized by forest plot representation of multivariate Cox regression. Looking at both factors, we see they have a significant impact on the patients' survival, with higher levels correlated to higher Hazard Ratios (HR) and *vice versa*.

J - Prognostic value examination of new factor related to overall survival, based on combination of NGFR and CD274 levels by Kaplan Meier plot and univariate Cox regression. When both factors are combined, higher expressions of *NGFR* and *CD274* have a significant negative impact on patients' survival, more important than with separated factors.

Since NGFR is likely to bind other receptors (Meldolesi 2017), we determined whether it could interact physically with PD-L1. Thus, we investigated by immunoprecipitation (IP) their potential physical link in circulating EVs from patients serum. This experiment demonstrates for the first time the formation of protein complex between the two proteins NGFR and PD-L1, released in blood inside circulating EVs (**fig 2B**). This result provides evidence of close association of the two proteins in GBM context and the first indication of a physical bond between the two ever described. Given that the impact of both factors plays a key role in oncogenesis, the detection of this complex in circulating EVs via liquid biopsy might be of prime importance for improving the monitoring of tumor growth and development.

To confirm the presence of NGFR/PD-L1 complex in EVs derived from tumor cells and to analyze the influence of its transfer through recipient tumor cells, we transposed the same experiment from patients serum to glioblastoma primary cells culture and glioblastoma cell lines. We performed an IP and validated the presence of the NGFR/PD-L1 complex in EVs released from primary GBM cells, thereby supporting its transfer from GBM cells to the tumor microenvironment, as previously observed in patient serum. (**fig 2C**). Furthermore, we also analyzed its presence within the EVs producing cells via a similar IP approach and confirmed for the first time the presence of this new complex within the cell itself (**fig 2D**). These results allowed us to assess a potential role of this complex not only on the neighboring cells through EVs, but also on the tumor cells themselves, connected to the pro-tumor role of both proteins.

Among GBM cell lines, NGFR and PD-L1 is expressed with various expression levels and the new protein complex can be found in these cells.

First, the expression of both *NGFR* and *PD-L1* genes was analyzed within glioma cell lines from TCGA database. No correlation can be found between the expression of both genes. On the contrary, the analysis confirmed the large variety of expression within glioma cell lines (**fig 3A**). These observations lead us to choose two GBM cell lines with different expressions of *NGFR* and *PD-L1* to study the complex presence and its effect. We decided to use U87-MG and LN18 cell lines, with a similar *PD-L1* expression but a lower *NGFR* expression in LN18 compared to U87-MG cell line.

As a test, the protein expression of both NGFR and PD-L1 was studied in both selected GBM cell lines. Both proteins were expressed in WCL from U87-MG and LN18 confirming the presence of both actors in GBM cell lines as observed *ex vivo* (**fig 3B-3C**). Interestingly, the level of NGFR expression in both cell lines agrees with those already described in transcriptomics analysis suggesting that no specific regulation occurs following transcriptomic expression.

To determine whether NGFR and PD-L1 are co-expressed in the same tumor cells, their colocalization within the cells of both tumor cell lines was performed with immunofluorescence (IF). Our results confirmed the strong colocalized expression of both proteins in U87 cells whereas this one was more moderated in LN18 (**fig 3D**). These changes of expression between both cell lines can be explained by the discrepancies of NGFR expression (low NGFR level in LN18 compared to U87-MG). Altogether these new

results complement those already obtained *ex vivo* and emphasize the ubiquitous nature of NGFR/PD-L1 complex within the GBM cell lines.

To demonstrate physical bond between PD-L1 and NGFR in tumor cells, the presence of the NGFR/PD-L1 complex within GBM cell line was investigated and detected in U87-MG and LN18 WCL (fig 3E-3F). As this complex is synthesized in GBM cells themselves, we try to determine if GBM cell lines were likely to transfer it in tumor microenvironment via EVs as already observed with patient samples.

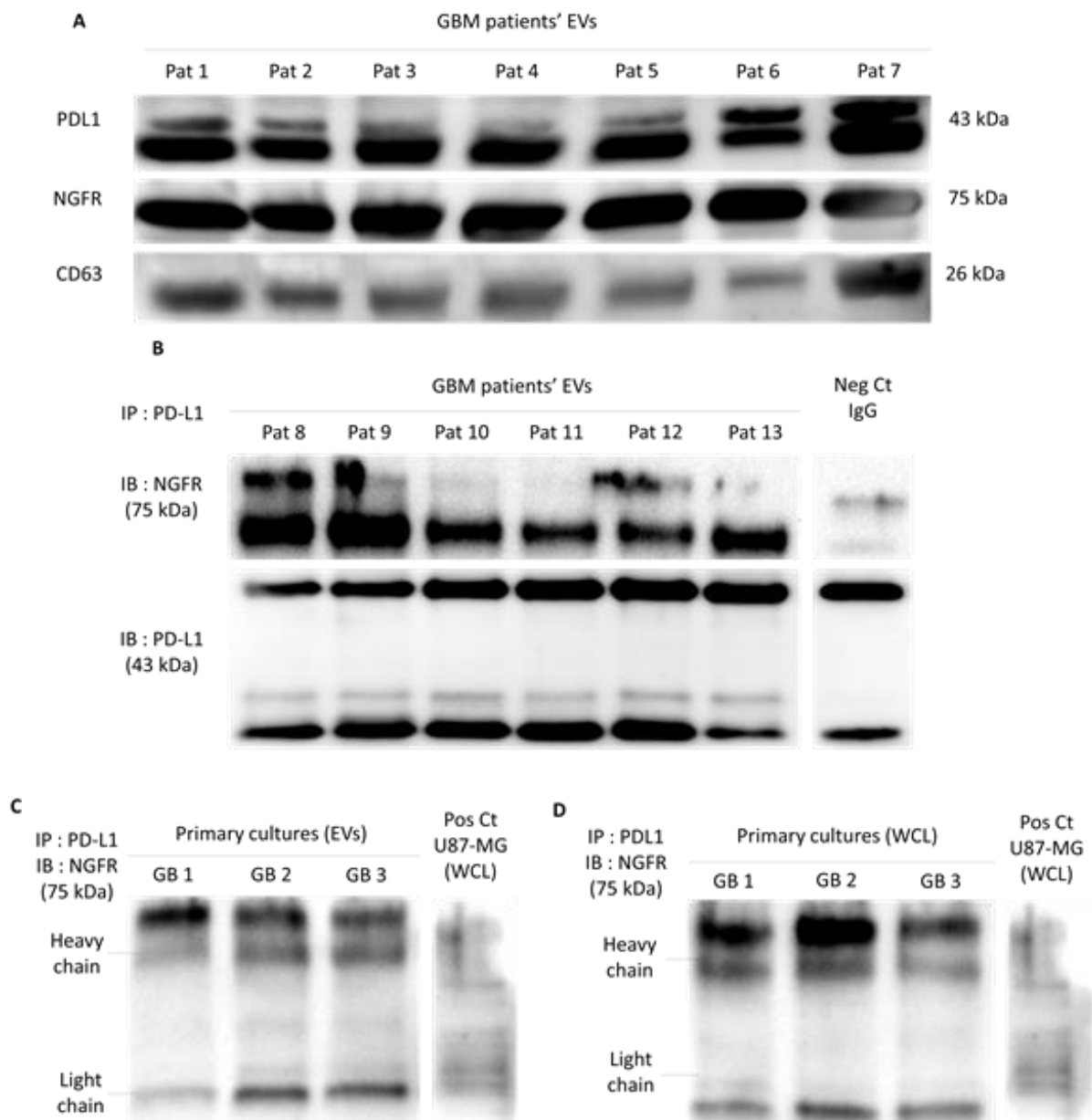


Figure 2: NGFR and PD-L1, expressed *ex vivo* and in patients' sera, forms a new NGFR/PD-L1 complex

A – NGFR and PD-L1 presence are confirmed in EVs, extracted from GBM patients' sera.

B – Highlighted by immunoprecipitation in GBM patients' sera, both factors form a brand-new complex, adding possibly new roles to these proteins within the tumor vicinity and in more distant relationships.

C & D – Transposed to GBM primary cultures, PD-L1 and NGFR are also found in the same NGFR-PD-L1 complex, assessing their *in vivo* spreading in the tumor microenvironment and their passing in the circulation.

The presence and transport of this brand-new complex were respectively validated in U87-MG and in LN18 EVs by using IP (fig 3G-3H). Both results confirm that the newly discovered complex isn't an exception and can be found in several GBM cell lines. These discoveries allow to assume that its presence in both cell and exosomes allow its dissemination within microenvironment and general circulation. Further studies are needed to better understand the effect and influence of the complex release on neighboring tumor cells.

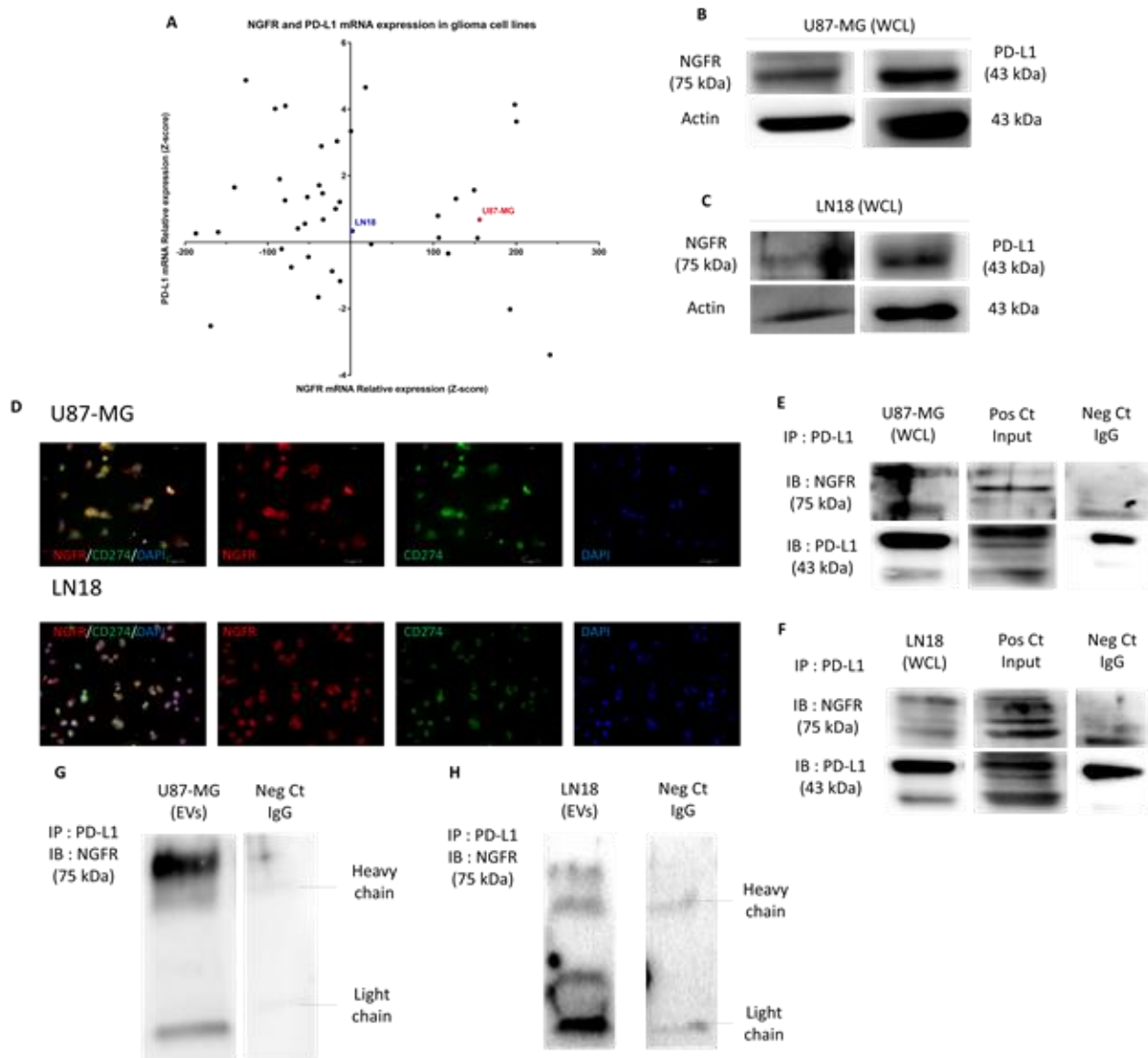


Figure 3: NGFR and PD-L1 also create the same complex in GBM cell lines, both in EVs and WCL

A – Expression of both *NGFR* and *CD274* highly vary through different glioma cell lines without any correlations between them (TCGA).

B – Despite various mRNA expression of both *NGFR* and *PD-L1*, both U87-MG and LN18 cell line show their protein expression in WCL.

C – Looking at their cellular localization, both *NGFR* and *PD-L1* shows an expression in the same regions, allowing to suppose a colocalization of the two partners in the tumor cells, depending only on their respective protein expressions.

D & E – Through immunoprecipitation, *PD-L1* and *NGFR* proteins form the brand-new complex, in both WCL cell line.

F & G – In the meantime, EVs from the tumor cell lines express the complex, permitting its liberation and its action among cells; the translational discovery of our new complex, its external release, correlated with pro-tumor effects of both proteins, raise interest towards its impact and the mechanism applied.

NGFR/PD-L1 complex stimulates cancer proliferation by its presence and its EVs spreading within tumor microenvironment

NGFR/PD-L1 complex is released and spread via EVs in the microenvironment, however its direct effect and impact on tumor cells are still unknown. To better understand the function of each partner of this complex and their potential influence, isolated EVs were previously treated with a combination of two inhibitors Tat-Pep5 and PD-L1 antibody in order to respectively inhibit cytoplasmic pathways activated by NGFR and prevent the interaction of PD-L1 with PD-1. These inhibitors were incubated with extracted EVs from GBM cell lines, before being transferred to recipient cells.

The proliferation rate of U87-MG cells treated or not with the inhibitor panel for 48h was studied (**fig 4A**). At 24h, the cell proliferation was significantly decreased upon NGFR-blocked EVs treatment with Tat-Pep5 ($p = 0.008239$). This markedly inhibitory effect might be due to the elevated *NGFR* expression level in U87-MG compared to the rest of glioma cell lines. Indeed, the inhibition of proliferation remains more moderate when LN18 cells are treated with EVs previously blocked with Tat-Pep5 (**fig 4B**). Unlike in U87-MG cell line, every combination of blocking treatment trigger efficient and quick proliferation inhibitory response within 24h (**fig 4B**). But no treatment seems to be more effective than another; contrary to what has been seen previously, which is consistent with its average expression of both genes in GBM cell lines. At 48h, every treated condition with NGFR- and/or PD-L1-blocked EVs shows a significant diminution of U87-MG proliferation (**fig 4A**). These results suggest that the impact of EVs processing on cells requires a transfer of their content into the target cells thereby inducing an additional delay of action leading to a later block of proliferation ($p = 0.005075$, $p = 0.004998$ and $p = 0.005075$, for respectively EV + Tat-Pep5, EV + anti-PD-L1 and EV + Tat-Pep5 + anti-PD-L1 treatments). Similar observations were done with LN18 cell lines. Nevertheless, no significant differences are observed from the different treatments at 48h whatever GBM cell lines and the NGFR-blocking treatment did not keep its greater impact shown in U87-MG at 24h compared to other treatment combinations. Finally, different treatments are effective in limiting the action of NGFR and PD-L1 on the proliferation of recipient tumor cells. In both cases, we can determine the effect of the complex transfer on recipient cells is significant for the cancer cells growth. Moreover, we can confirm that the new complex NGFR-PD-L1 and both their partners individually are key to induce proliferation signals within our cancer cells, also being confirmed by the same observed effect of GBM cells alone (**Supplementary fig. 2**).

Altogether these data confirm that the EVs-circulated complex NGFR/PD-L1 has a proliferative impact in GBM tumors which could be prevent by inhibiting its transfer through EVs or by blocking this complex directly inside EVs.

Given its impact on proliferation, we sought to assess the effect of treatment on the PD-L1 bioavailability at the membrane and during its internalization process. In order to better understand how the complex NGFR/PD-L1 might activate membranous and cytoplasmic pathways following its transfer via EVs in target cells, the internalization of PD-L1 upon the modified EVs treatment were analyzed. Thus, through surface biotinylation and

concomitant treated of inhibited EVs, we tried to analyze the direct effect of both the complex within neighboring cells and its inhibition via indirect treatment.

The internalization of PD-L1 increased with the treatment of both complex partners within both cell lines. When PD-L1 and NGFR are blocked within transferred EVs, cells seem to internalize PD-L1, possibly to overcome the lack of activity of the inhibited complex towards cytoplasmic pro-tumoral pathways, as it has already been observed (Gurung et al. 2020; Li et al. 2018). But to grow a better understanding of these mechanisms, we sought to determine the fate of PD-L1/NGFR complex following its transport notably the non-canonical pathway of PD-L1. To study in more detail the complex effect and to assess activation of membranous and cytoplasmic pathways, we looked at the internalization of PD-L1 upon the modified EVs treatment. First, we looked at these effects on U87-MG cell lines with surface biotinylation (**fig 4C**). Results show an internalization tendency of PD-L1 with the PD-L1-blocked EVs treatment, but nothing significant enough. At the same time, we looked at the same mechanism within the LN18 cell line (**fig 4D**). If we can point at the same tendencies as previously discovered, there were still nothing significant enough. Those discoveries allow to suggest that all the EV blocking treatments, although capable of affecting cell proliferation, do not alter the relationship between PD-L1 and proliferation pathways, both cytoplasmic and membrane. A viable hypothesis emerging could be that the complex proliferative effects depend directly its additive effect towards NGFR and PD-L1 balance in GBM cancer cells and its presence at the cell surface.

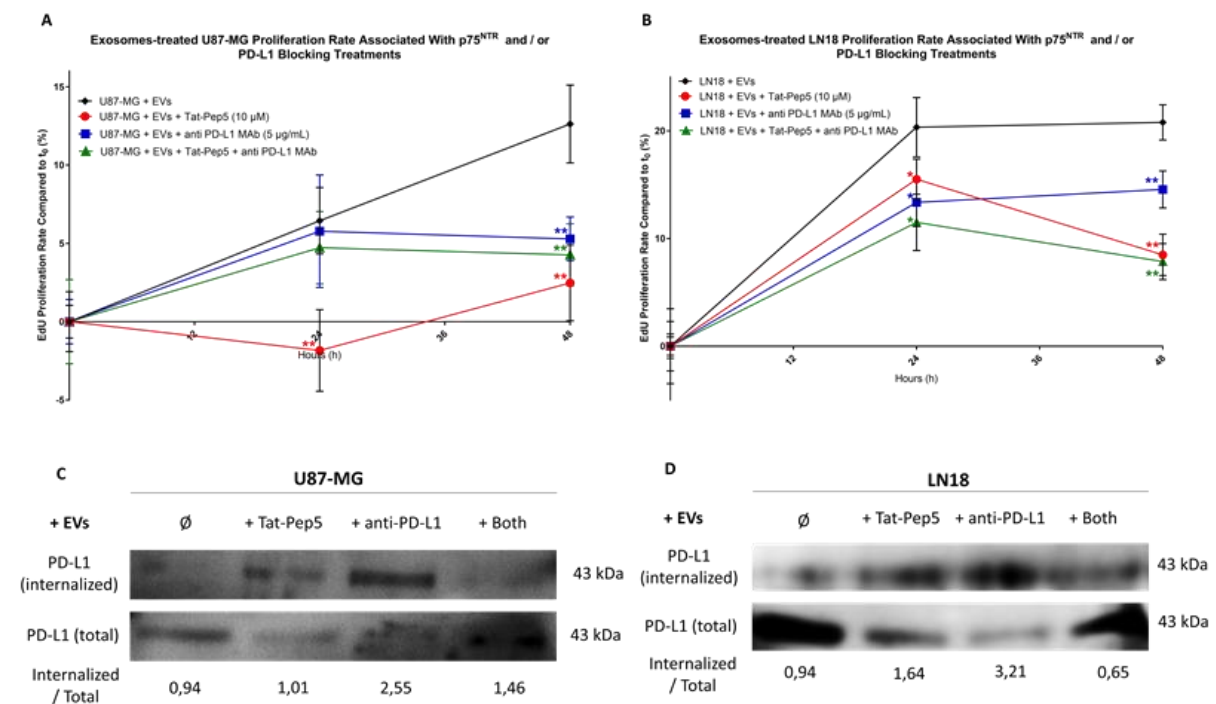


Figure 4: NGFR-PD-L1 complex shows a pro-tumoral effect in tumor microenvironment, stimulating neighbouring cancer cells growth.

A & B – When cancer cells (U87-MG & LN18) are treated with extracellular vesicles (EVs) containing the complex, themselves incubated with one or both inhibitors, the same inhibiting effects are visible in a short term prospective (inhibitor peptide Tat-Pep5 against NGFR at 10 μM ; blocking antibody anti PD-L1 MAb 5 μg/mL).

C & D – When stimulated with our previously described treatment, U87-MG and LN18 cells tends to internalize membranous PD-L1,

Discussion:

NGFR (p75^{NTR}) is already known to be involved in many tumoral processes in a large panel of tumor types, including GBM tumors (Johnston et al. 2007; Ibáñez 2012). Its presence was detected in TrkB-containing EVs which promote the transfer of glioblastoma aggressiveness (Pinet et al. 2016). However, preliminary results have showed a correlation between the expression levels of PD-L1 expression and those of this neurotrophin receptor in melanoma cells (Furuta et al. 2014). In GBM, PD-L1 expression is associated to immune escape from T-cell induced cytotoxicity and implicated in numerous oncogenic mechanisms such as cell proliferation or EMT (Dermani et al. 2019; Keir et al. 2008). Immunotherapy targeting PD-L1 are likely to inhibit tumor escape and are currently the most efficient on a broad tumor panel (Antonia et al. 2016; McDermott et al. 2016; Rosenberg et al. 2016), nevertheless they failed to improve GBM management. The mechanisms by which tumors overcome immunotherapy effect are still unclear. In this study, we suggest a brand-new association between NGFR and PD-L1 in GBM that might be involved in immune escape and represent a new circulating biomarker. In preliminary results, we confirm *in silico* the overexpression of both PD-L1 and NGFR, within GBM. This result was consistent with previous studies in which both genes expression have been detected higher level in GBM than in LGG (Yao et al. 2009; Johnston et al. 2007). Since PD-L1 and NGFR together are independently associated with a significant low survival in patients, their combination may emerge as a viable candidate for tumor progression and monitoring (Alshehri, Robbins, et Senger 2017; Hao et al. 2020). Further evidence of their close link was provided by their joint stimulation upon IFN- γ activation in melanoma (Furuta et al. 2014; Qian et al. 2018). Altogether our preliminary *in silico* results and previous works suggest a possible association between NGFR and PD-L1 in GBM and its involvement in patient survival.

Our previous works demonstrated that the transfer of TrkB neurotrophin receptors via extracellular vesicles plays a key role in glioblastoma progression and aggressiveness (Pinet et al., 2016). Since p75 and PD-L1 are also exported by these nanovesicles, we chose to focus on their association and their impact on tumor monitoring (Pinet et al. 2016; Himes et al. 2020). In a similar manner to that of many pro-tumor factors, we looked for their dissemination in tumor-released EVs, in order to create a pro-tumoral environment likely to promoting tumor cell proliferation (Kucharzewska et al. 2013; Bronisz et al. 2014; Treps et al. 2016; van der Vos et al. 2016). Thus, both proteins have been found implied in various aspects of tumor growth, from cells themselves to their presence in EVs. In one hand, studies had shown the implication and liberation of PD-L1 in GBM tumor microenvironment. PD-L1 has been mostly determined to induce immunotolerance in GBM, through their EV liberation (Ricklefs et al. 2018). Based on the pro-tumor effect of endogenous PD-L1 in cells on various cancers, we have been able to confirm its presence in cell line EVs and to assess their effect toward GBM (Gato-Cañas et al. 2017; Zhao et al. 2017). In the meantime, NGFR has also been connected to numerous tumor pathways, all pointing towards survival and proliferation in both cell and EV aspects (Ahn et al. 2016; Pinet et al. 2016; Zhou et al. 2016; Tong et al. 2018). With both factors associated and found in EVs, we looked for deeper association than a gene expression correlation, in EVs at first. A further link to their close connection can be found with the ability of NGFR to form complexes with many receptors

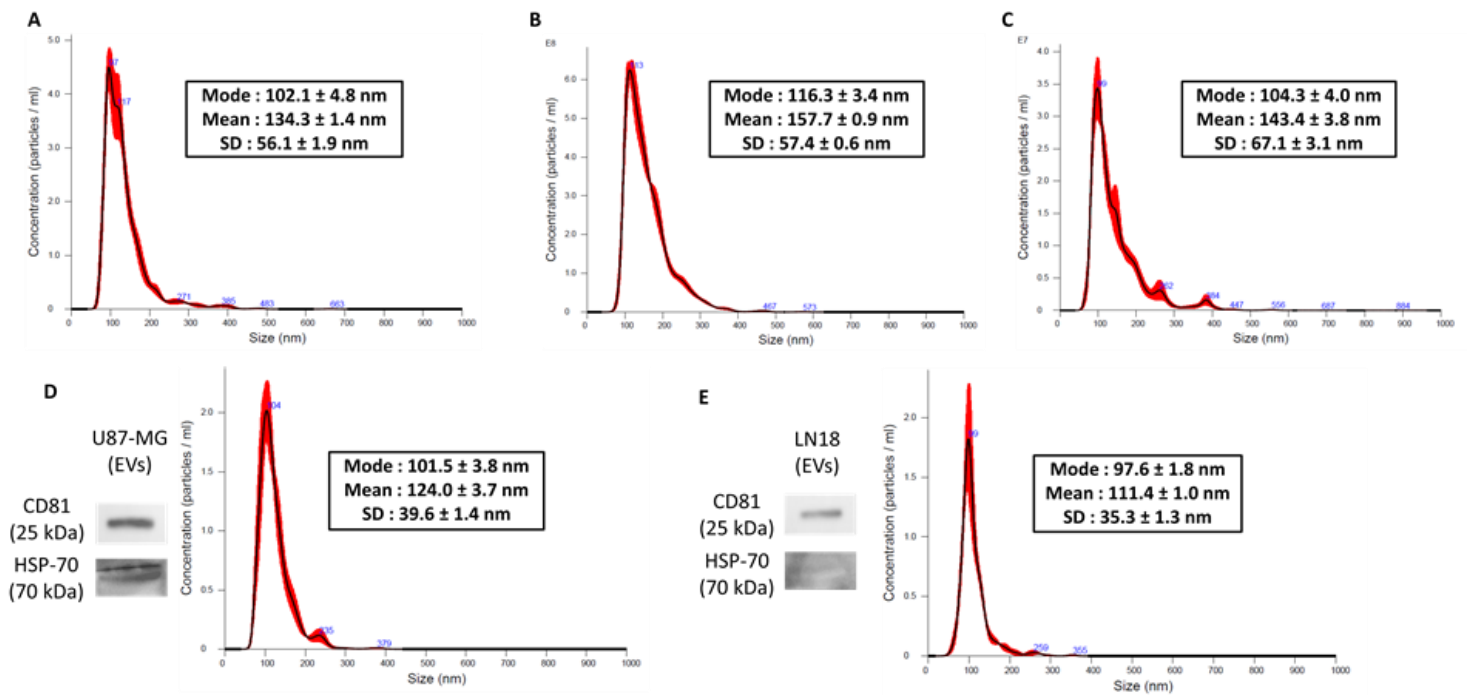
such as sortilin/NTSR3 and TrkB (Nykjaer et al. 2004; Barker 2004). Indeed, the presence of a flexible juxtamembrane domain allows NGFR to bind many proteins, just like other members of the TNFRSF (Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily) receptors (Mineev et al. 2015). This result supports the hypothesis of a link between both proteins. At this point, the demonstration by co-immunoprecipitation of a novel NGFR / PD-L1 complex in cells and EVs provided further evidence of their importance in GBM. Our results confirmed the characterization of NGFR/PD-L1 complex in two distinct glioblastoma cell lines as well as primary cultures and patient EVs suggesting its significance in GBM and that it might be useful for diagnosis, prognosis, and therapy. Since both proteins belonging to this complex are differentially expressed according to glioma stages, this complex might also afford a relevant biomarker to assess tumor aggressiveness and follow glioma progression. Nevertheless, a better understanding of the main characteristics of both partners and its action mode was required.

In order to investigate more thoroughly the main effects of each partner within the complex, we then focused on tumor cell mechanisms. PD-L1 and NGFR are usually expressed in cell membrane. Nevertheless, the characterization of NGFR / PD-L1 complex in EVs suggests that it has undergone an endosomal trafficking towards multivesicular bodies, from its presence on cell membrane. As given the PD-L1 internalization was already demonstrated in breast cancer, we search to analyze similar mechanism with this complex to assess its possible consequence (Li et al. 2018). The internalization process due to the complex formation might explain the failure of PD-L1 immunotherapy (Lukas et al. 2018; Reardon et al. 2017; 2019). A direct crosstalk or transactivation between PD-L1 and NGFR within the complex might be implemented thereby conduces to inhibit PD-L1 immunotherapy blockage and might promote fails tumor progression (Tsukamoto et al. 2018). To this end, we could research the effect of the complex, through one of the major pathways dependent of PD-L1, the Ras pathway (Qiu et al. 2018). This pathway is already reported to be involved in several oncogenic mechanisms in GBM such as proliferation, Mesenchymal Epithelial Transition (MET) and invasion (Qiu et al. 2018). To better understand the tumor immune escape upon immunotherapy with anti-PD-L1, the impact of conjoint inhibition of the complex on tumor proliferation, through Ras pathway could be investigated. As given that when tumor cells were treated by EVs in which the complex was blocked or not with inhibitors, these targeted cells are likely to receive the complex and internalize it to induce the Ras pathway thereby leading an enhanced tumor cell proliferation. Even more, the activation of Ras pathway could end with a stimulation of PD-L1 expression (Coelho et al. 2017). These findings could show that a single inhibition could induce a shift towards the activation of Ras pathway, and so pro-tumoral aspects, explaining the failure of PD-L1 immunotherapy in GBM. As previous results showed, co-inhibitory immune complex consisting of CLTA-4, B7, PD-L1 and PD-1 assembly at the interface between T cells and antigen presenting cells could be able to down-regulate co-inhibitory signaling induced by B7 and PD-L1 due to cis-interaction between these two ligands (Su, Dhusia, et Wu 2021). Thus, these co-regulatory mechanisms might be also triggered by the novel NGFR / PD-L1 complex. Hence, the new complex NGFR/PD-L1 could also explain the failure of PD-L1 immunotherapy, by this shift in pathway activations. On the contrary, the restauration observed with both inhibitors could

help counteract the tumor immunotherapy escape suggesting a true prospect of therapeutic use.

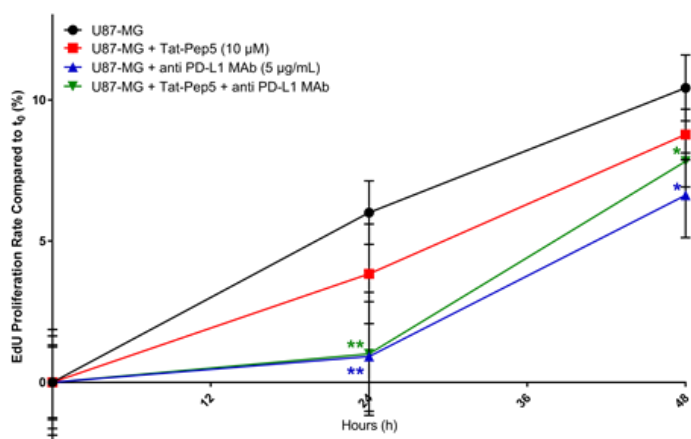
Altogether our results suggest that NGFR/PD-L1 complex could be used as a tumor biomarker, given the impact of both factors on patient survival and tumor proliferation, and its availability in serum. Moreover, its pro-tumor impact on cells would allow it to be used as a therapeutic complement as well. As demonstrated the presence and transfer of this complex in EVs paves the way to new therapeutic strategy based on the direct targeting of NGFR/PD-L1 complex in EVs. This original approach could allow to promote tumor accessibility for treatments and to improve their efficacy. This work opens new insights regarding our understanding of PD-L1 immunotherapy failure. However, these results need to be deepened with studies led on patients and on the signaling pathway surrounding this complex thereby allows to improve therapeutic strategies and thus patients' management. Nevertheless, the characterization of this complex, its transfer in EVs and its role on proliferation could also be of prime importance in order to better understand why current immunotherapy is limited in the management of GBM patients.

Supplementary data:

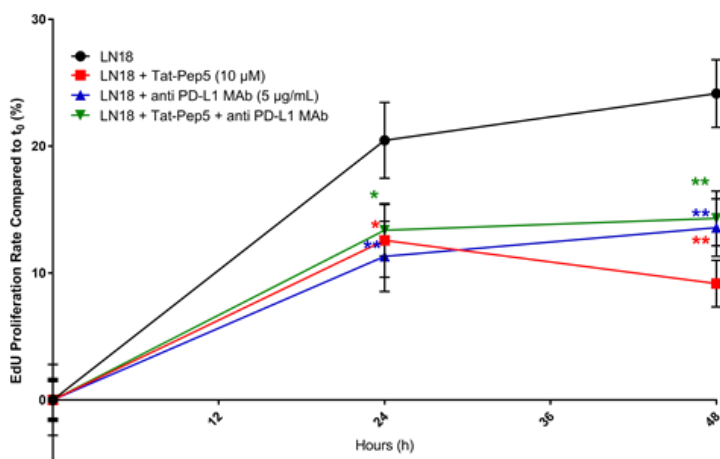


Supp. Data 1: Characterization of patients EVs size (A-C), U87-MG (D) and LN18 (E) produced EVs size and markers (CD81 & HSP-70)

A U87-MG Proliferation Rate Associated With p75^{NTR} and / or PD-L1 Blocking Treatments



B LN18 Proliferation Rate Associated With p75^{NTR} and / or PD-L1 Blocking Treatments



Supp. Data 2: On cells themselves, NGFR / PD-L1 inhibition exhibits the anti-tumoral effect, proving the complex role in GBM cancer cells.

A & B – Within producing cells themselves, the inhibition of one or both proteic partners can slow down cell proliferation of both U87-MG and LN18 cell lines (inhibitor peptide Tat-Pep5 against NGFR at 10 µM ; blocking antibody anti PD-L1 MAb 5 µg/mL).

References:

- Ahn, B. Y., R. F. G. Saldanha-Gama, J. J. Rahn, X. Hao, J. Zhang, N.-H. Dang, M. Alshehri, S. M. Robbins, et D. L. Senger. 2016. « Glioma Invasion Mediated by the P75 Neurotrophin Receptor (P75(NTR)/CD271) Requires Regulated Interaction with PDLIM1 ». *Oncogene* 35 (11): 1411-22. <https://doi.org/10.1038/onc.2015.199>.
- Al-Nedawi, Khalid, Brian Meehan, Johann Micallef, Vladimir Lhotak, Linda May, Abhijit Guha, et Janusz Rak. 2008. « Intercellular Transfer of the Oncogenic Receptor EGFRvIII by Microvesicles Derived from Tumour Cells ». *Nature Cell Biology* 10 (5): 619-24. <https://doi.org/10.1038/ncb1725>.
- Alshehri, M.M., S.M. Robbins, et D.L. Senger. 2017. « The Role of Neurotrophin Signaling in Gliomagenesis ». In *Vitamins and Hormones*, 104:367-404. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2016.11.001>.
- Antonia, Scott, Sarah B. Goldberg, Ani Balmanoukian, Jamie E. Chaft, Rachel E. Sanborn, Ashok Gupta, Rajesh Narwal, et al. 2016. « Safety and Antitumour Activity of Durvalumab plus Tremelimumab in Non-Small Cell Lung Cancer: A Multicentre, Phase 1b Study ». *The Lancet Oncology* 17 (3): 299-308. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00544-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00544-6).
- Arévalo, J. C., et S. H. Wu. 2006. « Neurotrophin Signaling: Many Exciting Surprises! ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 63 (13): 1523-37. <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6010-1>.
- Barker, Philip A. 2004. « P75NTR Is Positively Promiscuous: Novel Partners and New Insights ». *Neuron* 42 (4): 529-33. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.04.001>.
- Becker, Annette, Basant Kumar Thakur, Joshua Mitchell Weiss, Han Sang Kim, Hector Peinado, et David Lyden. 2017. « Extracellular Vesicles in Cancer: Cell-to-Cell Mediators of Metastasis », 26.
- Broekman, Marike L., Sybren L. N. Maas, Erik R. Abels, Thorsten R. Mempel, Anna M. Krichevsky, et Xandra O. Breakefield. 2018. « Multidimensional Communication in the Microenvirons of Glioblastoma ». *Nature Reviews. Neurology* 14 (8): 482-95. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0025-8>.
- Bronisz, Agnieszka, Yan Wang, Michal O. Nowicki, Pierpaolo Peruzzi, Khairul Ansari, Daisuke Ogawa, Leonora Balaj, et al. 2014. « Extracellular vesicles modulate the glioblastoma microenvironment via a tumor suppression signaling network directed by miR-1 ». *Cancer research* 74 (3): 738-50. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2650>.
- Chalmin, Fanny, Sylvain Ladoire, Grégoire Mignot, Julie Vincent, Mélanie Bruchard, Jean-Paul Remy-Martin, Wilfrid Boireau, et al. 2010. « Membrane-Associated Hsp72 from Tumor-Derived Exosomes Mediates STAT3-Dependent Immunosuppressive Function of Mouse and Human Myeloid-Derived Suppressor Cells ». *The Journal of Clinical Investigation* 120 (2): 457-71. <https://doi.org/10.1172/JCI40483>.
- Clayton, Aled, J. Paul Mitchell, Jacquelyn Court, Malcolm D. Mason, et Zsuzsanna Tabi. 2007. « Human Tumor-Derived Exosomes Selectively Impair Lymphocyte Responses to Interleukin-2 ». *Cancer Research* 67 (15): 7458-66. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-3456>.
- Coelho, Matthew A., Sophie de Carné Trécesson, Sareena Rana, Davide Zecchin, Christopher Moore, Miriam Molina-Arcas, Philip East, et al. 2017. « Oncogenic RAS Signaling Promotes Tumor Immuno-resistance by Stabilizing PD-L1 mRNA ». *Immunity* 47 (6): 1083-1099.e6. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.11.016>.
- Dermani, Fatemeh K., Pouria Samadi, Golebagh Rahmani, Alisa K. Kohlan, et Rezvan Najafi. 2019. « PD-1/PD-L1 Immune Checkpoint: Potential Target for Cancer Therapy ». *Journal of Cellular Physiology* 234 (2): 1313-25. <https://doi.org/10.1002/jcp.27172>.

- Furuta, Junpei, Takashi Inozume, Kazutoshi Harada, et Shinji Shimada. 2014. « CD271 on Melanoma Cell Is an IFN- γ -Inducible Immunosuppressive Factor That Mediates Downregulation of Melanoma Antigens ». *Journal of Investigative Dermatology* 134 (5): 1369-77. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.490>.
- Gato-Cañas, Maria, Miren Zuazo, Hugo Arasanz, Maria Ibañez-Vea, Laura Lorenzo, Gonzalo Fernandez-Hinojal, Ruth Vera, et al. 2017. « PDL1 Signals through Conserved Sequence Motifs to Overcome Interferon-Mediated Cytotoxicity ». *Cell Reports* 20 (8): 1818-29. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.07.075>.
- Gurung, Smriti, Fatima Khan, Gowri Rangaswamy Gunassekaran, Jae Do Yoo, Sri Murugan Poongkavithai Vadevoo, Uttapol Permpoon, Sang-Hyun Kim, et al. 2020. « Phage Display-Identified PD-L1-Binding Peptides Reinvigorate T-Cell Activity and Inhibit Tumor Progression ». *Biomaterials* 247 (juillet): 119984. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.119984>.
- Hao, Chengcheng, Gang Chen, Huishan Zhao, Yan Li, Jianxin Chen, Hongmei Zhang, Shan Li, et al. 2020. « PD-L1 Expression in Glioblastoma, the Clinical and Prognostic Significance: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis ». *Frontiers in Oncology* 10: 1015. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01015>.
- He, Zhigang, et Vuk Koprivica. 2004. « THE NOGO SIGNALING PATHWAY FOR REGENERATION BLOCK ». *Annual Review of Neuroscience* 27 (1): 341-68. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144340>.
- Himes, Benjamin T., Timothy E. Peterson, Tristan de Mooij, Luz M. Cumba Garcia, Mi-Yeon Jung, Sarah Uhm, David Yan, et al. 2020. « The Role of Extracellular Vesicles and PD-L1 in Glioblastoma-Mediated Immunosuppressive Monocyte Induction ». *Neuro-Oncology* 22 (7): 967-78. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaa029>.
- Hirano, Fumiya, Katsumi Kaneko, Hideto Tamura, Haidong Dong, Shengdian Wang, Masao Ichikawa, Cecilia Rietz, et al. 2005. « Blockade of B7-H1 and PD-1 by Monoclonal Antibodies Potentiates Cancer Therapeutic Immunity ». *Cancer Res*, 9.
- Huang, Yin, Keli Liu, Qing Li, Yikun Yao, et Ying Wang. 2018. « Exosomes Function in Tumor Immune Microenvironment ». In *Exosomes, Stem Cells and MicroRNA*, édité par Karl L. Mettinger, Pranela Rameshwar, et Vinod Kumar, 1056:109-22. Advances in Experimental Medicine and Biology. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-74470-4_7.
- Ibañez, Carlos F. 2012. « P75 Neurotrophin Receptor Signaling in Nervous System Injury and Degeneration: Paradox and Opportunity » 35 (7): 10.
- Johnston, Angela L. M., Xueqing Lun, Jennifer J. Rahn, Abdelhamid Liacini, Limei Wang, Mark G. Hamilton, Ian F. Parney, et al. 2007. « The P75 Neurotrophin Receptor Is a Central Regulator of Glioma Invasion ». *PLoS Biology* 5 (8): e212. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050212>.
- Keir, Mary E., Manish J. Butte, Gordon J. Freeman, et Arlene H. Sharpe. 2008. « PD-1 and Its Ligands in Tolerance and Immunity ». *Annual Review of Immunology* 26: 677-704. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331>.
- Keller, Sascha, Johannes Ridinger, Anne-Kathleen Rupp, Johannes W. G. Janssen, et Peter Altevogt. 2011. « Body Fluid Derived Exosomes as a Novel Template for Clinical Diagnostics ». *Journal of Translational Medicine* 9 (juin): 86. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-86>.
- Kucharzewska, Paulina, Helena C. Christianson, Johanna E. Welch, Katrin J. Svensson, Erik Fredlund, Markus Ringnér, Matthias Mörgelin, Erika Bourseau-Guilmain, Johan Bengzon, et Mattias

- Belting. 2013. « Exosomes Reflect the Hypoxic Status of Glioma Cells and Mediate Hypoxia-Dependent Activation of Vascular Cells during Tumor Development ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110 (18): 7312-17. <https://doi.org/10.1073/pnas.1220998110>.
- Lawler, Sean E., Michal O. Nowicki, Franz L. Riclefs, et E. Antonio Chiocca. 2020. « Immune Escape Mediated by Exosomal PD-L1 in Cancer ». *Advanced Biosystems*, mai, 2000017. <https://doi.org/10.1002/adbi.202000017>.
- Li, Chia-Wei, Seung-Oe Lim, Ezra M. Chung, Yong-Soo Kim, Andrew H. Park, Jun Yao, Jong-Ho Cha, et al. 2018. « Eradication of Triple-Negative Breast Cancer Cells by Targeting Glycosylated PD-L1 ». *Cancer Cell* 33 (2): 187-201.e10. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.01.009>.
- Litak, Jakub, Marek Mazurek, Cezary Grochowski, Piotr Kamieniak, et Jacek Roliński. 2019. « PD-L1/PD-1 Axis in Glioblastoma Multiforme ». *International Journal of Molecular Sciences* 20 (21). <https://doi.org/10.3390/ijms20215347>.
- Lukas, Rimas V., Jordi Rodon, Kevin Becker, Eric T. Wong, Kent Shih, Mehdi Touat, Marcella Fassò, et al. 2018. « Clinical Activity and Safety of Atezolizumab in Patients with Recurrent Glioblastoma ». *Journal of Neuro-Oncology* 140 (2): 317-28. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-2955-9>.
- Maacha, Selma, Ajaz A. Bhat, Lizandra Jimenez, Afsheen Raza, Mohammad Haris, Shahab Uddin, et Jean-Charles Grivel. 2019. « Extracellular Vesicles-Mediated Intercellular Communication: Roles in the Tumor Microenvironment and Anti-Cancer Drug Resistance ». *Molecular Cancer* 18 (1): 55. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0965-7>.
- Matarredona, Esperanza R., et Angel M. Pastor. 2019. « Extracellular Vesicle-Mediated Communication between the Glioblastoma and Its Microenvironment ». *Cells* 9 (1). <https://doi.org/10.3390/cells9010096>.
- McDermott, David F., Jeffrey A. Sosman, Mario Sznol, Christophe Massard, Michael S. Gordon, Omid Hamid, John D. Powderly, et al. 2016. « Atezolizumab, an Anti-Programmed Death-Ligand 1 Antibody, in Metastatic Renal Cell Carcinoma: Long-Term Safety, Clinical Activity, and Immune Correlates From a Phase Ia Study ». *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 34 (8): 833-42. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.63.7421>.
- Meldolesi, Jacopo. 2017. « Neurotrophin Trk Receptors: New Targets for Cancer Therapy ». In *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology Vol. 174*, édité par Bernd Nilius, Pieter de Tombe, Thomas Gudermann, Reinhard Jahn, Roland Lill, et Ole H. Petersen, 174:67-79. Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/112_2017_6.
- Mineev, Konstantin S., Sergey A. Goncharuk, Pavel K. Kuzmichev, Marçal Vilar, et Alexander S. Arseniev. 2015. « NMR Dynamics of Transmembrane and Intracellular Domains of P75NTR in Lipid-Protein Nanodiscs ». *Biophysical Journal* 109 (4): 772-82. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2015.07.009>.
- Nduom, Edjah K., Jun Wei, Nasser K. Yaghi, Neal Huang, Ling-Yuan Kong, Konrad Gabrusiewicz, Xiaoyang Ling, et al. 2016. « PD-L1 Expression and Prognostic Impact in Glioblastoma ». *Neuro-Oncology* 18 (2): 195-205. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov172>.
- Nykjaer, Anders, Ramee Lee, Kenneth K. Teng, Pernille Jansen, Peder Madsen, Morten S. Nielsen, Christian Jacobsen, et al. 2004. « Sortilin Is Essential for ProNGF-Induced Neuronal Cell Death ». *Nature* 427 (6977): 843-48. <https://doi.org/10.1038/nature02319>.

- Ostrom, Q. T., L. Bauchet, F. G. Davis, I. Deltour, J. L. Fisher, C. E. Langer, M. Pekmezci, et al. 2014. « The Epidemiology of Glioma in Adults: A “State of the Science” Review ». *Neuro-Oncology* 16 (7): 896-913. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou087>.
- Osuka, Satoru, et Erwin G. Van Meir. 2017. « Overcoming Therapeutic Resistance in Glioblastoma: The Way Forward ». *Journal of Clinical Investigation* 127 (2): 415-26. <https://doi.org/10.1172/JCI89587>.
- Parsa, Andrew T., James S. Waldron, Amith Panner, Courtney A. Crane, Ian F. Parney, Jeffrey J. Barry, Kristine E. Cachola, et al. 2007. « Loss of Tumor Suppressor PTEN Function Increases B7-H1 Expression and Immunoresistance in Glioma ». *Nature Medicine* 13 (1): 84-88. <https://doi.org/10.1038/nm1517>.
- Pinet, Sandra, Barbara Bessette, Nicolas Vedrenne, Aurélie Lacroix, Laurence Richard, Marie-Odile Jauberteau, Serge Battu, et Fabrice Lalloué. 2016. « TrkB-containing exosomes promote the transfer of glioblastoma aggressiveness to YKL-40-inactivated glioblastoma cells ». *Oncotarget* 7 (31): 50349-64. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10387>.
- Qian, Jiawen, Chen Wang, Bo Wang, Jiao Yang, Yuedi Wang, Feifei Luo, Junying Xu, Chujun Zhao, Ronghua Liu, et Yiwei Chu. 2018. « The IFN- γ /PD-L1 Axis between T Cells and Tumor Microenvironment: Hints for Glioma Anti-PD-1/PD-L1 Therapy ». *Journal of Neuroinflammation* 15 (1): 290. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1330-2>.
- Qiu, Xin Yao, Dian Xing Hu, Wen-Qiang Chen, Ruo Qiao Chen, Shi Rui Qian, Chun Yang Li, Yuan Jun Li, et al. 2018. « PD-L1 Confers Glioblastoma Multiforme Malignancy via Ras Binding and Ras/Erk/EMT Activation ». *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1864 (5): 1754-69. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.03.002>.
- Quezada, Claudia, Ángel Torres, Ignacio Niechi, Daniel Uribe, Susana Contreras-Duarte, Fernando Toledo, Rody San Martín, Jaime Gutiérrez, et Luis Sobrevia. 2018. « Role of Extracellular Vesicles in Glioma Progression ». *Molecular Aspects of Medicine* 60 (avril): 38-51. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.12.003>.
- Reardon, David A., Thomas Joseph Kaley, Jorg Dietrich, Jennifer Leigh Clarke, Gavin Dunn, Michael Lim, Timothy Francis Cloughesy, et al. 2019. « Phase II study to evaluate safety and efficacy of MEDI4736 (durvalumab) + radiotherapy in patients with newly diagnosed unmethylated MGMT glioblastoma (new unmeth GBM). » *Journal of Clinical Oncology* 37 (15_suppl): 2032-2032. https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.2032.
- Reardon, David A., Thomas Joseph Kaley, Jorg Dietrich, Jennifer Leigh Clarke, Gavin P Dunn, Michael Lim, Timothy Francis Cloughesy, et al. 2017. « Phase 2 study to evaluate safety and efficacy of MEDI4736 (durvalumab [DUR]) in glioblastoma (GBM) patients: An update. » *Journal of Clinical Oncology* 35 (15_suppl): 2042-2042. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.2042.
- Ricklefs, Franz L., Quazim Alayo, Harald Krenzlin, Ahmad B. Mahmoud, Maria C. Speranza, Hiroshi Nakashima, Josie L. Hayes, et al. 2018. « Immune Evasion Mediated by PD-L1 on Glioblastoma-Derived Extracellular Vesicles ». *Science Advances* 4 (3): eaar2766. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aar2766>.
- Rosenberg, Jonathan E., Jean Hoffman-Censits, Tom Powles, Michiel S. van der Heijden, Arjun V. Balar, Andrea Necchi, Nancy Dawson, et al. 2016. « Atezolizumab in Patients with Locally Advanced and Metastatic Urothelial Carcinoma Who Have Progressed Following Treatment with Platinum-Based Chemotherapy: A Single-Arm, Multicentre, Phase 2 Trial ». *Lancet (London, England)* 387 (10031): 1909-20. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00561-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00561-4).
- Skog, Johan, Tom Wurdinger, Sjoerd van Rijn, Dimphna Meijer, Laura Gainche, Miguel Sena-Estevés, William T. Curry, Robert S. Carter, Anna M. Krichevsky, et Xandra O. Breakefield. 2008.

- « Glioblastoma microvesicles transport RNA and protein that promote tumor growth and provide diagnostic biomarkers ». *Nature cell biology* 10 (12): 1470-76. <https://doi.org/10.1038/ncb1800>.
- Stupp, Roger, Michael Weller, Karl Belanger, Ulrich Bogdahn, Samuel K Ludwin, Denis Lacombe, et René O Mirimanoff. 2005. « Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma ». *The New England Journal of Medicine*, 10.
- Su, Zhaoqian, Kalyani Dhusia, et Yinghao Wu. 2021. « A Computational Study of Co-Inhibitory Immune Complex Assembly at the Interface between T Cells and Antigen Presenting Cells ». *PLoS Computational Biology* 17 (3): e1008825. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1008825>.
- Tkach, Mercedes, et Clotilde Théry. 2016. « Communication by Extracellular Vesicles: Where We Are and Where We Need to Go ». *Cell* 164 (6): 1226-32. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.043>.
- Tong, Bei, Vasiliki Pantazopoulou, Elinn Johansson, et Alexander Pietras. 2018. « The P75 Neurotrophin Receptor Enhances HIF-Dependent Signaling in Glioma ». *Experimental Cell Research* 371 (1): 122-29. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.08.002>.
- Treps, L., S. Edmond, E. Harford-Wright, E. M. Galan-Moya, A. Schmitt, S. Azzi, A. Citerne, N. Bidère, D. Ricard, et J. Gavard. 2016. « Extracellular Vesicle-Transported Semaphorin3A Promotes Vascular Permeability in Glioblastoma ». *Oncogene* 35 (20): 2615-23. <https://doi.org/10.1038/onc.2015.317>.
- Tsukamoto, Hirotake, Koji Fujieda, Azusa Miyashita, Satoshi Fukushima, Tokunori Ikeda, Yosuke Kubo, Satoru Senju, Hironobu Ihn, Yasuharu Nishimura, et Hiroyuki Oshiumi. 2018. « Combined Blockade of IL6 and PD-1/PD-L1 Signaling Abrogates Mutual Regulation of Their Immunosuppressive Effects in the Tumor Microenvironment ». *Cancer Research* 78 (17): 5011-22. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-0118>.
- Vasconcelos, M. Helena, Hugo R. Caires, Artūrs Ābols, Cristina P.R. Xavier, et Aija Linē. 2019. « Extracellular Vesicles as a Novel Source of Biomarkers in Liquid Biopsies for Monitoring Cancer Progression and Drug Resistance ». *Drug Resistance Updates* 47 (décembre): 100647. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2019.100647>.
- Vos, Kristan E. van der, Erik R. Abels, Xuan Zhang, Charles Lai, Esteban Carrizosa, Derek Oakley, Shilpa Prabhakar, et al. 2016. « Directly Visualized Glioblastoma-Derived Extracellular Vesicles Transfer RNA to Microglia/Macrophages in the Brain ». *Neuro-Oncology* 18 (1): 58-69. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov244>.
- Wolfers, Joseph, Anne Lozier, Graça Raposo, Armelle Regnault, Clotilde Théry, Carole Masurier, Caroline Flament, et al. 2001. « Tumor-Derived Exosomes Are a Source of Shared Tumor Rejection Antigens for CTL Cross-Priming ». *Nature Medicine* 7 (3): 297-303. <https://doi.org/10.1038/85438>.
- Xu, Rong, Alin Rai, Maoshan Chen, Wittaya Suwakulsiri, David W. Greening, et Richard J. Simpson. 2018. « Extracellular Vesicles in Cancer — Implications for Future Improvements in Cancer Care ». *Nature Reviews Clinical Oncology* 15 (10): 617-38. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0036-9>.
- Yao, Yu, Ran Tao, Xiaomei Wang, Yin Wang, Ying Mao, et Liang Fu Zhou. 2009. « B7-H1 Is Correlated with Malignancy-Grade Gliomas but Is Not Expressed Exclusively on Tumor Stem-like Cells ». *Neuro-Oncology* 11 (6): 757-66. <https://doi.org/10.1215/15228517-2009-014>.
- Zhao, Lei, Cheng Li, Fei Liu, Yonghong Zhao, Jun Liu, Ye Hua, Jinyang Liu, Jiapeng Huang, et Chunlin Ge. 2017. « A Blockade of PD-L1 Produced Antitumor and Antimetastatic Effects in an

Orthotopic Mouse Pancreatic Cancer Model via the PI3K/Akt/MTOR Signaling Pathway ». *OncoTargets and Therapy* 10: 2115-26. <https://doi.org/10.2147/OTT.S130481>.

Zhou, Xiang, Qian Hao, Peng Liao, Shiwen Luo, Minhong Zhang, Guohui Hu, Hongbing Liu, et al. 2016. « Nerve Growth Factor Receptor Negates the Tumor Suppressor P53 as a Feedback Regulator ». *ELife* 5 (juin): e15099. <https://doi.org/10.7554/eLife.15099>.

Discussion

Des études antérieures ont démontré le rôle protumoral au sein des cellules tumorales des protéines PD-L1 et p75^{NTR} dans différents cancers (Blondy et al., 2019; Iacovelli et al., 2016; Marchetti et al., 2004; Massi et al., 2014; Menter et al., 1994; Pinet et al., 2016; Rocha et al., 2006; Verbeke et al., 2010; A. Wang et al., 2015; Wu et al., 2006). Dans le mélanome, une corrélation d'expression entre ces 2 protéines a été mise en évidence et est associée à un mauvais pronostic (J. Furuta et al., 2014). L'association de p75^{NTR} avec d'autres protéines (Trks, sortiline) est relativement bien établie dans la littérature (Benedetti et al., 1993; Bibel et al., 1999; Esposito et al., 2001; Teng et al., 2010). Ainsi, face à l'échec actuel des traitements par immunothérapies de l'axe PD-1 / PD-L1 dans le glioblastome, nous avons cherché s'il existe une corrélation d'expression entre PD-L1 et p75^{NTR} similaire à celle constatée dans le mélanome. De plus, étant donné la capacité de p75^{NTR} à interagir avec d'autres protéines, nous avons étudié la possibilité de formation donc d'existence d'un nouveau complexe protéiques entre p75^{NTR} et PD-L1 dans le GBM. Enfin, ces différentes protéines membranaires étant disséminées au sein du microenvironnement tumoral *via* les vésicules extracellulaires, ce complexe pourrait participer au contrôle exercé par la tumeur sur le microenvironnement et représenter potentiellement de nouveaux biomarqueurs circulant de l'agressivité tumorale.

Composition du complexe p75^{NTR} / PD-L1

Afin d'appréhender le mécanisme d'action de ce nouveau complexe, il est important d'étudier sa composition en détails. En effet, les voies de signalisation impliquées lors de l'activation du complexe pourraient être fonction de sa composition protéique et / ou de ses interactions à la membrane. De plus, ces interactions permettront d'anticiper les possibles mécanismes d'échappement thérapeutique ciblant le complexe, par la stimulation de ces partenaires en cas de blocage des protéines p75^{NTR} et PD-L1. Une détermination de la stoechiométrie du complexe (dimérique, trimérique...) permettra d'évaluer l'importance relative de chacun des partenaires et leur degré d'implication dans le complexe.

Le récepteur p75^{NTR} étant susceptible de former des complexes avec d'autres protéines, une analyse détaillée du complexe par spectrométrie de masse permettra d'identifier d'autres partenaires. Nous avons déjà identifié un certain nombre de partenaires potentiels. Parmi ceux-ci, on trouve notamment des protéines connues pour interagir avec p75^{NTR} telle que la sortiline ou les récepteurs des neurotrophines (Benedetti et al., 1993; Bibel et al., 1999; Esposito et al., 2001; Jansen et al., 2007; Nykjaer et al., 2005, 2004; Nykjaer and Willnow, 2012; Teng et al., 2010). Concernant la sortiline, ce co-récepteur à domaine Vps10p est à la fois impliqué dans les voies de signalisation et le trafficking de protéines membranaires telles que les récepteurs des neurotrophines ainsi que leur ligand. Sa présence au sein du complexe pourrait contribuer à renforcer la disponibilité de ce dernier à la membrane ainsi que son action sur les voies pro-survies et pro-apoptotiques (Chen et al., 2005; Teng et al., 2005). Les récepteurs des neurotrophines, Trks, sont connus pour leur implication pro-tumorale, notamment dans le GBM, ainsi que pour leur interaction avec p75^{NTR} (Dechant, 2001; Eggert et al., 2000; Hantzopoulos et al., 1994; Hempstead et

al., 1991). La liaison entre ces deux partenaires pourrait donc s'établir également en présence de PD-L1 et être déterminante dans l'activation des voies de signalisation pro-survie du complexe p75^{NTR} / Trks. De plus, les récepteurs aux neurotrophines sont connus pour se regrouper au sein de rafts lipidiques favorisant la formation des agglomérats protéiques et donc des complexes de grande taille (Spencer et al., 2017; Tsui et al., 2015). Enfin, il a été démontré que la fusion des gènes codant pour les neurotrophines est généralement associée dans 23 % des cas avec l'expression de PD-L1 (Gatalica et al., 2019). Ainsi, l'utilisation combinée des inhibiteurs des NTRK à ceux de PD-L1 pourraient représenter une nouvelle approche thérapeutique, inhibant la signalisation induite par ce complexe.

Aucune preuve n'a pu être établie concernant l'interaction potentielle de la sortiline avec PD-L1. Cependant, la fonction de la sortiline en tant que transporteur des récepteurs des neurotrophines, suggère des interactions croisées entre cette protéine à domaine Vps10 et les protéines p75^{NTR} et PD-L1 (Jansen et al., 2007).

Le récepteur p75^{NTR} pourrait occuper une place centrale entre la sortiline et Trks dans un complexe associant les 3 protéines. L'influence du complexe sur la balance entre la sortiline et les Trks pourrait potentiellement privilégier la liaison avec les Trks au vu des effets protumoraux du complexe. En créant un modèle d'ARN interférence ciblant PD-L1, il sera possible d'observer l'effet de la formation du complexe sur la disponibilité de p75^{NTR} au niveau de la membrane et sur la formation de ses complexes. Bloquant ainsi la formation du complexe p75^{NTR} / PD-L1, l'impact éventuel de celui-ci sur la formation des complexes p75^{NTR} / Trks et p75^{NTR} / Sort1 donnera plus de poids à celui-ci. Par ce biais, il serait pertinent d'observer si indirectement, par la diminution de la quantité de p75^{NTR} libre et par une affinité différente avec Trk et Sort1, la formation du complexe p75^{NTR} / PD-L1 favorise celle de p75^{NTR} / Trks. Ceci renforcerait l'effet pro-tumoral du complexe p75^{NTR} / PD-L1. La formation du complexe p75^{NTR} / PD-L1 pourrait ainsi stimuler la formation du complexe p75^{NTR} / Trks et favoriser indirectement la stimulation des voies pro-survie découlant de celui-ci. De plus, une surexpression des protéines p75^{NTR} et PD-L1 associée à une formation accrue du complexe au sein des gliomes de bas grade pourrait favoriser leur évolution vers des tumeurs de plus forte agressivité (grades III puis IV).

Une meilleure compréhension de la composition et du lien entre les différents partenaires connus de p75^{NTR} permettra d'analyser la dynamique du complexe à la membrane. Il s'avère essentiel de lier ces interactions avec les voies de signalisations afin d'évaluer au mieux la fonction de ce complexe dans le contexte tumoral.

Les voies de signalisations associées au complexe

Les partenaires protéiques et leurs voies de signalisations, tant pro-survie que pro-apoptose, sont parfaitement connus mais pas celles propres au complexe. Il est possible qu'à la suite de la formation de ce dernier, l'activation de certaines de ces voies soit modifiées ce qui influencerait sur la transmission de l'agressivité au sein de la tumeur.

Concernant le récepteur p75^{NTR}, il faudra étudier dans un premier temps les effets du complexe, activé ou non, sur les voies pro-apoptotiques ciblées par le récepteur isolé. Ces études pourraient se concentrer sur l'activation des caspases, notamment la caspase 3 mais

également la voie JNK (avec l'activation de c-Jun impliquée dans l'activation des gènes pro-apoptotiques) (Hempstead, 2002; Nykjaer et al., 2005; Roux and Barker, 2002; Yeiser et al., 2004). Les effets prolifératifs du complexe suggèrent que ce dernier permettrait de limiter l'effet pro-apoptotique habituellement engagé en privilégiant les voies de prolifération. Une étude comparative des effets du complexe sur la voie NF- κ B par rapport aux effets prolifératifs du récepteur seul pourrait ainsi être menée (Ahmad et al., 2014; Carter et al., 1996; Khursigara et al., 2001; Wooten et al., 2001). En plus de ces effets, au niveau des voies de prolifération, l'orientation et le choix des voies activées diffèrent en fonction des partenaires présents. La formation du complexe p75^{NTR} / Trk a tendance à passer par l'activation de la voie Ras et de ses effecteurs Akt et MEK (Al-Yozbaki et al., 2020). Il a déjà été démontré que cette voie permettait d'activer l'expression de gènes pro-survie, favorisant ainsi la résistance des cellules tumorales à l'apoptose et pouvait aussi activer des gènes impliqués dans la différenciation et la croissance tumorale. Ainsi, confirmer l'effet du complexe sur ces voies contrôlées par p75^{NTR} pourrait l'associer au phénotype agressif au sein du GBM. Le potentiel intérêt de son suivi chez les patients n'en sera que plus important.

Parallèlement, il convient d'étudier les effets pro-survie de PD-L1 reconnu au sein des voies de prolifération. Les effets de PD-L1 sont vastes, allant du maintien du caractère souche au switch métabolique (Chen et al., 2019). *Via* ce ligand, ce complexe pourrait cibler également les voies pro et anti-apoptotiques, en inhibant les premières et en activant les secondes afin de stimuler le développement tumoral. La voie passant par la protéine Ras pourrait elle-aussi jouer un rôle central parmi les voies activées par le complexe. En effet, il a été démontré que les 2 protéines sont capables d'activer cette voie et ainsi stimuler les processus de prolifération, de migration et d'invasion tumorale (indirectement pour p75^{NTR}, *via* son interaction avec les Trks) (Chen et al., 2019; Reichardt, 2006). Par ce biais, le complexe pourrait engendrer une augmentation de l'agressivité tumorale par son action sur 3 voies de signalisation distincts. Tout d'abord, en inhibant la voie JAK-Stat, le complexe pourrait possiblement bloquer l'apoptose des cellules tumorales. Par la voie PI3K, il pourrait stimuler la prolifération et modifier le métabolisme cellulaire en activant la glycolyse pour faciliter l'adaptation tumorale. Finalement, en favorisant l'activation de BMI1, Oct4 et Nanog, le complexe permettrait également d'une part le maintien du caractère souche au sein des GSCs et d'autre part la dissémination de ces propriétés souches au sein de la tumeur.

Afin d'améliorer la vision globale des effets du complexe sur les voies de signalisation, il serait intéressant de réaliser un criblage du signalome du GBM en réalisant une inhibition du complexe. Par ces analyses, il sera possible de déterminer si lors d'une inhibition de l'un des partenaires, un switch se met en place afin de permettre au second partenaire d'être activé. Ces mécanismes pourraient expliquer l'échec des immunothérapies ciblant seulement PD-L1. Ainsi, une étude approfondie de ces voies permettrait de connaître au mieux les implications du complexe et ainsi de définir l'intérêt de son suivi au sein de la tumeur.

Le complexe p75^{NTR} / PD-L1, un complexe d'immunotolérance ?

Les effets de PD-L1 et ses connections avec les protéines de la famille B7.1 suggèrent que le complexe p75^{NTR} / PD-L1 pourrait avoir un impact éventuel sur le système

immunitaire et l'immunotolérance de la tumeur. En effet, la protéine PD-L1, *via* son activité au sein de l'axe PD-1 / PD-L1, est capable de stimuler l'anergie des lymphocytes T au sein du système activé (Ahmadzadeh et al., 2009). Il a été démontré que son expression et sa libération dans le microenvironnement tumoral joue un rôle majeur pour la survie et le développement de la tumeur. La fonction majeure de la famille B7.1 dans les mécanismes d'immunotolérance tumorale a fait de ces protéines une cible thérapeutique principale à l'origine de l'établissement des immunothérapies (Wang et al., 2019). Ces nouvelles approches ont pour but de limiter cette évasion immunitaire et donc de permettre la reconnaissance et l'élimination de la tumeur par l'organisme lui-même. Au regard de son efficacité sur différents cancers, cette approche thérapeutique a été appliquée sur de nombreuses tumeurs dont le GBM (Gong et al., 2018; Jiang et al., 2019). Néanmoins, dans le contexte particulier du SNC et des gliomes, l'immunothérapie, visant plus particulièrement PD-L1, n'est pas parvenue à améliorer la survie ou encore à inhiber le développement tumoral (Wang et al., 2019). Les nombreux échecs des essais cliniques ciblant PD-L1 pourrait s'expliquer par la particularité de l'environnement immunitaire du SNC ou du fait de mécanismes inconnus jusqu'alors entourant l'axe PD-1 / PD-L1.

L'identification d'un nouveau complexe associant p75^{NTR} et PD-L1 dans les cellules de GBM pourrait contribuer à mieux comprendre cet échappement thérapeutique et la résistance à l'immunothérapie. Une étude approfondie de l'effet global des deux partenaires sur les cellules immunitaires présentes au sein du microenvironnement tumoral pourra ainsi être menée. Des études fonctionnelles sur l'activation, la survie / apoptose et leurs interactions avec le reste du microenvironnement pourront également permettre de visualiser l'impact du complexe sur celui-ci. L'effet du blocage des partenaires protéiques sur les lymphocytes T sera analysé ainsi que sur l'ensemble du contexte immunologique de la tumeur. Cependant, l'implication des deux protéines dans les processus de survie et de maturation du système immunitaire laisse présager l'apparition d'effets secondaires. Un suivi des réactions systémiques sur des modèles animaux est donc indispensable.

Une autre hypothèse qui doit être envisagée concerne le blocage de p75^{NTR} au sein des cellules immunitaires entourant la tumeur. Ce blocage serait-il en mesure d'améliorer la prise en charge des GBM ? Au sein d'une éventuelle thérapeutique, le blocage de p75^{NTR} pourrait déboucher sur de graves effets secondaires chez le patient. En effet, puisque ce récepteur est impliqué dans les processus de contrôle de la réponse immunitaire, un blocage de celui-ci pourrait altérer l'intégrité du système immunitaire (Fry et al., 2007; Meeker and Williams, 2014). Au vu de ces effets immunitaires et également neurologique, une étude intensive *in vitro* puis *in vivo* des effets du blocage de p75^{NTR} permettait de déterminer sa pertinence thérapeutique (Fry et al., 2007; Woo et al., 2005; Young et al., 2007).

Le SNC est un système isolé par la présence de la BHE. Cet isolement conduit à la formation d'un système immunitaire aux caractéristiques spécifiques. Du fait des zones d'ombre restantes au sein de ce système, il serait intéressant de pouvoir s'intéresser à l'effet du complexe dans ce contexte. Les impacts immunitaires des protéines p75^{NTR} & PD-L1 suggèrent en premier lieu que le complexe pourrait intervenir au sein de ce système. Des études plus précises sur le complexe pourrait ainsi permettre de mieux définir son rôle et éventuellement son utilisation dans un cadre pronostique ou thérapeutique du GBM.

Utilisation du complexe en tant que biomarqueur

L'approfondissement des résultats préliminaires obtenues pendant la thèse, du rôle du complexe dans les cellules tumorales et sa détection sérique dans les exosomes permettront d'envisager celui-ci comme un biomarqueur.

Dans ce cadre, plusieurs biomarqueurs potentiels ont pu être identifiés au cours des dernières années, comme la MGMT, la GFAP ou l'EGFR (Sareen et al., 2020). Du fait de leurs effets potentiels sur l'agressivité tumorale, plusieurs biomarqueurs éventuels ont été préalablement identifiés au sein du laboratoire, comme les récepteurs aux neurotrophines. Ces protéines sont associées à des fonctions oncogéniques, à savoir la prolifération tumorale, la migration et l'invasion tumorale et à une excrétion exosomale dans le milieu extracellulaire. Au sein du GBM, les récepteurs aux neurotrophines (Trk / p75^{NTR} / Sort1) ont été reliés à ces effets protumoraux dans des contextes *in vitro*, *ex vivo* et *in silico*. Au fil des années, les protéines Trks, CHI3L1, KLRC3, p75^{NTR}, Sort1 ont pu se présenter comme de potentiels candidats biomarqueurs (Cheray et al., 2017; Deluche et al., 2019; Pinet et al., 2016). Les connaissances du rôle des récepteurs aux neurotrophines conjointement à celles de la thèse placent le nouveau complexe p75^{NTR} / PD-L1 comme un biomarqueur potentiel.

Le ligand PD-L1 joue également un rôle essentiel dans le GBM (Baral et al., 2014; Wilmotte et al., 2005). Son rôle protumoral et sa présence au sein d'exosomes dans le microenvironnement ont été de nombreuses fois observés et reliés avec les processus agressifs des tumeurs et notamment au sein du GBM. Si la majorité des fonction étudiées de la protéine concerne sa fonction immunologique, il convient également de signaler que le ligand puisse produire d'importants signaux pro-survie, voire d'induire la stimulation de caractéristiques souches au sein des cellules productrices (Chen et al., 2019). L'implication de PD-L1 dans ces différents mécanismes oncogéniques a contribué à renforcer son intérêt en tant que biomarqueur associé à l'agressivité tumorale.

Avec la découverte d'un complexe regroupant ces deux protéines, il s'agit à présent de déterminer la valeur ajoutée de ce complexe pour la tumeur et de déterminer si l'interaction de ces 2 protéines confère un avantage en termes de plasticité et de croissance tumorale. Néanmoins, si le complexe et ses composants ont pu être observés et leurs fonctions estimées au sein des cellules tumorales, il serait nécessaire de voir ce qu'il en est dans les cellules saines du SNC. Pour définir le complexe comme biomarqueur, il sera primordial de regarder si sa présence est exclusive au sein des tumeurs cérébrales et non présent dans le tissu sain. Le cas échéant, il conviendra de comparer les concentrations exosomales du complexe.

Intérêt diagnostique du complexe protéique

L'analyse transcriptomique nous a permis de montrer que le niveau d'expression de chacun des partenaires du complexe p75^{NTR} et PD-L1 était plus élevé au sein des GBM en comparaison de celui des gliomes de bas grade. Une différence d'expression du complexe entre les différents grades tumoraux ferait donc de ce complexe un outil diagnostique.

Dans ce contexte, il est possible d'émettre l'hypothèse selon laquelle le niveau d'expression du complexe associant PD-L1 et P75^{NTR} varie de manière similaire à celui des 2

marqueurs isolés selon le grade des gliomes. Il semblerait effectivement plausible que la formation du complexe soit dépendante de la disponibilité des deux protéines au sein des cellules. Néanmoins, les changements d'expression de chaque protéine pourraient ne pas impacter directement la formation du complexe. En effet, des facteurs externes pourraient également intervenir sur la formation du complexe entre les différentes formes de gliomes, en lien avec l'agressivité de la tumeur. Il conviendra de s'intéresser notamment aux effets de la plasticité membranaire, du transfert des protéines au travers des vésicules extracellulaires et de stress environnementaux sur la formation du complexe (Combs et al., 2016; Yamamoto et al., 2018; Yekula et al., 2019).

PD-L1 et P75^{NTR} sont exprimés dans les tissus sains, il est donc probable que le complexe le soit également dans ces tissus (Fagerberg et al., 2014). En distinguant ses effets dans le cadre physiologique du cadre physiopathologique, le complexe gagnera en pertinence et en robustesse, dans un cadre pronostic, diagnostic voire thérapeutique, pour la prise en charge des gliomes.

La présence du complexe au sein des cellules fournit une preuve directe de son rôle modulateur au sein de la tumeur et de sa fonction inhibitrice de la croissance tumorale. Au contraire, la sécrétion de celui-ci dans les exosomes permet de visualiser et de suivre indirectement l'évolution de la tumeur. L'analyse des exosomes libérés dans le microenvironnement tumoral et circulant dans les différents fluides physiologiques pourrait permettre d'identifier de potentiels biomarqueurs tumoraux (protéines, lipides, acides nucléiques) (Keerthikumar et al., 2016; Pathan et al., 2019). Dans le cadre du GBM, il est possible de suivre en miroir cette évolution par l'extraction des vésicules extracellulaires du sang ou du LCR (Admyre et al., 2007, 2003; Chiasserini et al., 2014; Gatti et al., 2005; Gonzales et al., 2010; Sharma et al., 2010). L'utilisation des fluides physiologiques est d'autant plus importante que la biopsie tumorale ou l'exérèse chirurgicale peut entraîner des complications chez les patients (Sareen et al., 2020). Ainsi, les exosomes extraits de biopsies liquides apparaissent actuellement comme un substitut ou *a minima* comme un complément aux biopsies dites solides classiques (Gonda et al., 2013; Klekner et al., 2019; Whitehead et al., 2019). Il conviendra également d'évaluer les éventuelles différences de concentration du complexe entre les différentes sources potentielles d'exosomes. La présence de la BHE contribuant à l'isolement partiel du SNC, le passage de celle-ci pourrait altérer l'ensemble du message vésiculaire émis par les cellules tumorales (Gourlay et al., 2017; Klekner et al., 2019). Une comparaison des niveaux d'expression du complexe entre le sérum et le LCR paraît pertinente. En fonction des données obtenues, il sera possible d'affiner la portée du complexe p75^{NTR} / PD-L1 dans l'exploration, l'analyse puis la prise en charge du GBM. Si la présence du complexe au sein de biopsies liquides est en mesure de renseigner sur le sous-type de gliomes, et par conséquent son risque évolutif et son agressivité, le complexe p75^{NTR} / PD-L1 pourrait devenir un biomarqueur majeur dans l'établissement d'un diagnostic des gliomes.

Valeur pronostique du complexe p75^{NTR} / PD-L1

Avec un risque évolutif des gliomes de bas grades vers des hauts grades qui est de l'ordre de 15 à 20%, le suivi tumoral apparaît essentiel pour les patients atteints par des

gliomes de bas grades afin de prévenir leur récurrence et le risque évolutif (Kleihues and Ohgaki, 1999). Si le complexe permet de déterminer le grade ainsi que l'agressivité de la tumeur, un suivi des patients, à partir de biopsies liquides, montrant des changements d'expression du complexe sera susceptible de refléter un changement d'état de la tumeur (transition bas grade vers haut grade).

L'évolution du complexe et de sa présence au sein de tumeurs pourra revêtir un rôle pronostique afin de prédire l'évolution maligne de gliomes de bas grades. Sa détection permettrait ainsi de favoriser et d'adapter la prise en charge de ceux-ci, détectant au plus tôt l'aggravation éventuelle de ces gliomes de grade II ou III. De plus, après traitement initial et disparition de la tumeur, il serait possible de déterminer la récurrence tumorale chez les patients. Toujours dans le cadre du suivi du GBM, la recherche du complexe par prise de sang (biopsies liquides) pourrait détecter au plus tôt la résurgence tumorale et favoriser la mise en place d'une thérapeutique avant l'aggravement de l'état du patient. Ces techniques pourraient s'effectuer dès la mise en place du diagnostic, pour évaluer l'évolution et la réponse tumorale aux thérapies utilisées. Le fait de pouvoir utiliser la détection du complexe à l'aide de biopsies liquides, sur le long terme pour effectuer une surveillance de la récurrence tumorale constituerait une avancée cruciale de la prise en charge du GBM. Le complexe pourrait, dans ces conditions, constituer un nouvel outil de suivi tant diagnostique que pronostique.

Complexe p75^{NTR} / PD-L1 comme cible thérapeutique

Le complexe p75^{NTR} / PD-L1 possède un effet prolifératif qui a été démontré au cours de ma thèse. Du fait de ses fonctions et de son impact sur la transmission de l'agressivité dans la tumeur, il serait potentiellement profitable d'évaluer l'efficacité de son blocage dans un cadre thérapeutique. En effet, il a été montré que l'utilisation d'anticorps bloquant PD-L1 combiné avec un inhibiteur pharmacologique de p75^{NTR} permettait de bloquer la prolifération des cellules tumorales. De plus, les effets inhibiteurs du traitement combiné ont été observés aussi bien sur les cellules productrices du complexe que sur des cellules traitées par des exosomes au sein desquels le complexe était préalablement bloqué. Par conséquent, l'efficacité thérapeutique du traitement associant les 2 inhibiteurs ne se limite pas aux cellules mais s'étend également aux exosomes susceptibles de diffuser et disséminer le complexe à d'autres cellules du microenvironnement afin de les activer et d'induire leur activation oncogénique.

Si le complexe p75^{NTR} / PD-L1 est potentiellement utilisable dans le cadre de la thérapeutique du GBM, il serait nécessaire d'estimer les effets délétères découlant de ces inhibitions. En fonction, comme précédemment observé, les deux protéines p75^{NTR} et PD-L1 s'expriment dans de nombreux types cellulaires. Ainsi, une inhibition de l'un ou l'autre des partenaires peut potentiellement avoir des effets secondaires sur l'homéostasie cellulaire, voire de l'individu. Le premier effet délétère pourrait porter sur les neurones. En effet, l'expression du récepteur des neurotrophines p75^{NTR} et son impact ambivalent survie / apoptose est crucial dans la survie des neurones présents dans le système nerveux central. L'interaction directe de p75^{NTR} avec Trk agit à plusieurs niveaux sur les neurones en augmentant la spécificité et l'affinité de liaison pour les neurotrophines matures, en

renforçant l'auto-phosphorylation du récepteur Trk (Esposito et al., 2001; Teng et al., 2010). Cependant, l'action de p75^{NTR} ne se limite pas aux neurones du SNC mais pourrait également agir sur le fonctionnement des cellules du système immunitaire. Il a en effet été montré qu'un traitement immuno-stimulant appliqué sur des PBMCs stimulait le relargage du pro-BDNF et favorisait la surexpression du récepteur p75^{NTR} (Hu et al., 2021). Par conséquent, il faudra vérifier si la combinaison des traitements anti-PD-L1 avec un inhibiteur de p75^{NTR} ne risque pas d'engendrer une dérégulation au niveau de l'activité des cellules immunitaires. En effet, le récepteur étant nécessaire pour la bonne maturation de ces cellules, une perte de l'activité du récepteur et notamment de sa liaison avec les différents co-récepteurs l'entourant pourrait bloquer l'élimination normale des cellules immunes anergiques (Fry et al., 2007; Parry et al., 2005; Patsoukis et al., 2012). Ces déséquilibres pourraient notamment induire des troubles de nature auto-immune (Freeman et al., 2000; Fry et al., 2007; Latchman et al., 2001; Meeker and Williams, 2014). De manière générale, il conviendra d'évaluer la toxicité et la pharmacocinétique en présence de ces inhibiteurs pharmacologiques. En effet, des essais cliniques ont déjà démontrés les effets secondaires des anti PD-L1 dans le cadre du GBM (Wang et al., 2019). De même, les premiers essais cliniques utilisant des anti PD-L1 en combinaison avec d'autres molécules (notamment avec des anti-VEGF) ont également donné de graves effets secondaires (Wang et al., 2019).

p75^{NTR} n'étant pas une cible connue dans le cadre du GBM, aucune thérapeutique n'a été testée. Néanmoins, il existe des inhibiteurs pharmacologiques qui inhibent soit la fixation du ligand, soit l'action du récepteur sur les effecteurs. Il convient d'évaluer les différences d'efficacité de ces inhibiteurs, à savoir Tat-Pep5 (utilisé durant la thèse) et EVT901. Le Tat-Pep5 consiste en une séquence N-terminal de la protéine Tat du VIH, capable de traverser la membrane avec le peptide inhibiteur Pep5, bloquant la liaison du récepteur avec ses effecteurs. Le second est un inhibiteur agissant comme un antagoniste du récepteur. Il est ainsi capable de bloquer les interactions du récepteur avec ces partenaires (Delbary-Gossart et al., 2016; Lee et al., 2016). Les anticorps bloquants de PD-L1 utilisés dans le cadre des essais cliniques du GBM sont l'avelumab, le durvalumab ou le MEDI4736 (Wang et al., 2019). Ainsi, pour optimiser l'utilisation d'une thérapie ciblant le complexe, il sera nécessaire de déterminer les éventuels effets secondaires d'un blocage combiné des protéines p75^{NTR} et PD-L1. L'ensemble des effets secondaires devra être déterminé du niveau cellulaire jusqu'au stade *in vivo*.

Analyse et utilisation du complexe dans le cadre d'autres cancers

La mise en évidence et l'intérêt d'un nouveau complexe p75^{NTR} / PD-L1 au sein des tumeurs de GBM pourront être transposés à d'autres types de tumeurs dans lesquelles les deux protéines sont fortement exprimées tel que le mélanome (Filipp et al., 2019). C'est d'ailleurs dans le mélanome que l'expression des deux protéines a pu être corrélée pour la première fois (J. Furuta et al., 2014). Ce complexe ouvre une nouvelle piste de compréhension des mécanismes d'échappements immunitaires à la suite des immunothérapies, non seulement dans le GBM mais également dans d'autres formes tumorales.

Au sein du laboratoire et par le biais d'études précédentes, il a été démontré que les récepteurs aux neurotrophines, notamment p75^{NTR}, étaient exprimés dans une large variété de tumeurs. Ce dernier possède des qualités pro-tumorales dans de nombreux cancers, similaires aux fonctions retrouvées dans le GBM (Meldolesi, 2017). L'expression de PD-L1, au sein de nombreuses tumeurs a également un rôle pro-tumoral (X. Wang et al., 2016). Au sein de nombreuses tumeurs, la forte expression conjointe des deux protéines pourrait provoquer la présence du complexe. Tout comme au sein du GBM, l'échappement thérapeutique aux immunothérapies de l'axe PD-1 / PD-L1 dans d'autres formes de cancers peut s'expliquer par l'implication de partenaires ou par le recours à des processus de remodelage génétique, permettant le contournement du traitement inhibiteur (Jenkins et al., 2018; Matsushita et al., 2012; O'Donnell et al., 2019; Schreiber et al., 2011; Sharma et al., 2017; Shin et al., 2017). Pour certains patients moins répondeurs aux immunothérapies, l'étude de la présence et du rôle du complexe pourra proposer une alternative thérapeutique possible. Dans le cas d'un échappement tumoral avec un anti PD-L1 (atézolizumab, avelumab, durvalumab, MEDI4736), une combinaison avec un inhibiteur de p75^{NTR} pourrait constituer un nouveau schéma thérapeutique. L'ajout d'inhibiteurs pharmacologiques de p75^{NTR} pourra constituer l'une des nouvelles cibles utilisées en combinaison des immunothérapies (Sharma et al., 2017). A l'opposé dans un cadre où PD-L1 n'est pas assez exprimé pour permettre une immunothérapie classique, l'utilisation combinée pourrait créer un terrain favorable à ce traitement (Mempel et al., 2004; Schumacher and Schreiber, 2015). Le complexe p75^{NTR} / PD-L1 constituerait donc une alternative thérapeutique.

Outre les perspectives thérapeutiques, la présence du complexe permettra d'ajouter à la prise en charge de ces tumeurs une nouvelle approche, *via* les biopsies liquides et l'analyse des exosomes. Etant donné l'expression largement répandue dans les tissus de p75^{NTR} et PD-L1, la détection différentielle du complexe dans ceux-ci permettra de potentialiser son utilisation dans le plus grand nombre de tumeurs. En transposant l'ensemble des fonctions du complexe dans d'autres contextes tumoraux, la détection du complexe dans les exosomes tumoraux le complexe aura une utilité dans la prise en charge pronostique et diagnostique des tumeurs en question. Il serait ainsi possible d'utiliser le complexe en tant que biomarqueur, utilisable au sein de biopsies liquides. Ainsi, le complexe pourra être utilisé dans le contexte tumoral le plus large possible, au sein de nombreuses tumeurs exprimant les protéines et présentant celui-ci. C'est dans cet optique que le complexe p75^{NTR} / PD-L1 permettra d'améliorer au mieux la prise en charge des cancers.

Le complexe p75^{NTR} / PD-L1 pourrait, du fait de ses larges effets et ceux de ses constituants, constituer dans un plus grand nombre possible un biomarqueur, accessible au sein des exosomes produits par les cellules tumorales. Le complexe pourrait ainsi, dans le meilleur des cas, jouer un rôle dans la prise en charge de ces cancers, dans un angle pronostic, diagnostique voire thérapeutique.

Conclusion / Perspectives

Pour conclure, nous avons pu démontrer que les protéines p75^{NTR} et PD-L1 sont le plus fortement exprimées, au sein des gliomes, dans le glioblastome où elles sont associées à un mauvais pronostic. Dans un contexte *ex vivo*, les exosomes de patients atteints de GBM expriment ces deux protéines. Connaissant leur lien dans un autre cancer, nous avons cherché et mis en évidence, pour la première fois, la présence d'un complexe protéique dans les exosomes ainsi que dans les cellules tumorales de GBM. Puisque ce complexe p75^{NTR} / PD-L1 est circulant et possède des fonctions pro-tumorales, il est un candidat potentiel de marqueur suivi par biopsies liquides. *In vitro*, les cellules de culture primaires présentent également le complexe à leur membrane et celui-ci est libéré dans le milieu de culture. Cette découverte laisse à penser que ce complexe exosomal est disséminé dans le microenvironnement et contribue à la mise en place et / ou à l'agressivité tumorale(s). Néanmoins, une analyse plus large *in silico* des lignées cellulaires de GBM ne dégage pas de corrélation quelle qu'elle soit entre les expressions de p75^{NTR} et de PD-L1. Cette analyse démontre au contraire une expression variable entre les différentes lignées, suggérant que ce complexe ait une variabilité d'expression entre les patients. *In vitro*, les deux protéines sont bien exprimées dans les lignées U87-MG et LN18 et semblent être co-localisées, au niveau de domaines subcellulaires. Ce complexe sera en partie libéré dans les exosomes produits par les cellules et lorsqu'il est incorporé par les cellules du microenvironnement tumoral produit un effet prolifératif. De manière intéressante, le blocage du complexe membranaire peut limiter la transmission de cette agressivité mais ne semble pas avoir d'implications sur la présence de PD-L1 et donc sur l'activation préférentielle de ses voies de signalisation. Ces résultats préliminaires posent l'hypothèse que ce complexe possède des fonctions tumorales pouvant être suivies par biopsies liquides et donc avoir une portée diagnostique (présence de tumeurs agressives) ou thérapeutique (cible potentielle). Ces résultats encourageants ouvrent de nombreuses perspectives :

- Les propriétés de p75^{NTR} soutiennent l'hypothèse qu'il soit présent sous forme de complexe donc associé à un ou des partenaire(s) protéique(s). Il paraît pertinent de regarder la présence dans ce complexe d'autres protéines connues pour leur lien avec p75^{NTR} (Sort1, Trks) ou avec PD-L1 (famille B7.1). Il serait ainsi possible de relier le complexe à d'autres voies de signalisations.
- L'étude du signalome entourant le complexe protéique. Elle permettra de connaître les voies stimulées par la présence du complexe et d'affiner les effets de celui-ci sur la tumeur et les cellules du microenvironnement.
- L'effet du complexe sur le système immunitaire entourant la tumeur. Une étude ciblée des cellules immunitaires permettra de connaître ses effets sur l'immunotolérance. Son blocage pourrait restaurer sa bonne fonction.
- L'étude du complexe dans un contexte plus général de microenvironnement et des différents gliomes. L'objectif serait d'évaluer les capacités pronostiques du complexe dans la formation d'un environnement pro-tumoral. Ainsi, il deviendrait

un outil de diagnostic, au sein des biopsies liquides et en tant que biomarqueur clinique.

- L'étude du complexe sur le long terme chez les patients, de l'évolution de son expression dans une cinétique pré- et post-traitement. Il serait ainsi possible de valider l'ensemble des effets pro-tumoraux de ce complexe et de voir si son expression varie en fonction de l'état tumoral et son agressivité. Ainsi, il serait possible d'utiliser le complexe comme outil de suivi et donc avec une portée pronostique d'évolution de bas grades en hauts grades.
- L'étude de l'effet de l'inhibition de ce complexe sur la tumeur et sur son microenvironnement comme piste thérapeutique. Si le ciblage du complexe p75^{NTR} / PD-L1 permet d'obtenir un effet bénéfique pour le patient en diminuant le développement de la tumeur sans de graves effets secondaires, il serait possible de le considérer comme cible potentielle thérapeutique. Le complexe pourrait, dans le meilleur des cas, constituer une nouvelle approche thérapeutique, manquant cruellement à l'heure actuelle.
- L'étude de la transposition de l'utilité du complexe à de nouvelles tumeurs afin de pouvoir améliorer leur prise en charge.

Références bibliographiques

- Abbott, N.J., Patabendige, A.A.K., Dolman, D.E.M., Yusof, S.R., Begley, D.J., 2010. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol. Dis.* 37, 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.030>
- Abd Elmageed, Z.Y., Yang, Y., Thomas, R., Ranjan, M., Mondal, D., Moroz, K., Fang, Z., Rezk, B.M., Moparty, K., Sikka, S.C., Sartor, O., Abdel-Mageed, A.B., 2014. Neoplastic reprogramming of patient-derived adipose stem cells by prostate cancer cell-associated exosomes. *Stem Cells Dayt. Ohio* 32, 983–997. <https://doi.org/10.1002/stem.1619>
- Abusamra, A.J., Zhong, Z., Zheng, X., Li, M., Ichim, T.E., Chin, J.L., Min, W.-P., 2005. Tumor exosomes expressing Fas ligand mediate CD8+ T-cell apoptosis. *Blood Cells. Mol. Dis.* 35, 169–173. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2005.07.001>
- Admyre, C., Grunewald, J., Thyberg, J., Gripenbäck, S., Tornling, G., Eklund, A., Scheynius, A., Gabrielsson, S., 2003. Exosomes with major histocompatibility complex class II and co-stimulatory molecules are present in human BAL fluid. *Eur. Respir. J.* 22, 578–583. <https://doi.org/10.1183/09031936.03.00041703>
- Admyre, C., Johansson, S.M., Qazi, K.R., Filén, J.-J., Lahesmaa, R., Norman, M., Neve, E.P.A., Scheynius, A., Gabrielsson, S., 2007. Exosomes with immune modulatory features are present in human breast milk. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 179, 1969–1978. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.3.1969>
- Agata, Y., Kawasaki, A., Nishimura, H., Ishida, Y., Tsubata, T., Yagita, H., Honjo, T., 1996. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int. Immunol.* 8, 765–772. <https://doi.org/10.1093/intimm/8.5.765>
- Agnihotri, S., Burrell, K.E., Wolf, A., Jalali, S., Hawkins, C., Rutka, J.T., Zadeh, G., 2013. Glioblastoma, a Brief Review of History, Molecular Genetics, Animal Models and Novel Therapeutic Strategies. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* 61, 25–41. <https://doi.org/10.1007/s00005-012-0203-0>
- Aguzzi, A., Barres, B.A., Bennett, M.L., 2013. Microglia: Scapegoat, Saboteur, or Something Else? 339, 7.
- Ahmad, I., Yue, W.Y., Fernando, A., Clark, J.J., Woodson, E.A., Hansen, M.R., 2014. p75NTR is highly expressed in vestibular schwannomas and promotes cell survival by activating nuclear transcription factor κ B. *Glia* 62, 1699–1712. <https://doi.org/10.1002/glia.22709>
- Ahmad Mir, M., Albaradie, R.S., Alharbi, A.R.O., 2014. Costimulation immunotherapy for autoimmunity, transplantation and lymphomas, Allergies and infectious diseases. Nova Biomedical, New York.
- Ahmadi Badi, S., Moshiri, A., Fateh, A., Rahimi Jamnani, F., Sarshar, M., Vaziri, F., Siadat, S.D., 2017. Microbiota-Derived Extracellular Vesicles as New Systemic Regulators. *Front. Microbiol.* 8, 1610. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01610>
- Ahmadzadeh, M., Johnson, L.A., Heemskerk, B., Wunderlich, J.R., Dudley, M.E., White, D.E., Rosenberg, S.A., 2009. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* 114, 1537–1544. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-12-195792>
- Ahn, B.Y., Saldanha-Gama, R.F.G., Rahn, J.J., Hao, X., Zhang, J., Dang, N.-H., Alshehri, M., Robbins, S.M., Senger, D.L., 2016. Glioma invasion mediated by the p75 neurotrophin receptor (p75(NTR)/CD271) requires regulated interaction with PDLIM1. *Oncogene* 35, 1411–1422. <https://doi.org/10.1038/onc.2015.199>

- Akbay, E.A., Koyama, S., Carretero, J., Altabef, A., Tchaicha, J.H., Christensen, C.L., Mikse, O.R., Cherniack, A.D., Beauchamp, E.M., Pugh, T.J., Wilkerson, M.D., Fecci, P.E., Butaney, M., Reibel, J.B., Soucheray, M., Cohoon, T.J., Janne, P.A., Meyerson, M., Hayes, D.N., Shapiro, G.I., Shimamura, T., Sholl, L.M., Rodig, S.J., Freeman, G.J., Hammerman, P.S., Dranoff, G., Wong, K.-K., 2013. Activation of the PD-1 pathway contributes to immune escape in EGFR-driven lung tumors. *Cancer Discov.* 3, 1355–1363. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-13-0310>
- Al-Akhrass, H., Naves, T., Vincent, F., Magnaudeix, A., Durand, K., Bertin, F., Melloni, B., Jauberteau, M.-O., Lalloué, F., 2017. Sortilin limits EGFR signaling by promoting its internalization in lung cancer. *Nat. Commun.* 8, 1182. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01172-5>
- Alexander, B.M., Cloughesy, T.F., 2017. Adult Glioblastoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 35, 2402–2409. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.73.0119>
- Ali, M.I., 2017. Ollier disease. *Apollo Med.* 14, 72–74. <https://doi.org/10.1016/j.apme.2017.01.006>
- Alifieris, C., Trafalis, D.T., 2015. Glioblastoma multiforme: Pathogenesis and treatment. *Pharmacol. Ther.* 152, 63–82. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.05.005>
- Alonso Y Adell, M., Migliano, S.M., Teis, D., 2016. ESCRT-III and Vps4: a dynamic multipurpose tool for membrane budding and scission. *FEBS J.* 283, 3288–3302. <https://doi.org/10.1111/febs.13688>
- Aloyz, R.S., Bamji, S.X., Pozniak, C.D., Toma, J.G., Atwal, J., Kaplan, D.R., Miller, F.D., 1998. p53 is essential for developmental neuron death as regulated by the TrkA and p75 neurotrophin receptors. *J. Cell Biol.* 143, 1691–1703. <https://doi.org/10.1083/jcb.143.6.1691>
- Alshehri, M.M., Robbins, S.M., Senger, D.L., 2017. The Role of Neurotrophin Signaling in Gliomagenesis: A Focus on the p75 Neurotrophin Receptor (p75NTR/CD271). *Vitam. Horm.* 104, 367–404. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2016.11.001>
- Alterman, R.L., Stanley, E.R., 1994. Colony stimulating factor-1 expression in human glioma. *Mol. Chem. Neuropathol.* 21, 177–188. <https://doi.org/10.1007/BF02815350>
- Alvarez-Erviti, L., Seow, Y., Yin, H., Betts, C., Lakhali, S., Wood, M.J.A., 2011. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat. Biotechnol.* 29, 341–345. <https://doi.org/10.1038/nbt.1807>
- Alvarez-Llamas, G., de la Cuesta, F., Barderas, M.E.G., Darde, V., Padial, L.R., Vivanco, F., 2008. Recent advances in atherosclerosis-based proteomics: new biomarkers and a future perspective. *Expert Rev. Proteomics* 5, 679–691. <https://doi.org/10.1586/14789450.5.5.679>
- Al-Yozbaki, M., Acha-Sagredo, A., George, A., Liloglou, T., Wilson, C.M., 2020. Balancing neurotrophin pathway and sortilin function: Its role in human disease. *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer* 1874, 188429. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188429>
- Amatu, A., Sartore-Bianchi, A., Siena, S., 2016. NTRK gene fusions as novel targets of cancer therapy across multiple tumour types. *ESMO Open* 1, e000023. <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2015-000023>
- Anderson, C.M., Swanson, R.A., 2000. Astrocyte glutamate transport: review of properties, regulation, and physiological functions. *Glia* 32, 1–14.
- Anderson, H.C., 1969. Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. *J. Cell Biol.* 41, 59–72. <https://doi.org/10.1083/jcb.41.1.59>

- Anderson, J.C., McFarland, B.C., Gladson, C.L., 2008. New molecular targets in angiogenic vessels of glioblastoma tumours. *Expert Rev. Mol. Med.* 10, e23. <https://doi.org/10.1017/S1462399408000768>
- Andor, N., Harness, J.V., Müller, S., Mewes, H.W., Petritsch, C., 2014. EXPANDS: expanding ploidy and allele frequency on nested subpopulations. *Bioinforma. Oxf. Engl.* 30, 50–60. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt622>
- Andreola, G., Rivoltini, L., Castelli, C., Huber, V., Perego, P., Deho, P., Squarcina, P., Accornero, P., Lozupone, F., Lugini, L., Stringaro, A., Molinari, A., Arancia, G., Gentile, M., Parmiani, G., Fais, S., 2002. Induction of lymphocyte apoptosis by tumor cell secretion of FasL-bearing microvesicles. *J. Exp. Med.* 195, 1303–1316. <https://doi.org/10.1084/jem.20011624>
- Anido, J., Sáez-Borderías, A., González-Juncà, A., Rodón, L., Folch, G., Carmona, M.A., Prieto-Sánchez, R.M., Barba, I., Martínez-Sáez, E., Prudkin, L., Cuartas, I., Raventós, C., Martínez-Ricarte, F., Poca, M.A., García-Dorado, D., Lahn, M.M., Yingling, J.M., Rodón, J., Sahuquillo, J., Baselga, J., Seoane, J., 2010. TGF- β Receptor Inhibitors Target the CD44(high)/Id1(high) Glioma-Initiating Cell Population in Human Glioblastoma. *Cancer Cell* 18, 655–668. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.10.023>
- Antonia, S., Goldberg, S.B., Balmanoukian, A., Chaft, J.E., Sanborn, R.E., Gupta, A., Narwal, R., Steele, K., Gu, Y., Karakunnel, J.J., Rizvi, N.A., 2016. Safety and antitumour activity of durvalumab plus tremelimumab in non-small cell lung cancer: a multicentre, phase 1b study. *Lancet Oncol.* 17, 299–308. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)00544-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)00544-6)
- Appleman, L.J., Berezovskaya, A., Grass, I., Boussiotis, V.A., 2000. CD28 costimulation mediates T cell expansion via IL-2-independent and IL-2-dependent regulation of cell cycle progression. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 164, 144–151. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.1.144>
- Appleman, L.J., Boussiotis, V.A., 2003. T cell anergy and costimulation. *Immunol. Rev.* 192, 161–180. <https://doi.org/10.1034/j.1600-065x.2003.00009.x>
- Appleman, L.J., Chernova, I., Li, L., Boussiotis, V.A., 2006. CD28 costimulation mediates transcription of SKP2 and CKS1, the substrate recognition components of SCFSkp2 ubiquitin ligase that leads p27kip1 to degradation. *Cell Cycle Georget. Tex* 5, 2123–2129. <https://doi.org/10.4161/cc.5.18.3139>
- Appleman, L.J., van Puijenbroek, A.A.F.L., Shu, K.M., Nadler, L.M., Boussiotis, V.A., 2002. CD28 costimulation mediates down-regulation of p27kip1 and cell cycle progression by activation of the PI3K/PKB signaling pathway in primary human T cells. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 168, 2729–2736. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.6.2729>
- Arévalo, J.C., Wu, S.H., 2006. Neurotrophin signaling: many exciting surprises! *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 63, 1523–1537. <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6010-1>
- Arévalo, J.C., Yano, H., Teng, K.K., Chao, M.V., 2004. A unique pathway for sustained neurotrophin signaling through an ankyrin-rich membrane-spanning protein. *EMBO J.* 23, 2358–2368. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600253>
- Arienti, G., Carlini, E., Verdacchi, R., Cosmi, E.V., Palmerini, C.A., 1997. Proxosome to sperm transfer of CD13/aminopeptidase N (EC 3.4.11.2). *Biochim. Biophys. Acta* 1336, 533–538. [https://doi.org/10.1016/s0304-4165\(97\)00071-8](https://doi.org/10.1016/s0304-4165(97)00071-8)
- Arraud, N., Linares, R., Tan, S., Gounou, C., Pasquet, J.-M., Mornet, S., Brisson, A.R., 2014. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration. *J. Thromb. Haemost. JTH* 12, 614–627. <https://doi.org/10.1111/jth.12554>

- Atkin-Smith, G.K., Poon, I.K.H., 2017. Disassembly of the Dying: Mechanisms and Functions. *Trends Cell Biol.* 27, 151–162. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.08.011>
- Atkin-Smith, G.K., Tixeira, R., Paone, S., Mathivanan, S., Collins, C., Liem, M., Goodall, K.J., Ravichandran, K.S., Hulett, M.D., Poon, I.K.H., 2015. A novel mechanism of generating extracellular vesicles during apoptosis via a beads-on-a-string membrane structure. *Nat. Commun.* 6, 7439. <https://doi.org/10.1038/ncomms8439>
- Aung, T., Chapuy, B., Vogel, D., Wenzel, D., Oppermann, M., Lahmann, M., Weinlage, T., Menck, K., Hupfeld, T., Koch, R., Trümper, L., Wulf, G.G., 2011. Exosomal evasion of humoral immunotherapy in aggressive B-cell lymphoma modulated by ATP-binding cassette transporter A3. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 15336–15341. <https://doi.org/10.1073/pnas.1102855108>
- Authier, A., Farrand, K.J., Broadley, K.W.R., Ancelet, L.R., Hunn, M.K., Stone, S., McConnell, M.J., Hermans, I.F., 2015. Enhanced immunosuppression by therapy-exposed glioblastoma multiforme tumor cells. *Int. J. Cancer* 136, 2566–2578. <https://doi.org/10.1002/ijc.29309>
- Avril, T., Saikali, S., Vauleon, E., Jary, A., Hamlat, A., De Tayrac, M., Mosser, J., Quillien, V., 2010. Distinct effects of human glioblastoma immunoregulatory molecules programmed cell death ligand-1 (PDL-1) and indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) on tumour-specific T cell functions. *J. Neuroimmunol.* 225, 22–33. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.04.003>
- Azuma, T., Yao, S., Zhu, G., Flies, A.S., Flies, S.J., Chen, L., 2008. B7-H1 is a ubiquitous antiapoptotic receptor on cancer cells. *Blood* 111, 3635–3643. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-11-123141>
- Babst, M., Katzmann, D.J., Estepa-Sabal, E.J., Meerloo, T., Emr, S.D., 2002a. ESCRT-III: an endosome-associated heterooligomeric protein complex required for mvb sorting. *Dev. Cell* 3, 271–282. [https://doi.org/10.1016/s1534-5807\(02\)00220-4](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(02)00220-4)
- Babst, M., Katzmann, D.J., Snyder, W.B., Wendland, B., Emr, S.D., 2002b. Endosome-associated complex, ESCRT-II, recruits transport machinery for protein sorting at the multivesicular body. *Dev. Cell* 3, 283–289. [https://doi.org/10.1016/s1534-5807\(02\)00219-8](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(02)00219-8)
- Bache, K.G., Brech, A., Mehlum, A., Stenmark, H., 2003. Hrs regulates multivesicular body formation via ESCRT recruitment to endosomes. *J. Cell Biol.* 162, 435–442. <https://doi.org/10.1083/jcb.200302131>
- Baietti, M.F., Zhang, Z., Mortier, E., Melchior, A., Degeest, G., Geeraerts, A., Ivarsson, Y., Depoortere, F., Coomans, C., Vermeiren, E., Zimmermann, P., David, G., 2012. Syndecan-syntenin-ALIX regulates the biogenesis of exosomes. *Nat. Cell Biol.* 14, 677–685. <https://doi.org/10.1038/ncb2502>
- Bailey, P., Bucy, P.C., 1929. Oligodendrogliomas of the brain. *J. Pathol. Bacteriol.* 32, 735–751. <https://doi.org/10.1002/path.1700320403>
- Bailey, P., Cushing, H., 1927. A classification of the tumours of the glioma group on a histogenetic basis, with a correlated study of prognosis. *Br. J. Surg.* 14, 554–555. <https://doi.org/10.1002/bjs.1800145540>
- Baish, J.W., Stylianopoulos, T., Lanning, R.M., Kamoun, W.S., Fukumura, D., Munn, L.L., Jain, R.K., 2011. Scaling rules for diffusive drug delivery in tumor and normal tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 1799–1803. <https://doi.org/10.1073/pnas.1018154108>
- Bakhshian Nik, A., Hutcheson, J.D., Aikawa, E., 2017. Extracellular Vesicles As Mediators of Cardiovascular Calcification. *Front. Cardiovasc. Med.* 4, 78. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2017.00078>

- Bakhti, M., Winter, C., Simons, M., 2011. Inhibition of myelin membrane sheath formation by oligodendrocyte-derived exosome-like vesicles. *J. Biol. Chem.* 286, 787–796. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.190009>
- Balaj, L., Lessard, R., Dai, L., Cho, Y.-J., Pomeroy, S.L., Breakefield, X.O., Skog, J., 2011. Tumour microvesicles contain retrotransposon elements and amplified oncogene sequences. *Nat. Commun.* 2, 180. <https://doi.org/10.1038/ncomms1180>
- Balasa, A., Balasa, R., Egyed-Zsigmond, I., Chinezu, R., 2016. Bilateral Thalamic Glioma: Case Report and Review of the Literature. *Turk. Neurosurg.* 26, 321–324. <https://doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.10884-14.2>
- Bălașa, A., Șerban, G., Chinezu, R., Hurghiș, C., Tămaș, F., Manu, D., 2020. The Involvement of Exosomes in Glioblastoma Development, Diagnosis, Prognosis, and Treatment. *Brain Sci.* 10. <https://doi.org/10.3390/brainsci10080553>
- Baldi, I., Huchet, A., Bauchet, L., Loiseau, H., 2010. [Epidemiology of glioblastoma]. *Neurochirurgie.* 56, 433–440. <https://doi.org/10.1016/j.neuchi.2010.07.011>
- Banerji, C.R.S., Miranda-Saavedra, D., Severini, S., Widschwendter, M., Enver, T., Zhou, J.X., Teschendorff, A.E., 2013. Cellular network entropy as the energy potential in Waddington's differentiation landscape. *Sci. Rep.* 3, 3039. <https://doi.org/10.1038/srep03039>
- Bao, S., Wu, Q., Li, Z., Sathornsumetee, S., Wang, H., McLendon, R.E., Hjelmeland, A.B., Rich, J.N., 2008. Targeting cancer stem cells through L1CAM suppresses glioma growth. *Cancer Res.* 68, 6043–6048. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-1079>
- Bao, S., Wu, Q., McLendon, R.E., Hao, Y., Shi, Q., Hjelmeland, A.B., Dewhirst, M.W., Bigner, D.D., Rich, J.N., 2006a. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 444, 756–760. <https://doi.org/10.1038/nature05236>
- Bao, S., Wu, Q., Sathornsumetee, S., Hao, Y., Li, Z., Hjelmeland, A.B., Shi, Q., McLendon, R.E., Bigner, D.D., Rich, J.N., 2006b. Stem cell-like glioma cells promote tumor angiogenesis through vascular endothelial growth factor. *Cancer Res.* 66, 7843–7848. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-1010>
- Baptista, M.Z., Sarian, L.O., Derchain, S.F.M., Pinto, G.A., Vassallo, J., 2016. Prognostic significance of PD-L1 and PD-L2 in breast cancer. *Hum. Pathol.* 47, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2015.09.006>
- Baral, A., Ye, H.X., Jiang, P.C., Yao, Y., Mao, Y., 2014. B7-H3 and B7-H1 expression in cerebral spinal fluid and tumor tissue correlates with the malignancy grade of glioma patients. *Oncol. Lett.* 8, 1195–1201. <https://doi.org/10.3892/ol.2014.2268>
- Barani, I.J., Larson, D.A., 2015. Radiation Therapy of Glioblastoma, in: Raizer, J., Parsa, A. (Eds.), *Current Understanding and Treatment of Gliomas, Cancer Treatment and Research.* Springer International Publishing, Cham, pp. 49–73. https://doi.org/10.1007/978-3-319-12048-5_4
- Barbacid, M., Lamballe, F., Pulido, D., Klein, R., 1991. The trk family of tyrosine protein kinase receptors. *Biochim. Biophys. Acta* 1072, 115–127. [https://doi.org/10.1016/0304-419x\(91\)90010-i](https://doi.org/10.1016/0304-419x(91)90010-i)
- Barde, Y.A., Edgar, D., Thoenen, H., 1982. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J.* 1, 549–553.
- Barker, P.A., 2004. p75^{NTR} is positively promiscuous: novel partners and new insights. *Neuron* 42, 529–533. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.04.001>

- Barone, D.G., Lawrie, T.A., Hart, M.G., 2014. Image guided surgery for the resection of brain tumours. *Cochrane Database Syst. Rev.* <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009685.pub2>
- Barrès, C., Blanc, L., Bette-Bobillo, P., André, S., Mamoun, R., Gabius, H.-J., Vidal, M., 2010. Galectin-5 is bound onto the surface of rat reticulocyte exosomes and modulates vesicle uptake by macrophages. *Blood* 115, 696–705. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-07-231449>
- Basu, B., Ghosh, M.K., 2019. Extracellular Vesicles in Glioma: From Diagnosis to Therapy. *BioEssays News Rev. Mol. Cell. Dev. Biol.* 41, e1800245. <https://doi.org/10.1002/bies.201800245>
- Batchelor, T.T., Reardon, D.A., de Groot, J.F., Wick, W., Weller, M., 2014. Antiangiogenic Therapy for Glioblastoma: Current Status and Future Prospects. *Clin. Cancer Res.* 20, 5612–5619. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0834>
- Bauchet, L., Zouaoui, S., Darlix, A., Menjot de Champfleury, N., Ferreira, E., Fabbro, M., Kerr, C., Taillandier, L., 2014. Assessment and treatment relevance in elderly glioblastoma patients. *Neuro-Oncol.* 16, 1459–1468. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou063>
- Becker, A., Thakur, B.K., Weiss, J.M., Kim, H.S., Peinado, H., Lyden, D., 2017. Extracellular vesicles in cancer: cell-to-cell mediators of metastasis 26.
- Benedetti, M., Levi, A., Chao, M.V., 1993. Differential expression of nerve growth factor receptors leads to altered binding affinity and neurotrophin responsiveness. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 7859–7863. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.16.7859>
- Benke, G., Turner, M.C., Fleming, S., Figuerola, J., Kincl, L., Richardson, L., Blettner, M., Hours, M., Krewski, D., McLean, D., Parent, M.-E., Sadetzki, S., Schlaefer, K., Schlehofer, B., Siemiatycki, J., van Tongeren, M., Cardis, E., 2017. Occupational solvent exposure and risk of glioma in the INTEROCC study. *Br. J. Cancer* 117, 1246–1254. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.285>
- Bennett, F., Luxenberg, D., Ling, V., Wang, I.-M., Marquette, K., Lowe, D., Khan, N., Veldman, G., Jacobs, K.A., Valge-Archer, V.E., Collins, M., Carreno, B.M., 2003. Program death-1 engagement upon TCR activation has distinct effects on costimulation and cytokine-driven proliferation: attenuation of ICOS, IL-4, and IL-21, but not CD28, IL-7, and IL-15 responses. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 170, 711–718. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.2.711>
- Ben-Porath, I., Thomson, M.W., Carey, V.J., Ge, R., Bell, G.W., Regev, A., Weinberg, R.A., 2008. An embryonic stem cell-like gene expression signature in poorly differentiated aggressive human tumors. *Nat. Genet.* 40, 499–507. <https://doi.org/10.1038/ng.127>
- Bercury, K.K., Macklin, W.B., 2015. Dynamics and Mechanisms of CNS Myelination. *Dev. Cell* 32, 447–458. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.01.016>
- Berghoff, A.S., Kiesel, B., Widhalm, G., Rajky, O., Ricken, G., Wöhrer, A., Dieckmann, K., Filipits, M., Brandstetter, A., Weller, M., Kurscheid, S., Hegi, M.E., Zielinski, C.C., Marosi, C., Hainfellner, J.A., Preusser, M., Wick, W., 2015. Programmed death ligand 1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in glioblastoma. *Neuro-Oncol.* 17, 1064–1075. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou307>
- Berghoff, J., Jaisimha, A.V., Duggan, S., MacSharry, J., McCarthy, J.V., 2015. Gamma-secretase-independent role for cadherin-11 in neurotrophin receptor p75 (p75(NTR)) mediated glioblastoma cell migration. *Mol. Cell. Neurosci.* 69, 41–53. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2015.10.003>
- Berkemeier, L.R., Winslow, J.W., Kaplan, D.R., Nikolics, K., Goeddel, D.V., Rosenthal, A., 1991. Neurotrophin-5: a novel neurotrophic factor that activates trk and trkB. *Neuron* 7, 857–866. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90287-a](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90287-a)

- Biagiotti, T., D'Amico, M., Marzi, I., Di Gennaro, P., Arcangeli, A., Wanke, E., Olivotto, M., 2006. Cell renewing in neuroblastoma: electrophysiological and immunocytochemical characterization of stem cells and derivatives. *Stem Cells Dayt. Ohio* 24, 443–453. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2004-0264>
- Bianchi, E., Doe, B., Goulding, D., Wright, G.J., 2014. Juno is the egg Izumo receptor and is essential for mammalian fertilization. *Nature* 508, 483–487. <https://doi.org/10.1038/nature13203>
- Bibel, M., Hoppe, E., Barde, Y.A., 1999. Biochemical and functional interactions between the neurotrophin receptors trk and p75NTR. *EMBO J.* 18, 616–622. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.3.616>
- Bilderback, T.R., Gazula, V.R., Lisanti, M.P., Dobrowsky, R.T., 1999. Caveolin interacts with Trk A and p75(NTR) and regulates neurotrophin signaling pathways. *J. Biol. Chem.* 274, 257–263. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.1.257>
- Binabaj, M.M., Bahrami, A., ShahidSales, S., Joodi, M., Joudi Mashhad, M., Hassanian, S.M., Anvari, K., Avan, A., 2018. The prognostic value of MGMT promoter methylation in glioblastoma: A meta-analysis of clinical trials. *J. Cell. Physiol.* 233, 378–386. <https://doi.org/10.1002/jcp.25896>
- Binda, E., Visioli, A., Reynolds, B., Vescovi, A.L., 2012. Heterogeneity of cancer-initiating cells within glioblastoma. *Front. Biosci. Sch. Ed.* 4, 1235–1248. <https://doi.org/10.2741/s328>
- Bissig, C., Gruenberg, J., 2014. ALIX and the multivesicular endosome: ALIX in Wonderland. *Trends Cell Biol.* 24, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2013.10.009>
- Blackburn, S.D., Shin, H., Haining, W.N., Zou, T., Workman, C.J., Polley, A., Betts, M.R., Freeman, G.J., Vignali, D.A.A., Wherry, E.J., 2009. Coregulation of CD8+ T cell exhaustion by multiple inhibitory receptors during chronic viral infection. *Nat. Immunol.* 10, 29–37. <https://doi.org/10.1038/ni.1679>
- Blandino, G., Deppert, W., Hainaut, P., Levine, A., Lozano, G., Olivier, M., Rotter, V., Wiman, K., Oren, M., 2012. Mutant p53 protein, master regulator of human malignancies: a report on the Fifth Mutant p53 Workshop. *Cell Death Differ.* 19, 180–183. <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.148>
- Blazar, B.R., Carreno, B.M., Panoskaltsis-Mortari, A., Carter, L., Iwai, Y., Yagita, H., Nishimura, H., Taylor, P.A., 2003. Blockade of programmed death-1 engagement accelerates graft-versus-host disease lethality by an IFN-gamma-dependent mechanism. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 171, 1272–1277. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.3.1272>
- Blondy, S., Christou, N., David, V., Verdier, M., Jauberteau, M.-O., Mathonnet, M., Perraud, A., 2019. Neurotrophins and their involvement in digestive cancers. *Cell Death Dis.* 10. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1385-8>
- Blondy, S., Talbot, H., Saada, S., Christou, N., Battu, S., Pannequin, J., Jauberteau, M.-O., Lalloué, F., Verdier, M., Mathonnet, M., Perraud, A., 2021. Overexpression of sortilin is associated with 5-FU resistance and poor prognosis in colorectal cancer. *J. Cell. Mol. Med.* 25, 47–60. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15752>
- Blowers, L., Mack, W., Preston-Martin, S., 1997. Dietary and other lifestyle factors of women with brain gliomas in Los Angeles County (California, USA). *Cancer Causes Control* 8, 5–12. <https://doi.org/10.1023/A:1018437031987>
- Bobrie, A., Colombo, M., Raposo, G., Théry, C., 2011. Exosome secretion: molecular mechanisms and roles in immune responses. *Traffic Cph. Den.* 12, 1659–1668. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2011.01225.x>

- Boelens, M.C., Wu, T.J., Nabet, B.Y., Xu, B., Qiu, Y., Yoon, T., Azzam, D.J., Twyman-Saint Victor, C., Wiemann, B.Z., Ishwaran, H., Ter Brugge, P.J., Jonkers, J., Slingerland, J., Minn, A.J., 2014. Exosome transfer from stromal to breast cancer cells regulates therapy resistance pathways. *Cell* 159, 499–513. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.051>
- Boiko, A.D., Razorenova, O.V., van de Rijn, M., Swetter, S.M., Johnson, D.L., Ly, D.P., Butler, P.D., Yang, G.P., Joshua, B., Kaplan, M.J., Longaker, M.T., Weissman, I.L., 2010. Human melanoma-initiating cells express neural crest nerve growth factor receptor CD271. *Nature* 466, 133–137. <https://doi.org/10.1038/nature09161>
- Bonifacino, J.S., Glick, B.S., 2004. The mechanisms of vesicle budding and fusion. *Cell* 116, 153–166. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)01079-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)01079-1)
- Bonnet, D., Dick, J.E., 1997. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.* 3, 730–737. <https://doi.org/10.1038/nm0797-730>
- Bonucci, E., 1967. Fine structure of early cartilage calcification. *J. Ultrastruct. Res.* 20, 33–50. [https://doi.org/10.1016/s0022-5320\(67\)80034-0](https://doi.org/10.1016/s0022-5320(67)80034-0)
- Boonen, G.J., van Dijk, A.M., Verdonck, L.F., van Lier, R.A., Rijksen, G., Medema, R.H., 1999. CD28 induces cell cycle progression by IL-2-independent down-regulation of p27kip1 expression in human peripheral T lymphocytes. *Eur. J. Immunol.* 29, 789–798. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(199903\)29:03<789::AID-IMMU789>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199903)29:03<789::AID-IMMU789>3.0.CO;2-5)
- Boutros, R., Dozier, C., Ducommun, B., 2006. The when and wheres of CDC25 phosphatases. *Curr. Opin. Cell Biol.* 18, 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2006.02.003>
- Braganza, M.Z., Kitahara, C.M., Berrington de Gonzalez, A., Inskip, P.D., Johnson, K.J., Rajaraman, P., 2012. Ionizing radiation and the risk of brain and central nervous system tumors: a systematic review. *Neuro-Oncol.* 14, 1316–1324. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nos208>
- Brandes, A.A., Bartolotti, M., Franceschi, E., 2013. Second surgery for recurrent glioblastoma: advantages and pitfalls. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 13, 583–587. <https://doi.org/10.1586/era.13.32>
- Brandes, A.A., Tosoni, A., Franceschi, E., Sotti, G., Frezza, G., Amistà, P., Morandi, L., Spagnoli, F., Ermani, M., 2009. Recurrence pattern after temozolomide concomitant with and adjuvant to radiotherapy in newly diagnosed patients with glioblastoma: correlation With MGMT promoter methylation status. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 27, 1275–1279. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.19.4969>
- Brandsma, D., Stalpers, L., Taal, W., Sminia, P., van den Bent, M.J., 2008. Clinical features, mechanisms, and management of pseudoprogression in malignant gliomas. *Lancet Oncol.* 9, 453–461. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(08\)70125-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(08)70125-6)
- Brennan, C., Momota, H., Hambardzumyan, D., Ozawa, T., Tandon, A., Pedraza, A., Holland, E., 2009. Glioblastoma Subclasses Can Be Defined by Activity among Signal Transduction Pathways and Associated Genomic Alterations. *PLoS ONE* 4, e7752. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007752>
- Brennan, Cameron W., Verhaak, R.G.W., McKenna, A., Campos, B., Noushmehr, H., Salama, S.R., Zheng, S., Chakravarty, D., Sanborn, J.Z., Berman, S.H., Beroukhim, R., Bernard, B., Wu, C.-J., Genovese, G., Shmulevich, I., Barnholtz-Sloan, J., Zou, L., Vegesna, R., Shukla, S.A., Ciriello, G., Yung, W.K., Zhang, W., Sougnez, C., Mikkelsen, T., Aldape, K., Bigner, D.D., Van Meir, E.G., Prados, M., Sloan, A., Black, K.L., Eschbacher, J., Finocchiaro, G., Friedman, W., Andrews, D.W., Guha, A.,

Iacocca, M., O'Neill, B.P., Foltz, G., Myers, J., Weisenberger, D.J., Penny, R., Kucherlapati, R., Perou, C.M., Hayes, D.N., Gibbs, R., Marra, M., Mills, G.B., Lander, E., Spellman, P., Wilson, R., Sander, C., Weinstein, J., Meyerson, M., Gabriel, S., Laird, P.W., Haussler, D., Getz, G., Chin, L., TCGA Research Network, 2013. The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell* 155, 462–477. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.034>

Brennan, Cameron W., Verhaak, R.G.W., McKenna, A., Campos, B., Noushmehr, H., Salama, S.R., Zheng, S., Chakravarty, D., Sanborn, J.Z., Berman, S.H., Beroukhim, R., Bernard, B., Wu, C.-J., Genovese, G., Shmulevich, I., Barnholtz-Sloan, J., Zou, L., Vegesna, R., Shukla, S.A., Ciriello, G., Yung, W.K., Zhang, W., Sougnez, C., Mikkelsen, T., Aldape, K., Bigner, D.D., Van Meir, E.G., Prados, M., Sloan, A., Black, K.L., Eschbacher, J., Finocchiaro, G., Friedman, W., Andrews, D.W., Guha, A., Iacocca, M., O'Neill, B.P., Foltz, G., Myers, J., Weisenberger, D.J., Penny, R., Kucherlapati, R., Perou, C.M., Hayes, D.N., Gibbs, R., Marra, M., Mills, G.B., Lander, E., Spellman, P., Wilson, R., Sander, C., Weinstein, J., Meyerson, M., Gabriel, S., Laird, P.W., Haussler, D., Getz, G., Chin, L., Benz, C., Barnholtz-Sloan, J., Barrett, W., Ostrom, Q., Wolinsky, Y., Black, K.L., Bose, B., Boulos, P.T., Boulos, M., Brown, J., Czerinski, C., Eppley, M., Iacocca, M., Kempista, T., Kitko, T., Koefman, Y., Rabeno, B., Rastogi, P., Sugarman, M., Swanson, P., Yalamanchii, K., Otey, I.P., Liu, Y.S., Xiao, Y., Auman, J.T., Chen, P.-C., Hadjipanayis, A., Lee, E., Lee, S., Park, P.J., Seidman, J., Yang, Lixing, Kucherlapati, R., Kalkanis, S., Mikkelsen, T., Poisson, L.M., Raghunathan, A., Scarpace, L., Bernard, B., Bressler, R., Eakin, A., Iype, L., Kreisberg, R.B., Leinonen, K., Reynolds, S., Rovira, H., Thorsson, V., Shmulevich, I., Annala, M.J., Penny, R., Paulauskis, J., Curley, E., Hatfield, M., Mallery, D., Morris, S., Shelton, T., Shelton, C., Sherman, M., Yena, P., Cuppini, L., DiMeco, F., Eoli, M., Finocchiaro, G., Maderna, E., Pollo, B., Saini, M., Balu, S., Hoadley, K.A., Li, L., Miller, C.R., Shi, Y., Topal, M.D., Wu, J., Dunn, G., Giannini, C., O'Neill, B.P., Aksoy, B.A., Antipin, Y., Borsu, L., Berman, S.H., Brennan, C.W., Cerami, E., Chakravarty, D., Ciriello, G., Gao, J., Gross, B., Jacobsen, A., Ladanyi, M., Lash, A., Liang, Y., Reva, B., Sander, C., Schultz, N., Shen, R., Socci, N.D., Viale, A., Ferguson, M.L., Chen, Q.-R., Demchok, J.A., Dillon, L.A.L., Shaw, K.R.M., Sheth, M., Tarnuzzer, R., Wang, Z., Yang, Liming, Davidsen, T., Guyer, M.S., Ozenberger, B.A., Sofia, H.J., Bergsten, J., Eckman, J., Harr, J., Myers, J., Smith, C., Tucker, K., Winemiller, C., Zach, L.A., Ljubimova, J.Y., Eley, G., Ayala, B., Jensen, M.A., Kahn, A., Pihl, T.D., Pot, D.A., Wan, Y., Eschbacher, J., Foltz, G., Hansen, N., Hothi, P., Lin, B., Shah, N., Yoon, J., Lau, C., Berens, M., Ardlie, K., Beroukhim, R., Carter, S.L., Cherniack, A.D., Noble, M., Cho, J., Cibulskis, K., DiCara, D., Frazer, S., Gabriel, S.B., Gehlenborg, N., Gentry, J., Heiman, D., Kim, J., Jing, R., Lander, E.S., Lawrence, M., Lin, P., Mallard, W., Meyerson, M., Onofrio, R.C., Saksena, G., Schumacher, S., Sougnez, C., Stojanov, P., Tabak, B., Voet, D., Zhang, H., Zou, L., Getz, G., Dees, N.N., Ding, L., Fulton, L.L., Fulton, R.S., Kanchi, K.-L., Mardis, E.R., Wilson, R.K., Baylin, S.B., Andrews, D.W., Harshyne, L., Cohen, M.L., Devine, K., Sloan, A.E., VandenBerg, S.R., Berger, M.S., Prados, M., Carlin, D., Craft, B., Ellrott, K., Goldman, M., Goldstein, T., Grifford, M., Haussler, D., Ma, S., Ng, S., Salama, S.R., Sanborn, J.Z., Stuart, J., Swatloski, T., Waltman, P., Zhu, J., Foss, R., Frentzen, B., Friedman, W., McTiernan, R., Yachnis, A., Hayes, D.N., Perou, C.M., Zheng, S., Vegesna, R., Mao, Y., Akbani, R., Aldape, K., Bogler, O., Fuller, G.N., Liu, W., Liu, Y., Lu, Y., Mills, G., Protopopov, A., Ren, X., Sun, Y., Wu, C.-J., Yung, W.K.A., Zhang, W., Zhang, J., Chen, K., Weinstein, J.N., Chin, L., Verhaak, R.G.W., Noushmehr, H., Weisenberger, D.J., Bootwalla, M.S., Lai, P.H., Triche, T.J., Van Den Berg, D.J., Laird, P.W., Gutmann, D.H., Lehman, N.L., VanMeir, E.G., Brat, D., Olson, J.J., Mastrogiannakis, G.M., Devi, N.S., Zhang, Z., Bigner, D., Lipp, E., McLendon, R., 2013. The Somatic Genomic Landscape of Glioblastoma. *Cell* 155, 462–477. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.034>

- Bronfman, F.C., 2007. Metalloproteases and gamma-secretase: new membrane partners regulating p75 neurotrophin receptor signaling? *J. Neurochem.* 103 Suppl 1, 91–100. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04781.x>
- Bronfman, F.C., Fainzilber, M., 2004. Multi-tasking by the p75 neurotrophin receptor: sortilin things out? *EMBO Rep.* 5, 867–871. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400219>
- Buggert, M., Tauriainen, J., Yamamoto, T., Frederiksen, J., Ivarsson, M.A., Michaëlsson, J., Lund, O., Hejdeman, B., Jansson, M., Sönnnerborg, A., Koup, R.A., Betts, M.R., Karlsson, A.C., 2014. T-bet and Eomes are differentially linked to the exhausted phenotype of CD8+ T cells in HIV infection. *PLoS Pathog.* 10, e1004251. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004251>
- Burger, P.C., Dubois, P.J., Schold, S.C., Smith, K.R., Odom, G.L., Crafts, D.C., Giangaspero, F., 1983. Computerized tomographic and pathologic studies of the untreated, quiescent, and recurrent glioblastoma multiforme. *J. Neurosurg.* 58, 159–169. <https://doi.org/10.3171/jns.1983.58.2.0159>
- Buschow, S.I., Nolte-'t Hoen, E.N.M., van Niel, G., Pols, M.S., ten Broeke, T., Lauwen, M., Ossendorp, F., Melief, C.J.M., Raposo, G., Wubbolts, R., Wauben, M.H.M., Stoorvogel, W., 2009. MHC II in dendritic cells is targeted to lysosomes or T cell-induced exosomes via distinct multivesicular body pathways. *Traffic Cph. Den.* 10, 1528–1542. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2009.00963.x>
- Butte, M.J., Keir, M.E., Phamduy, T.B., Sharpe, A.H., Freeman, G.J., 2007. Programmed Death-1 Ligand 1 Interacts Specifically with the B7-1 Costimulatory Molecule to Inhibit T Cell Responses. *Immunity* 27, 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.05.016>
- Cabanas, R., Saurez, G., Rios, M., Alert, J., Reyes, A., Valdes, J., Gonzalez, M.C., Pedrayes, J.L., Avila, M., Herrera, R., Infante, M., Echevarria, E., Moreno, M., Luaces, P.L., Ramos, T.C., 2013. Treatment of children with high grade glioma with nimotuzumab: A 5-y institutional experience. *mAbs* 5, 202–207. <https://doi.org/10.4161/mabs.22970>
- Cai, H., Reinisch, K., Ferro-Novick, S., 2007. Coats, tethers, Rabs, and SNAREs work together to mediate the intracellular destination of a transport vesicle. *Dev. Cell* 12, 671–682. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2007.04.005>
- Cankovic, M., Nikiforova, M.N., Snuderl, M., Adesina, A.M., Lindeman, N., Wen, P.Y., Lee, E.Q., 2013. The Role of MGMT Testing in Clinical Practice. *J. Mol. Diagn.* 15, 539–555. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2013.05.011>
- Carbognin, L., Pilotto, S., Milella, M., Vaccaro, V., Brunelli, M., Calìò, A., Cuppone, F., Sperduti, I., Giannarelli, D., Chilosì, M., Bronte, V., Scarpa, A., Bria, E., Tortora, G., 2015. Differential Activity of Nivolumab, Pembrolizumab and MPDL3280A according to the Tumor Expression of Programmed Death-Ligand-1 (PD-L1): Sensitivity Analysis of Trials in Melanoma, Lung and Genitourinary Cancers. *PloS One* 10, e0130142. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130142>
- Carmeliet, P., Jain, R.K., 2011. Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* 10, 417–427. <https://doi.org/10.1038/nrd3455>
- Carosella, E.D., Rouas-Freiss, N., Tronik-Le Roux, D., Moreau, P., LeMaoult, J., 2015. HLA-G: An Immune Checkpoint Molecule. *Adv. Immunol.* 127, 33–144. <https://doi.org/10.1016/bs.ai.2015.04.001>
- Carrano, A.C., Eytan, E., Hershko, A., Pagano, M., 1999. SKP2 is required for ubiquitin-mediated degradation of the CDK inhibitor p27. *Nat. Cell Biol.* 1, 193–199. <https://doi.org/10.1038/12013>

- Carretero-González, A., Lora, D., Ghanem, I., Zugazagoitia, J., Castellano, D., Sepúlveda, J.M., López-Martin, J.A., Paz-Ares, L., de Velasco, G., 2018. Analysis of response rate with ANTI PD1/PD-L1 monoclonal antibodies in advanced solid tumors: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Oncotarget* 9, 8706–8715. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24283>
- Carter, B.D., Kaltschmidt, C., Kaltschmidt, B., Offenhäuser, N., Böhm-Matthaei, R., Baeuerle, P.A., Barde, Y.A., 1996. Selective activation of NF-kappa B by nerve growth factor through the neurotrophin receptor p75. *Science* 272, 542–545. <https://doi.org/10.1126/science.272.5261.542>
- Carter, L., Fouser, L.A., Jussif, J., Fitz, L., Deng, B., Wood, C.R., Collins, M., Honjo, T., Freeman, G.J., Carreno, B.M., 2002. PD-1:PD-L inhibitory pathway affects both CD4(+) and CD8(+) T cells and is overcome by IL-2. *Eur. J. Immunol.* 32, 634–643. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200203\)32:3<634::AID-IMMU634>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200203)32:3<634::AID-IMMU634>3.0.CO;2-9)
- Caruso, S., Poon, I.K.H., 2018. Apoptotic Cell-Derived Extracellular Vesicles: More Than Just Debris. *Front. Immunol.* 9, 1486. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01486>
- Ceccarelli, M., Barthel, F.P., Malta, T.M., Sabedot, T.S., Salama, S.R., Murray, B.A., Morozova, O., Newton, Y., Radenbaugh, A., Pagnotta, S.M., Anjum, S., Wang, J., Manyam, G., Zoppoli, P., Ling, S., Rao, A.A., Grifford, M., Cherniack, A.D., Zhang, H., Poisson, L., Carlotti, C.G., Tirapelli, D.P. da C., Rao, A., Mikkelsen, T., Lau, C.C., Yung, W.K.A., Rabadan, R., Huse, J., Brat, D.J., Lehman, N.L., Barnholtz-Sloan, J.S., Zheng, S., Hess, K., Rao, G., Meyerson, M., Beroukhi, R., Cooper, L., Akbani, R., Wrensch, M., Haussler, D., Aldape, K.D., Laird, P.W., Gutmann, D.H., TCGA Research Network, Nounshahr, H., Iavarone, A., Verhaak, R.G.W., 2016. Molecular Profiling Reveals Biologically Discrete Subsets and Pathways of Progression in Diffuse Glioma. *Cell* 164, 550–563. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.028>
- Cerami, E., Gao, J., Dogrusoz, U., Gross, B.E., Sumer, S.O., Aksoy, B.A., Jacobsen, A., Byrne, C.J., Heuer, M.L., Larsson, E., Antipin, Y., Reva, B., Goldberg, A.P., Sander, C., Schultz, N., 2012. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov.* 2, 401–404. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0095>
- Chahlavi, A., Rayman, P., Richmond, A.L., Biswas, K., Zhang, R., Vogelbaum, M., Tannenbaum, C., Barnett, G., Finke, J.H., 2005. Glioblastomas induce T-lymphocyte death by two distinct pathways involving gangliosides and CD70. *Cancer Res.* 65, 5428–5438. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-4395>
- Chairoungdua, A., Smith, D.L., Pochard, P., Hull, M., Caplan, M.J., 2010. Exosome release of β -catenin: a novel mechanism that antagonizes Wnt signaling. *J. Cell Biol.* 190, 1079–1091. <https://doi.org/10.1083/jcb.201002049>
- Chakravarti, A., Wang, M., Robins, H.I., Lautenschlaeger, T., Curran, W.J., Brachman, D.G., Schultz, C.J., Choucair, A., Dolled-Filhart, M., Christiansen, J., Gustavson, M., Molinaro, A., Mischel, P., Dicker, A.P., Bredel, M., Mehta, M., 2013. RTOG 0211: A Phase 1/2 Study of Radiation Therapy With Concurrent Gefitinib for Newly Diagnosed Glioblastoma Patients. *Int. J. Radiat. Oncol.* 85, 1206–1211. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2012.10.008>
- Chamberlain, K.A., Nanesco, S.E., Psachoulia, K., Huang, J.K., 2017. Oligodendrocyte regeneration: its significance in myelin replacement and neuroprotection in multiple sclerosis 27.
- Chamberlain, M.C., 2011. Radiographic patterns of relapse in glioblastoma. *J. Neurooncol.* 101, 319–323. <https://doi.org/10.1007/s11060-010-0251-4>
- Chambers, C.A., Kuhns, M.S., Egen, J.G., Allison, J.P., 2001. CTLA-4-mediated inhibition in regulation of T cell responses: mechanisms and manipulation in tumor

- immunotherapy. *Annu. Rev. Immunol.* 19, 565–594. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.565>
- Chang, C.-H., Curtis, J.D., Maggi, L.B., Faubert, B., Villarino, A.V., O'Sullivan, D., Huang, S.C.-C., van der Windt, G.J.W., Blagih, J., Qiu, J., Weber, J.D., Pearce, E.J., Jones, R.G., Pearce, E.L., 2013. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis. *Cell* 153, 1239–1251. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.016>
- Chao, M.V., Hempstead, B.L., 1995. p75 and Trk: a two-receptor system. *Trends Neurosci.* 18, 321–326.
- Chapman, B.S., 1995. A region of the 75 kDa neurotrophin receptor homologous to the death domains of TNFR-I and Fas. *FEBS Lett.* 374, 216–220. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)01113-s](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)01113-s)
- Chaponis, D., Barnes, J.W., Dellagatta, J.L., Kesari, S., Fast, E., Sauvageot, C., Panagrahy, D., Greene, E.R., Ramakrishna, N., Wen, P.Y., Kung, A.L., Stiles, C., Kieran, M.W., 2011. Lomafarnib (SCH66336) improves the activity of temozolomide and radiation for orthotopic malignant gliomas. *J. Neurooncol.* 104, 179–189. <https://doi.org/10.1007/s11060-010-0502-4>
- Chaput, N., Théry, C., 2011. Exosomes: immune properties and potential clinical implementations. *Semin. Immunopathol.* 33, 419–440. <https://doi.org/10.1007/s00281-010-0233-9>
- Cheli, Y., Bonnazi, V.F., Jacquet, A., Allegra, M., De Donatis, G.M., Bahadoran, P., Bertolotto, C., Ballotti, R., 2014. CD271 is an imperfect marker for melanoma initiating cells. *Oncotarget* 5, 5272–5283. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.1967>
- Chemnitz, J.M., Parry, R.V., Nichols, K.E., June, C.H., Riley, J.L., 2004. SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 173, 945–954. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.2.945>
- Chen, C., Xu, T., Chen, J., Zhou, J., Yan, Y., Lu, Y., Wu, S., 2011. Allergy and risk of glioma: a meta-analysis: Allergy and risk of glioma. *Eur. J. Neurol.* 18, 387–395. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2010.03187.x>
- Chen, G., Huang, A.C., Zhang, W., Zhang, G., Wu, M., Xu, W., Yu, Z., Yang, J., Wang, B., Sun, H., Xia, H., Man, Q., Zhong, W., Antelo, L.F., Wu, B., Xiong, X., Liu, X., Guan, L., Li, T., Liu, S., Yang, R., Lu, Youtao, Dong, L., McGettigan, S., Somasundaram, R., Radhakrishnan, R., Mills, G., Lu, Yiling, Kim, J., Chen, Y.H., Dong, H., Zhao, Y., Karakousis, G.C., Mitchell, T.C., Schuchter, L.M., Herlyn, M., Wherry, E.J., Xu, X., Guo, W., 2018. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response. *Nature* 560, 382–386. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0392-8>
- Chen, J., Li, Y., Yu, T.-S., McKay, R.M., Burns, D.K., Kernie, S.G., Parada, L.F., 2012a. A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy. *Nature* 488, 522–526. <https://doi.org/10.1038/nature11287>
- Chen, J., McKay, R.M., Parada, L.F., 2012b. Malignant Glioma: Lessons from Genomics, Mouse Models, and Stem Cells. *Cell* 149, 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.009>
- Chen, K.S., Nishimura, M.C., Armanini, M.P., Crowley, C., Spencer, S.D., Phillips, H.S., 1997. Disruption of a single allele of the nerve growth factor gene results in atrophy of basal forebrain cholinergic neurons and memory deficits. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 7288–7296.

- Chen, Limo, Gibbons, D.L., Goswami, S., Cortez, M.A., Ahn, Y.-H., Byers, L.A., Zhang, X., Yi, X., Dwyer, D., Lin, W., Diao, L., Wang, J., Roybal, J., Patel, M., Ungewiss, C., Peng, David, Antonia, S., Mediavilla-Varela, M., Robertson, G., Suraokar, M., Welsh, J.W., Erez, B., Wistuba, I.I., Chen, Lieping, Peng, Di, Wang, S., Ullrich, S.E., Heymach, J.V., Kurie, J.M., Qin, F.X.-F., 2014. Metastasis is regulated via microRNA-200/ZEB1 axis control of tumour cell PD-L1 expression and intratumoral immunosuppression. *Nat. Commun.* 5, 5241. <https://doi.org/10.1038/ncomms6241>
- Chen, R.Q., Liu, F., Qiu, X.Y., Chen, X.Q., 2019. The Prognostic and Therapeutic Value of PD-L1 in Glioma. *Front. Pharmacol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01503>
- Chen, T.S., Lai, R.C., Lee, M.M., Choo, A.B.H., Lee, C.N., Lim, S.K., 2010. Mesenchymal stem cell secretes microparticles enriched in pre-microRNAs. *Nucleic Acids Res.* 38, 215–224. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp857>
- Chen, W., Wen, X., Latzel, M., Heilmann, M., Yang, J., Dai, X., Huang, S., Shrestha, S., Patterson, R., Christiansen, S., Conibeer, G., 2016. Nanoscale Characterization of Carrier Dynamic and Surface Passivation in InGaN/GaN Multiple Quantum Wells on GaN Nanorods. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 8, 31887–31893. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b11675>
- Chen, Z.-Y., Ieraci, A., Teng, H., Dall, H., Meng, C.-X., Herrera, D.G., Nykjaer, A., Hempstead, B.L., Lee, F.S., 2005. Sortilin Controls Intracellular Sorting of Brain-Derived Neurotrophic Factor to the Regulated Secretory Pathway. *J. Neurosci.* 25, 6156–6166. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1017-05.2005>
- Cheng, J., Meng, J., Zhu, L., Peng, Y., 2020. Exosomal noncoding RNAs in Glioma: biological functions and potential clinical applications. *Mol. Cancer* 19, 66. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01189-3>
- Cheng, L., Huang, Z., Zhou, W., Wu, Q., Donnola, S., Liu, J.K., Fang, X., Sloan, A.E., Mao, Y., Lathia, J.D., Min, W., McLendon, R.E., Rich, J.N., Bao, S., 2013. Glioblastoma stem cells generate vascular pericytes to support vessel function and tumor growth. *Cell* 153, 139–152. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.021>
- Cheng, Y., Schorey, J.S., 2013. Exosomes carrying mycobacterial antigens can protect mice against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Eur. J. Immunol.* 43, 3279–3290. <https://doi.org/10.1002/eji.201343727>
- Chennakrishnaiah, S., Meehan, B., D’Asti, E., Montermini, L., Lee, T.-H., Karatzas, N., Buchanan, M., Tawil, N., Choi, D., Divangahi, M., Basik, M., Rak, J., 2018. Leukocytes as a reservoir of circulating oncogenic DNA and regulatory targets of tumor-derived extracellular vesicles. *J. Thromb. Haemost. JTH* 16, 1800–1813. <https://doi.org/10.1111/jth.14222>
- Cheray, M., Bessette, B., Lacroix, A., Mélin, C., Jawhari, S., Pinet, S., Deluche, E., Clavère, P., Durand, K., Sanchez-Prieto, R., Jauberteau, M.-O., Battu, S., Lalloué, F., 2017. KLRC3, a Natural Killer receptor gene, is a key factor involved in glioblastoma tumourigenesis and aggressiveness. *J. Cell. Mol. Med.* 21, 244–253. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12960>
- Chiaruttini, N., Roux, A., 2017. Dynamic and elastic shape transitions in curved ESCRT-III filaments. *Curr. Opin. Cell Biol.* 47, 126–135. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2017.07.002>
- Chiasserini, D., van Weering, J.R.T., Piersma, S.R., Pham, T.V., Malekzadeh, A., Teunissen, C.E., de Wit, H., Jiménez, C.R., 2014. Proteomic analysis of cerebrospinal fluid extracellular vesicles: a comprehensive dataset. *J. Proteomics* 106, 191–204. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.04.028>

- Chinot, O.L., Wick, W., Mason, W., Henriksson, R., Saran, F., Nishikawa, R., Carpentier, A.F., Hoang-Xuan, K., Kavan, P., Cernea, D., Brandes, A.A., Hilton, M., Abrey, L., Cloughesy, T., 2014. Bevacizumab plus Radiotherapy–Temozolomide for Newly Diagnosed Glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 370, 709–722. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1308345>
- Chistiakov, D.A., Chekhonin, V.P., 2014. Extracellular vesicles shed by glioma cells: pathogenic role and clinical value. *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med.* 35, 8425–8438. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2262-9>
- Chitti, S.V., Fonseka, P., Mathivanan, S., 2018. Emerging role of extracellular vesicles in mediating cancer cachexia. *Biochem. Soc. Trans.* 46, 1129–1136. <https://doi.org/10.1042/BST20180213>
- Chittiboina, P., Connor, D.E., Caldito, G., Quillin, J.W., Wilson, J.D., Nanda, A., 2012. Occult tumors presenting with negative imaging: analysis of the literature. *J. Neurosurg.* 116, 1195–1203. <https://doi.org/10.3171/2012.3.JNS112098>
- Chivet, M., Javalet, C., Laulagnier, K., Blot, B., Hemming, F.J., Sadoul, R., 2014. Exosomes secreted by cortical neurons upon glutamatergic synapse activation specifically interact with neurons. *J. Extracell. Vesicles* 3, 24722. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.24722>
- Chongsathidkiet, P., Jackson, C., Koyama, S., Loebel, F., Cui, X., Farber, S.H., Woroniecka, K., Elsamacicy, A.A., Dechant, C.A., Kemeny, H.R., Sanchez-Perez, L., Cheema, T.A., Souders, N.C., Herndon, J.E., Coumans, J.-V., Everitt, J.I., Nahed, B.V., Sampson, J.H., Gunn, M.D., Martuza, R.L., Dranoff, G., Curry, W.T., Fecci, P.E., 2018. Sequestration of T cells in bone marrow in the setting of glioblastoma and other intracranial tumors. *Nat. Med.* 24, 1459–1468. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0135-2>
- Chung, W.-S., Allen, N.J., Eroglu, C., 2015. Astrocytes Control Synapse Formation, Function, and Elimination. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7, a020370. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020370>
- Claes, A., Idema, A.J., Wesseling, P., 2007. Diffuse glioma growth: a guerilla war. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 114, 443–458. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0293-7>
- Cloughesy, T.F., Cavenee, W.K., Mischel, P.S., 2014. Glioblastoma: From Molecular Pathology to Targeted Treatment. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 9, 1–25. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130324>
- Cohen, M.H., Shen, Y.L., Keegan, P., Pazdur, R., 2009. FDA Drug Approval Summary: Bevacizumab (Avastin®) as Treatment of Recurrent Glioblastoma Multiforme. *The Oncologist* 14, 1131–1138. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2009-0121>
- Cohen, S., Levi-Montalcini, R., Hamburger, V., 1954. A NERVE GROWTH-STIMULATING FACTOR ISOLATED FROM SARCOM AS 37 AND 180. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 40, 1014–1018. <https://doi.org/10.1073/pnas.40.10.1014>
- Colton, C.A., 2009. Heterogeneity of Microglial Activation in the Innate Immune Response in the Brain. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 4, 399–418. <https://doi.org/10.1007/s11481-009-9164-4>
- Combs, S.E., Debus, J., Schulz-Ertner, D., 2007. Radiotherapeutic alternatives for previously irradiated recurrent gliomas. *BMC Cancer* 7, 167. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-7-167>
- Combs, S.E., Schmid, T.E., Vaupel, P., Multhoff, G., 2016. Stress Response Leading to Resistance in Glioblastoma-The Need for Innovative Radiotherapy (iRT) Concepts. *Cancers* 8, E15. <https://doi.org/10.3390/cancers8010015>

- Coppola, V., Barrick, C.A., Southon, E.A., Celeste, A., Wang, K., Chen, B., Haddad, E.-B., Yin, J., Nussenzweig, A., Subramaniam, A., Tessarollo, L., 2004. Ablation of TrkA function in the immune system causes B cell abnormalities. *Dev. Camb. Engl.* 131, 5185–5195. <https://doi.org/10.1242/dev.01383>
- Couper, K.N., Blount, D.G., Riley, E.M., 2008. IL-10: the master regulator of immunity to infection. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 180, 5771–5777. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.9.5771>
- Covello, K.L., Kehler, J., Yu, H., Gordan, J.D., Arsham, A.M., Hu, C.-J., Labosky, P.A., Simon, M.C., Keith, B., 2006. HIF-2 α regulates Oct-4: effects of hypoxia on stem cell function, embryonic development, and tumor growth. *Genes Dev.* 20, 557–570. <https://doi.org/10.1101/gad.1399906>
- Crane, C.A., Ahn, B.J., Han, S.J., Parsa, A.T., 2012. Soluble factors secreted by glioblastoma cell lines facilitate recruitment, survival, and expansion of regulatory T cells: implications for immunotherapy. *Neuro-Oncol.* 14, 584–595. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nos014>
- Crenshaw, B.J., Gu, L., Sims, B., Matthews, Q.L., 2018. Exosome Biogenesis and Biological Function in Response to Viral Infections. *Open Virol. J.* 12, 134–148. <https://doi.org/10.2174/1874357901812010134>
- Crespo, I., Vital, A.L., Gonzalez-Tablas, M., Patino, M. del C., Otero, A., Lopes, M.C., de Oliveira, C., Domingues, P., Orfao, A., Taberero, M.D., 2015. Molecular and Genomic Alterations in Glioblastoma Multiforme. *Am. J. Pathol.* 185, 1820–1833. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.02.023>
- Croft, W., Dobson, K.L., Bellamy, T.C., 2015a. Plasticity of Neuron-Glial Transmission: Equipping Glia for Long-Term Integration of Network Activity. *Neural Plast.* 2015, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2015/765792>
- Croft, W., Dobson, K.L., Bellamy, T.C., 2015b. Plasticity of Neuron-Glial Transmission: Equipping Glia for Long-Term Integration of Network Activity. *Neural Plast.* 2015, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2015/765792>
- Cuddapah, V.A., Robel, S., Watkins, S., Sontheimer, H., 2014. A neurocentric perspective on glioma invasion. *Nat. Rev. Neurosci.* 15, 455–465. <https://doi.org/10.1038/nrn3765>
- Cui, Y., Luan, J., Li, H., Zhou, X., Han, J., 2016. Exosomes derived from mineralizing osteoblasts promote ST2 cell osteogenic differentiation by alteration of microRNA expression. *FEBS Lett.* 590, 185–192. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12024>
- Curtis, R., Adryan, K.M., Stark, J.L., Park, J.S., Compton, D.L., Weskamp, G., Huber, L.J., Chao, M.V., Jaenisch, R., Lee, K.F., 1995. Differential role of the low affinity neurotrophin receptor (p75) in retrograde axonal transport of the neurotrophins. *Neuron* 14, 1201–1211. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90267-8](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90267-8)
- Daassi, D., Mahoney, K.M., Freeman, G.J., 2020. The importance of exosomal PDL1 in tumour immune evasion. *Nat. Rev. Immunol.* 20, 209–215. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0264-y>
- Dantas-Barbosa, C., Bergthold, G., Daudigeos-Dubus, E., Blockus, H., Boylan, J.F., Ferreira, C., Puget, S., Abely, M., Vassal, G., Grill, J., Geoerger, B., 2015. Inhibition of the NOTCH pathway using γ -secretase inhibitor RO4929097 has limited antitumor activity in established glial tumors. *Anticancer. Drugs* 26, 272–283. <https://doi.org/10.1097/CAD.000000000000190>
- Dantzer, R., 2018. Neuroimmune Interactions: From the Brain to the Immune System and Vice Versa. *Physiol. Rev.* 98, 477–504. <https://doi.org/10.1152/physrev.00039.2016>

- Darb-Esfahani, S., Kunze, C.A., Kulbe, H., Sehouli, J., Wienert, S., Lindner, J., Budczies, J., Bockmayr, M., Dietel, M., Denkert, C., Braicu, I., Jöhrens, K., 2016. Prognostic impact of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand 1 (PD-L1) expression in cancer cells and tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian high grade serous carcinoma. *Oncotarget* 7, 1486–1499. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6429>
- Davis, M.E., 2013. Tumor Treating Fields—An Emerging Cancer Treatment Modality. *Clin. J. Oncol. Nurs.* 17, 441–443. <https://doi.org/10.1188/13.CJON.441-443>
- Davis, M.E., Mulligan Stoiber, A.M., 2011. Glioblastoma Multiforme: Enhancing Survival and Quality of Life. *Clin. J. Oncol. Nurs.* 15, 291–297. <https://doi.org/10.1188/11.CJON.291-297>
- De Bock, K., Cauwenberghs, S., Carmeliet, P., 2011. Vessel abnormalization: another hallmark of cancer? Molecular mechanisms and therapeutic implications. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 21, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2010.10.008>
- De Bonis, P., Anile, C., Pompucci, A., Fiorentino, A., Balducci, M., Chiesa, S., Lauriola, L., Maira, G., Mangiola, A., 2013. The influence of surgery on recurrence pattern of glioblastoma. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 115, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2012.04.005>
- de Gassart, A., Geminard, C., Fevrier, B., Raposo, G., Vidal, M., 2003. Lipid raft-associated protein sorting in exosomes. *Blood* 102, 4336–4344. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-03-0871>
- De la Garza-Ramos, R., Kerezoudis, P., Tamargo, R.J., Brem, H., Huang, J., Bydon, M., 2016. Surgical complications following malignant brain tumor surgery: An analysis of 2002-2011 data. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 140, 6–10. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2015.11.005>
- De Sousa Linhares, A., Battin, C., Jutz, S., Leitner, J., Hafner, C., Tobias, J., Wiedermann, U., Kundi, M., Zlabinger, G.J., Grabmeier-Pfistershammer, K., Steinberger, P., 2019. Therapeutic PD-L1 antibodies are more effective than PD-1 antibodies in blocking PD-1/PD-L1 signaling. *Sci. Rep.* 9, 11472. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47910-1>
- de Vrij, J., Maas, S.L.N., Kwappenberg, K.M.C., Schnoor, R., Kleijn, A., Dekker, L., Luider, T.M., de Witte, L.D., Litjens, M., van Strien, M.E., Hol, E.M., Kroonen, J., Robe, P.A., Lamfers, M.L., Schilham, M.W., Broekman, M.L.D., 2015. Glioblastoma-derived extracellular vesicles modify the phenotype of monocytic cells. *Int. J. Cancer* 137, 1630–1642. <https://doi.org/10.1002/ijc.29521>
- Deatherage, B.L., Cookson, B.T., 2012. Membrane vesicle release in bacteria, eukaryotes, and archaea: a conserved yet underappreciated aspect of microbial life. *Infect. Immun.* 80, 1948–1957. <https://doi.org/10.1128/IAI.06014-11>
- Dechant, G., 2001. Molecular interactions between neurotrophin receptors. *Cell Tissue Res.* 305, 229–238. <https://doi.org/10.1007/s004410100378>
- Dechant, G., Barde, Y.A., 1997. Signalling through the neurotrophin receptor p75NTR. *Curr. Opin. Neurobiol.* 7, 413–418. [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(97\)80071-2](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(97)80071-2)
- Delaguillaumie, A., Harriague, J., Kohanna, S., Bismuth, G., Rubinstein, E., Seigneuret, M., Conjeaud, H., 2004. Tetraspanin CD82 controls the association of cholesterol-dependent microdomains with the actin cytoskeleton in T lymphocytes: relevance to co-stimulation. *J. Cell Sci.* 117, 5269–5282. <https://doi.org/10.1242/jcs.01380>
- Delbary-Gossart, S., Lee, S., Baroni, M., Lamarche, I., Arnone, M., Canolle, B., Lin, A., Sacramento, J., Salegio, E.A., Castel, M.-N., Delesque-Touchard, N., Alam, A., Laboudie, P., Ferzaz, B., Savi, P., Herbert, J.-M., Manley, G.T., Ferguson, A.R., Bresnahan, J.C., Bono, F., Beattie, M.S., 2016. A novel inhibitor of p75-neurotrophin

- receptor improves functional outcomes in two models of traumatic brain injury. *Brain* 139, 1762–1782. <https://doi.org/10.1093/brain/aww074>
- Delorme-Axford, E., Donker, R.B., Mouillet, J.-F., Chu, T., Bayer, A., Ouyang, Y., Wang, T., Stolz, D.B., Sarkar, S.N., Morelli, A.E., Sadovsky, Y., Coyne, C.B., 2013. Human placental trophoblasts confer viral resistance to recipient cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 12048–12053. <https://doi.org/10.1073/pnas.1304718110>
- Deluche, E., Bessette, B., Durand, S., Caire, F., Rigau, V., Robert, S., Chaunavel, A., Forestier, L., Labrousse, F., Jauberteau, M.-O., Durand, K., Lalloué, F., 2019. CH13L1, NTRK2, 1p/19q and IDH Status Predicts Prognosis in Glioma. *Cancers* 11, 544. <https://doi.org/10.3390/cancers11040544>
- Denzer, K., van Eijk, M., Kleijmeer, M.J., Jakobson, E., de Groot, C., Geuze, H.J., 2000. Follicular dendritic cells carry MHC class II-expressing microvesicles at their surface. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 165, 1259–1265. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.3.1259>
- Desjardins, A., Reardon, D.A., Peters, K.B., Threath, S., Coan, A.D., Herndon, J.E., Friedman, A.H., Friedman, H.S., Vredenburgh, J.J., 2011. A phase I trial of the farnesyl transferase inhibitor, SCH 66336, with temozolomide for patients with malignant glioma. *J. Neurooncol.* 105, 601–606. <https://doi.org/10.1007/s11060-011-0627-0>
- Dhermain, F.G., Hau, P., Lanfermann, H., Jacobs, A.H., van den Bent, M.J., 2010. Advanced MRI and PET imaging for assessment of treatment response in patients with gliomas. *Lancet Neurol.* 9, 906–920. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70181-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70181-2)
- di Tomaso, E., Snuderl, M., Kamoun, W.S., Duda, D.G., Auluck, P.K., Fazlollahi, L., Andronesi, O.C., Frosch, M.P., Wen, P.Y., Plotkin, S.R., Hedley-Whyte, E.T., Sorensen, A.G., Batchelor, T.T., Jain, R.K., 2011. Glioblastoma Recurrence after Cediranib Therapy in Patients: Lack of “Rebound” Revascularization as Mode of Escape. *Cancer Res.* 71, 19–28. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-2602>
- Dias, M.V.S., Teixeira, B.L., Rodrigues, B.R., Sinigaglia-Coimbra, R., Porto-Carreiro, I., Roffé, M., Hajj, G.N.M., Martins, V.R., 2016. PRNP/prion protein regulates the secretion of exosomes modulating CAV1/caveolin-1-suppressed autophagy. *Autophagy* 12, 2113–2128. <https://doi.org/10.1080/15548627.2016.1226735>
- Didenko, V.V., Ngo, H.N., Minchew, C., Baskin, D.S., 2002. Apoptosis of T lymphocytes invading glioblastomas multiforme: a possible tumor defense mechanism. *J. Neurosurg.* 96, 580–584. <https://doi.org/10.3171/jns.2002.96.3.0580>
- Dissen, G.A., Hill, D.F., Costa, M.E., Les Dees, C.W., Lara, H.E., Ojeda, S.R., 1996. A role for trkA nerve growth factor receptors in mammalian ovulation. *Endocrinology* 137, 198–209. <https://doi.org/10.1210/endo.137.1.8536613>
- Dittmer, D., Pati, S., Zambetti, G., Chu, S., Teresky, A.K., Moore, M., Finlay, C., Levine, A.J., 1993. Gain of function mutations in p53. *Nat. Genet.* 4, 42–46. <https://doi.org/10.1038/ng0593-42>
- Djuzenova, C.S., Fiedler, V., Memmel, S., Katzer, A., Hartmann, S., Krohne, G., Zimmermann, H., Scholz, C.-J., Polat, B., Flentje, M., Sukhorukov, V.L., 2015. Actin cytoskeleton organization, cell surface modification and invasion rate of 5 glioblastoma cell lines differing in PTEN and p53 status. *Exp. Cell Res.* 330, 346–357. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.08.013>
- Dong, H., Strome, S.E., Salomao, D.R., Tamura, H., Hirano, F., Flies, D.B., Roche, P.C., Lu, J., Zhu, G., Tamada, K., Lennon, V.A., Celis, E., Chen, L., 2002. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat. Med.* 8, 793–800. <https://doi.org/10.1038/nm730>

- Dong, H., Zhu, G., Tamada, K., Chen, L., 1999. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat. Med.* 5, 1365–1369. <https://doi.org/10.1038/70932>
- Dontu, G., Abdallah, W.M., Foley, J.M., Jackson, K.W., Clarke, M.F., Kawamura, M.J., Wicha, M.S., 2003. In vitro propagation and transcriptional profiling of human mammary stem/progenitor cells. *Genes Dev.* 17, 1253–1270. <https://doi.org/10.1101/gad.1061803>
- Dunn, G.P., Bruce, A.T., Sheehan, K.C.F., Shankaran, V., Uppaluri, R., Bui, J.D., Diamond, M.S., Koebel, C.M., Arthur, C., White, J.M., Schreiber, R.D., 2005a. A critical function for type I interferons in cancer immunoediting. *Nat. Immunol.* 6, 722–729. <https://doi.org/10.1038/ni1213>
- Dunn, G.P., Ikeda, H., Bruce, A.T., Koebel, C., Uppaluri, R., Bui, J., Chan, R., Diamond, M., White, J.M., Sheehan, K.C.F., Schreiber, R.D., 2005b. Interferon-gamma and cancer immunoediting. *Immunol. Res.* 32, 231–245. <https://doi.org/10.1385/ir:32:1-3:231>
- Edgar, J.R., Manna, P.T., Nishimura, S., Banting, G., Robinson, M.S., 2016. Tetherin is an exosomal tether. *eLife* 5. <https://doi.org/10.7554/eLife.17180>
- Eggert, A., Sieverts, H., Ikegaki, N., Brodeur, G.M., 2000. p75 mediated apoptosis in neuroblastoma cells is inhibited by expression of TrkA. *Med. Pediatr. Oncol.* 35, 573–576. [https://doi.org/10.1002/1096-911x\(20001201\)35:6<573::aid-mpo17>3.0.co;2-a](https://doi.org/10.1002/1096-911x(20001201)35:6<573::aid-mpo17>3.0.co;2-a)
- Eide, F.F., Lowenstein, D.H., Reichardt, L.F., 1993. Neurotrophins and their receptors--current concepts and implications for neurologic disease. *Exp. Neurol.* 121, 200–214. <https://doi.org/10.1006/exnr.1993.1087>
- Eitan, E., Suire, C., Zhang, S., Mattson, M.P., 2016. Impact of lysosome status on extracellular vesicle content and release. *Ageing Res. Rev.* 32, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.05.001>
- Ekström, K., Omar, O., Granéli, C., Wang, X., Vazirisani, F., Thomsen, P., 2013. Monocyte exosomes stimulate the osteogenic gene expression of mesenchymal stem cells. *PLoS One* 8, e75227. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075227>
- Ellor, S.V., Pagano-Young, T.A., Avgeropoulos, N.G., 2014. Glioblastoma: Background, Standard Treatment Paradigms, and Supportive Care Considerations. *J. Law. Med. Ethics* 42, 171–182. <https://doi.org/10.1111/jlme.12133>
- Engebraaten, O., Bjerkvig, R., Pedersen, P.H., Laerum, O.D., 1993. Effects of EGF, bFGF, NGF and PDGF(bb) on cell proliferative, migratory and invasive capacities of human brain-tumour biopsies in vitro. *Int. J. Cancer* 53, 209–214. <https://doi.org/10.1002/ijc.2910530206>
- Engelhardt, B., Ransohoff, R.M., 2012. Capture, crawl, cross: the T cell code to breach the blood-brain barriers. *Trends Immunol.* 33, 579–589. <https://doi.org/10.1016/j.it.2012.07.004>
- England, B., Huang, T., Karsy, M., 2013. Current understanding of the role and targeting of tumor suppressor p53 in glioblastoma multiforme. *Tumor Biol.* 34, 2063–2074. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-0871-3>
- Eppihimer, M.J., Gunn, J., Freeman, G.J., Greenfield, E.A., Chernova, T., Erickson, J., Leonard, J.P., 2002. Expression and regulation of the PD-L1 immunoinhibitory molecule on microvascular endothelial cells. *Microcirc. N. Y. N* 1994 9, 133–145. <https://doi.org/10.1038/sj/mn/7800123>
- Ernfors, P., Ibáñez, C.F., Ebendal, T., Olson, L., Persson, H., 1990. Molecular cloning and neurotrophic activities of a protein with structural similarities to nerve growth factor:

- developmental and topographical expression in the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 5454–5458. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.14.5454>
- Escrevente, C., Keller, S., Altevogt, P., Costa, J., 2011. Interaction and uptake of exosomes by ovarian cancer cells. *BMC Cancer* 11, 108. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-108>
- Esposito, D., Patel, P., Stephens, R.M., Perez, P., Chao, M.V., Kaplan, D.R., Hempstead, B.L., 2001. The cytoplasmic and transmembrane domains of the p75 and Trk A receptors regulate high affinity binding to nerve growth factor. *J. Biol. Chem.* 276, 32687–32695. <https://doi.org/10.1074/jbc.M011674200>
- Fagerberg, L., Hallström, B.M., Oksvold, P., Kampf, C., Djureinovic, D., Odeberg, J., Habuka, M., Tahmasebpoor, S., Danielsson, A., Edlund, K., Asplund, A., Sjöstedt, E., Lundberg, E., Szigyarto, C.A.-K., Skogs, M., Takanen, J.O., Berling, H., Tegel, H., Mulder, J., Nilsson, P., Schwenk, J.M., Lindskog, C., Danielsson, F., Mardinoglu, A., Sivertsson, A., von Feilitzen, K., Forsberg, M., Zwahlen, M., Olsson, I., Navani, S., Huss, M., Nielsen, J., Ponten, F., Uhlén, M., 2014. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Mol. Cell. Proteomics MCP* 13, 397–406. <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.035600>
- Falguières, T., Luyet, P.-P., Bissig, C., Scott, C.C., Velluz, M.-C., Gruenberg, J., 2008. In vitro budding of intraluminal vesicles into late endosomes is regulated by Alix and Tsg101. *Mol. Biol. Cell* 19, 4942–4955. <https://doi.org/10.1091/mbc.e08-03-0239>
- Fauré, J., Lachenal, G., Court, M., Hirrlinger, J., Chatellard-Causse, C., Blot, B., Grange, J., Schoehn, G., Goldberg, Y., Boyer, V., Kirchhoff, F., Raposo, G., Garin, J., Sadoul, R., 2006. Exosomes are released by cultured cortical neurones. *Mol. Cell. Neurosci.* 31, 642–648. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2005.12.003>
- Feng, D., Zhao, W.-L., Ye, Y.-Y., Bai, X.-C., Liu, R.-Q., Chang, L.-F., Zhou, Q., Sui, S.-F., 2010. Cellular internalization of exosomes occurs through phagocytosis. *Traffic Cph. Den.* 11, 675–687. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2010.01041.x>
- Filipp, F.V., Li, C., Boiko, A.D., 2019. CD271 is a molecular switch with divergent roles in melanoma and melanocyte development. *Sci. Rep.* 9, 7696. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42773-y>
- Filley, A.C., Henriquez, M., Dey, M., 2017. Recurrent glioma clinical trial, CheckMate-143: the game is not over yet. *Oncotarget* 8. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21586>
- Flower, T.G., Takahashi, Y., Hudait, A., Rose, K., Tjahjono, N., Pak, A.J., Yokom, A.L., Liang, X., Wang, H.-G., Bouamr, F., Voth, G.A., Hurley, J.H., 2020. A helical assembly of human ESCRT-I scaffolds reverse-topology membrane scission. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 27, 570–580. <https://doi.org/10.1038/s41594-020-0426-4>
- Folkins, C., Shaked, Y., Man, S., Tang, T., Lee, C.R., Zhu, Z., Hoffman, R.M., Kerbel, R.S., 2009. Glioma tumor stem-like cells promote tumor angiogenesis and vasculogenesis via vascular endothelial growth factor and stromal-derived factor 1. *Cancer Res.* 69, 7243–7251. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-0167>
- Forsyth, P.A., Krishna, N., Lawn, S., Valadez, J.G., Qu, X., Fenstermacher, D.A., Fournier, M., Potthast, L., Chinnaiyan, P., Gibney, G.T., Zeinieh, M., Barker, P.A., Carter, B.D., Cooper, M.K., Kenchappa, R.S., 2014. p75 neurotrophin receptor cleavage by α - and γ -secretases is required for neurotrophin-mediated proliferation of brain tumor-initiating cells. *J. Biol. Chem.* 289, 8067–8085. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.513762>
- Forsythe, J.A., Jiang, B.H., Iyer, N.V., Agani, F., Leung, S.W., Koos, R.D., Semenza, G.L., 1996. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-

- inducible factor 1. *Mol. Cell. Biol.* 16, 4604–4613. <https://doi.org/10.1128/mcb.16.9.4604>
- Foster, B.P., Balassa, T., Benen, T.D., Dominovic, M., Elmadjian, G.K., Florova, V., Fransolet, M.D., Kestlerova, A., Kmiecik, G., Kostadinova, I.A., Kyvelidou, C., Meggyes, M., Mincheva, M.N., Moro, L., Pastuschek, J., Spoldi, V., Wandernoth, P., Weber, M., Toth, B., Markert, U.R., 2016. Extracellular vesicles in blood, milk and body fluids of the female and male urogenital tract and with special regard to reproduction. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 53, 379–395. <https://doi.org/10.1080/10408363.2016.1190682>
- Franceschi, E., Tosoni, A., Bartolini, S., Mazzocchi, V., Fioravanti, A., Brandes, A.A., 2009. Treatment options for recurrent glioblastoma: pitfalls and future trends. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 9, 613–619. <https://doi.org/10.1586/era.09.23>
- Francisco, L.M., Sage, P.T., Sharpe, A.H., 2010. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol. Rev.* 236, 219–242. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00923.x>
- Francisco, L.M., Salinas, V.H., Brown, K.E., Vanguri, V.K., Freeman, G.J., Kuchroo, V.K., Sharpe, A.H., 2009. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 206, 3015–3029. <https://doi.org/10.1084/jem.20090847>
- Frankel, E.B., Audhya, A., 2018. ESCRT-dependent cargo sorting at multivesicular endosomes. *Semin. Cell Dev. Biol.* 74, 4–10. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2017.08.020>
- Frauwirth, K.A., Riley, J.L., Harris, M.H., Parry, R.V., Rathmell, J.C., Plas, D.R., Elstrom, R.L., June, C.H., Thompson, C.B., 2002. The CD28 signaling pathway regulates glucose metabolism. *Immunity* 16, 769–777. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(02\)00323-0](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(02)00323-0)
- Frauwirth, K.A., Thompson, C.B., 2004. Regulation of T lymphocyte metabolism. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 172, 4661–4665. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.8.4661>
- Freeman, G.J., Long, A.J., Iwai, Y., Bourque, K., Chernova, T., Nishimura, H., Fitz, L.J., Malenkovich, N., Okazaki, T., Byrne, M.C., Horton, H.F., Fouser, L., Carter, L., Ling, V., Bowman, M.R., Carreno, B.M., Collins, M., Wood, C.R., Honjo, T., 2000. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J. Exp. Med.* 192, 1027–1034. <https://doi.org/10.1084/jem.192.7.1027>
- Frenette, G., Sullivan, R., 2001. Prostate-like particles are involved in the transfer of P25b from the bovine epididymal fluid to the sperm surface. *Mol. Reprod. Dev.* 59, 115–121. <https://doi.org/10.1002/mrd.1013>
- Frey, B., Gaip, U.S., 2011. The immune functions of phosphatidylserine in membranes of dying cells and microvesicles. *Semin. Immunopathol.* 33, 497–516. <https://doi.org/10.1007/s00281-010-0228-6>
- Friedl, P., Wolf, K., 2003. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nat. Rev. Cancer* 3, 362–374. <https://doi.org/10.1038/nrc1075>
- Friedman, H.S., Kerby, T., Calvert, H., 2000. Temozolomide and treatment of malignant glioma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 6, 2585–2597.
- Friedman, H.S., Prados, M.D., Wen, P.Y., Mikkelsen, T., Schiff, D., Abrey, L.E., Yung, W.K.A., Paleologos, N., Nicholas, M.K., Jensen, R., Vredenburgh, J., Huang, J., Zheng, M., Cloughesy, T., 2009. Bevacizumab Alone and in Combination With Irinotecan in Recurrent Glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* 27, 4733–4740. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.19.8721>

- Friedman, J.M., 1998. Neurofibromatosis 1, in: Adam, M.P., Ardinger, H.H., Pagon, R.A., Wallace, S.E., Bean, L.J., Stephens, K., Amemiya, A. (Eds.), *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, Seattle (WA).
- Frosch, M.P., 2012. Central nervous system, in: Kumar, V., Abbas, A., Aster, J. (Eds.), *Robbins Basic Pathology - 9th Edition*. Elsevier, pp. 811–850.
- Fry, E.J., Ho, C., David, S., 2007. A Role for Nogo Receptor in Macrophage Clearance from Injured Peripheral Nerve. *Neuron* 53, 649–662. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.02.009>
- Fujita, Y., Yagishita, S., Hagiwara, K., Yoshioka, Y., Kosaka, N., Takeshita, F., Fujiwara, T., Tsuta, K., Nokihara, H., Tamura, T., Asamura, H., Kawaishi, M., Kuwano, K., Ochiya, T., 2015. The clinical relevance of the miR-197/CKS1B/STAT3-mediated PD-L1 network in chemoresistant non-small-cell lung cancer. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 23, 717–727. <https://doi.org/10.1038/mt.2015.10>
- Fujitani, M., Kawai, H., Proia, R.L., Kashiwagi, A., Yasuda, H., Yamashita, T., 2005. Binding of soluble myelin-associated glycoprotein to specific gangliosides induces the association of p75NTR to lipid rafts and signal transduction. *J. Neurochem.* 94, 15–21. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03121.x>
- Fukuda, Y., Fukui, T., Hikichi, C., Ishikawa, T., Murate, K., Adachi, T., Imai, H., Fukuhara, K., Ueda, A., Kaplan, A.P., Mutoh, T., 2015. Neurotrophin promotes NGF signaling through interaction of GM1 ganglioside with Trk neurotrophin receptor in PC12 cells. *Brain Res.* 1596, 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.11.041>
- Furth, J., Kahn, M.C., Breedis, C., 1937. The Transmission of Leukemia of Mice with a Single Cell. *Am. J. Cancer* 31, 276–282. <https://doi.org/10.1158/ajc.1937.276>
- Furusawa, C., Kaneko, K., 2012. A dynamical-systems view of stem cell biology. *Science* 338, 215–217. <https://doi.org/10.1126/science.1224311>
- Furusawa, C., Kaneko, K., 2009. Chaotic expression dynamics implies pluripotency: when theory and experiment meet. *Biol. Direct* 4, 17. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-4-17>
- Furuta, J., Inozume, T., Harada, K., Shimada, S., 2014. CD271 on Melanoma Cell Is an IFN- γ -Inducible Immunosuppressive Factor that Mediates Downregulation of Melanoma Antigens. *J. Invest. Dermatol.* 134, 1369–1377. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.490>
- Furuta, T., Nakada, M., Misaki, K., Sato, Y., Hayashi, Y., Nakanuma, Y., Hamada, J., 2014. Molecular analysis of a recurrent glioblastoma treated with bevacizumab. *Brain Tumor Pathol.* 31, 32–39. <https://doi.org/10.1007/s10014-013-0142-4>
- Gabusiewicz, K., Li, X., Wei, J., Hashimoto, Y., Marisetty, A.L., Ott, M., Wang, F., Hawke, D., Yu, J., Healy, L.M., Hossain, A., Akers, J.C., Maiti, S.N., Yamashita, S., Shimizu, Y., Dunner, K., Zal, M.A., Burks, J.K., Gumin, J., Nwajei, F., Rezavanian, A., Zhou, S., Rao, G., Sawaya, R., Fuller, G.N., Huse, J.T., Antel, J.P., Li, S., Cooper, L., Sulman, E.P., Chen, C., Geula, C., Kalluri, R., Zal, T., Heimmerger, A.B., 2018. Glioblastoma stem cell-derived exosomes induce M2 macrophages and PD-L1 expression on human monocytes. *Oncoimmunology* 7, e1412909. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1412909>
- Gagliardi, M., Ashizawa, A.T., 2021. The Challenges and Strategies of Antisense Oligonucleotide Drug Delivery. *Biomedicines* 9, 433. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9040433>
- Galanis, E., Jaeckle, K.A., Maurer, M.J., Reid, J.M., Ames, M.M., Hardwick, J.S., Reilly, J.F., Loboda, A., Nebozhyn, M., Fantin, V.R., Richon, V.M., Scheithauer, B., Giannini, C., Flynn, P.J., Moore, D.F., Zwiebel, J., Buckner, J.C., 2009. Phase II Trial of Vorinostat

- in Recurrent Glioblastoma Multiforme: A North Central Cancer Treatment Group Study. *J. Clin. Oncol.* 27, 2052–2058. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.19.0694>
- Galeone, C., Malerba, S., Rota, M., Bagnardi, V., Negri, E., Scotti, L., Bellocco, R., Corrao, G., Boffetta, P., La Vecchia, C., Pelucchi, C., 2013. A meta-analysis of alcohol consumption and the risk of brain tumours. *Ann. Oncol.* 24, 514–523. <https://doi.org/10.1093/annonc/mds432>
- Galli, R., Binda, E., Orfanelli, U., Cipelletti, B., Gritti, A., De Vitis, S., Fiocco, R., Foroni, C., Dimeco, F., Vescovi, A., 2004. Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma. *Cancer Res.* 64, 7011–7021. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-1364>
- Gao, J., Aksoy, B.A., Dogrusoz, U., Dresdner, G., Gross, B., Sumer, S.O., Sun, Y., Jacobsen, A., Sinha, R., Larsson, E., Cerami, E., Sander, C., Schultz, N., 2013. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci. Signal.* 6, pl1. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2004088>
- Garon, E.B., Rizvi, N.A., Hui, R., Leighl, N., Balmanoukian, A.S., Eder, J.P., Patnaik, A., Aggarwal, C., Gubens, M., Horn, L., Carcereny, E., Ahn, M.-J., Felip, E., Lee, J.-S., Hellmann, M.D., Hamid, O., Goldman, J.W., Soria, J.-C., Dolled-Filhart, M., Rutledge, R.Z., Zhang, J., Luceford, J.K., Rangwala, R., Lubiniecki, G.M., Roach, C., Emancipator, K., Gandhi, L., KEYNOTE-001 Investigators, 2015. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 372, 2018–2028. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1501824>
- Gasparri, M.L., Ruscito, I., Taghavi, K., Farooqi, A.A., Papadia, A., Focaccetti, C., Barnaba, V., Panici, P.B., Mueller, M.D., 2017. The Immunobiology of Cancer: From Tumor Escape to Cancer Immunoediting Towards Immunotherapy in Gynecologic Oncology, in: Farooqi, A.A., Ismail, M. (Eds.), *Molecular Oncology: Underlying Mechanisms and Translational Advancements*. Springer International Publishing, Cham, pp. 193–204. https://doi.org/10.1007/978-3-319-53082-6_9
- Gatalica, Z., Xiu, J., Swensen, J., Vranic, S., 2019. Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions. *Mod. Pathol.* 32, 147–153. <https://doi.org/10.1038/s41379-018-0118-3>
- Gatta, A.T., Carlton, J.G., 2019. The ESCRT-machinery: closing holes and expanding roles. *Curr. Opin. Cell Biol.* 59, 121–132. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2019.04.005>
- Gatti, J.-L., Métayer, S., Belghazi, M., Dacheux, F., Dacheux, J.-L., 2005. Identification, proteomic profiling, and origin of ram epididymal fluid exosome-like vesicles. *Biol. Reprod.* 72, 1452–1465. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.036426>
- Gehrmann, U., Näslund, T.I., Hiltbrunner, S., Larssen, P., Gabrielsson, S., 2014. Harnessing the exosome-induced immune response for cancer immunotherapy. *Semin. Cancer Biol.* 28, 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2014.05.003>
- Genevois, A.-L., Ichim, G., Coissieux, M.-M., Lambert, M.-P., Laval, F., Goldschneider, D., Jarrosson-Wuilleme, L., Lepinasse, F., Gouysse, G., Herceg, Z., Scoazec, J.-Y., Tauszig-Delamasure, S., Mehlen, P., 2013. Dependence receptor TrkC is a putative colon cancer tumor suppressor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 3017–3022. <https://doi.org/10.1073/pnas.1212333110>
- Gerstner, E.R., Chen, P.-J., Wen, P.Y., Jain, R.K., Batchelor, T.T., Sorensen, G., 2010. Infiltrative patterns of glioblastoma spread detected via diffusion MRI after treatment with cediranib. *Neuro-Oncol.* 12, 466–472. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nop051>
- Giannini, C., Scheithauer, B.W., Weaver, A.L., Burger, P.C., Kros, J.M., Mork, S., Graeber, M.B., Bauserman, S., Buckner, J.C., Burton, J., Riepe, R., Tazelaar, H.D., Nascimento, A.G., Crotty, T., Keeney, G.L., Pernicone, P., Altermatt, H., 2001.

- Oligodendrogliomas: Reproducibility and Prognostic Value of Histologic Diagnosis and Grading. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 60, 248–262. <https://doi.org/10.1093/jnen/60.3.248>
- Gil, C., Cubí, R., Aguilera, J., 2007. Shedding of the p75NTR neurotrophin receptor is modulated by lipid rafts. *FEBS Lett.* 581, 1851–1858. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.03.080>
- Gilbert, M.R., Dignam, J.J., Armstrong, T.S., Wefel, J.S., Blumenthal, D.T., Vogelbaum, M.A., Colman, H., Chakravarti, A., Pugh, S., Won, M., Jeraj, R., Brown, P.D., Jaeckle, K.A., Schiff, D., Stieber, V.W., Brachman, D.G., Werner-Wasik, M., Tremont-Lukats, I.W., Sulman, E.P., Aldape, K.D., Curran, W.J., Mehta, M.P., 2014. A Randomized Trial of Bevacizumab for Newly Diagnosed Glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 370, 699–708. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1308573>
- Gilbertson, R.J., Rich, J.N., 2007. Making a tumour's bed: glioblastoma stem cells and the vascular niche. *Nat. Rev. Cancer* 7, 733–736. <https://doi.org/10.1038/nrc2246>
- Gimple, R.C., Bhargava, S., Dixit, D., Rich, J.N., 2019. Glioblastoma stem cells: lessons from the tumor hierarchy in a lethal cancer. *Genes Dev.* 33, 591–609. <https://doi.org/10.1101/gad.324301.119>
- Gingras, M.C., Roussel, E., Bruner, J.M., Branch, C.D., Moser, R.P., 1995. Comparison of cell adhesion molecule expression between glioblastoma multiforme and autologous normal brain tissue. *J. Neuroimmunol.* 57, 143–153. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(94\)00178-q](https://doi.org/10.1016/0165-5728(94)00178-q)
- Giraud, S., Lautrette, C., Bessette, B., Decourt, C., Mathonnet, M., Jauberteau, M.-O., 2005. Modulation of Fas-induced apoptosis by p75 neurotrophin receptor in a human neuroblastoma cell line. *Apoptosis Int. J. Program. Cell Death* 10, 1271–1283. <https://doi.org/10.1007/s10495-005-2649-6>
- Giraud, S., Loum, E., Bessette, B., Mathonnet, M., Lalloué, F., 2011. P75 neurotrophin receptor is sequestered in the Golgi apparatus of the U-87 MG human glioblastoma cell line. *Int. J. Oncol.* 38, 391–399. <https://doi.org/10.3892/ijo.2010.862>
- Giri, P.K., Schorey, J.S., 2008. Exosomes derived from M. Bovis BCG infected macrophages activate antigen-specific CD4+ and CD8+ T cells in vitro and in vivo. *PloS One* 3, e2461. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002461>
- Giusti, I., Delle Monache, S., Di Francesco, M., Sanità, P., D'Ascenzo, S., Gravina, G.L., Festuccia, C., Dolo, V., 2016. From glioblastoma to endothelial cells through extracellular vesicles: messages for angiogenesis. *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med.* 37, 12743–12753. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5165-0>
- Godlewski, J., Nowicki, M.O., Bronisz, A., Nuovo, G., Palatini, J., De Lay, M., Van Brocklyn, J., Ostrowski, M.C., Chiocca, E.A., Lawler, S.E., 2010. MicroRNA-451 regulates LKB1/AMPK signaling and allows adaptation to metabolic stress in glioma cells. *Mol. Cell* 37, 620–632. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.02.018>
- Goings, G.E., Kozlowski, D.A., Szele, F.G., 2006. Differential activation of microglia in neurogenic versus non-neurogenic regions of the forebrain. *Glia* 54, 329–342. <https://doi.org/10.1002/glia.20381>
- Gonda, D.D., Akers, J.C., Kim, R., Kalkanis, S.N., Hochberg, F.H., Chen, C.C., Carter, B.S., 2013. Neuro-oncologic applications of exosomes, microvesicles, and other nano-sized extracellular particles. *Neurosurgery* 72, 501–510. <https://doi.org/10.1227/NEU.0b013e3182846e63>
- Gong, B., Kiyotani, K., Sakata, S., Nagano, S., Kumehara, S., Baba, S., Besse, B., Yanagitani, N., Friboulet, L., Nishio, M., Takeuchi, K., Kawamoto, H., Fujita, N.,

- Katayama, R., 2019. Secreted PD-L1 variants mediate resistance to PD-L1 blockade therapy in non-small cell lung cancer. *J. Exp. Med.* 216, 982–1000. <https://doi.org/10.1084/jem.20180870>
- Gong, J., Chehrazi-Raffle, A., Reddi, S., Salgia, R., 2018. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations. *J. Immunother. Cancer* 6, 8. <https://doi.org/10.1186/s40425-018-0316-z>
- Gonzales, P.A., Zhou, H., Pisitkun, T., Wang, N.S., Star, R.A., Knepper, M.A., Yuen, P.S.T., 2010. Isolation and purification of exosomes in urine. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 641, 89–99. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-711-2_6
- Götz, R., Köster, R., Winkler, C., Raulf, F., Lottspeich, F., Scharf, M., Thoenen, H., 1994. Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth factor family. *Nature* 372, 266–269. <https://doi.org/10.1038/372266a0>
- Gould, G.W., Lippincott-Schwartz, J., 2009. New roles for endosomes: from vesicular carriers to multi-purpose platforms. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 10, 287–292. <https://doi.org/10.1038/nrm2652>
- Gourlay, J., Morokoff, A.P., Luwor, R.B., Zhu, H.-J., Kaye, A.H., Stylli, S.S., 2017. The emergent role of exosomes in glioma. *J. Clin. Neurosci. Off. J. Neurosurg. Soc. Australas.* 35, 13–23. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2016.09.021>
- Gregory, C.D., Pound, J.D., 2010. Microenvironmental influences of apoptosis in vivo and in vitro. *Apoptosis Int. J. Program. Cell Death* 15, 1029–1049. <https://doi.org/10.1007/s10495-010-0485-9>
- Grimaldi, A., Serpe, C., Chece, G., Nigro, V., Sarra, A., Ruzicka, B., Relucenti, M., Familiari, G., Ruocco, G., Pascucci, G.R., Guerrieri, F., Limatola, C., Catalano, M., 2019. Microglia-Derived Microvesicles Affect Microglia Phenotype in Glioma. *Front. Cell. Neurosci.* 13, 41. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00041>
- Guan, J., Lim, K.S., Mekhail, T., Chang, C.-C., 2017. Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) Expression in the Programmed Death Receptor-1 (PD-1)/PD-L1 Blockade: A Key Player Against Various Cancers. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 141, 851–861. <https://doi.org/10.5858/arpa.2016-0361-RA>
- Guay, C., Regazzi, R., 2017. Exosomes as new players in metabolic organ cross-talk. *Diabetes Obes. Metab.* 19 Suppl 1, 137–146. <https://doi.org/10.1111/dom.13027>
- H Rashed, M., Bayraktar, E., K Helal, G., Abd-Ellah, M.F., Amero, P., Chavez-Reyes, A., Rodriguez-Aguayo, C., 2017. Exosomes: From Garbage Bins to Promising Therapeutic Targets. *Int. J. Mol. Sci.* 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18030538>
- Hallal, S., Mallawaarachy, D.M., Wei, H., Ebrahimkhani, S., Stringer, B.W., Day, B.W., Boyd, A.W., Guillemin, G.J., Buckland, M.E., Kaufman, K.L., 2019. Extracellular Vesicles Released by Glioblastoma Cells Stimulate Normal Astrocytes to Acquire a Tumor-Supportive Phenotype Via p53 and MYC Signaling Pathways. *Mol. Neurobiol.* 56, 4566–4581. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1385-1>
- Hallböök, F., 1999. Evolution of the vertebrate neurotrophin and Trk receptor gene families. *Curr. Opin. Neurobiol.* 9, 616–621. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(99\)00011-2](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(99)00011-2)
- Hallböök, F., Ibáñez, C.F., Persson, H., 1991. Evolutionary studies of the nerve growth factor family reveal a novel member abundantly expressed in *Xenopus* ovary. *Neuron* 6, 845–858. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90180-8](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90180-8)
- Hamanishi, J., Mandai, M., Iwasaki, M., Okazaki, T., Tanaka, Y., Yamaguchi, K., Higuchi, T., Yagi, H., Takakura, K., Minato, N., Honjo, T., Fujii, S., 2007. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human

- ovarian cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 3360–3365. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611533104>
- Hambardzumyan, D., Bergers, G., 2015. Glioblastoma: Defining Tumor Niches. *Trends Cancer* 1, 252–265. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2015.10.009>
- Hamburger, V., Levi-Montalcini, R., 1949. Proliferation, differentiation and degeneration in the spinal ganglia of the chick embryo under normal and experimental conditions. *J. Exp. Zool.* 111, 457–501. <https://doi.org/10.1002/jez.1401110308>
- Han, F., Hu, R., Yang, H., Liu, J., Sui, J., Xiang, X., Wang, F., Chu, L., Song, S., 2016. PTEN gene mutations correlate to poor prognosis in glioma patients: a meta-analysis. *OncoTargets Ther.* 9, 3485–3492. <https://doi.org/10.2147/OTT.S99942>
- Han, J., Hong, Y., Lee, Y.S., 2017. PD-L1 Expression and Combined Status of PD-L1/PD-1-Positive Tumor Infiltrating Mononuclear Cell Density Predict Prognosis in Glioblastoma Patients. *J. Pathol. Transl. Med.* 51, 40–48. <https://doi.org/10.4132/jptm.2016.08.31>
- Han, S., Feng, S., Xu, L., Shi, W., Wang, X., Wang, H., Yu, C., Dong, T., Xu, M., Liang, G., 2014. Tim-3 on peripheral CD4⁺ and CD8⁺ T cells is involved in the development of glioma. *DNA Cell Biol.* 33, 245–250. <https://doi.org/10.1089/dna.2013.2306>
- Hanahan, D., Weinberg, R.A., 2011. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hanisch, U.-K., Kettenmann, H., 2007. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat. Neurosci.* 10, 8.
- Hanson, P.I., Cashikar, A., 2012. Multivesicular body morphogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 28, 337–362. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154152>
- Hantzopoulos, P.A., Suri, C., Glass, D.J., Goldfarb, M.P., Yancopoulos, G.D., 1994. The low affinity NGF receptor, p75, can collaborate with each of the Trks to potentiate functional responses to the neurotrophins. *Neuron* 13, 187–201. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(94\)90469-3](https://doi.org/10.1016/0896-6273(94)90469-3)
- Harding, C., Heuser, J., Stahl, P., 1984. Endocytosis and intracellular processing of transferrin and colloidal gold-transferrin in rat reticulocytes: demonstration of a pathway for receptor shedding. *Eur. J. Cell Biol.* 35, 256–263.
- Harding, C., Heuser, J., Stahl, P., 1983. Receptor-mediated endocytosis of transferrin and recycling of the transferrin receptor in rat reticulocytes. *J. Cell Biol.* 97, 329–339. <https://doi.org/10.1083/jcb.97.2.329>
- Hart, M.G., Grant, R., Garside, R., Rogers, G., Somerville, M., Stein, K., 2011. Chemotherapy wafers for high grade glioma. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD007294. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007294.pub2>
- Hawkins, B.T., Davis, T.P., 2005. The Blood-Brain Barrier/Neurovascular Unit in Health and Disease. *Pharmacol. Rev.* 57, 173–185. <https://doi.org/10.1124/pr.57.2.4>
- Haxhinasto, S., Mathis, D., Benoist, C., 2008. The AKT-mTOR axis regulates de novo differentiation of CD4⁺Foxp3⁺ cells. *J. Exp. Med.* 205, 565–574. <https://doi.org/10.1084/jem.20071477>
- He, J., Hu, Y., Hu, M., Li, B., 2015. Development of PD-1/PD-L1 Pathway in Tumor Immune Microenvironment and Treatment for Non-Small Cell Lung Cancer. *Sci. Rep.* 5, 13110. <https://doi.org/10.1038/srep13110>
- Heagerty, P.J., Lumley, T., Pepe, M.S., 2000. Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker. *Biometrics* 56, 337–344. <https://doi.org/10.1111/j.0006-341x.2000.00337.x>

- Heddleston, J.M., Li, Z., McLendon, R.E., Hjelmeland, A.B., Rich, J.N., 2009. The hypoxic microenvironment maintains glioblastoma stem cells and promotes reprogramming towards a cancer stem cell phenotype. *Cell Cycle Georget. Tex* 8, 3274–3284. <https://doi.org/10.4161/cc.8.20.9701>
- Hegi, M.E., Hamou, M.-F., de Tribolet, N., Kros, J.M., Mariani, L., Mirimanoff, R.O., Stupp, R., 2005. MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 7.
- Heimberger, A.B., Sampson, J.H., 2011. Immunotherapy coming of age: what will it take to make it standard of care for glioblastoma? *Neuro-Oncol.* 13, 3–13. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noq169>
- Hemler, M.E., 2003. Tetraspanin proteins mediate cellular penetration, invasion, and fusion events and define a novel type of membrane microdomain. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 19, 397–422. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.19.111301.153609>
- Hemmati, H.D., Nakano, I., Lazareff, J.A., Masterman-Smith, M., Geschwind, D.H., Bronner-Fraser, M., Kornblum, H.I., 2003. Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 15178–15183. <https://doi.org/10.1073/pnas.2036535100>
- Hempstead, B.L., 2014. Deciphering proneurotrophin actions. *Handb. Exp. Pharmacol.* 220, 17–32. https://doi.org/10.1007/978-3-642-45106-5_2
- Hempstead, B.L., 2002. The many faces of p75NTR. *Curr. Opin. Neurobiol.* 12, 260–267. [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(02\)00321-5](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(02)00321-5)
- Hempstead, B.L., Martin-Zanca, D., Kaplan, D.R., Parada, L.F., Chao, M.V., 1991. High-affinity NGF binding requires coexpression of the trk proto-oncogene and the low-affinity NGF receptor. *Nature* 350, 678–683. <https://doi.org/10.1038/350678a0>
- Henderson, J.T., Piquette-Miller, M., 2015. Blood-brain barrier: an impediment to neuropharmaceuticals. *Clin. Pharmacol. Ther.* 97, 308–313. <https://doi.org/10.1002/cpt.77>
- Herbst, R.S., Soria, J.-C., Kowanetz, M., Fine, G.D., Hamid, O., Gordon, M.S., Sosman, J.A., McDermott, D.F., Powderly, J.D., Gettinger, S.N., Kohrt, H.E.K., Horn, L., Lawrence, D.P., Rost, S., Leabman, M., Xiao, Y., Mokatrin, A., Koeppen, H., Hegde, P.S., Mellman, I., Chen, D.S., Hodi, F.S., 2014. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 515, 563–567. <https://doi.org/10.1038/nature14011>
- Herrmann, J.L., Menter, D.G., Hamada, J., Marchetti, D., Nakajima, M., Nicolson, G.L., 1993. Mediation of NGF-stimulated extracellular matrix invasion by the human melanoma low-affinity p75 neurotrophin receptor: melanoma p75 functions independently of trkA. *Mol. Biol. Cell* 4, 1205–1216. <https://doi.org/10.1091/mbc.4.11.1205>
- Herrup, K., Shooter, E.M., 1973. Properties of the beta nerve growth factor receptor of avian dorsal root ganglia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 70, 3884–3888. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3884>
- Heusermann, W., Hean, J., Trojer, D., Steib, E., von Bueren, S., Graff-Meyer, A., Genoud, C., Martin, K., Pizzato, N., Voshol, J., Morrissey, D.V., Andaloussi, S.E.L., Wood, M.J., Meisner-Kober, N.C., 2016. Exosomes surf on filopodia to enter cells at endocytic hot spots, traffic within endosomes, and are targeted to the ER. *J. Cell Biol.* 213, 173–184. <https://doi.org/10.1083/jcb.201506084>
- Hiddingh, L., Tannous, B.A., Teng, J., Tops, B., Jeuken, J., Hulleman, E., Boots-Sprenger, S.H., Vandertop, W.P., Noske, D.P., Kaspers, G.J.L., Wesseling, P., Wurdinger, T., 2014. EFEMP1 induces γ -secretase/Notch-mediated temozolomide resistance in glioblastoma. *Oncotarget* 5, 363–374. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.1620>

- Higuchi, H., Yamashita, T., Yoshikawa, H., Tohyama, M., 2003. PKA phosphorylates the p75 receptor and regulates its localization to lipid rafts. *EMBO J.* 22, 1790–1800. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg177>
- Hino, R., Kabashima, K., Kato, Y., Yagi, H., Nakamura, M., Honjo, T., Okazaki, T., Tokura, Y., 2010. Tumor cell expression of programmed cell death-1 ligand 1 is a prognostic factor for malignant melanoma. *Cancer* 116, 1757–1766. <https://doi.org/10.1002/cncr.24899>
- Hirano, F., Kaneko, K., Tamura, H., Dong, H., Wang, S., Ichikawa, M., Rietz, C., Flies, D.B., Lau, J.S., Zhu, G., Tamada, K., Chen, L., 2005. Blockade of B7-H1 and PD-1 by Monoclonal Antibodies Potentiates Cancer Therapeutic Immunity. *Cancer Res* 9.
- Hong, B.S., Cho, J.-H., Kim, H., Choi, E.-J., Rho, S., Kim, J., Kim, J.H., Choi, D.-S., Kim, Y.-K., Hwang, D., Gho, Y.S., 2009. Colorectal cancer cell-derived microvesicles are enriched in cell cycle-related mRNAs that promote proliferation of endothelial cells. *BMC Genomics* 10, 556. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-556>
- Hong, J., Peng, Y., Liao, Y., Jiang, W., Wei, R., Huo, L., Han, Z., Duan, C., Zhong, M., 2012. Nimotuzumab prolongs survival in patients with malignant gliomas: A phase I/II clinical study of concomitant radiochemotherapy with or without nimotuzumab. *Exp. Ther. Med.* 4, 151–157. <https://doi.org/10.3892/etm.2012.555>
- Hoshino, A., Costa-Silva, B., Shen, T.-L., Rodrigues, G., Hashimoto, A., Tesic Mark, M., Molina, H., Kohsaka, S., Di Giannatale, A., Ceder, S., Singh, S., Williams, C., Soplod, N., Uryu, K., Pharmed, L., King, T., Bojmar, L., Davies, A.E., Ararso, Y., Zhang, T., Zhang, H., Hernandez, J., Weiss, J.M., Dumont-Cole, V.D., Kramer, K., Wexler, L.H., Narendran, A., Schwartz, G.K., Healey, J.H., Sandstrom, P., Labori, K.J., Kure, E.H., Grandgenett, P.M., Hollingsworth, M.A., de Sousa, M., Kaur, S., Jain, M., Mallya, K., Batra, S.K., Jarnagin, W.R., Brady, M.S., Fodstad, O., Muller, V., Pantel, K., Minn, A.J., Bissell, M.J., Garcia, B.A., Kang, Y., Rajasekhar, V.K., Ghajar, C.M., Matei, I., Peinado, H., Bromberg, J., Lyden, D., 2015. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. *Nature* 527, 329–335. <https://doi.org/10.1038/nature15756>
- Hou, L., Jiang, J., Liu, B., Han, W., Wu, Y., Zou, X., Nasca, P.C., Xue, F., Chen, Y., Zhang, B., Pang, H., Wang, Y., Wang, Z., Li, J., 2016. Smoking and adult glioma: a population-based case-control study in China. *Neuro-Oncol.* 18, 105–113. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov146>
- Hou, L.C., Veeravagu, A., Hsu, A.R., Tse, V.C.K., 2006. Recurrent glioblastoma multiforme: a review of natural history and management options. *Neurosurg. Focus* 20, E5. <https://doi.org/10.3171/foc.2006.20.4.2>
- Howitt, J., Hill, A.F., 2016. Exosomes in the Pathology of Neurodegenerative Diseases. *J. Biol. Chem.* 291, 26589–26597. <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.757955>
- Hsu, C., Morohashi, Y., Yoshimura, S.-I., Manrique-Hoyos, N., Jung, S., Lauterbach, M.A., Bakhti, M., Grønberg, M., Möbius, W., Rhee, J., Barr, F.A., Simons, M., 2010. Regulation of exosome secretion by Rab35 and its GTPase-activating proteins TBC1D10A-C. *J. Cell Biol.* 189, 223–232. <https://doi.org/10.1083/jcb.200911018>
- Hu, Y., Yan, C., Mu, L., Huang, K., Li, X., Tao, D., Wu, Y., Qin, J., 2015. Fibroblast-Derived Exosomes Contribute to Chemoresistance through Priming Cancer Stem Cells in Colorectal Cancer. *PloS One* 10, e0125625. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125625>
- Hu, Z.-L., Luo, C., Hurtado, P.R., Li, H., Wang, S., Hu, B., Xu, J.-M., Liu, Y., Feng, S.-Q., Hurtado-Perez, E., Chen, K., Zhou, X.-F., Li, C.-Q., Dai, R.-P., 2021. Brain-derived neurotrophic factor precursor in the immune system is a novel target for treating multiple sclerosis. *Theranostics* 11, 715–730. <https://doi.org/10.7150/thno.51390>

- Huang, A.C., Postow, M.A., Orlowski, R.J., Mick, R., Bengsch, B., Manne, S., Xu, W., Harmon, S., Giles, J.R., Wenz, B., Adamow, M., Kuk, D., Panageas, K.S., Carrera, C., Wong, P., Quagliarello, F., Wubbenhorst, B., D'Andrea, K., Pauken, K.E., Herati, R.S., Staupe, R.P., Schenkel, J.M., McGettigan, S., Kothari, S., George, S.M., Vonderheide, R.H., Amaravadi, R.K., Karakousis, G.C., Schuchter, L.M., Xu, X., Nathanson, K.L., Wolchok, J.D., Gangadhar, T.C., Wherry, E.J., 2017. T-cell invigoration to tumour burden ratio associated with anti-PD-1 response. *Nature* 545, 60–65. <https://doi.org/10.1038/nature22079>
- Huang, E.J., Reichardt, L.F., 2003. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu. Rev. Biochem.* 72, 609–642. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.72.121801.161629>
- Huang, E.J., Reichardt, L.F., 2001. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu. Rev. Neurosci.* 24, 677–736. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.677>
- Huang, Y., Liu, K., Li, Q., Yao, Y., Wang, Y., 2018. Exosomes Function in Tumor Immune Microenvironment, in: Mettinger, K.L., Rameshwar, P., Kumar, V. (Eds.), *Exosomes, Stem Cells and MicroRNA, Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer International Publishing, Cham, pp. 109–122. https://doi.org/10.1007/978-3-319-74470-4_7
- Huncharek, M., Kupelnick, B., Wheeler, L., 2003. Dietary cured meat and the risk of adult glioma: a meta-analysis of nine observational studies. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. Off. Organ Int. Soc. Environ. Toxicol. Cancer* 22, 129–137. <https://doi.org/10.1615/jenvpathtoxoncol.v22.i2.60>
- Hurley, J.H., 2010. The ESCRT complexes. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 45, 463–487. <https://doi.org/10.3109/10409238.2010.502516>
- Hurley, J.H., Hanson, P.I., 2010. Membrane budding and scission by the ESCRT machinery: it's all in the neck. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 11, 556–566. <https://doi.org/10.1038/nrm2937>
- Iacob, G., Dinca, E.B., Davila, C., 2009. Current data and strategy in glioblastoma multiforme 2, 8.
- Iacovelli, R., Nolè, F., Verri, E., Renne, G., Paglino, C., Santoni, M., Cossu Rocca, M., Giglione, P., Aurilio, G., Cullurà, D., Cascinu, S., Porta, C., 2016. Prognostic Role of PD-L1 Expression in Renal Cell Carcinoma. A Systematic Review and Meta-Analysis. *Target. Oncol.* 11, 143–148. <https://doi.org/10.1007/s11523-015-0392-7>
- Ibáñez, C.F., 1995. Neurotrophic factors: from structure-function studies to designing effective therapeutics. *Trends Biotechnol.* 13, 217–227. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(00\)88949-0](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(00)88949-0)
- Ichinose, M., J, M., T, S., T, M., K, T., 2001. Fas ligand expression and depletion of T-cell infiltration in astrocytic tumors. *Brain Tumor Pathol.* 18. <https://doi.org/10.1007/BF02478923>
- Inda, M. -d.-M., Bonavia, R., Mukasa, A., Narita, Y., Sah, D.W.Y., Vandenberg, S., Brennan, C., Johns, T.G., Bachoo, R., Hadwiger, P., Tan, P., DePinho, R.A., Cavenee, W., Furnari, F., 2010. Tumor heterogeneity is an active process maintained by a mutant EGFR-induced cytokine circuit in glioblastoma. *Genes Dev.* 24, 1731–1745. <https://doi.org/10.1101/gad.1890510>
- Inozume, T., Hanada, K.-I., Wang, Q.J., Ahmadzadeh, M., Wunderlich, J.R., Rosenberg, S.A., Yang, J.C., 2010. Selection of CD8+PD-1+ lymphocytes in fresh human melanomas enriches for tumor-reactive T cells. *J. Immunother. Hagerstown Md* 1997 33, 956–964. <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e3181fad2b0>

- Irion, U., St Johnston, D., 2007. bicoid RNA localization requires specific binding of an endosomal sorting complex. *Nature* 445, 554–558. <https://doi.org/10.1038/nature05503>
- Ishida, Y., Agata, Y., Shibahara, K., Honjo, T., 1992. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J.* 11, 3887–3895.
- Ishii, N., Maier, D., Merlo, A., Tada, M., Sawamura, Y., Diserens, A.-C., Van Meir, E.G., 1999. Frequent Co-Alterations of *TP53*, *p16/CDKN2A*, *p14^{ARF}*, *PTEN* Tumor Suppressor Genes in Human Glioma Cell Lines. *Brain Pathol.* 9, 469–479. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1999.tb00536.x>
- Ismail, N., Wang, Y., Dakhallah, D., Moldovan, L., Agarwal, K., Batte, K., Shah, P., Wisler, J., Eubank, T.D., Tridandapani, S., Paulaitis, M.E., Piper, M.G., Marsh, C.B., 2013. Macrophage microvesicles induce macrophage differentiation and miR-223 transfer. *Blood* 121, 984–995. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-374793>
- Iwamoto, F.M., Lamborn, K.R., Kuhn, J.G., Wen, P.Y., Alfred Yung, W.K., Gilbert, M.R., Chang, S.M., Lieberman, F.S., Prados, M.D., Fine, H.A., 2011. A phase I/II trial of the histone deacetylase inhibitor romidepsin for adults with recurrent malignant glioma: North American Brain Tumor Consortium Study 03-03. *Neuro-Oncol.* 13, 509–516. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nor017>
- Jackson, E.L., Garcia-Verdugo, J.M., Gil-Perotin, S., Roy, M., Quinones-Hinojosa, A., VandenBerg, S., Alvarez-Buylla, A., 2006. PDGFR α -Positive B Cells Are Neural Stem Cells in the Adult SVZ that Form Glioma-like Growths in Response to Increased PDGF Signaling. *Neuron* 51, 187–199. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.06.012>
- Jackson, R.J., Fuller, G.N., Abi-Said, D., Lang, F.F., Gokaslan, Z.L., Shi, W.M., Wildrick, D.M., Sawaya, R., 2001. Limitations of stereotactic biopsy in the initial management of gliomas. *Neuro-Oncol.* 3, 193–200. <https://doi.org/10.1093/neuonc/3.3.193>
- Jahangiri, A., Chin, A.T., Flanigan, P.M., Chen, R., Bankiewicz, K., Aghi, M.K., 2017. Convection-enhanced delivery in glioblastoma: a review of preclinical and clinical studies. *J. Neurosurg.* 126, 191–200. <https://doi.org/10.3171/2016.1.JNS151591>
- Jahn, R., Scheller, R.H., 2006. SNAREs--engines for membrane fusion. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7, 631–643. <https://doi.org/10.1038/nrm2002>
- Jaiswal, J.K., Andrews, N.W., Simon, S.M., 2002. Membrane proximal lysosomes are the major vesicles responsible for calcium-dependent exocytosis in nonsecretory cells. *J. Cell Biol.* 159, 625–635. <https://doi.org/10.1083/jcb.200208154>
- Jansen, P., Giehl, K., Nyengaard, J.R., Teng, K., Lioubinski, O., Sjoegaard, S.S., Breiderhoff, T., Gotthardt, M., Lin, F., Eilers, A., Petersen, C.M., Lewin, G.R., Hempstead, B.L., Willnow, T.E., Nykjaer, A., 2007. Roles for the pro-neurotrophin receptor sortilin in neuronal development, aging and brain injury. *Nat. Neurosci.* 10, 1449–1457. <https://doi.org/10.1038/nn2000>
- Jawhari, S., Bessette, B., Hombourger, S., Durand, K., Lacroix, A., Labrousse, F., Jauberteau, M.-O., Ratinaud, M.-H., Verdier, M., 2017. Autophagy and TrkC/NT-3 signaling joined forces boost the hypoxic glioblastoma cell survival. *Carcinogenesis* 38, 592–603. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgx029>
- Jenkins, R.W., Barbie, D.A., Flaherty, K.T., 2018. Mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors. *Br. J. Cancer* 118, 9–16. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.434>
- Jiang, C., 2011. LY294002 enhances cytotoxicity of temozolomide in glioma by down-regulation of the PI3K/Akt pathway. *Mol. Med. Rep.* <https://doi.org/10.3892/mmr.2011.674>

- Jiang, Y., Chen, M., Nie, H., Yuan, Y., 2019. PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations. *Hum. Vaccines Immunother.* 15, 1111–1122. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1571892>
- Jiménez, A.J., Domínguez-Pinos, M.-D., Guerra, M.M., Fernández-Llebreg, P., Pérez-Fígares, J.-M., 2014. Structure and function of the ependymal barrier and diseases associated with ependyma disruption. *Tissue Barriers* 2, e28426. <https://doi.org/10.4161/tisb.28426>
- Jin, H., Pan, Y., He, L., Zhai, H., Li, X., Zhao, L., Sun, L., Liu, J., Hong, L., Song, J., Xie, H., Gao, J., Han, S., Li, Y., Fan, D., 2007a. p75 neurotrophin receptor inhibits invasion and metastasis of gastric cancer. *Mol. Cancer Res. MCR* 5, 423–433. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-06-0407>
- Jin, H., Pan, Y., Zhao, L., Zhai, H., Li, X., Sun, L., He, L., Chen, Y., Hong, L., Du, Y., Fan, D., 2007b. p75 neurotrophin receptor suppresses the proliferation of human gastric cancer cells. *Neoplasia N. Y. N* 9, 471–478. <https://doi.org/10.1593/neo.07175>
- Joensuu, H., Puputti, M., Sihto, H., Tynnenen, O., Nupponen, N.N., 2005. Amplification of genes encoding KIT, PDGFRalpha and VEGFR2 receptor tyrosine kinases is frequent in glioblastoma multiforme. *J. Pathol.* 207, 224–231. <https://doi.org/10.1002/path.1823>
- Johansson, G., Andersson, U., Melin, B., 2016. Recent developments in brain tumor predisposing syndromes. *Acta Oncol.* 55, 401–411. <https://doi.org/10.3109/0284186X.2015.1107190>
- Johns, T.G., Luwor, R.B., Murone, C., Walker, F., Weinstock, J., Vitali, A.A., Perera, R.M., Jungbluth, A.A., Stockert, E., Old, L.J., Nice, E.C., Burgess, A.W., Scott, A.M., 2003. Antitumor efficacy of cytotoxic drugs and the monoclonal antibody 806 is enhanced by the EGF receptor inhibitor AG1478. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 15871–15876. <https://doi.org/10.1073/pnas.2036503100>
- Johnson, D.R., Fogh, S.E., Giannini, C., Kaufmann, T.J., Raghunathan, A., Theodosopoulos, P.V., Clarke, J.L., 2015. Case-Based Review: newly diagnosed glioblastoma. *Neuro-Oncol. Pract.* 2, 106–121. <https://doi.org/10.1093/nop/npv020>
- Johnson, E.M., Taniuchi, M., 1987. Nerve growth factor (NGF) receptors in the central nervous system. *Biochem. Pharmacol.* 36, 4189–4195. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(87\)90658-7](https://doi.org/10.1016/0006-2952(87)90658-7)
- Johnston, A.L.M., Lun, X., Rahn, J.J., Liacini, A., Wang, L., Hamilton, M.G., Parney, I.F., Hempstead, B.L., Robbins, S.M., Forsyth, P.A., Senger, D.L., 2007. The p75 neurotrophin receptor is a central regulator of glioma invasion. *PLoS Biol.* 5, e212. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050212>
- Joseph, J.V., Conroy, S., Pavlov, K., Sontakke, P., Tomar, T., Eggens-Meijer, E., Balasubramaniyan, V., Wagemakers, M., den Dunnen, W.F.A., Kruyt, F.A.E., 2015. Hypoxia enhances migration and invasion in glioblastoma by promoting a mesenchymal shift mediated by the HIF1 α -ZEB1 axis. *Cancer Lett.* 359, 107–116. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.01.010>
- Juan, T., Fürthauer, M., 2018. Biogenesis and function of ESCRT-dependent extracellular vesicles. *Semin. Cell Dev. Biol.* 74, 66–77. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2017.08.022>
- Kabat, G.C., Etgen, A.M., Rohan, T.E., 2010. Do Steroid Hormones Play a Role in the Etiology of Glioma? *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 19, 2421–2427. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-10-0658>

- Kamerkar, S., LeBleu, V.S., Sugimoto, H., Yang, S., Ruivo, C.F., Melo, S.A., Lee, J.J., Kalluri, R., 2017. Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature* 546, 498–503. <https://doi.org/10.1038/nature22341>
- Kamphorst, A.O., Wieland, A., Nasti, T., Yang, S., Zhang, R., Barber, D.L., Konieczny, B.T., Daugherty, C.Z., Koenig, L., Yu, K., Sica, G.L., Sharpe, A.H., Freeman, G.J., Blazar, B.R., Turka, L.A., Owonikoko, T.K., Pillai, R.N., Ramalingam, S.S., Araki, K., Ahmed, R., 2017. Rescue of exhausted CD8 T cells by PD-1-targeted therapies is CD28-dependent. *Science* 355, 1423–1427. <https://doi.org/10.1126/science.aaf0683>
- Kamran, N., Kadiyala, P., Saxena, M., Candolfi, M., Li, Y., Moreno-Ayala, M.A., Raja, N., Shah, D., Lowenstein, P.R., Castro, M.G., 2017. Immunosuppressive Myeloid Cells' Blockade in the Glioma Microenvironment Enhances the Efficacy of Immune-Stimulatory Gene Therapy. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 25, 232–248. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2016.10.003>
- Kaplan, D.R., Hempstead, B.L., Martin-Zanca, D., Chao, M.V., Parada, L.F., 1991. The *trk* proto-oncogene product: a signal transducing receptor for nerve growth factor. *Science* 252, 554–558. <https://doi.org/10.1126/science.1850549>
- Karandikar, N.J., Vanderlugt, C.L., Bluestone, J.A., Miller, S.D., 1998. Targeting the B7/CD28:CTLA-4 costimulatory system in CNS autoimmune disease. *J. Neuroimmunol.* 89, 10–18. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(98\)00058-7](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(98)00058-7)
- Karlsson, P., Holmberg, E., Lundell, M., Mattsson, A., Holm, L.-E., Wallgren, A., 1998. Intracranial Tumors after Exposure to Ionizing Radiation during Infancy: A Pooled Analysis of Two Swedish Cohorts of 28,008 Infants with Skin Hemangioma. *Radiat. Res.* 150, 357. <https://doi.org/10.2307/3579984>
- Kastenhuber, E.R., Lowe, S.W., 2017. Putting p53 in Context. *Cell* 170, 1062–1078. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.028>
- Katsuda, T., Kosaka, N., Takeshita, F., Ochiya, T., 2013. The therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles. *Proteomics* 13, 1637–1653. <https://doi.org/10.1002/pmic.201200373>
- Katzmann, D.J., Stefan, C.J., Babst, M., Emr, S.D., 2003. Vps27 recruits ESCRT machinery to endosomes during MVB sorting. *J. Cell Biol.* 162, 413–423. <https://doi.org/10.1083/jcb.200302136>
- Kaur, S., Chang, T., Singh, S.P., Lim, L., Mannan, P., Garfield, S.H., Pendrak, M.L., Soto-Pantoja, D.R., Rosenberg, A.Z., Jin, S., Roberts, D.D., 2014. CD47 signaling regulates the immunosuppressive activity of VEGF in T cells. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 193, 3914–3924. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1303116>
- Keerthikumar, S., Chisanga, D., Ariyaratne, D., Al Saffar, H., Anand, S., Zhao, K., Samuel, M., Pathan, M., Jois, M., Chilamkurti, N., Gangoda, L., Mathivanan, S., 2016. ExoCarta: A Web-Based Compendium of Exosomal Cargo. *J. Mol. Biol.* 428, 688–692. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.09.019>
- Keir, M.E., Butte, M.J., Freeman, G.J., Sharpe, A.H., 2008. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 26, 677–704. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331>
- Keller, S., Ridinger, J., Rupp, A.-K., Janssen, J.W.G., Altevogt, P., 2011. Body fluid derived exosomes as a novel template for clinical diagnostics. *J. Transl. Med.* 9, 86. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-86>
- Keller, S., Sanderson, M.P., Stoeck, A., Altevogt, P., 2006. Exosomes: from biogenesis and secretion to biological function. *Immunol. Lett.* 107, 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2006.09.005>

- Kemper, K., Sprick, M.R., de Bree, M., Scopelliti, A., Vermeulen, L., Hoek, M., Zeilstra, J., Pals, S.T., Mehmet, H., Stassi, G., Medema, J.P., 2010. The AC133 epitope, but not the CD133 protein, is lost upon cancer stem cell differentiation. *Cancer Res.* 70, 719–729. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1820>
- Kermani, P., Hempstead, B., 2007. Brain-derived neurotrophic factor: a newly described mediator of angiogenesis. *Trends Cardiovasc. Med.* 17, 140–143. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2007.03.002>
- Kermani, P., Rafii, D., Jin, D.K., Whitlock, P., Schaffer, W., Chiang, A., Vincent, L., Friedrich, M., Shido, K., Hackett, N.R., Crystal, R.G., Rafii, S., Hempstead, B.L., 2005. Neurotrophins promote revascularization by local recruitment of TrkB+ endothelial cells and systemic mobilization of hematopoietic progenitors. *J. Clin. Invest.* 115, 653–663. <https://doi.org/10.1172/JCI22655>
- Kernohan, J.W., Mabon, R.F., 1949. A simplified classification of the gliomas. *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* 24, 71–75.
- Kettenmann, H., Hanisch, U.-K., Noda, M., Verkhratsky, A., 2011. Physiology of Microglia. *Physiol. Rev.* 91, 461–553. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2010>
- Khursigara, G., Bertin, J., Yano, H., Moffett, H., DiStefano, P.S., Chao, M.V., 2001. A prosurvival function for the p75 receptor death domain mediated via the caspase recruitment domain receptor-interacting protein 2. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 21, 5854–5863.
- Khursigara, G., Orlinick, J.R., Chao, M.V., 1999. Association of the p75 neurotrophin receptor with TRAF6. *J. Biol. Chem.* 274, 2597–2600. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.5.2597>
- Khwaja, F., Tabassum, A., Allen, J., Djakiew, D., 2006. The p75(NTR) tumor suppressor induces cell cycle arrest facilitating caspase mediated apoptosis in prostate tumor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 341, 1184–1192. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.01.073>
- Kim, J., Lee, I.-H., Cho, H.J., Park, C.-K., Jung, Y.-S., Kim, Y., Nam, S.H., Kim, B.S., Johnson, M.D., Kong, D.-S., Seol, H.J., Lee, J.-I., Joo, K.M., Yoon, Y., Park, W.-Y., Lee, J., Park, P.J., Nam, D.-H., 2015. Spatiotemporal Evolution of the Primary Glioblastoma Genome. *Cancer Cell* 28, 318–328. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.07.013>
- Kim, J., Villadsen, R., Sørli, T., Fogh, L., Grønlund, S.Z., Fridriksdottir, A.J., Kuhn, I., Rank, F., Wielenga, V.T., Solvang, H., Edwards, P.A.W., Børresen-Dale, A.-L., Rønnevig-Jessen, L., Bissell, M.J., Petersen, O.W., 2012. Tumor initiating but differentiated luminal-like breast cancer cells are highly invasive in the absence of basal-like activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 6124–6129. <https://doi.org/10.1073/pnas.1203203109>
- Kim, J., Woo, A.J., Chu, J., Snow, J.W., Fujiwara, Y., Kim, C.G., Cantor, A.B., Orkin, S.H., 2010. A Myc network accounts for similarities between embryonic stem and cancer cell transcription programs. *Cell* 143, 313–324. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.09.010>
- Kim, K.M., Abdelmohsen, K., Mustapic, M., Kapogiannis, D., Gorospe, M., 2017. RNA in extracellular vesicles. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA* 8. <https://doi.org/10.1002/wrna.1413>
- Kinter, A.L., Godbout, E.J., McNally, J.P., Sereti, I., Roby, G.A., O’Shea, M.A., Fauci, A.S., 2008. The common gamma-chain cytokines IL-2, IL-7, IL-15, and IL-21 induce the expression of programmed death-1 and its ligands. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 181, 6738–6746. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.10.6738>

- Kitai, Y., Kawasaki, T., Sueyoshi, T., Kobiyama, K., Ishii, K.J., Zou, J., Akira, S., Matsuda, T., Kawai, T., 2017. DNA-Containing Exosomes Derived from Cancer Cells Treated with Topotecan Activate a STING-Dependent Pathway and Reinforce Antitumor Immunity. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 198, 1649–1659. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1601694>
- Kleihues, P., Burger, P.C., Scheithauer, B.W., 1993. *Histological Typing of Tumours of the Central Nervous System*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-84988-6>
- Kleihues, P., Louis, D.N., Scheithauer, B.W., Rorke, L.B., Reifenberger, G., Burger, P.C., Cavenee, W.K., 2002. The WHO Classification of Tumors of the Nervous System. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 61, 215–225. <https://doi.org/10.1093/jnen/61.3.215>
- Kleihues, P., Ohgaki, H., 1999. Primary and secondary glioblastomas: from concept to clinical diagnosis. *Neuro-Oncol.* 1, 44–51. <https://doi.org/10.1093/neuonc/1.1.44>
- Kleihues, P., Sobin, L.H., 2000. World Health Organization classification of tumors. *Cancer* 88, 2887. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(20000615\)88:12<2887::aid-cnrcr32>3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/1097-0142(20000615)88:12<2887::aid-cnrcr32>3.0.co;2-f)
- Klein, R., Conway, D., Parada, L.F., Barbacid, M., 1990. The trkB tyrosine protein kinase gene codes for a second neurogenic receptor that lacks the catalytic kinase domain. *Cell* 61, 647–656. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90476-u](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90476-u)
- Klein, R., Jing, S.Q., Nanduri, V., O'Rourke, E., Barbacid, M., 1991a. The trk proto-oncogene encodes a receptor for nerve growth factor. *Cell* 65, 189–197. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90419-y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90419-y)
- Klein, R., Nanduri, V., Jing, S.A., Lamballe, F., Tapley, P., Bryant, S., Cordon-Cardo, C., Jones, K.R., Reichardt, L.F., Barbacid, M., 1991b. The trkB tyrosine protein kinase is a receptor for brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3. *Cell* 66, 395–403. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90628-c](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90628-c)
- Klein, R., Parada, L.F., Coulier, F., Barbacid, M., 1989. trkB, a novel tyrosine protein kinase receptor expressed during mouse neural development. *EMBO J.* 8, 3701–3709.
- Klekner, Á., Szivos, L., Virga, J., Árkosy, P., Bognár, L., Birkó, Z., Nagy, B., 2019. Significance of liquid biopsy in glioblastoma - A review. *J. Biotechnol.* 298, 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.04.011>
- Klumperman, J., Raposo, G., 2014. The complex ultrastructure of the endolysosomal system. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 6, a016857. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016857>
- Knobbe, C.B., Reifenberger, G., 2003. Genetic alterations and aberrant expression of genes related to the phosphatidylinositol-3'-kinase/protein kinase B (Akt) signal transduction pathway in glioblastomas. *Brain Pathol. Zurich Switz.* 13, 507–518. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2003.tb00481.x>
- Koles, K., Budnik, V., 2012. Exosomes go with the Wnt. *Cell. Logist.* 2, 169–173. <https://doi.org/10.4161/cl.21981>
- Kostelansky, M.S., Schluter, C., Tam, Y.Y.C., Lee, S., Ghirlando, R., Beach, B., Conibear, E., Hurley, J.H., 2007. Molecular architecture and functional model of the complete yeast ESCRT-I heterotetramer. *Cell* 129, 485–498. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.016>
- Krajewska, M., Krajewski, S., Zapata, J.M., Van Arsdale, T., Gascoyne, R.D., Berern, K., McFadden, D., Shabaik, A., Hugh, J., Reynolds, A., Clevenger, C.V., Reed, J.C., 1998. TRAF-4 expression in epithelial progenitor cells. Analysis in normal adult, fetal, and tumor tissues. *Am. J. Pathol.* 152, 1549–1561.

- Krakstad, C., Chekenya, M., 2010. Survival signalling and apoptosis resistance in glioblastomas: opportunities for targeted therapeutics. *Mol. Cancer* 9, 135. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-135>
- Krämer-Albers, E.-M., Bretz, N., Tenzer, S., Winterstein, C., Möbius, W., Berger, H., Nave, K.-A., Schild, H., Trotter, J., 2007. Oligodendrocytes secrete exosomes containing major myelin and stress-protective proteins: Trophic support for axons? *Proteomics Clin. Appl.* 1, 1446–1461. <https://doi.org/10.1002/prca.200700522>
- Kraus, J.A., Glesmann, N., Beck, M., Krex, D., Klockgether, T., Schackert, G., Schlegel, U., 2000. Molecular analysis of the PTEN, TP53 and CDKN2A tumor suppressor genes in long-term survivors of glioblastoma multiforme. *J. Neurooncol.* 48, 89–94. <https://doi.org/10.1023/a:1006402614838>
- Kros, J.M., Mustafa, D.M., Dekker, L.J.M., Silveis Smitt, P.A.E., Luider, T.M., Zheng, P.-P., 2015. Circulating glioma biomarkers. *Neuro-Oncol.* 17, 343–360. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou207>
- Kucharzewska, P., Christianson, H.C., Welch, J.E., Svensson, K.J., Fredlund, E., Ringnér, M., Mörgelin, M., Bourseau-Guilmain, E., Bengzon, J., Belting, M., 2013. Exosomes reflect the hypoxic status of glioma cells and mediate hypoxia-dependent activation of vascular cells during tumor development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 7312–7317. <https://doi.org/10.1073/pnas.1220998110>
- Kudo, M., Jono, H., Shinriki, S., Yano, S., Nakamura, H., Makino, K., Hide, T., Muta, D., Ueda, M., Ota, K., Ando, Y., Kuratsu, J.-I., 2009. Antitumor effect of humanized anti-interleukin-6 receptor antibody (tocilizumab) on glioma cell proliferation. *Laboratory investigation. J. Neurosurg.* 111, 219–225. <https://doi.org/10.3171/2008.12.JNS081284>
- Kurywchak, P., Tavormina, J., Kalluri, R., 2018. The emerging roles of exosomes in the modulation of immune responses in cancer. *Genome Med.* 10, 23. <https://doi.org/10.1186/s13073-018-0535-4>
- la Fougere, C., Suchorska, B., Bartenstein, P., Kreth, F.-W., Tonn, J.-C., 2011. Molecular imaging of gliomas with PET: Opportunities and limitations. *Neuro-Oncol.* 13, 806–819. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nor054>
- Lachenal, G., Pernet-Gallay, K., Chivet, M., Hemming, F.J., Belly, A., Bodon, G., Blot, B., Haase, G., Goldberg, Y., Sadoul, R., 2011. Release of exosomes from differentiated neurons and its regulation by synaptic glutamatergic activity. *Mol. Cell. Neurosci.* 46, 409–418. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2010.11.004>
- Lai, K.O., Fu, W.Y., Ip, F.C., Ip, N.Y., 1998. Cloning and expression of a novel neurotrophin, NT-7, from carp. *Mol. Cell. Neurosci.* 11, 64–76. <https://doi.org/10.1006/mcne.1998.0666>
- Lamballe, F., Klein, R., Barbacid, M., 1991. trkC, a new member of the trk family of tyrosine protein kinases, is a receptor for neurotrophin-3. *Cell* 66, 967–979. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90442-2](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90442-2)
- Lamparski, H.G., Metha-Damani, A., Yao, J.-Y., Patel, S., Hsu, D.-H., Rugg, C., Le Pecq, J.-B., 2002. Production and characterization of clinical grade exosomes derived from dendritic cells. *J. Immunol. Methods* 270, 211–226. [https://doi.org/10.1016/s0022-1759\(02\)00330-7](https://doi.org/10.1016/s0022-1759(02)00330-7)
- Lapidot, T., Sirard, C., Vormoor, J., Murdoch, B., Hoang, T., Caceres-Cortes, J., Minden, M., Paterson, B., Caligiuri, M.A., Dick, J.E., 1994. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 367, 645–648. <https://doi.org/10.1038/367645a0>

- Lastwika, K.J., Wilson, W., Li, Q.K., Norris, J., Xu, H., Ghazarian, S.R., Kitagawa, H., Kawabata, S., Taube, J.M., Yao, S., Liu, L.N., Gills, J.J., Dennis, P.A., 2016. Control of PD-L1 Expression by Oncogenic Activation of the AKT-mTOR Pathway in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Res.* 76, 227–238. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3362>
- Latchman, Y., Wood, C.R., Chernova, T., Chaudhary, D., Borde, M., Chernova, I., Iwai, Y., Long, A.J., Brown, J.A., Nunes, R., Greenfield, E.A., Bourque, K., Bousiotis, V.A., Carter, L.L., Carreno, B.M., Malenkovich, N., Nishimura, H., Okazaki, T., Honjo, T., Sharpe, A.H., Freeman, G.J., 2001. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat. Immunol.* 2, 261–268. <https://doi.org/10.1038/85330>
- Lathia, J.D., Gallagher, J., Heddleston, J.M., Wang, J., Eyler, C.E., Macswords, J., Wu, Q., Vasanthi, A., McLendon, R.E., Hjelmeland, A.B., Rich, J.N., 2010. Integrin alpha 6 regulates glioblastoma stem cells. *Cell Stem Cell* 6, 421–432. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.02.018>
- Lathia, J.D., Mack, S.C., Mulkearns-Hubert, E.E., Valentim, C.L.L., Rich, J.N., 2015. Cancer stem cells in glioblastoma. *Genes Dev.* 29, 1203–1217. <https://doi.org/10.1101/gad.261982.115>
- Laulagnier, K., Javalet, C., Hemming, F.J., Chivet, M., Lachenal, G., Blot, B., Chatellard, C., Sadoul, R., 2018. Amyloid precursor protein products concentrate in a subset of exosomes specifically endocytosed by neurons. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 75, 757–773. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2664-0>
- Lawler, S.E., Nowicki, M.O., Ricklefs, F.L., Chiocca, E.A., 2020. Immune Escape Mediated by Exosomal PD-L1 in Cancer. *Adv. Biosyst.* 2000017. <https://doi.org/10.1002/adbi.202000017>
- Lawn, S., Krishna, N., Pisklakova, A., Qu, X., Fenstermacher, D.A., Fournier, M., Vrionis, F.D., Tran, N., Chan, J.A., Kenchappa, R.S., Forsyth, P.A., 2015. Neurotrophin signaling via TrkB and TrkC receptors promotes the growth of brain tumor-initiating cells. *J. Biol. Chem.* 290, 3814–3824. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.599373>
- Le, M.T.N., Hamar, P., Guo, C., Basar, E., Perdigão-Henriques, R., Balaj, L., Lieberman, J., 2014. miR-200-containing extracellular vesicles promote breast cancer cell metastasis. *J. Clin. Invest.* 124, 5109–5128. <https://doi.org/10.1172/JCI75695>
- Lee, M.Y., Giraddi, R.R., Tam, W.L., 2019. Cancer Stem Cells: Concepts, Challenges, and Opportunities for Cancer Therapy. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 2005, 43–66. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9524-0_4
- Lee, R., Kermani, P., Teng, K.K., Hempstead, B.L., 2001. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* 294, 1945–1948. <https://doi.org/10.1126/science.1065057>
- Lee, S., Mattingly, A., Lin, A., Sacramento, J., Mannent, L., Castel, M.-N., Canolle, B., Delbary-Gossart, S., Ferzaz, B., Morganti, J.M., Rosi, S., Ferguson, A.R., Manley, G.T., Bresnahan, J.C., Beattie, M.S., 2016. A novel antagonist of p75NTR reduces peripheral expansion and CNS trafficking of pro-inflammatory monocytes and spares function after traumatic brain injury. *J. Neuroinflammation* 13, 88. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0544-4>
- Lee, S.-J., Jang, B.-C., Lee, S.-W., Yang, Y.-I., Suh, S.-I., Park, Y.-M., Oh, S., Shin, J.-G., Yao, S., Chen, L., Choi, I.-H., 2006. Interferon regulatory factor-1 is prerequisite to the constitutive expression and IFN-gamma-induced upregulation of B7-H1 (CD274). *FEBS Lett.* 580, 755–762. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.12.093>

- Leibrock, J., Lottspeich, F., Hohn, A., Hofer, M., Hengerer, B., Masiakowski, P., Thoenen, H., Barde, Y.A., 1989. Molecular cloning and expression of brain-derived neurotrophic factor. *Nature* 341, 149–152. <https://doi.org/10.1038/341149a0>
- Leiss, M., Beckmann, K., Girós, A., Costell, M., Fässler, R., 2008. The role of integrin binding sites in fibronectin matrix assembly in vivo. *Curr. Opin. Cell Biol.* 20, 502–507. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2008.06.001>
- Lemée, J.-M., Clavreul, A., Menei, P., 2015. Intratumoral heterogeneity in glioblastoma: don't forget the peritumoral brain zone. *Neuro-Oncol.* 17, 1322–1332. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov119>
- Lenassi, M., Cagney, G., Liao, M., Vaupotic, T., Bartholomeeusen, K., Cheng, Y., Krogan, N.J., Plemenitas, A., Peterlin, B.M., 2010. HIV Nef is secreted in exosomes and triggers apoptosis in bystander CD4+ T cells. *Traffic Cph. Den.* 11, 110–122. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2009.01006.x>
- Lessmann, V., Gottmann, K., Malsangio, M., 2003. Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Prog. Neurobiol.* 69, 341–374. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(03\)00019-4](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(03)00019-4)
- Levi-Montalcini, R., 1987. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 237, 1154–1162. <https://doi.org/10.1126/science.3306916>
- Li, C., Heidt, D.G., Dalerba, P., Burant, C.F., Zhang, L., Adsay, V., Wicha, M., Clarke, M.F., Simeone, D.M., 2007. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res.* 67, 1030–1037. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2030>
- Li, C., Wang, S., Yan, J.-L., Torheim, T., Boonzaier, N.R., Sinha, R., Matys, T., Markowitz, F., Price, S.J., 2019. Characterizing tumor invasiveness of glioblastoma using multiparametric magnetic resonance imaging. *J. Neurosurg.* 132, 1465–1472. <https://doi.org/10.3171/2018.12.JNS182926>
- Li, G., Wang, Zheng, Zhang, C., Liu, X., Cai, J., Wang, Zhiliang, Hu, H., Wu, F., Bao, Z., Liu, Y., Zhao, L., Liang, T., Yang, F., Huang, R., Zhang, W., Jiang, T., 2017. Molecular and clinical characterization of TIM-3 in glioma through 1,024 samples. *Oncoimmunology* 6, e1328339. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1328339>
- Li, H., Peng, X., Zong, Q., Zhang, K., Wang, M., Liu, Y., 2016. Cigarette smoking and risk of adult glioma: a meta-analysis of 24 observational studies involving more than 2.3 million individuals. *OncoTargets Ther.* 3511. <https://doi.org/10.2147/OTT.S99713>
- Li, X., Wu, C., Chen, N., Gu, H., Yen, A., Cao, L., Wang, E., Wang, L., 2016. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and targeted therapy for glioblastoma. *Oncotarget* 7, 33440–33450. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7961>
- Liang, S.C., Latchman, Y.E., Buhlmann, J.E., Tomczak, M.F., Horwitz, B.H., Freeman, G.J., Sharpe, A.H., 2003. Regulation of PD-1, PD-L1, and PD-L2 expression during normal and autoimmune responses. *Eur. J. Immunol.* 33, 2706–2716. <https://doi.org/10.1002/eji.200324228>
- Liao, F.-L., Tan, L., Liu, H., Wang, J.-J., Ma, X.-T., Zhao, B., Chen, Y., Bihl, J., Yang, Y., Chen, R.-L., 2018. Hematopoietic stem cell-derived exosomes promote hematopoietic differentiation of mouse embryonic stem cells in vitro via inhibiting the miR126/Notch1 pathway. *Acta Pharmacol. Sin.* 39, 552–560. <https://doi.org/10.1038/aps.2017.130>
- Liau, L.M., Ashkan, K., Tran, D.D., Campian, J.L., Trusheim, J.E., Cobbs, C.S., Heth, J.A., Salacz, M., Taylor, S., D'Andre, S.D., Iwamoto, F.M., Dropcho, E.J., Moshel, Y.A., Walter, K.A., Pillainayagam, C.P., Aiken, R., Chaudhary, R., Goldlust, S.A., Bota, D.A., Duic, P., Grewal, J., Elinzano, H., Toms, S.A., Lillehei, K.O., Mikkelsen, T., Walbert, T., Abram, S.R., Brenner, A.J., Brem, S., Ewend, M.G., Khagi, S., Portnow, J., Kim, L.J., Loudon, W.G., Thompson, R.C., Avigan, D.E., Fink, K.L., Geoffroy, F.J.,

- Lindhorst, S., Lutzky, J., Sloan, A.E., Schackert, G., Krex, D., Meisel, H.-J., Wu, J., Davis, R.P., Duma, C., Etame, A.B., Mathieu, D., Kesari, S., Piccioni, D., Westphal, M., Baskin, D.S., New, P.Z., Lacroix, M., May, S.-A., Pluard, T.J., Tse, V., Green, R.M., Villano, J.L., Pearlman, M., Petrecca, K., Schulder, M., Taylor, L.P., Maida, A.E., Prins, R.M., Cloughesy, T.F., Mulholland, P., Bosch, M.L., 2018. First results on survival from a large Phase 3 clinical trial of an autologous dendritic cell vaccine in newly diagnosed glioblastoma. *J. Transl. Med.* 16, 142. <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1507-6>
- Ligon, K.L., Huillard, E., Mehta, S., Kesari, S., Liu, H., Alberta, J.A., Bachoo, R.M., Kane, M., Louis, D.N., DePinho, R.A., Anderson, D.J., Stiles, C.D., Rowitch, D.H., 2007a. Olig2-Regulated Lineage-Restricted Pathway Controls Replication Competence in Neural Stem Cells and Malignant Glioma. *Neuron* 53, 503–517. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.01.009>
- Ligon, K.L., Huillard, E., Mehta, S., Kesari, S., Liu, H., Alberta, J.A., Bachoo, R.M., Kane, M., Louis, D.N., DePinho, R.A., Anderson, D.J., Stiles, C.D., Rowitch, D.H., 2007b. Olig2-Regulated Lineage-Restricted Pathway Controls Replication Competence in Neural Stem Cells and Malignant Glioma. *Neuron* 53, 503–517. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.01.009>
- Lim, Y.-J., Lee, S.-J., 2017. Are exosomes the vehicle for protein aggregate propagation in neurodegenerative diseases? *Acta Neuropathol. Commun.* 5, 64. <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0467-z>
- Lin, D.Y.-W., Tanaka, Y., Iwasaki, M., Gittis, A.G., Su, H.-P., Mikami, B., Okazaki, T., Honjo, T., Minato, N., Garboczi, D.N., 2008. The PD-1/PD-L1 complex resembles the antigen-binding Fv domains of antibodies and T cell receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 3011–3016. <https://doi.org/10.1073/pnas.0712278105>
- Listernick, R., Charrow, J., Greenwald, M.J., Esterly, N.B., 1989. Optic gliomas in children with neurofibromatosis type 1. *J. Pediatr.* 114, 788–792. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(89\)80137-4](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(89)80137-4)
- Litak, J., Mazurek, M., Grochowski, C., Kamieniak, P., Roliński, J., 2019. PD-L1/PD-1 Axis in Glioblastoma Multiforme. *Int. J. Mol. Sci.* 20. <https://doi.org/10.3390/ijms20215347>
- Liu, C., Chen, H., Jia, J., Hong, T., Wang, C., 2014. DCs sensitized with mPD-L1-Ig fusion protein improve the effect of heart transplantation in mice by promoting the generation of T-reg cells. *Cell. Immunol.* 290, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.04.005>
- Liu, G., Yuan, X., Zeng, Z., Tunici, P., Ng, H., Abdulkadir, I.R., Lu, L., Irvin, D., Black, K.L., Yu, J.S., 2006. Analysis of gene expression and chemoresistance of CD133+ cancer stem cells in glioblastoma. *Mol. Cancer* 5, 67. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-5-67>
- Liu, J., Hamrouni, A., Wolowiec, D., Coiteux, V., Kuliczowski, K., Hetuin, D., Saudemont, A., Quesnel, B., 2007. Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN- γ and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood* 110, 296–304. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-10-051482>
- Liu, J., Zhang, S., Hu, Y., Yang, Z., Li, J., Liu, X., Deng, L., Wang, Y., Zhang, X., Jiang, T., Lu, X., 2016. Targeting PD-1 and Tim-3 Pathways to Reverse CD8 T-Cell Exhaustion and Enhance Ex Vivo T-Cell Responses to Autologous Dendritic/Tumor Vaccines. *J. Immunother. Hagerstown Md* 1997 39, 171–180. <https://doi.org/10.1097/CJI.0000000000000122>
- Lo, H.-W., 2010. Targeting Ras-RAF-ERK and its Interactive Pathways as a Novel Therapy for Malignant Gliomas. *Curr. Cancer Drug Targets* 10, 840–848. <https://doi.org/10.2174/156800910793357970>

- Lottaz, C., Beier, D., Meyer, K., Kumar, P., Hermann, A., Schwarz, J., Junker, M., Oefner, P.J., Bogdahn, U., Wischhusen, J., Spang, R., Storch, A., Beier, C.P., 2010. Transcriptional profiles of CD133+ and CD133- glioblastoma-derived cancer stem cell lines suggest different cells of origin. *Cancer Res.* 70, 2030–2040. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-1707>
- Louie, E., Chen, X.F., Coomes, A., Ji, K., Tzirka, S., Chen, E.I., 2013. Neurotrophin-3 modulates breast cancer cells and the microenvironment to promote the growth of breast cancer brain metastasis. *Oncogene* 32, 4064–4077. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.417>
- Louis, D.N., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Cavenee, W.K., Burger, P.C., Jouvet, A., Scheithauer, B.W., Kleihues, P., 2007. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 114, 97–109. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>
- Louis, D.N., Perry, A., Burger, P., Ellison, D.W., Reifenberger, G., von Deimling, A., Aldape, K., Brat, D., Collins, V.P., Eberhart, C., Figarella-Branger, D., Fuller, G.N., Giangaspero, F., Giannini, C., Hawkins, C., Kleihues, P., Korshunov, A., Kros, J.M., Beatriz Lopes, M., Ng, H.-K., Ohgaki, H., Paulus, W., Pietsch, T., Rosenblum, M., Rushing, E., Soylemezoglu, F., Wiestler, O., Wesseling, P., 2014. International Society of Neuropathology-Haarlem Consensus Guidelines for Nervous System Tumor Classification and Grading: ISN-Haarlem Brain Tumor Classification Guidelines. *Brain Pathol.* 24, 429–435. <https://doi.org/10.1111/bpa.12171>
- Louis, D.N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W.K., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Kleihues, P., Ellison, D.W., 2016. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 131, 803–820. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
- Love, M.I., Huber, W., Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15, 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Lu, B., Pang, P.T., Woo, N.H., 2005. The yin and yang of neurotrophin action. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 603–614. <https://doi.org/10.1038/nrn1726>
- Lukas, R.V., Rodon, J., Becker, K., Wong, E.T., Shih, K., Touat, M., Fassò, M., Osborne, S., Molinero, L., O’Hear, C., Grossman, W., Baehring, J., 2018. Clinical activity and safety of atezolizumab in patients with recurrent glioblastoma. *J. Neurooncol.* 140, 317–328. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-2955-9>
- Luwor, R.B., Stylli, S.S., Kaye, A.H., 2013. The role of Stat3 in glioblastoma multiforme. *J. Clin. Neurosci. Off. J. Neurosurg. Soc. Australas.* 20, 907–911. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2013.03.006>
- Luzio, J.P., Gray, S.R., Bright, N.A., 2010. Endosome-lysosome fusion. *Biochem. Soc. Trans.* 38, 1413–1416. <https://doi.org/10.1042/BST0381413>
- Lv, S., Teugels, E., Sadones, J., De Brakeleer, S., Duerinck, J., Four, S.D., Michotte, A., De Grève, J., Neyns, B., 2012. Correlation of EGFR, IDH1 and PTEN status with the outcome of patients with recurrent glioblastoma treated in a phase II clinical trial with the EGFR-blocking monoclonal antibody cetuximab. *Int. J. Oncol.* 41, 1029–1035. <https://doi.org/10.3892/ijo.2012.1539>
- Ma, C., Cao, L., Zhao, J., Ming, X., Shang, M., Zong, H., Du, H., Li, K., He, X., Xu, H., 2015. Inverse Association between Prediagnostic IgE Levels and the Risk of Brain Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BioMed Res. Int.* 2015, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2015/294213>

- Ma, T., Chen, Yueqiu, Chen, Yihuan, Meng, Q., Sun, J., Shao, L., Yu, Y., Huang, H., Hu, Y., Yang, Z., Yang, J., Shen, Z., 2018. MicroRNA-132, Delivered by Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes, Promote Angiogenesis in Myocardial Infarction. *Stem Cells Int.* 2018, 3290372. <https://doi.org/10.1155/2018/3290372>
- Maas, S.L.N., Breakefield, X.O., Weaver, A.M., 2017. Extracellular Vesicles: Unique Intercellular Delivery Vehicles. *Trends Cell Biol.* 27, 172–188. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.11.003>
- MacArthur, B.D., Lemischka, I.R., 2013. Statistical mechanics of pluripotency. *Cell* 154, 484–489. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.024>
- Madison, M.N., Jones, P.H., Okeoma, C.M., 2015. Exosomes in human semen restrict HIV-1 transmission by vaginal cells and block intravaginal replication of LP-BM5 murine AIDS virus complex. *Virology* 482, 189–201. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.03.040>
- Maia, J., Caja, S., Strano Moraes, M.C., Couto, N., Costa-Silva, B., 2018. Exosome-Based Cell-Cell Communication in the Tumor Microenvironment. *Front. Cell Dev. Biol.* 6, 18. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00018>
- Maisonpierre, P.C., Belluscio, L., Squinto, S., Ip, N.Y., Furth, M.E., Lindsay, R.M., Yancopoulos, G.D., 1990. Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF. *Science* 247, 1446–1451. <https://doi.org/10.1126/science.2321006>
- Mallawaarachy, D.M., Hallal, S., Russell, B., Ly, L., Ebrahimkhani, S., Wei, H., Christopherson, R.I., Buckland, M.E., Kaufman, K.L., 2017. Comprehensive proteome profiling of glioblastoma-derived extracellular vesicles identifies markers for more aggressive disease. *J. Neurooncol.* 131, 233–244. <https://doi.org/10.1007/s11060-016-2298-3>
- Mallegol, J., Van Niel, G., Lebreton, C., Lepelletier, Y., Candalh, C., Dugave, C., Heath, J.K., Raposo, G., Cerf-Bensussan, N., Heyman, M., 2007. T84-intestinal epithelial exosomes bear MHC class II/peptide complexes potentiating antigen presentation by dendritic cells. *Gastroenterology* 132, 1866–1876. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.02.043>
- Marampon, F., Gravina, G.L., Zani, B.M., Popov, V.M., Fratticci, A., Cerasani, M., Di Genova, D., Mancini, M., Ciccarelli, C., Ficorella, C., Di Cesare, E., Festuccia, C., 2014. Hypoxia sustains glioblastoma radioresistance through ERKs/DNA-PKcs/HIF-1 α functional interplay. *Int. J. Oncol.* 44, 2121–2131. <https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2358>
- Marchetti, D., Aucoin, R., Blust, J., Murry, B., Greiter-Wilke, A., 2004. p75 neurotrophin receptor functions as a survival receptor in brain-metastatic melanoma cells. *J. Cell. Biochem.* 91, 206–215. <https://doi.org/10.1002/jcb.10649>
- Marichal, N., Reali, C., Trujillo-Cenóz, O., Russo, R.E., 2017. Spinal Cord Stem Cells In Their Microenvironment: The Ependyma as a Stem Cell Niche. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1041, 55–79. https://doi.org/10.1007/978-3-319-69194-7_5
- Martin-Zanca, D., Mitra, G., Long, L.K., Barbacid, M., 1986. Molecular characterization of the human trk oncogene. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 51 Pt 2, 983–992. <https://doi.org/10.1101/sqb.1986.051.01.112>
- Marzec, M., Zhang, Q., Goradia, A., Raghunath, P.N., Liu, X., Paessler, M., Wang, H.Y., Wysocka, M., Cheng, M., Ruggeri, B.A., Wasik, M.A., 2008. Oncogenic kinase NPM/ALK induces through STAT3 expression of immunosuppressive protein CD274 (PD-L1, B7-H1). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 20852–20857. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810958105>

- Massa, F., Devader, C., Béraud-Dufour, S., Brau, F., Coppola, T., Mazella, J., 2013. Focal adhesion kinase dependent activation of the PI3 kinase pathway by the functional soluble form of neurotensin receptor-3 in HT29 cells. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45, 952–959. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.01.020>
- Massi, D., Brusa, D., Merelli, B., Ciano, M., Audrito, V., Serra, S., Buonincontri, R., Baroni, G., Nassini, R., Minocci, D., Cattaneo, L., Tamborini, E., Carobbio, A., Rulli, E., Deaglio, S., Mandalà, M., 2014. PD-L1 marks a subset of melanomas with a shorter overall survival and distinct genetic and morphological characteristics. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 25, 2433–2442. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu452>
- Matarredona, E.R., Pastor, A.M., 2019. Extracellular Vesicle-Mediated Communication between the Glioblastoma and Its Microenvironment. *Cells* 9. <https://doi.org/10.3390/cells9010096>
- Mathews, J.D., Forsythe, A.V., Brady, Z., Butler, M.W., Goergen, S.K., Byrnes, G.B., Giles, G.G., Wallace, A.B., Anderson, P.R., Guiver, T.A., McGale, P., Cain, T.M., Dowty, J.G., Bickerstaffe, A.C., Darby, S.C., 2013. Cancer risk in 680 000 people exposed to computed tomography scans in childhood or adolescence: data linkage study of 11 million Australians. *BMJ* 346, f2360–f2360. <https://doi.org/10.1136/bmj.f2360>
- Mathivanan, S., Simpson, R.J., 2009. ExoCarta: A compendium of exosomal proteins and RNA. *Proteomics* 9, 4997–5000. <https://doi.org/10.1002/pmic.200900351>
- Matsushita, H., Vesely, M.D., Koboldt, D.C., Rickert, C.G., Uppaluri, R., Magrini, V.J., Arthur, C.D., White, J.M., Chen, Y.-S., Shea, L.K., Hundal, J., Wendl, M.C., Demeter, R., Wylie, T., Allison, J.P., Smyth, M.J., Old, L.J., Mardis, E.R., Schreiber, R.D., 2012. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting. *Nature* 482, 400–404. <https://doi.org/10.1038/nature10755>
- Matsuura, I., Denissova, N.G., Wang, G., He, D., Long, J., Liu, F., 2004. Cyclin-dependent kinases regulate the antiproliferative function of Smads. *Nature* 430, 226–231. <https://doi.org/10.1038/nature02650>
- McArthur, S., Loiola, R.A., Maggioli, E., Errede, M., Virgintino, D., Solito, E., 2016. The restorative role of annexin A1 at the blood-brain barrier. *Fluids Barriers CNS* 13, 17. <https://doi.org/10.1186/s12987-016-0043-0>
- McCormick, P.J., Dumaresq-Doiron, K., Pluiose, A.-S., Pichette, V., Tosato, G., Lefrancois, S., 2008. Palmitoylation controls recycling in lysosomal sorting and trafficking. *Traffic Cph. Den.* 9, 1984–1997. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2008.00814.x>
- McCullough, J., Frost, A., Sundquist, W.I., 2018. Structures, Functions, and Dynamics of ESCRT-III/Vps4 Membrane Remodeling and Fission Complexes. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 34, 85–109. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100616-060600>
- McDermott, D.F., Sosman, J.A., Sznol, M., Massard, C., Gordon, M.S., Hamid, O., Powderly, J.D., Infante, J.R., Fassò, M., Wang, Y.V., Zou, W., Hegde, P.S., Fine, G.D., Powles, T., 2016. Atezolizumab, an Anti-Programmed Death-Ligand 1 Antibody, in Metastatic Renal Cell Carcinoma: Long-Term Safety, Clinical Activity, and Immune Correlates From a Phase Ia Study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 34, 833–842. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.63.7421>
- McGranahan, N., Furness, A.J.S., Rosenthal, R., Ramskov, S., Lyngaa, R., Saini, S.K., Jamal-Hanjani, M., Wilson, G.A., Birkbak, N.J., Hiley, C.T., Watkins, T.B.K., Shafi, S., Murugaesu, N., Mitter, R., Akarca, A.U., Linares, J., Marafioti, T., Henry, J.Y., Van Allen, E.M., Miao, D., Schilling, B., Schadendorf, D., Garraway, L.A., Makarov, V., Rizvi, N.A., Snyder, A., Hellmann, M.D., Merghoub, T., Wolchok, J.D., Shukla, S.A., Wu, C.J., Peggs, K.S., Chan, T.A., Hadrup, S.R., Quezada, S.A., Swanton, C., 2016. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade. *Science* 351, 1463–1469. <https://doi.org/10.1126/science.aaf1490>

- Meeker, R., Williams, K., 2014. Dynamic nature of the p75 neurotrophin receptor in response to injury and disease. *J. Neuroimmune Pharmacol. Off. J. Soc. NeuroImmune Pharmacol.* 9, 615–628. <https://doi.org/10.1007/s11481-014-9566-9>
- Meldolesi, J., 2017. Neurotrophin Trk Receptors: New Targets for Cancer Therapy, in: Nilius, B., de Tombe, P., Gudermann, T., Jahn, R., Lill, R., Petersen, O.H. (Eds.), *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology Vol. 174, Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Springer International Publishing, Cham, pp. 67–79. https://doi.org/10.1007/112_2017_6
- Melki, I., Tessandier, N., Zufferey, A., Boilard, E., 2017. Platelet microvesicles in health and disease. *Platelets* 28, 214–221. <https://doi.org/10.1080/09537104.2016.1265924>
- Melo, S.A., Luecke, L.B., Kahlert, C., Fernandez, A.F., Gammon, S.T., Kaye, J., LeBleu, V.S., Mittendorf, E.A., Weitz, J., Rahbari, N., Reissfelder, C., Pilarsky, C., Fraga, M.F., Piwnica-Worms, D., Kalluri, R., 2015. Glypican-1 identifies cancer exosomes and detects early pancreatic cancer. *Nature* 523, 177–182. <https://doi.org/10.1038/nature14581>
- Melo, S.A., Sugimoto, H., O'Connell, J.T., Kato, N., Villanueva, A., Vidal, A., Qiu, L., Vitkin, E., Perelman, L.T., Melo, C.A., Lucci, A., Ivan, C., Calin, G.A., Kalluri, R., 2014. Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis. *Cancer Cell* 26, 707–721. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2014.09.005>
- Mempel, T.R., Henrickson, S.E., von Andrian, U.H., 2004. T-cell priming by dendritic cells in lymph nodes occurs in three distinct phases. *Nature* 427, 154–159. <https://doi.org/10.1038/nature02238>
- Menter, D.G., Herrmann, J.L., Marchetti, D., Nicolson, G.L., 1994. Involvement of neurotrophins and growth factors in brain metastasis formation. *Invasion Metastasis* 14, 372–384.
- Messenheimer, D.J., Jensen, S.M., Afentoulis, M.E., Wegmann, K.W., Feng, Z., Friedman, D.J., Gough, M.J., Urba, W.J., Fox, B.A., 2017. Timing of PD-1 Blockade Is Critical to Effective Combination Immunotherapy with Anti-OX40. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 23, 6165–6177. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-2677>
- Meyer, M., Reimand, J., Lan, X., Head, R., Zhu, X., Kushida, M., Bayani, J., Pressey, J.C., Lionel, A.C., Clarke, I.D., Cusimano, M., Squire, J.A., Scherer, S.W., Bernstein, M., Woodin, M.A., Bader, G.D., Dirks, P.B., 2015. Single cell-derived clonal analysis of human glioblastoma links functional and genomic heterogeneity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 851–856. <https://doi.org/10.1073/pnas.1320611111>
- Migliano, S.M., Teis, D., 2018. ESCRT and Membrane Protein Ubiquitination. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* 57, 107–135. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96704-2_4
- Millet, P., Granotier, C., Etienne, O., Boussin, F.D., 2013. Radiation-induced upregulation of telomerase activity escapes PI3-kinase inhibition in two malignant glioma cell lines. *Int. J. Oncol.* 43, 375–382. <https://doi.org/10.3892/ijo.2013.1970>
- Mills, C.D., Ley, K., 2014. M1 and M2 macrophages: the chicken and the egg of immunity. *J. Innate Immun.* 6, 716–726. <https://doi.org/10.1159/000364945>
- Möbius, W., van Donselaar, E., Ohno-Iwashita, Y., Shimada, Y., Heijnen, H.F.G., Slot, J.W., Geuze, H.J., 2003. Recycling compartments and the internal vesicles of multivesicular bodies harbor most of the cholesterol found in the endocytic pathway. *Traffic Cph. Den.* 4, 222–231. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0854.2003.00072.x>
- Montecalvo, A., Larregina, A.T., Shufesky, W.J., Stolz, D.B., Sullivan, M.L.G., Karlsson, J.M., Baty, C.J., Gibson, G.A., Erdos, G., Wang, Z., Milosevic, J., Tkacheva, O.A., Divito, S.J., Jordan, R., Lyons-Weiler, J., Watkins, S.C., Morelli, A.E., 2012. Mechanism of

- transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes. *Blood* 119, 756–766. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-02-338004>
- Montermini, L., Meehan, B., Garnier, D., Lee, W.J., Lee, T.H., Guha, A., Al-Nedawi, K., Rak, J., 2015. Inhibition of oncogenic epidermal growth factor receptor kinase triggers release of exosome-like extracellular vesicles and impacts their phosphoprotein and DNA content. *J. Biol. Chem.* 290, 24534–24546. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.679217>
- Morelli, A.E., Larregina, A.T., Shufesky, W.J., Sullivan, M.L.G., Stolz, D.B., Papworth, G.D., Zahorchak, A.F., Logar, A.J., Wang, Z., Watkins, S.C., Falo, L.D., Thomson, A.W., 2004. Endocytosis, intracellular sorting, and processing of exosomes by dendritic cells. *Blood* 104, 3257–3266. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-03-0824>
- Moreno-Manzano, V., Rodríguez-Jiménez, F.J., Aceña-Bonilla, J.L., Fustero-Lardies, S., Erceg, S., Dopazo, J., Montaner, D., Stojkovic, M., Sánchez-Puelles, J.M., 2010. FM19G11, a new hypoxia-inducible factor (HIF) modulator, affects stem cell differentiation status. *J. Biol. Chem.* 285, 1333–1342. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.008326>
- Mosesso, N., Nagel, M.-K., Isono, E., 2019. Ubiquitin recognition in endocytic trafficking - with or without ESCRT-0. *J. Cell Sci.* 132. <https://doi.org/10.1242/jcs.232868>
- Mosrati, M.A., Malmström, A., Lysiak, M., Krysztofiak, A., Hallbeck, M., Milos, P., Hallbeck, A.-L., Bratthäll, C., Strandéus, M., Stenmark-Askmal, M., Söderkvist, P., 2015. TERT promoter mutations and polymorphisms as prognostic factors in primary glioblastoma. *Oncotarget* 6, 16663–16673. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4389>
- Mulcahy, L.A., Pink, R.C., Carter, D.R.F., 2014. Routes and mechanisms of extracellular vesicle uptake. *J. Extracell. Vesicles* 3. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.24641>
- Muller, P.A.J., Caswell, P.T., Doyle, B., Iwanicki, M.P., Tan, E.H., Karim, S., Lukashchuk, N., Gillespie, D.A., Ludwig, R.L., Gosselin, P., Cromer, A., Brugge, J.S., Sansom, O.J., Norman, J.C., Vousden, K.H., 2009. Mutant p53 drives invasion by promoting integrin recycling. *Cell* 139, 1327–1341. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.026>
- Munks, M.W., Mourich, D.V., Mittler, R.S., Weinberg, A.D., Hill, A.B., 2004. 4-1BB and OX40 stimulation enhance CD8 and CD4 T-cell responses to a DNA prime, poxvirus boost vaccine. *Immunology* 112, 559–566. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2004.01917.x>
- Munn, D.H., Sharma, M.D., Baban, B., Harding, H.P., Zhang, Y., Ron, D., Mellor, A.L., 2005. GCN2 kinase in T cells mediates proliferative arrest and anergy induction in response to indoleamine 2,3-dioxygenase. *Immunity* 22, 633–642. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2005.03.013>
- Muntasell, A., Berger, A.C., Roche, P.A., 2007. T cell-induced secretion of MHC class II-peptide complexes on B cell exosomes. *EMBO J.* 26, 4263–4272. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601842>
- Murillo-Sauca, O., Chung, M.K., Shin, J.H., Karamboulas, C., Kwok, S., Jung, Y.H., Oakley, R., Tysome, J.R., Farnebo, L.O., Kaplan, M.J., Sirjani, D., Divi, V., Holsinger, F.C., Tomeh, C., Nichols, A., Le, Q.T., Colevas, A.D., Kong, C.S., Uppaluri, R., Lewis, J.S., Ailles, L.E., Sunwoo, J.B., 2014. CD271 is a functional and targetable marker of tumor-initiating cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 5, 6854–6866. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2269>
- Nadezhdin, K.D., García-Carpio, I., Goncharuk, S.A., Mineev, K.S., Arseniev, A.S., Vilar, M., 2016. Structural Basis of p75 Transmembrane Domain Dimerization. *J. Biol. Chem.* 291, 12346–12357. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.723585>

- Nakada, M., Kita, D., Watanabe, T., Hayashi, Y., Teng, L., Pyko, I.V., Hamada, J.-I., 2011. Aberrant Signaling Pathways in Glioma. *Cancers* 3, 3242–3278. <https://doi.org/10.3390/cancers3033242>
- Nakagawara, A., 2001. Trk receptor tyrosine kinases: a bridge between cancer and neural development. *Cancer Lett.* 169, 107–114. [https://doi.org/10.1016/s0304-3835\(01\)00530-4](https://doi.org/10.1016/s0304-3835(01)00530-4)
- Nakagawara, A., Liu, X.G., Ikegaki, N., White, P.S., Yamashiro, D.J., Nycum, L.M., Biegel, J.A., Brodeur, G.M., 1995. Cloning and chromosomal localization of the human TRK-B tyrosine kinase receptor gene (NTRK2). *Genomics* 25, 538–546. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(95\)80055-q](https://doi.org/10.1016/0888-7543(95)80055-q)
- Nakanishi, J., Wada, Y., Matsumoto, K., Azuma, M., Kikuchi, K., Ueda, S., 2007. Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers. *Cancer Immunol. Immunother.* CII 56, 1173–1182. <https://doi.org/10.1007/s00262-006-0266-z>
- Nakase, I., Kobayashi, N.B., Takatani-Nakase, T., Yoshida, T., 2015. Active macropinocytosis induction by stimulation of epidermal growth factor receptor and oncogenic Ras expression potentiates cellular uptake efficacy of exosomes. *Sci. Rep.* 5, 10300. <https://doi.org/10.1038/srep10300>
- Nandakumar, R., Tschismarov, R., Meissner, F., Prabakaran, T., Krissanaprasit, A., Farahani, E., Zhang, B.-C., Assil, S., Martin, A., Bertrams, W., Holm, C.K., Ablasser, A., Klause, T., Thomsen, M.K., Schmeck, B., Howard, K.A., Henry, T., Gothelf, K.V., Decker, T., Paludan, S.R., 2019. Intracellular bacteria engage a STING-TBK1-MVB12b pathway to enable paracrine cGAS-STING signalling. *Nat. Microbiol.* 4, 701–713. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0367-z>
- Narayana, A., Yamada, J., Berry, S., Shah, P., Hunt, M., Gutin, P.H., Leibel, S.A., 2006. Intensity-modulated radiotherapy in high-grade gliomas: Clinical and dosimetric results. *Int. J. Radiat. Oncol.* 64, 892–897. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2005.05.067>
- Narayanan, R., Huang, C.-C., Ravindran, S., 2016. Hijacking the Cellular Mail: Exosome Mediated Differentiation of Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells Int.* 2016, 3808674. <https://doi.org/10.1155/2016/3808674>
- Navarro, V., Martin, S., Sarret, P., Nielsen, M.S., Petersen, C.M., Vincent, J., Mazella, J., 2001. Pharmacological properties of the mouse neurotensin receptor 3. Maintenance of cell surface receptor during internalization of neurotensin. *FEBS Lett.* 495, 100–105. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(01\)02367-5](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(01)02367-5)
- Navis, A.C., Bourgonje, A., Wesseling, P., Wright, A., Hendriks, W., Verrijp, K., van der Laak, J.A.W.M., Heerschap, A., Leenders, W.P.J., 2013. Effects of Dual Targeting of Tumor Cells and Stroma in Human Glioblastoma Xenografts with a Tyrosine Kinase Inhibitor against c-MET and VEGFR2. *PLoS ONE* 8, e58262. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058262>
- Nazarenko, I., Rana, S., Baumann, A., McAlear, J., Hellwig, A., Trendelenburg, M., Lochnit, G., Preissner, K.T., Zöller, M., 2010. Cell surface tetraspanin Tspan8 contributes to molecular pathways of exosome-induced endothelial cell activation. *Cancer Res.* 70, 1668–1678. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2470>
- Nduom, E.K., Wei, J., Yaghi, N.K., Huang, N., Kong, L.-Y., Gabrusiewicz, K., Ling, X., Zhou, S., Ivan, C., Chen, J.Q., Burks, J.K., Fuller, G.N., Calin, G.A., Conrad, C.A., Creasy, C., Ritthipichai, K., Radvanyi, L., Heimberger, A.B., 2016. PD-L1 expression and prognostic impact in glioblastoma. *Neuro-Oncol.* 18, 195–205. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov172>

- Neglia, J.P., Robison, L.L., Stovall, M., Liu, Y., Packer, R.J., Hammond, S., Yasui, Y., Kasper, C.E., Mertens, A.C., Donaldson, S.S., Meadows, A.T., Inskip, P.D., 2006. New Primary Neoplasms of the Central Nervous System in Survivors of Childhood Cancer: a Report From the Childhood Cancer Survivor Study. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* 98, 1528–1537. <https://doi.org/10.1093/jnci/djj411>
- Ni, L., Dong, C., 2017. New B7 Family Checkpoints in Human Cancers. *Mol. Cancer Ther.* 16, 1203–1211. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-16-0761>
- Ning, Y., Shen, K., Wu, Q., Sun, X., Bai, Y., Xie, Y., Pan, J., Qi, C., 2018. Tumor exosomes block dendritic cells maturation to decrease the T cell immune response. *Immunol. Lett.* 199, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2018.05.002>
- Nishimura, H., Agata, Y., Kawasaki, A., Sato, M., Imamura, S., Minato, N., Yagita, H., Nakano, T., Honjo, T., 1996. Developmentally regulated expression of the PD-1 protein on the surface of double-negative (CD4-CD8-) thymocytes. *Int. Immunol.* 8, 773–780. <https://doi.org/10.1093/intimm/8.5.773>
- Nishimura, H., Nose, M., Hiai, H., Minato, N., Honjo, T., 1999. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity* 11, 141–151. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)80089-8](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80089-8)
- Nishimura, H., Okazaki, T., Tanaka, Y., Nakatani, K., Hara, M., Matsumori, A., Sasayama, S., Mizoguchi, A., Hiai, H., Minato, N., Honjo, T., 2001. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. *Science* 291, 319–322. <https://doi.org/10.1126/science.291.5502.319>
- Noble, M., Pröschel, C., Mayer-Pröschel, M., 2004. Getting a GR(i)P on oligodendrocyte development. *Dev. Biol.* 265, 33–52. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2003.06.002>
- Nolte-'t Hoen, E.N.M., Buschow, S.I., Anderton, S.M., Stoorvogel, W., Wauben, M.H.M., 2009. Activated T cells recruit exosomes secreted by dendritic cells via LFA-1. *Blood* 113, 1977–1981. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-08-174094>
- Noman, M.Z., Desantis, G., Janji, B., Hasmim, M., Karray, S., Dessen, P., Bronte, V., Chouaib, S., 2014. PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation. *J. Exp. Med.* 211, 781–790. <https://doi.org/10.1084/jem.20131916>
- Nomi, T., Sho, M., Akahori, T., Hamada, K., Kubo, A., Kanehiro, H., Nakamura, S., Enomoto, K., Yagita, H., Azuma, M., Nakajima, Y., 2007. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 13, 2151–2157. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2746>
- Norris, A., Grant, B.D., 2020. Endosomal microdomains: Formation and function. *Curr. Opin. Cell Biol.* 65, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.02.018>
- Nykjaer, A., Lee, R., Teng, K.K., Jansen, P., Madsen, P., Nielsen, M.S., Jacobsen, C., Kliemannel, M., Schwarz, E., Willnow, T.E., Hempstead, B.L., Petersen, C.M., 2004. Sortilin is essential for proNGF-induced neuronal cell death. *Nature* 427, 843–848. <https://doi.org/10.1038/nature02319>
- Nykjaer, A., Willnow, T.E., 2012. Sortilin: a receptor to regulate neuronal viability and function. *Trends Neurosci.* 35, 261–270. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.01.003>
- Nykjaer, A., Willnow, T.E., Petersen, C.M., 2005. p75NTR – live or let die. *Curr. Opin. Neurobiol.* 15, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2005.01.004>
- Odintsova, E., van Niel, G., Conjeaud, H., Raposo, G., Iwamoto, R., Mekada, E., Berditchevski, F., 2013. Metastasis suppressor tetraspanin CD82/KAI1 regulates

- ubiquitylation of epidermal growth factor receptor. *J. Biol. Chem.* 288, 26323–26334. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.439380>
- O'Donnell, J.S., Teng, M.W.L., Smyth, M.J., 2019. Cancer immunoediting and resistance to T cell-based immunotherapy. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 16, 151–167. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0142-8>
- Oelmann, E., Sreter, L., Schuller, I., Serve, H., Koenigsmann, M., Wiedenmann, B., Oberberg, D., Reufi, B., Thiel, E., Berdel, W.E., 1995. Nerve growth factor stimulates clonal growth of human lung cancer cell lines and a human glioblastoma cell line expressing high-affinity nerve growth factor binding sites involving tyrosine kinase signaling. *Cancer Res.* 55, 2212–2219.
- Ogden, A.T., Waziri, A.E., Lochhead, R.A., Fusco, D., Lopez, K., Ellis, J.A., Kang, J., Assanah, M., McKhann, G.M., Sisti, M.B., McCormick, P.C., Canoll, P., Bruce, J.N., 2008. Identification of A2B5+CD133- tumor-initiating cells in adult human gliomas. *Neurosurgery* 62, 505–514; discussion 514–515. <https://doi.org/10.1227/01.neu.0000316019.28421.95>
- Ohgaki, H., Kleihues, P., 2013. The Definition of Primary and Secondary Glioblastoma. *Clin. Cancer Res.* 19, 764–772. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-3002>
- Ohgaki, H., Kleihues, P., 2009. Genetic alterations and signaling pathways in the evolution of gliomas. *Cancer Sci.* 100, 2235–2241. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2009.01308.x>
- Ohgaki, H., Kleihues, P., 2005. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 109, 93–108. <https://doi.org/10.1007/s00401-005-0991-y>
- Ohgashi, Y., Sho, M., Yamada, Y., Tsurui, Y., Hamada, K., Ikeda, N., Mizuno, T., Yoriki, R., Kashizuka, H., Yane, K., Tsushima, F., Otsuki, N., Yagita, H., Azuma, M., Nakajima, Y., 2005. Clinical significance of programmed death-1 ligand-1 and programmed death-1 ligand-2 expression in human esophageal cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 11, 2947–2953. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-1469>
- Ohshima, K., Inoue, K., Fujiwara, A., Hatakeyama, K., Kanto, K., Watanabe, Y., Muramatsu, K., Fukuda, Y., Ogura, S., Yamaguchi, K., Mochizuki, T., 2010. Let-7 microRNA family is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line. *PloS One* 5, e13247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013247>
- Okazaki, T., Maeda, A., Nishimura, H., Kurosaki, T., Honjo, T., 2001. PD-1 immunoreceptor inhibits B cell receptor-mediated signaling by recruiting src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2 to phosphotyrosine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 13866–13871. <https://doi.org/10.1073/pnas.231486598>
- Okuma, Y., Hosomi, Y., Nakahara, Y., Watanabe, K., Sagawa, Y., Homma, S., 2017. High plasma levels of soluble programmed cell death ligand 1 are prognostic for reduced survival in advanced lung cancer. *Lung Cancer Amst. Neth.* 104, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2016.11.023>
- Okuma, Y., Wakui, H., Utsumi, H., Sagawa, Y., Hosomi, Y., Kuwano, K., Homma, S., 2018. Soluble Programmed Cell Death Ligand 1 as a Novel Biomarker for Nivolumab Therapy for Non-Small-cell Lung Cancer. *Clin. Lung Cancer* 19, 410–417.e1. <https://doi.org/10.1016/j.clc.2018.04.014>
- Olszanski, A.J., 2015. Principles of immunotherapy. *J. Natl. Compr. Cancer Netw. JNCCN* 13, 670–672. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2015.0199>
- Omuro, A., Vlahovic, G., Lim, M., Sahebjam, S., Baehring, J., Cloughesy, T., Voloschin, A., Ramkissoon, S.H., Ligon, K.L., Latek, R., Zwirter, R., Strauss, L., Paliwal, P.,

- Harbison, C.T., Reardon, D.A., Sampson, J.H., 2018. Nivolumab with or without ipilimumab in patients with recurrent glioblastoma: results from exploratory phase I cohorts of CheckMate 143. *Neuro-Oncol.* 20, 674–686. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox208>
- Omuro, A.M.P., Faivre, S., Raymond, E., 2007. Lessons learned in the development of targeted therapy for malignant gliomas. *Mol. Cancer Ther.* 6, 1909–1919. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-07-0047>
- Oosterwegel, M.A., Greenwald, R.J., Mandelbrot, D.A., Lorsbach, R.B., Sharpe, A.H., 1999. CTLA-4 and T cell activation. *Curr. Opin. Immunol.* 11, 294–300. [https://doi.org/10.1016/s0952-7915\(99\)80047-8](https://doi.org/10.1016/s0952-7915(99)80047-8)
- Ostrom, Q.T., Bauchet, L., Davis, F.G., Deltour, I., Fisher, J.L., Langer, C.E., Pekmezci, M., Schwartzbaum, J.A., Turner, M.C., Walsh, K.M., Wrensch, M.R., Barnholtz-Sloan, J.S., 2014. The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. *Neuro-Oncol.* 16, 896–913. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou087>
- Ostrowski, M., Carmo, N.B., Krumeich, S., Fanget, I., Raposo, G., Savina, A., Moita, C.F., Schauer, K., Hume, A.N., Freitas, R.P., Goud, B., Benaroch, P., Hacohen, N., Fukuda, M., Desnos, C., Seabra, M.C., Darchen, F., Amigorena, S., Moita, L.F., Thery, C., 2010. Rab27a and Rab27b control different steps of the exosome secretion pathway. *Nat. Cell Biol.* 12, 19–30; sup pp 1-13. <https://doi.org/10.1038/ncb2000>
- Osuka, S., Van Meir, E.G., 2017. Overcoming therapeutic resistance in glioblastoma: the way forward. *J. Clin. Invest.* 127, 415–426. <https://doi.org/10.1172/JCI89587>
- Pan, B.T., Johnstone, R.M., 1983. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor. *Cell* 33, 967–978. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(83\)90040-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(83)90040-5)
- Papandreou, M.-E., Tavernarakis, N., 2017. Autophagy and the endo/exosomal pathways in health and disease. *Biotechnol. J.* 12. <https://doi.org/10.1002/biot.201600175>
- Park, C.-M., Park, M.-J., Kwak, H.-J., Moon, S.-I., Yoo, D.-H., Lee, H.-C., Park, I.-C., Rhee, C.H., Hong, S.-I., 2006. Induction of p53-mediated apoptosis and recovery of chemosensitivity through p53 transduction in human glioblastoma cells by cisplatin. *Int. J. Oncol.* 28, 119–125.
- Park, J.K., Hodges, T., Arko, L., Shen, M., Dello Iacono, D., McNabb, A., Olsen Bailey, N., Kreisl, T.N., Iwamoto, F.M., Sul, J., Auh, S., Park, G.E., Fine, H.A., Black, P.McL., 2010. Scale to Predict Survival After Surgery for Recurrent Glioblastoma Multiforme. *J. Clin. Oncol.* 28, 3838–3843. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.30.0582>
- Park, S.-H., Won, J., Kim, S.-I., Lee, Y., Park, C.-K., Kim, S.-K., Choi, S.-H., 2017. Molecular Testing of Brain Tumor. *J. Pathol. Transl. Med.* 51, 205–223. <https://doi.org/10.4132/jptm.2017.03.08>
- Parker, N.R., Khong, P., Parkinson, J.F., Howell, V.M., Wheeler, H.R., 2015. Molecular heterogeneity in glioblastoma: potential clinical implications. *Front. Oncol.* 5, 55. <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00055>
- Parry, R.V., Chemnitz, J.M., Frauwirth, K.A., Lanfranco, A.R., Braunstein, I., Kobayashi, S.V., Linsley, P.S., Thompson, C.B., Riley, J.L., 2005. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Mol. Cell. Biol.* 25, 9543–9553. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.21.9543-9553.2005>
- Parsa, A.T., Waldron, J.S., Panner, A., Crane, C.A., Parney, I.F., Barry, J.J., Cachola, K.E., Murray, J.C., Tihan, T., Jensen, M.C., Mischel, P.S., Stokoe, D., Pieper, R.O., 2007. Loss of tumor suppressor PTEN function increases B7-H1 expression and immunoresistance in glioma. *Nat. Med.* 13, 84–88. <https://doi.org/10.1038/nm1517>

- Patel, A.P., Tirosh, I., Trombetta, J.J., Shalek, A.K., Gillespie, S.M., Wakimoto, H., Cahill, D.P., Nahed, B.V., Curry, W.T., Martuza, R.L., Louis, D.N., Rozenblatt-Rosen, O., Suvà, M.L., Regev, A., Bernstein, B.E., 2014. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. *Science* 344, 1396–1401. <https://doi.org/10.1126/science.1254257>
- Pathan, M., Fonseka, P., Chitti, S.V., Kang, T., Sanwlani, R., Van Deun, J., Hendrix, A., Mathivanan, S., 2019. Vesiclepedia 2019: a compendium of RNA, proteins, lipids and metabolites in extracellular vesicles. *Nucleic Acids Res.* 47, D516–D519. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1029>
- Patsoukis, N., Bardhan, K., Chatterjee, P., Sari, D., Liu, B., Bell, L.N., Karoly, E.D., Freeman, G.J., Petkova, V., Seth, P., Li, L., Boussiotis, V.A., 2015. PD-1 alters T-cell metabolic reprogramming by inhibiting glycolysis and promoting lipolysis and fatty acid oxidation. *Nat. Commun.* 6, 6692. <https://doi.org/10.1038/ncomms7692>
- Patsoukis, N., Brown, J., Petkova, V., Liu, F., Li, L., Boussiotis, V.A., 2012. Selective effects of PD-1 on Akt and Ras pathways regulate molecular components of the cell cycle and inhibit T cell proliferation. *Sci. Signal.* 5, ra46. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2002796>
- Pearce, E.L., Walsh, M.C., Cejas, P.J., Harms, G.M., Shen, H., Wang, L.-S., Jones, R.G., Choi, Y., 2009. Enhancing CD8 T-cell memory by modulating fatty acid metabolism. *Nature* 460, 103–107. <https://doi.org/10.1038/nature08097>
- Pearce, M.S., Salotti, J.A., Little, M.P., McHugh, K., Lee, C., Kim, K.P., Howe, N.L., Ronckers, C.M., Rajaraman, P., Craft, A.W., Parker, L., Berrington de González, A., 2012. Radiation exposure from CT scans in childhood and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: a retrospective cohort study. *The Lancet* 380, 499–505. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60815-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60815-0)
- Peereboom, D.M., Shepard, D.R., Ahluwalia, M.S., Brewer, C.J., Agarwal, N., Stevens, G.H.J., Suh, J.H., Toms, S.A., Vogelbaum, M.A., Weil, R.J., Elson, P., Barnett, G.H., 2010. Phase II trial of erlotinib with temozolomide and radiation in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme. *J. Neurooncol.* 98, 93–99. <https://doi.org/10.1007/s11060-009-0067-2>
- Pegtel, D.M., Cosmopoulos, K., Thorley-Lawson, D.A., van Eijndhoven, M.A.J., Hopmans, E.S., Lindenberg, J.L., de Gruijl, T.D., Würdinger, T., Middeldorp, J.M., 2010. Functional delivery of viral miRNAs via exosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 6328–6333. <https://doi.org/10.1073/pnas.0914843107>
- Pegtel, D.M., Gould, S.J., 2019. Exosomes. *Annu. Rev. Biochem.* 88, 487–514. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-013118-111902>
- Pekmezci, M., Rice, T., Molinaro, A.M., Walsh, K.M., Decker, P.A., Hansen, H., Sicotte, H., Kollmeyer, T.M., McCoy, L.S., Sarkar, G., Perry, A., Giannini, C., Tihan, T., Berger, M.S., Wiemels, J.L., Bracci, P.M., Eckel-Passow, J.E., Lachance, D.H., Clarke, J., Taylor, J.W., Luks, T., Wiencke, J.K., Jenkins, R.B., Wrensch, M.R., 2017. Adult infiltrating gliomas with WHO 2016 integrated diagnosis: additional prognostic roles of ATRX and TERT. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 133, 1001–1016. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1690-1>
- Persano, L., Rampazzo, E., Basso, G., Viola, G., 2013. Glioblastoma cancer stem cells: Role of the microenvironment and therapeutic targeting. *Biochem. Pharmacol., Dysfunctional Cell Signaling Dynamics in Oncology: Diagnostic, Prognostic and Treatment Opportunities* 85, 612–622. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.10.001>
- Petersen, C.M., Nielsen, M.S., Nykjaer, A., Jacobsen, L., Tommerup, N., Rasmussen, H.H., Roigaard, H., Gliemann, J., Madsen, P., Moestrup, S.K., 1997. Molecular identification of a novel candidate sorting receptor purified from human brain by

- receptor-associated protein affinity chromatography. *J. Biol. Chem.* 272, 3599–3605. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.6.3599>
- Petitjean, A., Achatz, M.I.W., Borresen-Dale, A.L., Hainaut, P., Olivier, M., 2007. TP53 mutations in human cancers: functional selection and impact on cancer prognosis and outcomes. *Oncogene* 26, 2157–2165. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210302>
- Phillips, H.S., Kharbanda, S., Chen, R., Forrest, W.F., Soriano, R.H., Wu, T.D., Misra, A., Nigro, J.M., Colman, H., Soroceanu, L., Williams, P.M., Modrusan, Z., Feuerstein, B.G., Aldape, K., 2006. Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. *Cancer Cell* 9, 157–173. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.02.019>
- Phuphanich, S., Supko, J.G., Carson, K.A., Grossman, S.A., Burt Nabors, L., Mikkelsen, T., Lesser, G., Rosenfeld, S., Desideri, S., Olson, J.J., 2010. Phase 1 clinical trial of bortezomib in adults with recurrent malignant glioma. *J. Neurooncol.* 100, 95–103. <https://doi.org/10.1007/s11060-010-0143-7>
- Phuphanich, S., Wheeler, C.J., Rudnick, J.D., Mazer, M., Wang, H., Nuño, M.A., Richardson, J.E., Fan, X., Ji, J., Chu, R.M., Bender, J.G., Hawkins, E.S., Patil, C.G., Black, K.L., Yu, J.S., 2013. Phase I trial of a multi-epitope-pulsed dendritic cell vaccine for patients with newly diagnosed glioblastoma. *Cancer Immunol. Immunother.* CII 62, 125–135. <https://doi.org/10.1007/s00262-012-1319-0>
- Phuyal, S., Hessvik, N.P., Skotland, T., Sandvig, K., Llorente, A., 2014. Regulation of exosome release by glycosphingolipids and flotillins. *FEBS J.* 281, 2214–2227. <https://doi.org/10.1111/febs.12775>
- Piao, Y., Henry, V., Tiao, N., Park, S.Y., Martinez-Ledesma, J., Dong, J.W., Balasubramanian, V., de Groot, J.F., 2017. Targeting intercellular adhesion molecule-1 prolongs survival in mice bearing bevacizumab-resistant glioblastoma. *Oncotarget* 8, 96970–96983. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18859>
- Pinet, S., Bessette, B., Vedrenne, N., Lacroix, A., Richard, L., Jauberteau, M.-O., Battu, S., Lalloué, F., 2016. TrkB-containing exosomes promote the transfer of glioblastoma aggressiveness to YKL-40-inactivated glioblastoma cells. *Oncotarget* 7, 50349–50364. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10387>
- Ping, Y., Yao, X., Jiang, J., Zhao, L., Yu, S., Jiang, T., Lin, M.C.M., Chen, J., Wang, B., Zhang, R., Cui, Y., Qian, C., Wang, J. ming, Bian, X., 2011. The chemokine CXCL12 and its receptor CXCR4 promote glioma stem cell-mediated VEGF production and tumour angiogenesis via PI3K/AKT signalling. *J. Pathol.* 224, 344–354. <https://doi.org/10.1002/path.2908>
- Pisco, A.O., Brock, A., Zhou, J., Moor, A., Mojtahedi, M., Jackson, D., Huang, S., 2013. Non-Darwinian dynamics in therapy-induced cancer drug resistance. *Nat. Commun.* 4, 2467. <https://doi.org/10.1038/ncomms3467>
- Platten, M., Wick, W., Weller, M., 2001. Malignant glioma biology: role for TGF-beta in growth, motility, angiogenesis, and immune escape. *Microsc. Res. Tech.* 52, 401–410. [https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20010215\)52:4<401::AID-JEMT1025>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20010215)52:4<401::AID-JEMT1025>3.0.CO;2-C)
- Poggio, M., Hu, T., Pai, C.-C., Chu, B., Belair, C.D., Chang, A., Montabana, E., Lang, U.E., Fu, Q., Fong, L., Blesloch, R., 2019. Suppression of Exosomal PD-L1 Induces Systemic Anti-tumor Immunity and Memory. *Cell* 177, 414–427.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.016>
- Prendergast, G.C., Malachowski, W.P., DuHadaway, J.B., Muller, A.J., 2017. Discovery of IDO1 Inhibitors: From Bench to Bedside. *Cancer Res.* 77, 6795–6811. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-2285>

- Preston, D.L., 2002. Tumors of the Nervous System and Pituitary Gland Associated With Atomic Bomb Radiation Exposure. *CancerSpectrum Knowl. Environ.* 94, 1555–1563. <https://doi.org/10.1093/jnci/94.20.1555>
- Prokopchuk, O., Andres, S., Becker, K., Holzapfel, K., Hartmann, D., Friess, H., 2016. Maffucci syndrome and neoplasms: a case report and review of the literature. *BMC Res. Notes* 9, 126. <https://doi.org/10.1186/s13104-016-1913-x>
- Purushothaman, A., Bandari, S.K., Liu, J., Mobley, J.A., Brown, E.E., Sanderson, R.D., 2016. Fibronectin on the Surface of Myeloma Cell-derived Exosomes Mediates Exosome-Cell Interactions. *J. Biol. Chem.* 291, 1652–1663. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.686295>
- Putz, U., Howitt, J., Doan, A., Goh, C.-P., Low, L.-H., Silke, J., Tan, S.-S., 2012. The tumor suppressor PTEN is exported in exosomes and has phosphatase activity in recipient cells. *Sci. Signal.* 5, ra70. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2003084>
- Pyonteck, S.M., Akkari, L., Schuhmacher, A.J., Bowman, R.L., Sevenich, L., Quail, D.F., Olson, O.C., Quick, M.L., Huse, J.T., Teijeiro, V., Setty, M., Leslie, C.S., Oei, Y., Pedraza, A., Zhang, J., Brennan, C.W., Sutton, J.C., Holland, E.C., Daniel, D., Joyce, J.A., 2013. CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression. *Nat. Med.* 19, 1264–1272. <https://doi.org/10.1038/nm.3337>
- Qi, Z.-Y., Shao, C., Yang, C., Wang, Z., Hui, G.-Z., 2014. Alcohol Consumption and Risk of Glioma: A Meta-Analysis of 19 Observational Studies. *Nutrients* 6, 504–516. <https://doi.org/10.3390/nu6020504>
- Qin, W., Hu, L., Zhang, X., Jiang, S., Li, J., Zhang, Z., Wang, X., 2019. The Diverse Function of PD-1/PD-L Pathway Beyond Cancer. *Front. Immunol.* 10, 2298. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02298>
- Quezada, C., Torres, Á., Niechi, I., Uribe, D., Contreras-Duarte, S., Toledo, F., San Martín, R., Gutiérrez, J., Sobrevia, L., 2018. Role of extracellular vesicles in glioma progression. *Mol. Aspects Med.* 60, 38–51. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.12.003>
- Rahman, M., Jackson, L.K., Johnson, W.E., Li, D.Y., Bild, A.H., Piccolo, S.R., 2015. Alternative preprocessing of RNA-Sequencing data in The Cancer Genome Atlas leads to improved analysis results. *Bioinforma. Oxf. Engl.* 31, 3666–3672. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv377>
- Ramakrishnaiah, V., Thumann, C., Fofana, I., Habersetzer, F., Pan, Q., de Ruiter, P.E., Willemsen, R., Demmers, J.A.A., Stalin Raj, V., Jenster, G., Kwekkeboom, J., Tilanus, H.W., Haagmans, B.L., Baumert, T.F., van der Laan, L.J.W., 2013. Exosome-mediated transmission of hepatitis C virus between human hepatoma Huh7.5 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 13109–13113. <https://doi.org/10.1073/pnas.1221899110>
- Rana, S., Claas, C., Kretz, C.C., Nazarenko, I., Zoeller, M., 2011. Activation-induced internalization differs for the tetraspanins CD9 and Tspan8: Impact on tumor cell motility. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 43, 106–119. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2010.10.002>
- Rana, S., Yue, S., Stadel, D., Zöller, M., 2012. Toward tailored exosomes: the exosomal tetraspanin web contributes to target cell selection. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 44, 1574–1584. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.06.018>
- Rand, V., Huang, J., Stockwell, T., Ferriera, S., Buzko, O., Levy, S., Busam, D., Li, K., Edwards, J.B., Eberhart, C., Murphy, K.M., Tsiamouri, A., Beeson, K., Simpson, A.J.G., Venter, J.C., Riggins, G.J., Strausberg, R.L., 2005. Sequence survey of

- receptor tyrosine kinases reveals mutations in glioblastomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 14344–14349. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507200102>
- Ranger, A.M., Patel, Y.K., Chaudhary, N., Anantha, R.V., 2014. Familial syndromes associated with intracranial tumours: a review. *Childs Nerv. Syst.* 30, 47–64. <https://doi.org/10.1007/s00381-013-2309-z>
- Raposo, G., Nijman, H.W., Stoorvogel, W., Liejendekker, R., Harding, C.V., Melief, C.J., Geuze, H.J., 1996. B lymphocytes secrete antigen-presenting vesicles. *J. Exp. Med.* 183, 1161–1172. <https://doi.org/10.1084/jem.183.3.1161>
- Raposo, G., Tenza, D., Mecheri, S., Peronet, R., Bonnerot, C., Desaymard, C., 1997. Accumulation of major histocompatibility complex class II molecules in mast cell secretory granules and their release upon degranulation. *Mol. Biol. Cell* 8, 2631–2645. <https://doi.org/10.1091/mbc.8.12.2631>
- Rathmell, J.C., Heiden, M.G.V., Harris, M.H., Frauwirth, K.A., Thompson, C.B., 2000. In the Absence of Extrinsic Signals, Nutrient Utilization by Lymphocytes Is Insufficient to Maintain Either Cell Size or Viability. *Mol. Cell* 6, 683–692. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(00\)00066-6](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(00)00066-6)
- Raychaudhuri, B., Rayman, P., Ireland, J., Ko, J., Rini, B., Borden, E.C., Garcia, J., Vogelbaum, M.A., Finke, J., 2011. Myeloid-derived suppressor cell accumulation and function in patients with newly diagnosed glioblastoma. *Neuro-Oncol.* 13, 591–599. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nor042>
- Reardon, D.A., Brandes, A.A., Omuro, A., Mulholland, P., Lim, M., Wick, A., Baehring, J., Ahluwalia, M.S., Roth, P., Bähr, O., Phuphanich, S., Sepulveda, J.M., De Souza, P., Sahebjam, S., Carleton, M., Tatsuoka, K., Taitt, C., Zwirter, R., Sampson, J., Weller, M., 2020. Effect of Nivolumab vs Bevacizumab in Patients With Recurrent Glioblastoma: The CheckMate 143 Phase 3 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 6, 1003–1010. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2020.1024>
- Reardon, D.A., Kaley, T.J., Dietrich, J., Clarke, J.L., Dunn, G., Lim, M., Cloughesy, T.F., Gan, H.K., Park, A.J., Schwarzenberger, P., Ricciardi, T., Macri, M.J., Ryan, A., Venhaus, R.R., 2019. Phase II study to evaluate safety and efficacy of MEDI4736 (durvalumab) + radiotherapy in patients with newly diagnosed unmethylated MGMT glioblastoma (new unmeth GBM). *J. Clin. Oncol.* 37, 2032–2032. https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.2032
- Reardon, D.A., Kaley, T.J., Dietrich, J., Clarke, J.L., Dunn, G.P., Lim, M., Cloughesy, T.F., Gan, H.K., Park, A.J., Schwarzenberger, P., Ricciardi, T., Macri, M.J., Ryan, A., Venhaus, R.R., 2017. Phase 2 study to evaluate safety and efficacy of MEDI4736 (durvalumab [DUR]) in glioblastoma (GBM) patients: An update. *J. Clin. Oncol.* 35, 2042–2042. https://doi.org/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.2042
- Reardon, D.A., Schuster, J., Tran, D.D., Fink, K.L., Nabors, L.B., Li, G., Bota, D.A., Lukas, R.V., Desjardins, A., Ashby, L.S., Duic, J.P., Mrugala, M.M., Werner, A., Hawthorne, T., He, Y., Green, J.A., Yellin, M.J., Turner, C.D., Davis, T.A., Sampson, J.H., 2015. ReACT: Overall survival from a randomized phase II study of rindopepimut (CDX-110) plus bevacizumab in relapsed glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* 33, 2009–2009. https://doi.org/10.1200/jco.2015.33.15_suppl.2009
- Reardon, D.A., Turner, S., Peters, K.B., Desjardins, A., Gururangan, S., Sampson, J.H., McLendon, R.E., Herndon, J.E., Jones, L.W., Kirkpatrick, J.P., Friedman, A.H., Vredenburgh, J.J., Bigner, D.D., Friedman, H.S., 2011. A Review of VEGF/VEGFR-Targeted Therapeutics for Recurrent Glioblastoma. *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* 9, 414–427. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2011.0038>

- Record, M., Carayon, K., Poirot, M., Silvente-Poirot, S., 2014. Exosomes as new vesicular lipid transporters involved in cell-cell communication and various pathophysiologicals. *Biochim. Biophys. Acta* 1841, 108–120. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2013.10.004>
- Reichardt, L.F., 2006. Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 361, 1545–1564. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1894>
- Ribatti, D., 2012. Cancer stem cells and tumor angiogenesis. *Cancer Lett.* 321, 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.02.024>
- Rich, J.N., Hans, C., Jones, B., Iversen, E.S., McLendon, R.E., Rasheed, B.K.A., Dobra, A., Dressman, H.K., Bigner, D.D., Nevins, J.R., West, M., 2005. Gene expression profiling and genetic markers in glioblastoma survival. *Cancer Res.* 65, 4051–4058. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-3936>
- Ricklefs, F., Mineo, M., Rooj, A.K., Nakano, I., Charest, A., Weissleder, R., Breakefield, X.O., Chiocca, E.A., Godlewski, J., Bronisz, A., 2016. Extracellular Vesicles from High-Grade Glioma Exchange Diverse Pro-oncogenic Signals That Maintain Intratumoral Heterogeneity. *Cancer Res.* 76, 2876–2881. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-3432>
- Ricklefs, F.L., Alayo, Q., Krenzlin, H., Mahmoud, A.B., Speranza, M.C., Nakashima, H., Hayes, J.L., Lee, K., Balaj, L., Passaro, C., Rooj, A.K., Krasemann, S., Carter, B.S., Chen, C.C., Steed, T., Treiber, J., Rodig, S., Yang, K., Nakano, I., Lee, H., Weissleder, R., Breakefield, X.O., Godlewski, J., Westphal, M., Lamszus, K., Freeman, G.J., Bronisz, A., Lawler, S.E., Chiocca, E.A., 2018. Immune evasion mediated by PD-L1 on glioblastoma-derived extracellular vesicles. *Sci. Adv.* 4, eaar2766. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aar2766>
- Robbins, P.D., Morelli, A.E., 2014. Regulation of immune responses by extracellular vesicles. *Nat. Rev. Immunol.* 14, 195–208. <https://doi.org/10.1038/nri3622>
- Robert, C., Long, G.V., Brady, B., Dutriaux, C., Maio, M., Mortier, L., Hassel, J.C., Rutkowski, P., McNeil, C., Kalinka-Warzocho, E., Savage, K.J., Hernberg, M.M., Lebbé, C., Charles, J., Mihalciou, C., Chiarion-Sileni, V., Mauch, C., Cognetti, F., Arance, A., Schmidt, H., Schadendorf, D., Gogas, H., Lundgren-Eriksson, L., Horak, C., Sharkey, B., Waxman, I.M., Atkinson, V., Ascierto, P.A., 2015a. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N. Engl. J. Med.* 372, 320–330. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1412082>
- Robert, C., Schachter, J., Long, G.V., Arance, A., Grob, J.J., Mortier, L., Daud, A., Carlino, M.S., McNeil, C., Lotem, M., Larkin, J., Lorigan, P., Neyns, B., Blank, C.U., Hamid, O., Mateus, C., Shapira-Frommer, R., Kosh, M., Zhou, H., Ibrahim, N., Ebbinghaus, S., Ribas, A., KEYNOTE-006 investigators, 2015b. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N. Engl. J. Med.* 372, 2521–2532. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1503093>
- Robinson, D.G., Ding, Y., Jiang, L., 2016. Unconventional protein secretion in plants: a critical assessment. *Protoplasma* 253, 31–43. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0887-1>
- Rocha, A.S., Risberg, B., Magalhães, J., Trovisco, V., de Castro, I.V., Lazarovici, P., Soares, P., Davidson, B., Sobrinho-Simões, M., 2006. The p75 neurotrophin receptor is widely expressed in conventional papillary thyroid carcinoma. *Hum. Pathol.* 37, 562–568. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2005.12.016>
- Rocha, N., Kuijl, C., van der Kant, R., Janssen, L., Houben, D., Janssen, H., Zwart, W., Neefjes, J., 2009. Cholesterol sensor ORP1L contacts the ER protein VAP to control Rab7-RILP-p150 Glued and late endosome positioning. *J. Cell Biol.* 185, 1209–1225. <https://doi.org/10.1083/jcb.200811005>

- Roder, C., Bisdas, S., Ebner, F.H., Honegger, J., Naegele, T., Ernemann, U., Tatagiba, M., 2014. Maximizing the extent of resection and survival benefit of patients in glioblastoma surgery: High-field iMRI versus conventional and 5-ALA-assisted surgery. *Eur. J. Surg. Oncol. EJSO* 40, 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2013.11.022>
- Rodriguez-Tébar, A., Dechant, G., Barde, Y.A., 1990. Binding of brain-derived neurotrophic factor to the nerve growth factor receptor. *Neuron* 4, 487–492. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(90\)90107-q](https://doi.org/10.1016/0896-6273(90)90107-q)
- Rodríguez-Tébar, A., Dechant, G., Götz, R., Barde, Y.A., 1992. Binding of neurotrophin-3 to its neuronal receptors and interactions with nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor. *EMBO J.* 11, 917–922.
- Rosenberg, J.E., Hoffman-Censits, J., Powles, T., van der Heijden, M.S., Balar, A.V., Necchi, A., Dawson, N., O'Donnell, P.H., Balmanoukian, A., Loriot, Y., Srinivas, S., Retz, M.M., Grivas, P., Joseph, R.W., Galsky, M.D., Fleming, M.T., Petrylak, D.P., Perez-Gracia, J.L., Burris, H.A., Castellano, D., Canil, C., Bellmunt, J., Bajorin, D., Nickles, D., Bourgon, R., Frampton, G.M., Cui, N., Mariathasan, S., Abidoye, O., Fine, G.D., Dreicer, R., 2016. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Lond. Engl.* 387, 1909–1920. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00561-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00561-4)
- Roth, J., Roach, E.S., Bartels, U., Józwiak, S., Koenig, M.K., Weiner, H.L., Franz, D.N., Wang, H.Z., 2013. Subependymal Giant Cell Astrocytoma: Diagnosis, Screening, and Treatment. Recommendations From the International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Conference 2012. *Pediatr. Neurol.* 49, 439–444. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2013.08.017>
- Roth, P., Weller, M., 2014. Challenges to targeting epidermal growth factor receptor in glioblastoma: escape mechanisms and combinatorial treatment strategies. *Neuro-Oncol.* 16 Suppl 8, viii14-19. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou222>
- Rousseau, A., Mokhtari, K., Duyckaerts, C., 2008. The 2007 WHO classification of tumors of the central nervous system – what has changed?: *Curr. Opin. Neurol.* 21, 720–727. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e328312c3a7>
- Roux, P.P., Barker, P.A., 2002. Neurotrophin signaling through the p75 neurotrophin receptor. *Prog. Neurobiol.* 67, 203–233. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(02\)00016-3](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(02)00016-3)
- Roux, P.P., Bhakar, A.L., Kennedy, T.E., Barker, P.A., 2001. The p75 neurotrophin receptor activates Akt (protein kinase B) through a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. *J. Biol. Chem.* 276, 23097–23104. <https://doi.org/10.1074/jbc.M011520200>
- Rudà, R., Pellerino, A., Magistrello, M., Franchino, F., Pinessi, L., Soffietti, R., 2015. Molecularly based management of gliomas in clinical practice. *Neurol. Sci.* 36, 1551–1557. <https://doi.org/10.1007/s10072-015-2332-9>
- Rusten, T.E., Vaccari, T., Stenmark, H., 2011. Shaping development with ESCRTs. *Nat. Cell Biol.* 14, 38–45. <https://doi.org/10.1038/ncb2381>
- Saada, S., Marget, P., Fauchais, A.-L., Lise, M.-C., Chemin, G., Sindou, P., Martel, C., Delpy, L., Vidal, E., Jaccard, A., Troutaud, D., Lalloué, F., Jauberteau, M.-O., 2012. Differential Expression of Neurotensin and Specific Receptors, NTSR1 and NTSR2, in Normal and Malignant Human B Lymphocytes. *J. Immunol.* 189, 5293–5303. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102937>
- Sabatier, R., Finetti, P., Mamessier, E., Adelaide, J., Chaffanet, M., Ali, H.R., Viens, P., Caldas, C., Birnbaum, D., Bertucci, F., 2015. Prognostic and predictive value of PDL1

expression in breast cancer. *Oncotarget* 6, 5449–5464. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3216>

- Saha, A., O'Connor, R.S., Thangavelu, G., Lovitch, S.B., Dandamudi, D.B., Wilson, C.B., Vincent, B.G., Tkachev, V., Pawlicki, J.M., Furlan, S.N., Kean, L.S., Aoyama, K., Taylor, P.A., Panoskaltsis-Mortari, A., Foncea, R., Ranganathan, P., Devine, S.M., Burrill, J.S., Guo, L., Sacristan, C., Snyder, N.W., Blair, I.A., Milone, M.C., Dustin, M.L., Riley, J.L., Bernlohr, D.A., Murphy, W.J., Fife, B.T., Munn, D.H., Miller, J.S., Serody, J.S., Freeman, G.J., Sharpe, A.H., Turka, L.A., Blazar, B.R., 2016. Programmed death ligand-1 expression on donor T cells drives graft-versus-host disease lethality. *J. Clin. Invest.* 126, 2642–2660. <https://doi.org/10.1172/JCI185796>
- Sakuishi, K., Apetoh, L., Sullivan, J.M., Blazar, B.R., Kuchroo, V.K., Anderson, A.C., 2010. Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity. *J. Exp. Med.* 207, 2187–2194. <https://doi.org/10.1084/jem.20100643>
- Salacz, M.E., Watson, K.R., Schomas, D.A., 2011. Glioblastoma: Part I. Current state of affairs. *Mo. Med.* 108, 187–194.
- Salomon, B., Bluestone, J.A., 2001. Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Annu. Rev. Immunol.* 19, 225–252. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.225>
- Salvati, M., Frati, A., Russo, N., Caroli, E., Polli, F.M., Minniti, G., Delfini, R., 2003. Radiation-induced gliomas. *Surg. Neurol.* 60, 60–67. [https://doi.org/10.1016/S0090-3019\(03\)00137-X](https://doi.org/10.1016/S0090-3019(03)00137-X)
- Sampson, J.H., Heimberger, A.B., Archer, G.E., Aldape, K.D., Friedman, A.H., Friedman, H.S., Gilbert, M.R., Herndon, J.E., McLendon, R.E., Mitchell, D.A., Reardon, D.A., Sawaya, R., Schmittling, R.J., Shi, W., Vredenburgh, J.J., Bigner, D.D., 2010. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 28, 4722–4729. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.28.6963>
- Sansom, D.M., 2000. CD28, CTLA-4 and their ligands: who does what and to whom? *Immunology* 101, 169–177. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2000.00121.x>
- Sansone, P., Savini, C., Kurelac, I., Chang, Q., Amato, L.B., Strillacci, A., Stepanova, A., Iommarini, L., Mastroleo, C., Daly, L., Galkin, A., Thakur, B.K., Soplop, N., Uryu, K., Hoshino, A., Norton, L., Bonafé, M., Cricca, M., Gasparre, G., Lyden, D., Bromberg, J., 2017. Packaging and transfer of mitochondrial DNA via exosomes regulate escape from dormancy in hormonal therapy-resistant breast cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 114, E9066–E9075. <https://doi.org/10.1073/pnas.1704862114>
- Sareen, H., Garrett, C., Lynch, D., Powter, B., Brungs, D., Cooper, A., Po, J., Koh, E.-S., Vessey, J.Y., McKechnie, S., Bazina, R., Sheridan, M., van Gelder, J., Darwish, B., Jaeger, M., Roberts, T.L., De Souza, P., Becker, T.M., 2020. The Role of Liquid Biopsies in Detecting Molecular Tumor Biomarkers in Brain Cancer Patients. *Cancers* 12. <https://doi.org/10.3390/cancers12071831>
- Sarkaria, J.N., Galanis, E., Wu, W., Dietz, A.B., Kaufmann, T.J., Gustafson, M.P., Brown, P.D., Uhm, J.H., Rao, R.D., Doyle, L., Giannini, C., Jaeckle, K.A., Buckner, J.C., 2010. Combination of Temsirolimus (CCI-779) with Chemoradiation in Newly Diagnosed Glioblastoma Multiforme (GBM) (NCCTG trial N027D) Is Associated with Increased Infectious Risks. *Clin. Cancer Res.* 16, 5573–5580. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-1453>
- Savina, A., Fader, C.M., Damiani, M.T., Colombo, M.I., 2005. Rab11 promotes docking and fusion of multivesicular bodies in a calcium-dependent manner. *Traffic Cph. Den.* 6, 131–143. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2004.00257.x>

- Savina, A., Furlán, M., Vidal, M., Colombo, M.I., 2003. Exosome release is regulated by a calcium-dependent mechanism in K562 cells. *J. Biol. Chem.* 278, 20083–20090. <https://doi.org/10.1074/jbc.M301642200>
- Scaringi, C., Minniti, G., Caporello, P., Enrici, R.M., 2012. Integrin Inhibitor Cilengitide for the Treatment of Glioblastoma: A Brief Overview of Current Clinical Results. *ANTICANCER Res.* 11.
- Schiff, D., Lee, E.Q., Nayak, L., Norden, A.D., Reardon, D.A., Wen, P.Y., 2015. Medical management of brain tumors and the sequelae of treatment. *Neuro-Oncol.* 17, 488–504. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou304>
- Schildberg, F.A., Klein, S.R., Freeman, G.J., Sharpe, A.H., 2016. Coinhibitory Pathways in the B7-CD28 Ligand-Receptor Family. *Immunity* 44, 955–972. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.05.002>
- Schmid, M., Jensen, T.H., 2019. The Nuclear RNA Exosome and Its Cofactors. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1203, 113–132. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31434-7_4
- Schmidt, O., Teis, D., 2012. The ESCRT machinery. *Curr. Biol. CB* 22, R116-120. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.01.028>
- Schorey, J.S., Cheng, Y., Singh, P.P., Smith, V.L., 2015. Exosomes and other extracellular vesicles in host-pathogen interactions. *EMBO Rep.* 16, 24–43. <https://doi.org/10.15252/embr.201439363>
- Schreiber, R.D., Old, L.J., Smyth, M.J., 2011. Cancer Immunoediting: Integrating Immunity's Roles in Cancer Suppression and Promotion. *Science* 331, 1565–1570. <https://doi.org/10.1126/science.1203486>
- Schumacher, T.N., Schreiber, R.D., 2015. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science* 348, 69–74. <https://doi.org/10.1126/science.aaa4971>
- Schwartz, R.H., Mueller, D.L., Jenkins, M.K., Quill, H., 1989. T-cell clonal anergy. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 54 Pt 2, 605–610. <https://doi.org/10.1101/sqb.1989.054.01.072>
- Segura, E., Nicco, C., Lombard, B., Véron, P., Raposo, G., Batteux, F., Amigorena, S., Théry, C., 2005. ICAM-1 on exosomes from mature dendritic cells is critical for efficient naive T-cell priming. *Blood* 106, 216–223. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-01-0220>
- Seidah, N.G., Benjannet, S., Pareek, S., Chrétien, M., Murphy, R.A., 1996a. Cellular processing of the neurotrophin precursors of NT3 and BDNF by the mammalian proprotein convertases. *FEBS Lett.* 379, 247–250. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)01520-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)01520-5)
- Seidah, N.G., Benjannet, S., Pareek, S., Savaria, D., Hamelin, J., Goulet, B., Laliberte, J., Lazure, C., Chrétien, M., Murphy, R.A., 1996b. Cellular processing of the nerve growth factor precursor by the mammalian pro-protein convertases. *Biochem. J.* 314 (Pt 3), 951–960. <https://doi.org/10.1042/bj3140951>
- Seidel, S., Garvalov, B.K., Wirta, V., von Stechow, L., Schänzer, A., Meletis, K., Wolter, M., Sommerlad, D., Henze, A.-T., Nistér, M., Reifenberger, G., Lundeberg, J., Frisén, J., Acker, T., 2010. A hypoxic niche regulates glioblastoma stem cells through hypoxia inducible factor 2 alpha. *Brain J. Neurol.* 133, 983–995. <https://doi.org/10.1093/brain/awq042>
- Selenko-Gebauer, N., Majdic, O., Szekeres, A., Höfler, G., Guthann, E., Korthäuer, U., Zlabinger, G., Steinberger, P., Pickl, W.F., Stockinger, H., Knapp, W., Stöckl, J., 2003. B7-H1 (programmed death-1 ligand) on dendritic cells is involved in the

- induction and maintenance of T cell anergy. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 170, 3637–3644. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.7.3637>
- Semenza, G.L., 2001. Hypoxia-inducible factor 1: oxygen homeostasis and disease pathophysiology. *Trends Mol. Med.* 7, 345–350. [https://doi.org/10.1016/s1471-4914\(01\)02090-1](https://doi.org/10.1016/s1471-4914(01)02090-1)
- Senft, C., Bink, A., Franz, K., Vatter, H., Gasser, T., Seifert, V., 2011. Intraoperative MRI guidance and extent of resection in glioma surgery: a randomised, controlled trial. *Lancet Oncol.* 12, 997–1003. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(11\)70196-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(11)70196-6)
- Seystahl, K., Tritschler, I., Szabo, E., Tabatabai, G., Weller, M., 2015. Differential regulation of TGF- β -induced, ALK-5-mediated VEGF release by SMAD2/3 versus SMAD1/5/8 signaling in glioblastoma. *Neuro-Oncol.* 17, 254–265. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou218>
- Shabason, J.E., Tofilon, P.J., Camphausen, K., 2011. Grand rounds at the National Institutes of Health: HDAC inhibitors as radiation modifiers, from bench to clinic. *J. Cell. Mol. Med.* 15, 2735–2744. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2011.01296.x>
- Shao, H., Chung, J., Lee, K., Balaj, L., Min, C., Carter, B.S., Hochberg, F.H., Breakefield, X.O., Lee, H., Weissleder, R., 2015. Chip-based analysis of exosomal mRNA mediating drug resistance in glioblastoma. *Nat. Commun.* 6, 6999. <https://doi.org/10.1038/ncomms7999>
- Sharifzad, F., Ghavami, S., Verdi, J., Mardpour, S., Mollapour Sisakht, M., Azizi, Z., Taghikhani, A., Łos, M.J., Fakharian, E., Ebrahimi, M., Hamidieh, A.A., 2019. Glioblastoma cancer stem cell biology: Potential theranostic targets. *Drug Resist. Updat. Rev. Comment. Antimicrob. Anticancer Chemother.* 42, 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2018.03.003>
- Sharma, A., Johnson, A., 2020. Exosome DNA: Critical regulator of tumor immunity and a diagnostic biomarker. *J. Cell. Physiol.* 235, 1921–1932. <https://doi.org/10.1002/jcp.29153>
- Sharma, P., Hu-Lieskovan, S., Wargo, J.A., Ribas, A., 2017. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell* 168, 707–723. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.01.017>
- Sharma, S., Rasool, H.I., Palanisamy, V., Mathisen, C., Schmidt, M., Wong, D.T., Gimzewski, J.K., 2010. Structural-mechanical characterization of nanoparticle exosomes in human saliva, using correlative AFM, FESEM, and force spectroscopy. *ACS Nano* 4, 1921–1926. <https://doi.org/10.1021/nn901824n>
- Shen, B., Wu, N., Yang, J.-M., Gould, S.J., 2011. Protein targeting to exosomes/microvesicles by plasma membrane anchors. *J. Biol. Chem.* 286, 14383–14395. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.208660>
- Sheng, M., Sala, C., 2001. PDZ domains and the organization of supramolecular complexes. *Annu. Rev. Neurosci.* 24, 1–29. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.24.1.1>
- Shin, B.J., Burkhardt, J.-K., Riina, H.A., Boockvar, J.A., 2012. Superselective intra-arterial cerebral infusion of novel agents after blood-brain disruption for the treatment of recurrent glioblastoma multiforme: a technical case series. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 23, 323–329, ix–x. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2012.01.008>
- Shin, D.S., Zaretsky, J.M., Escuin-Ordinas, H., Garcia-Diaz, A., Hu-Lieskovan, S., Kalbasi, A., Grasso, C.S., Hugo, W., Sandoval, S., Torrejon, D.Y., Palaskas, N., Rodriguez, G.A., Parisi, G., Azhdam, A., Chmielowski, B., Cherry, G., Seja, E., Berent-Maoz, B., Shintaku, I.P., Le, D.T., Pardoll, D.M., Diaz, L.A., Tume, P.C., Graeber, T.G., Lo, R.S., Comin-Anduix, B., Ribas, A., 2017. Primary Resistance to PD-1 Blockade

Mediated by JAK1/2 Mutations. *Cancer Discov.* 7, 188–201. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-1223>

- Shindo, Y., Yoshimura, K., Kuramasu, A., Watanabe, Y., Ito, Hideaki, Kondo, T., Oga, A., Ito, Hiroshi, Yoshino, S., Hazama, S., Tamada, K., Yagita, H., Oka, M., 2015. Combination immunotherapy with 4-1BB activation and PD-1 blockade enhances antitumor efficacy in a mouse model of subcutaneous tumor. *Anticancer Res.* 35, 129–136.
- Shinsato, Y., Furukawa, T., Yunoue, S., Yonezawa, H., Minami, K., Nishizawa, Y., Ikeda, R., Kawahara, K., Yamamoto, M., Hirano, H., Tokimura, H., Arita, K., 2013. Reduction of MLH1 and PMS2 confers temozolomide resistance and is associated with recurrence of glioblastoma. *Oncotarget* 4, 2261–2270. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.1302>
- Shonukan, O., Bagayogo, I., McCrea, P., Chao, M., Hempstead, B., 2003. Neurotrophin-induced melanoma cell migration is mediated through the actin-bundling protein fascin. *Oncogene* 22, 3616–3623. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1206561>
- Siegal, T., 2016. Clinical Relevance of Prognostic and Predictive Molecular Markers in Gliomas, in: Schramm, J. (Ed.), *Advances and Technical Standards in Neurosurgery*, Advances and Technical Standards in Neurosurgery. Springer International Publishing, Cham, pp. 91–108. https://doi.org/10.1007/978-3-319-21359-0_4
- Siemann, D.W., Chaplin, D.J., Horsman, M.R., 2017. Realizing the Potential of Vascular Targeted Therapy: The Rationale for Combining Vascular Disrupting Agents and Anti-Angiogenic Agents to Treat Cancer. *Cancer Invest.* 35, 519–534. <https://doi.org/10.1080/07357907.2017.1364745>
- Simpson, R.J., Lim, J.W., Moritz, R.L., Mathivanan, S., 2009. Exosomes: proteomic insights and diagnostic potential. *Expert Rev. Proteomics* 6, 267–283. <https://doi.org/10.1586/epr.09.17>
- Sims, B., Farrow, A.L., Williams, S.D., Bansal, A., Krendelichtchikov, A., Matthews, Q.L., 2018. Tetraspanin blockage reduces exosome-mediated HIV-1 entry. *Arch. Virol.* 163, 1683–1689. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3737-6>
- Singer, H.S., Hansen, B., Martinie, D., Karp, C.L., 1999. Mitogenesis in glioblastoma multiforme cell lines: a role for NGF and its TrkA receptors. *J. Neurooncol.* 45, 1–8. <https://doi.org/10.1023/a:1006323523437>
- Singh, S.K., Hawkins, C., Clarke, I.D., Squire, J.A., Bayani, J., Hide, T., Henkelman, R.M., Cusimano, M.D., Dirks, P.B., 2004. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 432, 396–401. <https://doi.org/10.1038/nature03128>
- Sinha, S., Hoshino, D., Hong, N.H., Kirkbride, K.C., Grega-Larson, N.E., Seiki, M., Tyska, M.J., Weaver, A.M., 2016. Cortactin promotes exosome secretion by controlling branched actin dynamics. *J. Cell Biol.* 214, 197–213. <https://doi.org/10.1083/jcb.201601025>
- Sisquella, X., Ofir-Birin, Y., Pimentel, M.A., Cheng, L., Abou Karam, P., Sampaio, N.G., Penington, J.S., Connolly, D., Giladi, T., Scicluna, B.J., Sharples, R.A., Waltmann, A., Avni, D., Schwartz, E., Schofield, L., Porat, Z., Hansen, D.S., Papenfuss, A.T., Eriksson, E.M., Gerlic, M., Hill, A.F., Bowie, A.G., Regev-Rudzki, N., 2017. Malaria parasite DNA-harboring vesicles activate cytosolic immune sensors. *Nat. Commun.* 8, 1985. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02083-1>
- Skog, J., Wurdinger, T., van Rijn, S., Meijer, D., Gainche, L., Sena-Esteves, M., Curry, W.T., Carter, R.S., Krichevsky, A.M., Breakefield, X.O., 2008. Glioblastoma microvesicles transport RNA and protein that promote tumor growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat. Cell Biol.* 10, 1470–1476. <https://doi.org/10.1038/ncb1800>

- Skotland, T., Hessvik, N.P., Sandvig, K., Llorente, A., 2019. Exosomal lipid composition and the role of ether lipids and phosphoinositides in exosome biology. *J. Lipid Res.* 60, 9–18. <https://doi.org/10.1194/jlr.R084343>
- Skotland, T., Sandvig, K., Llorente, A., 2017. Lipids in exosomes: Current knowledge and the way forward. *Prog. Lipid Res.* 66, 30–41. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2017.03.001>
- Smets, T., Lawson, T.M., Grandin, C., Jankovski, A., Raftopoulos, C., 2013. Immediate post-operative MRI suggestive of the site and timing of glioblastoma recurrence after gross total resection: a retrospective longitudinal preliminary study. *Eur. Radiol.* 23, 1467–1477. <https://doi.org/10.1007/s00330-012-2762-1>
- Smythies, L.E., Smythies, J.R., 2014. Exosomes in the gut. *Front. Immunol.* 5, 104. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00104>
- Soeda, A., Hara, A., Kunisada, T., Yoshimura, S., Iwama, T., Park, D.M., 2015. The evidence of glioblastoma heterogeneity. *Sci. Rep.* 5, 7979. <https://doi.org/10.1038/srep07979>
- Son, M.J., Woolard, K., Nam, D.-H., Lee, J., Fine, H.A., 2009. SSEA-1 is an enrichment marker for tumor-initiating cells in human glioblastoma. *Cell Stem Cell* 4, 440–452. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2009.03.003>
- Song, P., Trajkovic, K., Tsunemi, T., Krainc, D., 2016. Parkin Modulates Endosomal Organization and Function of the Endo-Lysosomal Pathway. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 36, 2425–2437. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2569-15.2016>
- Sottoriva, A., Spiteri, I., Piccirillo, S.G.M., Touloumis, A., Collins, V.P., Marioni, J.C., Curtis, C., Watts, C., Tavaré, S., 2013. Intratumor heterogeneity in human glioblastoma reflects cancer evolutionary dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 4009–4014. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219747110>
- Spena, S., Gervasini, C., Milani, D., 2015. Ultra-Rare Syndromes: The Example of Rubinstein–Taybi Syndrome. *J. Pediatr. Genet.* 04, 177–186. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1564571>
- Spencer, A., Yu, L., Guili, V., Reynaud, F., Ding, Y., Ma, J., Jullien, J., Koubi, D., Gauthier, E., Cluet, D., Falk, J., Castellani, V., Yuan, C., Rudkin, B.B., 2017. Nerve Growth Factor Signaling from Membrane Microdomains to the Nucleus: Differential Regulation by Caveolins. *Int. J. Mol. Sci.* 18, E693. <https://doi.org/10.3390/ijms18040693>
- Squibb, B.-M., 2019a. Bristol-Myers Squibb Announces Phase 3 CheckMate -498 Study Did Not Meet Primary Endpoint of Overall Survival with Opdivo (nivolumab) Plus Radiation in Patients with Newly Diagnosed MGMT-Unmethylated Glioblastoma Multiforme [WWW Document]. URL <https://news.bms.com/news/corporate-financial/2019/Bristol-Myers-Squibb-Announces-Phase-3-CheckMate--498-Study-Did-Not-Meet-Primary-Endpoint-of-Overall-Survival-with-Opdivo-nivolumab-Plus-Radiation-in-Patients-with-Newly-Diagnosed-MGMT-Unmethylated-Glioblastoma-Multiforme/default.aspx> (accessed 4.23.21).
- Squibb, B.-M., 2019b. Bristol-Myers Squibb Provides Update on Phase 3 Opdivo (nivolumab) CheckMate -548 Trial in Patients with Newly Diagnosed MGMT-Methylated Glioblastoma Multiforme [WWW Document]. URL <https://news.bms.com/news/corporate-financial/2019/Bristol-Myers-Squibb-Provides-Update-on-Phase-3-Opdivo-nivolumab-CheckMate--548-Trial-in-Patients-with-Newly-Diagnosed-MGMT-Methylated-Glioblastoma-Multiforme/default.aspx> (accessed 4.23.21).
- Squinto, S.P., Stitt, T.N., Aldrich, T.H., Davis, S., Bianco, S.M., Radziejewski, C., Glass, D.J., Masiakowski, P., Furth, M.E., Valenzuela, D.M., 1991. trkB encodes a functional

- receptor for brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 but not nerve growth factor. *Cell* 65, 885–893. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90395-f](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90395-f)
- Stark, A.M., Doukas, A., Hugo, H.-H., Mehdorn, H.M., 2010. The expression of mismatch repair proteins MLH1, MSH2 and MSH6 correlates with the Ki67 proliferation index and survival in patients with recurrent glioblastoma. *Neurol. Res.* 32, 816–820. <https://doi.org/10.1179/016164110X12645013515052>
- Stefanius, K., Servage, K., de Souza Santos, M., Gray, H.F., Toombs, J.E., Chimalapati, S., Kim, M.S., Malladi, V.S., Brekken, R., Orth, K., 2019. Human pancreatic cancer cell exosomes, but not human normal cell exosomes, act as an initiator in cell transformation. *eLife* 8. <https://doi.org/10.7554/eLife.40226>
- Stewart, R., Morrow, M., Hammond, S.A., Mulgrew, K., Marcus, D., Poon, E., Watkins, A., Mullins, S., Chodorge, M., Andrews, J., Bannister, D., Dick, E., Crawford, N., Parmentier, J., Alimzhanov, M., Babcook, J.S., Foltz, I.N., Buchanan, A., Bedian, V., Wilkinson, R.W., McCourt, M., 2015. Identification and Characterization of MEDI4736, an Antagonistic Anti-PD-L1 Monoclonal Antibody. *Cancer Immunol. Res.* 3, 1052–1062. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0191>
- Strauss, L., Whiteside, T.L., Knights, A., Bergmann, C., Knuth, A., Zippelius, A., 2007. Selective survival of naturally occurring human CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells cultured with rapamycin. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 178, 320–329. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.1.320>
- Street, J.M., Barran, P.E., Mackay, C.L., Weidt, S., Balmforth, C., Walsh, T.S., Chalmers, R.T.A., Webb, D.J., Dear, J.W., 2012. Identification and proteomic profiling of exosomes in human cerebrospinal fluid. *J. Transl. Med.* 10, 5. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-10-5>
- Stupp, R., Hegi, M.E., Mason, W.P., van den Bent, M.J., Taphoorn, M.J.B., Janzer, R.C., Ludwin, S.K., Allgeier, A., Fisher, B., Belanger, K., Hau, P., Brandes, A.A., Gijtenbeek, J., Marosi, C., Vecht, C.J., Mokhtari, K., Wesseling, P., Villa, S., Eisenhauer, E., Gorlia, T., Weller, M., Lacombe, D., Cairncross, J.G., Mirimanoff, R.-O., European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumour and Radiation Oncology Groups, National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group, 2009. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* 10, 459–466. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70025-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70025-7)
- Stupp, R., Hegi, M.E., Neyns, B., Goldbrunner, R., Schlegel, U., Clement, P.M.J., Grabenbauer, G.G., Ochsenein, A.F., Simon, M., Dietrich, P.-Y., Pietsch, T., Hicking, C., Tonn, J.-C., Diserens, A.-C., Pica, A., Hermisson, M., Krueger, S., Picard, M., Weller, M., 2010. Phase I/IIa Study of Cilengitide and Temozolomide With Concomitant Radiotherapy Followed by Cilengitide and Temozolomide Maintenance Therapy in Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* 28, 2712–2718. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.26.6650>
- Stupp, R., Taillibert, S., Kanner, A.A., Kesari, S., Steinberg, D.M., Toms, S.A., Taylor, L.P., Lieberman, F., Silvani, A., Fink, K.L., Barnett, G.H., Zhu, J.-J., Henson, J.W., Engelhard, H.H., Chen, T.C., Tran, D.D., Sroubek, J., Tran, N.D., Hottinger, A.F., Landolfi, J., Desai, R., Caroli, M., Kew, Y., Honnorat, J., Idbaih, A., Kirson, E.D., Weinberg, U., Palti, Y., Hegi, M.E., Ram, Z., 2015. Maintenance Therapy With Tumor-Treating Fields Plus Temozolomide vs Temozolomide Alone for Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 314, 2535. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.16669>
- Stupp, R., Weller, M., Belanger, K., Bogdahn, U., Ludwin, S.K., Lacombe, D., Mirimanoff, R.O., 2005b. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 10.

- Stupp, R., Weller, M., Belanger, K., Bogdahn, U., Ludwin, S.K., Lacombe, D., Mirimanoff, R.O., 2005a. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 10.
- Stylianopoulos, T., Jain, R.K., 2013. Combining two strategies to improve perfusion and drug delivery in solid tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, 18632–18637. <https://doi.org/10.1073/pnas.1318415110>
- Subra, C., Laulagnier, K., Perret, B., Record, M., 2007. Exosome lipidomics unravels lipid sorting at the level of multivesicular bodies. *Biochimie* 89, 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.10.014>
- Suchorska, B., Weller, M., Tabatabai, G., Senft, C., Hau, P., Sabel, M.C., Herrlinger, U., Ketter, R., Schlegel, U., Marosi, C., Reifenberger, G., Wick, W., Tonn, J.C., Wirsching, H.-G., 2016. Complete resection of contrast-enhancing tumor volume is associated with improved survival in recurrent glioblastoma—results from the DIRECTOR trial. *Neuro-Oncol.* 18, 549–556. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov326>
- Sugimori, M., Hayakawa, Y., Boman, B.M., Fields, J.Z., Awaji, M., Kozano, H., Tamura, R., Yamamoto, S., Ogata, T., Yamada, M., Endo, S., Kurimoto, M., Kuroda, S., 2015. Discovery of Power-Law Growth in the Self-Renewal of Heterogeneous Glioma Stem Cell Populations. *PLoS One* 10, e0135760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135760>
- Sullivan, R., Saez, F., Girouard, J., Frenette, G., 2005. Role of exosomes in sperm maturation during the transit along the male reproductive tract. *Blood Cells. Mol. Dis.* 35, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2005.03.005>
- Sun, X., Ma, X., Wang, J., Zhao, Y., Wang, Y., Bihl, J.C., Chen, Y., Jiang, C., 2017. Glioma stem cells-derived exosomes promote the angiogenic ability of endothelial cells through miR-21/VEGF signal. *Oncotarget* 8, 36137–36148. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16661>
- Sun, Z., Shi, K., Yang, S., Liu, J., Zhou, Q., Wang, G., Song, J., Li, Z., Zhang, Z., Yuan, W., 2018. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications. *Mol. Cancer* 17, 147. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0897-7>
- Sung, B.H., Ketova, T., Hoshino, D., Zijlstra, A., Weaver, A.M., 2015. Directional cell movement through tissues is controlled by exosome secretion. *Nat. Commun.* 6, 7164. <https://doi.org/10.1038/ncomms8164>
- Suvà, M.L., Rheinbay, E., Gillespie, S.M., Patel, A.P., Wakimoto, H., Rabkin, S.D., Riggi, N., Chi, A.S., Cahill, D.P., Nahed, B.V., Curry, W.T., Martuza, R.L., Rivera, M.N., Rossetti, N., Kasif, S., Beik, S., Kadri, S., Tirosh, I., Wortman, I., Shalek, A.K., Rozenblatt-Rosen, O., Regev, A., Louis, D.N., Bernstein, B.E., 2014. Reconstructing and reprogramming the tumor-propagating potential of glioblastoma stem-like cells. *Cell* 157, 580–594. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.02.030>
- Szegő, É.M., Outeiro, T.F., Kermer, P., Schulz, J.B., 2013. Impairment of the septal cholinergic neurons in MPTP-treated A30P α -synuclein mice. *Neurobiol. Aging* 34, 589–601. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.04.012>
- Szopa, W., Burley, T.A., Kramer-Marek, G., Kaspera, W., 2017. Diagnostic and Therapeutic Biomarkers in Glioblastoma: Current Status and Future Perspectives. *BioMed Res. Int.* 2017, 8013575. <https://doi.org/10.1155/2017/8013575>
- Taal, W., Oosterkamp, H.M., Walenkamp, A.M.E., Dubbink, H.J., Beerepoot, L.V., Hanse, M.C.J., Buter, J., Honkoop, A.H., Boerman, D., de Vos, F.Y.F., Dinjens, W.N.M., Enting, R.H., Taphoorn, M.J.B., van den Berkmortel, F.W.P.J., Jansen, R.L.H., Brandsma, D., Bromberg, J.E.C., van Heuvel, I., Vernhout, R.M., van der Holt, B., van den Bent, M.J., 2014. Single-agent bevacizumab or lomustine versus a combination

- of bevacizumab plus lomustine in patients with recurrent glioblastoma (BELOB trial): a randomised controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 15, 943–953. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70314-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70314-6)
- Tabassum, A., Khwaja, F., Djakiew, D., 2003. The p75(NTR) tumor suppressor induces caspase-mediated apoptosis in bladder tumor cells. *Int. J. Cancer* 105, 47–52. <https://doi.org/10.1002/ijc.11038>
- Tabatabai, G., Tonn, J.-C., Stupp, R., Weller, M., 2011. The role of integrins in glioma biology and anti-glioma therapies. *Curr. Pharm. Des.* 17, 2402–2410. <https://doi.org/10.2174/138161211797249189>
- Tafari, M., Di Vito, M., Frati, A., Pellegrini, L., De Santis, E., Sette, G., Eramo, A., Sale, P., Mari, E., Santoro, A., Raco, A., Salvati, M., De Maria, R., Russo, M.A., 2011. Pro-inflammatory gene expression in solid glioblastoma microenvironment and in hypoxic stem cells from human glioblastoma. *J. Neuroinflammation* 8, 32. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-32>
- Takahashi, A., Okada, R., Nagao, K., Kawamata, Y., Hanyu, A., Yoshimoto, S., Takasugi, M., Watanabe, S., Kanemaki, M.T., Obuse, C., Hara, E., 2017. Exosomes maintain cellular homeostasis by excreting harmful DNA from cells. *Nat. Commun.* 8, 15287. <https://doi.org/10.1038/ncomms15287>
- Talbot, H., Saada, S., Naves, T., Gallet, P.-F., Fauchais, A.-L., Jauberteau, M.-O., 2019. Regulatory Roles of Sortilin and SorLA in Immune-Related Processes. *Front. Pharmacol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01507>
- Tanaka, S., Louis, D.N., Curry, W.T., Batchelor, T.T., Dietrich, J., 2013. Diagnostic and therapeutic avenues for glioblastoma: no longer a dead end? *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 10, 14–26. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2012.204>
- Taniuchi, M., Johnson, E.M., Roach, P.J., Lawrence, J.C., 1986. Phosphorylation of nerve growth factor receptor proteins in sympathetic neurons and PC12 cells. In vitro phosphorylation by the cAMP-independent protein kinase FA/GSK-3. *J. Biol. Chem.* 261, 13342–13349.
- Taube, J.M., Anders, R.A., Young, G.D., Xu, H., Sharma, R., McMiller, T.L., Chen, S., Klein, A.P., Pardoll, D.M., Topalian, S.L., Chen, L., 2012. Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci. Transl. Med.* 4, 127ra37. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003689>
- Tchirkov, A., Rolhion, C., Bertrand, S., Doré, J.F., Dubost, J.J., Verrelle, P., 2001. IL-6 gene amplification and expression in human glioblastomas. *Br. J. Cancer* 85, 518–522. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2001.1942>
- Teis, D., Saksena, S., Judson, B.L., Emr, S.D., 2010. ESCRT-II coordinates the assembly of ESCRT-III filaments for cargo sorting and multivesicular body vesicle formation. *EMBO J.* 29, 871–883. <https://doi.org/10.1038/emboj.2009.408>
- Teng, H.K., Teng, K.K., Lee, R., Wright, S., Tevar, S., Almeida, R.D., Kermani, P., Torkin, R., Chen, Z.-Y., Lee, F.S., Kraemer, R.T., Nykjaer, A., Hempstead, B.L., 2005. ProBDNF Induces Neuronal Apoptosis via Activation of a Receptor Complex of p75NTR and Sortilin. *J. Neurosci.* 25, 5455–5463. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5123-04.2005>
- Teng, K.K., Felice, S., Kim, T., Hempstead, B.L., 2010. Understanding proneurotrophin actions: Recent advances and challenges. *Dev. Neurobiol.* 70, 350–359. <https://doi.org/10.1002/dneu.20768>

- Teo, H., Perisic, O., González, B., Williams, R.L., 2004. ESCRT-II, an endosome-associated complex required for protein sorting: crystal structure and interactions with ESCRT-III and membranes. *Dev. Cell* 7, 559–569. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2004.09.003>
- Terawaki, S., Chikuma, S., Shibayama, S., Hayashi, T., Yoshida, T., Okazaki, T., Honjo, T., 2011. IFN- α directly promotes programmed cell death-1 transcription and limits the duration of T cell-mediated immunity. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 186, 2772–2779. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1003208>
- Thakkar, J.P., Dolecek, T.A., Horbinski, C., Ostrom, Q.T., Lightner, D.D., Barnholtz-Sloan, J.S., Villano, J.L., 2014. Epidemiologic and Molecular Prognostic Review of Glioblastoma. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 23, 1985–1996. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-0275>
- Thakur, B.K., Zhang, H., Becker, A., Matei, I., Huang, Y., Costa-Silva, B., Zheng, Y., Hoshino, A., Brazier, H., Xiang, J., Williams, C., Rodriguez-Barrueco, R., Silva, J.M., Zhang, W., Hearn, S., Elemento, O., Paknejad, N., Manova-Todorova, K., Welte, K., Bromberg, J., Peinado, H., Lyden, D., 2014. Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection. *Cell Res.* 24, 766–769. <https://doi.org/10.1038/cr.2014.44>
- The Cancer Genome Atlas Research Network, 2008a. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 455, 1061–1068. <https://doi.org/10.1038/nature07385>
- The Cancer Genome Atlas Research Network, 2008b. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 455, 1061–1068. <https://doi.org/10.1038/nature07385>
- Theodoraki, M.-N., Yerneni, S.S., Hoffmann, T.K., Gooding, W.E., Whiteside, T.L., 2018. Clinical Significance of PD-L1+ Exosomes in Plasma of Head and Neck Cancer Patients. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 24, 896–905. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-2664>
- Theos, A.C., Truschel, S.T., Tenza, D., Hurbain, I., Harper, D.C., Berson, J.F., Thomas, P.C., Raposo, G., Marks, M.S., 2006. A luminal domain-dependent pathway for sorting to intraluminal vesicles of multivesicular endosomes involved in organelle morphogenesis. *Dev. Cell* 10, 343–354. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2006.01.012>
- Therkildsen, C., Ladelund, S., Rambech, E., Persson, A., Petersen, A., Nilbert, M., 2015. Glioblastomas, astrocytomas and oligodendrogliomas linked to Lynch syndrome. *Eur. J. Neurol.* 22, 717–724. <https://doi.org/10.1111/ene.12647>
- Théry, C., Witwer, K.W., Aikawa, E., Alcaraz, M.J., Anderson, J.D., Andriantsitohaina, R., Antoniou, A., Arab, T., Archer, F., Atkin-Smith, G.K., Ayre, D.C., Bach, J.-M., Bachurski, D., Baharvand, H., Balaj, L., Baldacchino, S., Bauer, N.N., Baxter, A.A., Bebawy, M., Beckham, C., Bedina Zavec, A., Benmoussa, A., Berardi, A.C., Bergese, P., Bielska, E., Blenkiron, C., Bobis-Wozowicz, S., Boilard, E., Boireau, W., Bongiovanni, A., Borràs, F.E., Bosch, S., Boulanger, C.M., Breakefield, X., Breglio, A.M., Brennan, M.Á., Brigstock, D.R., Brisson, A., Broekman, M.L., Bromberg, J.F., Bryl-Górecka, P., Buch, S., Buck, A.H., Burger, D., Busatto, S., Buschmann, D., Bussolati, B., Buzás, E.I., Byrd, J.B., Camussi, G., Carter, D.R., Caruso, S., Chamley, L.W., Chang, Y.-T., Chen, C., Chen, S., Cheng, L., Chin, A.R., Clayton, A., Clerici, S.P., Cocks, A., Cocucci, E., Coffey, R.J., Cordeiro-da-Silva, A., Couch, Y., Coumans, F.A., Coyle, B., Crescitelli, R., Criado, M.F., D'Souza-Schorey, C., Das, S., Datta Chaudhuri, A., de Candia, P., De Santana, E.F., De Wever, O., Del Portillo, H.A., Demaret, T., Deville, S., Devitt, A., Dhondt, B., Di Vizio, D., Dieterich, L.C., Dolo, V., Dominguez Rubio, A.P., Dominici, M., Dourado, M.R., Driedonks, T.A., Duarte, F.V., Duncan, H.M., Eichenberger, R.M., Ekström, K., El Andaloussi, S., Elie-Caille, C., Erdbrügger, U., Falcón-Pérez, J.M., Fatima, F., Fish, J.E., Flores-Bellver,

M., Försönits, A., Frelet-Barrand, A., Fricke, F., Fuhrmann, G., Gabrielsson, S., Gámez-Valero, A., Gardiner, C., Gärtner, K., Gaudin, R., Gho, Y.S., Giebel, B., Gilbert, C., Gimona, M., Giusti, I., Goberdhan, D.C., Görgens, A., Gorski, S.M., Greening, D.W., Gross, J.C., Gualerzi, A., Gupta, G.N., Gustafson, D., Handberg, A., Haraszti, R.A., Harrison, P., Hegyesi, H., Hendrix, A., Hill, A.F., Hochberg, F.H., Hoffmann, K.F., Holder, B., Holthofer, H., Hosseinkhani, B., Hu, G., Huang, Y., Huber, V., Hunt, S., Ibrahim, A.G.-E., Ikezu, T., Inal, J.M., Isin, M., Ivanova, A., Jackson, H.K., Jacobsen, S., Jay, S.M., Jayachandran, M., Jenster, G., Jiang, L., Johnson, S.M., Jones, J.C., Jong, A., Jovanovic-Talisman, T., Jung, S., Kalluri, R., Kano, S.-I., Kaur, S., Kawamura, Y., Keller, E.T., Khamari, D., Khomyakova, E., Khvorova, A., Kierulf, P., Kim, K.P., Kislinger, T., Klingeborn, M., Klinke, D.J., Kornek, M., Kosanović, M.M., Kovács, Á.F., Krämer-Albers, E.-M., Krasemann, S., Krause, M., Kurochkin, I.V., Kusuma, G.D., Kuypers, S., Laitinen, S., Langevin, S.M., Languino, L.R., Lannigan, J., Lässer, C., Laurent, L.C., Lavieu, G., Lázaro-Ibáñez, E., Le Lay, S., Lee, M.-S., Lee, Y.X.F., Lemos, D.S., Lenassi, M., Leszczynska, A., Li, I.T., Liao, K., Libregts, S.F., Ligeti, E., Lim, R., Lim, S.K., Linē, A., Linnemannstöns, K., Llorente, A., Lombard, C.A., Lorenowicz, M.J., Lörincz, Á.M., Lötvall, J., Lovett, J., Lowry, M.C., Loyer, X., Lu, Q., Lukomska, B., Lunavat, T.R., Maas, S.L., Malhi, H., Marcilla, A., Mariani, J., Mariscal, J., Martens-Uzunova, E.S., Martin-Jaular, L., Martinez, M.C., Martins, V.R., Mathieu, M., Mathivanan, S., Maugeri, M., McGinnis, L.K., McVey, M.J., Meckes, D.G., Meehan, K.L., Mertens, I., Minciocchi, V.R., Möller, A., Møller Jørgensen, M., Morales-Kastresana, A., Morhayim, J., Mullier, F., Muraca, M., Musante, L., Mussack, V., Muth, D.C., Myburgh, K.H., Najrana, T., Nawaz, M., Nazarenko, I., Nejsun, P., Neri, C., Neri, T., Nieuwland, R., Nimrichter, L., Nolan, J.P., Nolte-'t Hoen, E.N., Noren Hooten, N., O'Driscoll, L., O'Grady, T., O'Loghlen, A., Ochiya, T., Olivier, M., Ortiz, A., Ortiz, L.A., Osteikoetxea, X., Østergaard, O., Ostrowski, M., Park, J., Pegtel, D.M., Peinado, H., Perut, F., Pfaffl, M.W., Phinney, D.G., Pieters, B.C., Pink, R.C., Pisetsky, D.S., Pogge von Strandmann, E., Polakovicova, I., Poon, I.K., Powell, B.H., Prada, I., Pulliam, L., Quesenberry, P., Radeghieri, A., Raffai, R.L., Raimondo, S., Rak, J., Ramirez, M.I., Raposo, G., Rayyan, M.S., Regev-Rudzki, N., Ricklefs, F.L., Robbins, P.D., Roberts, D.D., Rodrigues, S.C., Rohde, E., Rome, S., Rouschop, K.M., Rughetti, A., Russell, A.E., Saá, P., Sahoo, S., Salas-Huenuleo, E., Sánchez, C., Saugstad, J.A., Saul, M.J., Schiffelers, R.M., Schneider, R., Schøyen, T.H., Scott, A., Shahaj, E., Sharma, S., Shatnyeva, O., Shekari, F., Shelke, G.V., Shetty, A.K., Shiba, K., Siljander, P.R.-M., Silva, A.M., Skowronek, A., Snyder, O.L., Soares, R.P., Sódar, B.W., Soekmadji, C., Sotillo, J., Stahl, P.D., Stoorvogel, W., Stott, S.L., Strasser, E.F., Swift, S., Tahara, H., Tewari, M., Timms, K., Tiwari, S., Tixeira, R., Tkach, M., Toh, W.S., Tomasini, R., Torrecilhas, A.C., Tosar, J.P., Toxavidis, V., Urbanelli, L., Vader, P., van Balkom, B.W., van der Grein, S.G., Van Deun, J., van Herwijnen, M.J., Van Keuren-Jensen, K., van Niel, G., van Royen, M.E., van Wijnen, A.J., Vasconcelos, M.H., Vechetti, I.J., Veit, T.D., Vella, L.J., Velot, É., Verweij, F.J., Vestad, B., Viñas, J.L., Visnovitz, T., Vukman, K.V., Wahlgren, J., Watson, D.C., Wauben, M.H., Weaver, A., Webber, J.P., Weber, V., Wehman, A.M., Weiss, D.J., Welsh, J.A., Wendt, S., Wheelock, A.M., Wiener, Z., Witte, L., Wolfram, J., Xagorari, A., Xander, P., Xu, J., Yan, X., Yáñez-Mó, M., Yin, H., Yuana, Y., Zappulli, V., Zarubova, J., Žekas, V., Zhang, J.-Y., Zhao, Z., Zheng, L., Zheutlin, A.R., Zickler, A.M., Zimmermann, P., Zivkovic, A.M., Zocco, D., Zuba-Surma, E.K., 2018. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J. Extracell. Vesicles* 7, 1535750. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>

Théry, C., Zitvogel, L., Amigorena, S., 2002. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat. Rev. Immunol.* 2, 569–579. <https://doi.org/10.1038/nri855>

- Thiery, J.P., 2002. Epithelial–mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat. Rev. Cancer* 2, 442–454. <https://doi.org/10.1038/nrc822>
- Thiessen, B., Stewart, C., Tsao, M., Kamel-Reid, S., Schaiquevich, P., Mason, W., Easaw, J., Belanger, K., Forsyth, P., McIntosh, L., Eisenhauer, E., 2010. A phase I/II trial of GW572016 (lapatinib) in recurrent glioblastoma multiforme: clinical outcomes, pharmacokinetics and molecular correlation. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 65, 353–361. <https://doi.org/10.1007/s00280-009-1041-6>
- Thompson, R.H., Gillett, M.D., Chevillat, J.C., Lohse, C.M., Dong, H., Webster, W.S., Krejci, K.G., Lobo, J.R., Sengupta, S., Chen, L., Zincke, H., Blute, M.L., Strome, S.E., Leibovich, B.C., Kwon, E.D., 2004. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 17174–17179. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406351101>
- Thuringer, D., Chanteloup, G., Boucher, J., Pernet, N., Boudesco, C., Jegou, G., Chatelier, A., Bois, P., Gobbo, J., Cronier, L., Solary, E., Garrido, C., 2017. Modulation of the inwardly rectifying potassium channel Kir4.1 by the pro-invasive miR-5096 in glioblastoma cells. *Oncotarget* 8, 37681–37693. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16949>
- Tian, J., Li, X., Si, M., Liu, T., Li, J., 2014. CD271+ osteosarcoma cells display stem-like properties. *PLoS One* 9, e98549. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098549>
- Tian, T., Wang, Y., Wang, H., Zhu, Z., Xiao, Z., 2010. Visualizing of the cellular uptake and intracellular trafficking of exosomes by live-cell microscopy. *J. Cell. Biochem.* 111, 488–496. <https://doi.org/10.1002/jcb.22733>
- Tian, T., Zhu, Y.-L., Zhou, Y.-Y., Liang, G.-F., Wang, Y.-Y., Hu, F.-H., Xiao, Z.-D., 2014. Exosome uptake through clathrin-mediated endocytosis and macropinocytosis and mediating miR-21 delivery. *J. Biol. Chem.* 289, 22258–22267. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.588046>
- Tivol, E.A., Borriello, F., Schweitzer, A.N., Lynch, W.P., Bluestone, J.A., Sharpe, A.H., 1995. Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity* 3, 541–547. [https://doi.org/10.1016/1074-7613\(95\)90125-6](https://doi.org/10.1016/1074-7613(95)90125-6)
- Tkach, M., Théry, C., 2016. Communication by Extracellular Vesicles: Where We Are and Where We Need to Go. *Cell* 164, 1226–1232. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.043>
- Tkachev, V., Goodell, S., Opiari, A.W., Hao, L.-Y., Franchi, L., Glick, G.D., Ferrara, J.L.M., Byersdorfer, C.A., 2015. Programmed death-1 controls T cell survival by regulating oxidative metabolism. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 194, 5789–5800. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402180>
- Tolcher, A.W., Sznol, M., Hu-Lieskovan, S., Papadopoulos, K.P., Patnaik, A., Rasco, D.W., Di Gravio, D., Huang, B., Gambhire, D., Chen, Y., Thall, A.D., Pathan, N., Schmidt, E.V., Chow, L.Q.M., 2017. Phase Ib Study of Utomilumab (PF-05082566), a 4-1BB/CD137 Agonist, in Combination with Pembrolizumab (MK-3475) in Patients with Advanced Solid Tumors. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 23, 5349–5357. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1243>
- Topalian, S.L., Hodi, F.S., Brahmer, J.R., Gettinger, S.N., Smith, D.C., McDermott, D.F., Powderly, J.D., Carvajal, R.D., Sosman, J.A., Atkins, M.B., Leming, P.D., Spigel, D.R., Antonia, S.J., Horn, L., Drake, C.G., Pardoll, D.M., Chen, L., Sharfman, W.H., Anders, R.A., Taube, J.M., McMiller, T.L., Xu, H., Korman, A.J., Jure-Kunkel, M., Agrawal, S., McDonald, D., Kollia, G.D., Gupta, A., Wigginton, J.M., Sznol, M., 2012.

- Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N. Engl. J. Med.* 366, 2443–2454. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200690>
- Torralba, D., Baixauli, F., Villarroya-Beltri, C., Fernández-Delgado, I., Latorre-Pellicer, A., Acín-Pérez, R., Martín-Cófreces, N.B., Jaso-Tamame, Á.L., Iborra, S., Jorge, I., González-Aseguinolaza, G., Garaude, J., Vicente-Manzanares, M., Enríquez, J.A., Mittelbrunn, M., Sánchez-Madrid, F., 2018. Priming of dendritic cells by DNA-containing extracellular vesicles from activated T cells through antigen-driven contacts. *Nat. Commun.* 9, 2658. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05077-9>
- Trajkovic, K., Hsu, C., Chiantia, S., Rajendran, L., Wenzel, D., Wieland, F., Schwille, P., Brügger, B., Simons, M., 2008. Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular endosomes. *Science* 319, 1244–1247. <https://doi.org/10.1126/science.1153124>
- Trams, E.G., Lauter, C.J., Salem, N., Heine, U., 1981. Exfoliation of membrane ectoenzymes in the form of micro-vesicles. *Biochim. Biophys. Acta* 645, 63–70. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(81\)90512-5](https://doi.org/10.1016/0005-2736(81)90512-5)
- Trang, P., Wiggins, J.F., Daige, C.L., Cho, C., Omotola, M., Brown, D., Weidhaas, J.B., Bader, A.G., Slack, F.J., 2011. Systemic delivery of tumor suppressor microRNA mimics using a neutral lipid emulsion inhibits lung tumors in mice. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 19, 1116–1122. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.48>
- Trédan, O., Galmarini, C.M., Patel, K., Tannock, I.F., 2007. Drug resistance and the solid tumor microenvironment. *J. Natl. Cancer Inst.* 99, 1441–1454. <https://doi.org/10.1093/jnci/djm135>
- Trembath, D.G., Lal, A., Kroll, D.J., Oberlies, N.H., Riggins, G.J., 2007. A novel small molecule that selectively inhibits glioblastoma cells expressing EGFRvIII. *Mol. Cancer* 6, 30. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-6-30>
- Treps, L., Edmond, S., Harford-Wright, E., Galan-Moya, E.M., Schmitt, A., Azzi, S., Citerne, A., Bidère, N., Ricard, D., Gavard, J., 2016. Extracellular vesicle-transported Semaphorin3A promotes vascular permeability in glioblastoma. *Oncogene* 35, 2615–2623. <https://doi.org/10.1038/onc.2015.317>
- Tsui, C.C., Gabreski, N.A., Hein, S.J., Pierchala, B.A., 2015. Lipid Rafts Are Physiologic Membrane Microdomains Necessary for the Morphogenic and Developmental Functions of Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor In Vivo. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 35, 13233–13243. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2935-14.2015>
- Tunici, P., Bissola, L., Lualdi, E., Pollo, B., Cajola, L., Broggi, G., Sozzi, G., Finocchiaro, G., 2004. Genetic alterations and in vivo tumorigenicity of neurospheres derived from an adult glioblastoma. *Mol. Cancer* 3, 25. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-3-25>
- Turkalp, Z., Karamchandani, J., Das, S., 2014. IDH Mutation in Glioma: New Insights and Promises for the Future. *JAMA Neurol.* 71, 1319. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.1205>
- Uhm, J.H., Ballman, K.V., Wu, W., Giannini, C., Krauss, J.C., Buckner, J.C., James, C.D., Scheithauer, B.W., Behrens, R.J., Flynn, P.J., Schaefer, P.L., Dakhill, S.R., Jaeckle, K.A., 2011. Phase II Evaluation of Gefitinib in Patients With Newly Diagnosed Grade 4 Astrocytoma: Mayo/North Central Cancer Treatment Group Study N0074. *Int. J. Radiat. Oncol.* 80, 347–353. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.01.070>
- Urbani, S., Amadei, B., Tola, D., Massari, M., Schivazappa, S., Missale, G., Ferrari, C., 2006. PD-1 expression in acute hepatitis C virus (HCV) infection is associated with HCV-specific CD8 exhaustion. *J. Virol.* 80, 11398–11403. <https://doi.org/10.1128/JVI.01177-06>

- Uribe, D., Torres, Á., Rocha, J.D., Niechi, I., Oyarzún, C., Sobrevia, L., San Martín, R., Quezada, C., 2017. Multidrug resistance in glioblastoma stem-like cells: Role of the hypoxic microenvironment and adenosine signaling. *Mol. Aspects Med.* 55, 140–151. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.01.009>
- Vaishnavi, A., Le, A.T., Doebele, R.C., 2015. TRKking down an old oncogene in a new era of targeted therapy. *Cancer Discov.* 5, 25–34. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-14-0765>
- Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A., Sjöstrand, M., Lee, J.J., Lötvall, J.O., 2007. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat. Cell Biol.* 9, 654–659. <https://doi.org/10.1038/ncb1596>
- Valent, A., Danglot, G., Bernheim, A., 1997. Mapping of the tyrosine kinase receptors trkA (NTRK1), trkB (NTRK2) and trkC(NTRK3) to human chromosomes 1q22, 9q22 and 15q25 by fluorescence in situ hybridization. *Eur. J. Hum. Genet. EJHG* 5, 102–104.
- Vallabhaneni, K.C., Hassler, M.-Y., Abraham, A., Whitt, J., Mo, Y.-Y., Atfi, A., Pochampally, R., 2016. Mesenchymal Stem/Stromal Cells under Stress Increase Osteosarcoma Migration and Apoptosis Resistance via Extracellular Vesicle Mediated Communication. *PLoS One* 11, e0166027. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166027>
- Vallée, A., Guillevin, R., Vallée, J.-N., 2018. Vasculogenesis and angiogenesis initiation under normoxic conditions through Wnt/ β -catenin pathway in gliomas. *Rev. Neurosci.* 29, 71–91. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2017-0032>
- van der Vos, K.E., Abels, E.R., Zhang, X., Lai, C., Carrizosa, E., Oakley, D., Prabhakar, S., Mardini, O., Crommentuijn, M.H.W., Skog, J., Krichevsky, A.M., Stemmer-Rachamimov, A., Mempel, T.R., El Khoury, J., Hickman, S.E., Breakefield, X.O., 2016. Directly visualized glioblastoma-derived extracellular vesicles transfer RNA to microglia/macrophages in the brain. *Neuro-Oncol.* 18, 58–69. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov244>
- van Niel, G., Charrin, S., Simoes, S., Romao, M., Rochin, L., Saftig, P., Marks, M.S., Rubinstein, E., Raposo, G., 2011. The tetraspanin CD63 regulates ESCRT-independent and -dependent endosomal sorting during melanogenesis. *Dev. Cell* 21, 708–721. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.08.019>
- van Niel, G., Porto-Carreiro, I., Simoes, S., Raposo, G., 2006a. Exosomes: a common pathway for a specialized function. *J. Biochem. (Tokyo)* 140, 13–21. <https://doi.org/10.1093/jb/mvj128>
- van Niel, G., Wubbolts, R., Ten Broeke, T., Buschow, S.I., Ossendorp, F.A., Melief, C.J., Raposo, G., van Balkom, B.W., Stoorvogel, W., 2006b. Dendritic cells regulate exposure of MHC class II at their plasma membrane by oligoubiquitination. *Immunity* 25, 885–894. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.11.001>
- van Nifterik, K.A., Elkhuisen, P.H.M., van Andel, R.J., Stalpers, L.J.A., Leenstra, S., Lafleur, M.V.M., Vandertop, W.P., Slotman, B.J., Hulsebos, T.J.M., Sminia, P., 2006. Genetic profiling of a distant second glioblastoma multiforme after radiotherapy: Recurrence or second primary tumor? *J. Neurosurg.* 105, 739–744. <https://doi.org/10.3171/jns.2006.105.5.739>
- Vargas, A., Zhou, S., Éthier-Chiasson, M., Flipo, D., Lafond, J., Gilbert, C., Barbeau, B., 2014. Syncytin proteins incorporated in placenta exosomes are important for cell uptake and show variation in abundance in serum exosomes from patients with preeclampsia. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 28, 3703–3719. <https://doi.org/10.1096/fj.13-239053>

- Vega, E.A., Graner, M.W., Sampson, J.H., 2008. Combating immunosuppression in glioma. *Future Oncol. Lond. Engl.* 4, 433–442. <https://doi.org/10.2217/14796694.4.3.433>
- Verbeke, S., Meignan, S., Lagadec, C., Germain, E., Hondermarck, H., Adriaenssens, E., Le Bourhis, X., 2010. Overexpression of p75(NTR) increases survival of breast cancer cells through p21(waf1). *Cell. Signal.* 22, 1864–1873. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2010.07.014>
- Verderio, C., Gabrielli, M., Giussani, P., 2018. Role of sphingolipids in the biogenesis and biological activity of extracellular vesicles. *J. Lipid Res.* 59, 1325–1340. <https://doi.org/10.1194/jlr.R083915>
- Verhaak, R.G.W., Hoadley, K.A., Purdom, E., Wang, V., Qi, Y., Wilkerson, M.D., Miller, C.R., Ding, L., Golub, T., Mesirov, J.P., Alexe, G., Lawrence, M., O’Kelly, M., Tamayo, P., Weir, B.A., Gabriel, S., Winckler, W., Gupta, S., Jakkula, L., Feiler, H.S., Hodgson, J.G., James, C.D., Sarkaria, J.N., Brennan, C., Kahn, A., Spellman, P.T., Wilson, R.K., Speed, T.P., Gray, J.W., Meyerson, M., Getz, G., Perou, C.M., Hayes, D.N., 2010a. Integrated Genomic Analysis Identifies Clinically Relevant Subtypes of Glioblastoma Characterized by Abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell* 17, 98–110. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.12.020>
- Verhaak, R.G.W., Hoadley, K.A., Purdom, E., Wang, V., Qi, Y., Wilkerson, M.D., Miller, C.R., Ding, L., Golub, T., Mesirov, J.P., Alexe, G., Lawrence, M., O’Kelly, M., Tamayo, P., Weir, B.A., Gabriel, S., Winckler, W., Gupta, S., Jakkula, L., Feiler, H.S., Hodgson, J.G., James, C.D., Sarkaria, J.N., Brennan, C., Kahn, A., Spellman, P.T., Wilson, R.K., Speed, T.P., Gray, J.W., Meyerson, M., Getz, G., Perou, C.M., Hayes, D.N., 2010b. Integrated Genomic Analysis Identifies Clinically Relevant Subtypes of Glioblastoma Characterized by Abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell* 17, 98–110. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.12.020>
- Vidal, M., Mangeat, P., Hoekstra, D., 1997. Aggregation reroutes molecules from a recycling to a vesicle-mediated secretion pathway during reticulocyte maturation. *J. Cell Sci.* 110 (Pt 16), 1867–1877.
- Vidal, M.J., Stahl, P.D., 1993. The small GTP-binding proteins Rab4 and ARF are associated with released exosomes during reticulocyte maturation. *Eur. J. Cell Biol.* 60, 261–267.
- Vijapura, C., Saad Aldin, E., Capizzano, A.A., Policeni, B., Sato, Y., Moritani, T., 2017. Genetic Syndromes Associated with Central Nervous System Tumors. *RadioGraphics* 37, 258–280. <https://doi.org/10.1148/rg.2017160057>
- Vilar, M., 2017. Structural Characterization of the p75 Neurotrophin Receptor, in: *Vitamins and Hormones*. Elsevier, pp. 57–87. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2016.10.007>
- Villa, C., Miquel, C., Mosses, D., Bernier, M., Di Stefano, A.L., 2018. The 2016 World Health Organization classification of tumours of the central nervous system. *Presse Médicale* 47, e187–e200. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2018.04.015>
- Villarroya-Beltri, C., Baixauli, F., Mittelbrunn, M., Fernández-Delgado, I., Torralba, D., Moreno-Gonzalo, O., Baldanta, S., Enrich, C., Guerra, S., Sánchez-Madrid, F., 2016. ISGylation controls exosome secretion by promoting lysosomal degradation of MVB proteins. *Nat. Commun.* 7, 13588. <https://doi.org/10.1038/ncomms13588>
- Vincent-Schneider, H., Stumptner-Cuvelette, P., Lankar, D., Pain, S., Raposo, G., Benaroch, P., Bonnerot, C., 2002. Exosomes bearing HLA-DR1 molecules need dendritic cells to efficiently stimulate specific T cells. *Int. Immunol.* 14, 713–722. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxf048>
- Vojtech, L., Woo, S., Hughes, S., Levy, C., Ballweber, L., Sauteraud, R.P., Strobl, J., Westerberg, K., Gottardo, R., Tewari, M., Hladik, F., 2014. Exosomes in human semen carry a distinctive repertoire of small non-coding RNAs with potential

regulatory functions. *Nucleic Acids Res.* 42, 7290–7304. <https://doi.org/10.1093/nar/gku347>

- Wachsberger, P.R., Lawrence, R.Y., Liu, Y., Xia, X., Andersen, B., Dicker, A.P., 2011. Cediranib enhances control of wild type EGFR and EGFRvIII-expressing gliomas through potentiating temozolomide, but not through radiosensitization: implications for the clinic. *J. Neurooncol.* 105, 181–190. <https://doi.org/10.1007/s11060-011-0580-y>
- Wadhwa, S., Nag, T.C., Jindal, A., Kushwaha, R., Mahapatra, A.K., Sarkar, C., 2003. Expression of the neurotrophin receptors Trk A and Trk B in adult human astrocytoma and glioblastoma. *J. Biosci.* 28, 181–188. <https://doi.org/10.1007/BF02706217>
- Wagner, S., Czub, S., Greif, M., Vince, G.H., Süß, N., Kerkau, S., Rieckmann, P., Roggendorf, W., Roosen, K., Tonn, J.C., 1999. Microglial/macrophage expression of interleukin 10 in human glioblastomas. *Int. J. Cancer* 82, 12–16. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(19990702\)82:1<12::aid-ijc3>3.0.co;2-o](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(19990702)82:1<12::aid-ijc3>3.0.co;2-o)
- Wainwright, D.A., Chang, A.L., Dey, M., Balyasnikova, I.V., Kim, C.K., Tobias, A., Cheng, Y., Kim, J.W., Qiao, J., Zhang, L., Han, Y., Lesniak, M.S., 2014. Durable therapeutic efficacy utilizing combinatorial blockade against IDO, CTLA-4, and PD-L1 in mice with brain tumors. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 20, 5290–5301. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0514>
- Wakimoto, H., Kesari, S., Farrell, C.J., Curry, W.T., Zaupa, C., Aghi, M., Kuroda, T., Stemmer-Rachamimov, A., Shah, K., Liu, T.-C., Jeyaretna, D.S., Debasitis, J., Pruszek, J., Martuza, R.L., Rabkin, S.D., 2009. Human glioblastoma-derived cancer stem cells: establishment of invasive glioma models and treatment with oncolytic herpes simplex virus vectors. *Cancer Res.* 69, 3472–3481. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-3886>
- Walid, M., 2008. Prognostic Factors for Long-Term Survival after Glioblastoma. *Perm. J.* 12. <https://doi.org/10.7812/TPP/08-027>
- Wallraff, A., Köhling, R., Heinemann, U., Theis, M., Willecke, K., Steinhäuser, C., 2006a. The Impact of Astrocytic Gap Junctional Coupling on Potassium Buffering in the Hippocampus. *J. Neurosci.* 26, 5438–5447. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0037-06.2006>
- Wallraff, A., Köhling, R., Heinemann, U., Theis, M., Willecke, K., Steinhäuser, C., 2006b. The Impact of Astrocytic Gap Junctional Coupling on Potassium Buffering in the Hippocampus. *J. Neurosci.* 26, 5438–5447. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0037-06.2006>
- Walter, J., Kaether, C., Steiner, H., Haass, C., 2001. The cell biology of Alzheimer's disease: uncovering the secrets of secretases. *Curr. Opin. Neurobiol.* 11, 585–590. [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(00\)00253-1](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(00)00253-1)
- Wang, A., Wang, H.Y., Liu, Y., Zhao, M.C., Zhang, H.J., Lu, Z.Y., Fang, Y.C., Chen, X.F., Liu, G.T., 2015. The prognostic value of PD-L1 expression for non-small cell lung cancer patients: a meta-analysis. *Eur. J. Surg. Oncol. J. Eur. Soc. Surg. Oncol. Br. Assoc. Surg. Oncol.* 41, 450–456. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2015.01.020>
- Wang, H., Xu, T., Jiang, Y., Xu, H., Yan, Y., Fu, D., Chen, J., 2015. The Challenges and the Promise of Molecular Targeted Therapy in Malignant Gliomas. *Neoplasia* 17, 239–255. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2015.02.002>
- Wang, J., Wang, L., Lin, Z., Tao, L., Chen, M., 2014. More efficient induction of antitumor T cell immunity by exosomes from CD40L gene-modified lung tumor cells. *Mol. Med. Rep.* 9, 125–131. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1759>
- Wang, L., Rahn, J.J., Lun, X., Sun, B., Kelly, J.J.P., Weiss, S., Robbins, S.M., Forsyth, P.A., Senger, D.L., 2008. Gamma-secretase represents a therapeutic target for the

- treatment of invasive glioma mediated by the p75 neurotrophin receptor. *PLoS Biol.* 6, e289. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060289>
- Wang, P., Hou, C.-X., Li, Y.-W., Zhou, D., 2016. Dietary nitrite and nitrate is not associated with adult glioma risk: A meta-analysis 9, 8334–8340.
- Wang, S., Cesca, F., Loers, G., Schweizer, M., Buck, F., Benfenati, F., Schachner, M., Kleene, R., 2011. Synapsin I Is an Oligomannose-Carrying Glycoprotein, Acts As an Oligomannose-Binding Lectin, and Promotes Neurite Outgrowth and Neuronal Survival When Released via Glia-Derived Exosomes. *J. Neurosci.* 31, 7275–7290. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6476-10.2011>
- Wang, X., Guo, G., Guan, H., Yu, Y., Lu, J., Yu, J., 2019. Challenges and potential of PD-1/PD-L1 checkpoint blockade immunotherapy for glioblastoma. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 38, 87. <https://doi.org/10.1186/s13046-019-1085-3>
- Wang, X., Li, J., Dong, K., Lin, F., Long, M., Ouyang, Y., Wei, J., Chen, X., Weng, Y., He, T., Zhang, H., 2015. Tumor suppressor miR-34a targets PD-L1 and functions as a potential immunotherapeutic target in acute myeloid leukemia. *Cell. Signal.* 27, 443–452. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.12.003>
- Wang, X., Teng, F., Kong, L., Yu, J., 2016. PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *OncoTargets Ther.* 9, 5023–5039. <https://doi.org/10.2147/OTT.S105862>
- Wang, Y., Hagel, C., Hamel, W., Müller, S., Kluwe, L., Westphal, M., 1998. Trk A, B, and C are commonly expressed in human astrocytes and astrocytic gliomas but not by human oligodendrocytes and oligodendroglioma. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 96, 357–364. <https://doi.org/10.1007/s004010050906>
- Wang, Z., 2011. The guideline of the design and validation of MiRNA mimics. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* 676, 211–223. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-863-8_15
- Washiyama, K., Muragaki, Y., Rorke, L.B., Lee, V.M., Feinstein, S.C., Radeke, M.J., Blumberg, D., Kaplan, D.R., Trojanowski, J.Q., 1996. Neurotrophin and neurotrophin receptor proteins in medulloblastomas and other primitive neuroectodermal tumors of the pediatric central nervous system. *Am. J. Pathol.* 148, 929–940.
- Waterhouse, P., Penninger, J.M., Timms, E., Wakeham, A., Shahinian, A., Lee, K.P., Thompson, C.B., Griesser, H., Mak, T.W., 1995. Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctlα-4. *Science* 270, 985–988. <https://doi.org/10.1126/science.270.5238.985>
- Webb, J.R., Milne, K., Nelson, B.H., 2015. PD-1 and CD103 Are Widely Coexpressed on Prognostically Favorable Intraepithelial CD8 T Cells in Human Ovarian Cancer. *Cancer Immunol. Res.* 3, 926–935. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0239>
- Webber, J., Steadman, R., Mason, M.D., Tabi, Z., Clayton, A., 2010. Cancer exosomes trigger fibroblast to myofibroblast differentiation. *Cancer Res.* 70, 9621–9630. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1722>
- Wei, Y., Wang, D., Jin, F., Bian, Z., Li, L., Liang, H., Li, M., Shi, L., Pan, C., Zhu, D., Chen, X., Hu, G., Liu, Y., Zhang, C.-Y., Zen, K., 2017. Pyruvate kinase type M2 promotes tumour cell exosome release via phosphorylating synaptosome-associated protein 23. *Nat. Commun.* 8, 14041. <https://doi.org/10.1038/ncomms14041>
- Weier, H.U., Rhein, A.P., Shadravan, F., Collins, C., Polikoff, D., 1995. Rapid physical mapping of the human trk protooncogene (NTRK1) to human chromosome 1q21-q22 by P1 clone selection, fluorescence in situ hybridization (FISH), and computer-assisted microscopy. *Genomics* 26, 390–393. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(95\)80226-c](https://doi.org/10.1016/0888-7543(95)80226-c)

- Weiler, M., Pfenning, P.-N., Thiebold, A.-L., Blaes, J., Jestaedt, L., Gronych, J., Dittmann, L.M., Berger, B., Jugold, M., Kosch, M., Combs, S.E., von Deimling, A., Weller, M., Bendszus, M., Platten, M., Wick, W., 2013. Suppression of proinvasive RGS4 by mTOR inhibition optimizes glioma treatment. *Oncogene* 32, 1099–1109. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.137>
- Welch, J.L., Kaddour, H., Schlievert, P.M., Stapleton, J.T., Okeoma, C.M., 2018. Semen Exosomes Promote Transcriptional Silencing of HIV-1 by Disrupting NF- κ B/Sp1/Tat Circuitry. *J. Virol.* 92. <https://doi.org/10.1128/JVI.00731-18>
- Welch, J.L., Madison, M.N., Margolick, J.B., Galvin, S., Gupta, P., Martínez-Maza, O., Dash, C., Okeoma, C.M., 2017. Effect of prolonged freezing of semen on exosome recovery and biologic activity. *Sci. Rep.* 7, 45034. <https://doi.org/10.1038/srep45034>
- Weller, M., Butowski, N., Tran, D.D., Recht, L.D., Lim, M., Hirte, H., Ashby, L., Mechtler, L., Goldlust, S.A., Iwamoto, F., Drappatz, J., O'Rourke, D.M., Wong, M., Hamilton, M.G., Finocchiaro, G., Perry, J., Wick, W., Green, J., He, Y., Turner, C.D., Yellin, M.J., Keler, T., Davis, T.A., Stupp, R., Sampson, J.H., ACT IV trial investigators, 2017. Rindopepimut with temozolomide for patients with newly diagnosed, EGFRvIII-expressing glioblastoma (ACT IV): a randomised, double-blind, international phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 18, 1373–1385. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30517-X](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30517-X)
- Weller, M., Cloughesy, T., Perry, J.R., Wick, W., 2013. Standards of care for treatment of recurrent glioblastoma—are we there yet? *Neuro-Oncol.* 15, 4–27. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nos273>
- Weller, M., Tabatabai, G., Kastner, B., Felsberg, J., Steinbach, J.P., Wick, A., Schnell, O., Hau, P., Herrlinger, U., Sabel, M.C., Wirsching, H.-G., Ketter, R., Bahr, O., Platten, M., Tonn, J.C., Schlegel, U., Marosi, C., Goldbrunner, R., Stupp, R., Homicsko, K., Pichler, J., Nikkhah, G., Meixensberger, J., Vajkoczy, P., Kollias, S., Husing, J., Reifenberger, G., Wick, W., for the DIRECTOR Study Group, 2015. MGMT Promoter Methylation Is a Strong Prognostic Biomarker for Benefit from Dose-Intensified Temozolomide Rechallenge in Progressive Glioblastoma: The DIRECTOR Trial. *Clin. Cancer Res.* 21, 2057–2064. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2737>
- Weller, M., van den Bent, M., Hopkins, K., Tonn, J.C., Stupp, R., Falini, A., Cohen-Jonathan-Moyal, E., Frappaz, D., Henriksson, R., Balana, C., Chinot, O., Ram, Z., Reifenberger, G., Soffiatti, R., Wick, W., 2014. EANO guideline for the diagnosis and treatment of anaplastic gliomas and glioblastoma. *Lancet Oncol.* 15, e395–e403. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)70011-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)70011-7)
- Wen, P.Y., Lee, E.Q., Reardon, D.A., Ligon, K.L., Alfred Yung, W.K., 2012. Current clinical development of PI3K pathway inhibitors in glioblastoma. *Neuro-Oncol.* 14, 819–829. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nos117>
- Wen, P.Y., Macdonald, D.R., Reardon, D.A., Cloughesy, T.F., Sorensen, A.G., Galanis, E., DeGroot, J., Wick, W., Gilbert, M.R., Lassman, A.B., Tsien, C., Mikkelsen, T., Wong, E.T., Chamberlain, M.C., Stupp, R., Lamborn, K.R., Vogelbaum, M.A., van den Bent, M.J., Chang, S.M., 2010. Updated Response Assessment Criteria for High-Grade Gliomas: Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group. *J. Clin. Oncol.* 28, 1963–1972. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.26.3541>
- Wen, P.Y., Reardon, D.A., Armstrong, T.S., Phuphanich, S., Aiken, R.D., Landolfi, J.C., Curry, W.T., Zhu, J.-J., Glantz, M., Peereboom, D.M., Markert, J.M., LaRocca, R., O'Rourke, D.M., Fink, K., Kim, L., Gruber, M., Lesser, G.J., Pan, E., Kesari, S., Muzikansky, A., Pinilla, C., Santos, R.G., Yu, J.S., 2019. A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Phase II Trial of Dendritic Cell Vaccine ICT-107 in Newly Diagnosed Patients with Glioblastoma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 25, 5799–5807. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-0261>

- Wesseling, P., Capper, D., 2018. WHO 2016 Classification of gliomas. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 44, 139–150. <https://doi.org/10.1111/nan.12432>
- Wherry, E.J., Kurachi, M., 2015. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat. Rev. Immunol.* 15, 486–499. <https://doi.org/10.1038/nri3862>
- Whitehead, C.A., Kaye, A.H., Drummond, K.J., Widodo, S.S., Mantamadiotis, T., Vella, L.J., Stylli, S.S., 2019. Extracellular vesicles and their role in glioblastoma. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 1–26. <https://doi.org/10.1080/10408363.2019.1700208>
- Whitfield, M.L., Sherlock, G., Saldanha, A.J., Murray, J.I., Ball, C.A., Alexander, K.E., Matese, J.C., Perou, C.M., Hurt, M.M., Brown, P.O., Botstein, D., 2002. Identification of Genes Periodically Expressed in the Human Cell Cycle and Their Expression in Tumors. *Mol. Biol. Cell* 13, 24.
- Wick, W., Puduvalli, V.K., Chamberlain, M.C., van den Bent, M.J., Carpentier, A.F., Cher, L.M., Mason, W., Weller, M., Hong, S., Musib, L., Liepa, A.M., Thornton, D.E., Fine, H.A., 2010. Phase III Study of Enzastaurin Compared With Lomustine in the Treatment of Recurrent Intracranial Glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* 28, 1168–1174. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.2595>
- Wieman, H.L., Wofford, J.A., Rathmell, J.C., 2007. Cytokine stimulation promotes glucose uptake via phosphatidylinositol-3 kinase/Akt regulation of Glut1 activity and trafficking. *Mol. Biol. Cell* 18, 1437–1446. <https://doi.org/10.1091/mbc.e06-07-0593>
- Willms, E., Johansson, H.J., Mäger, I., Lee, Y., Blomberg, K.E.M., Sadik, M., Alaarg, A., Smith, C.I.E., Lehtiö, J., El Andaloussi, S., Wood, M.J.A., Vader, P., 2016. Cells release subpopulations of exosomes with distinct molecular and biological properties. *Sci. Rep.* 6, 22519. <https://doi.org/10.1038/srep22519>
- Wilmotte, R., Burkhardt, K., Kindler, V., Belkouch, M.-C., Dussex, G., Tribolet, N. de, Walker, P.R., Dietrich, P.-Y., 2005. B7-homolog 1 expression by human glioma: a new mechanism of immune evasion. *Neuroreport* 16, 1081–1085. <https://doi.org/10.1097/00001756-200507130-00010>
- Wilson, C.M., Naves, T., Saada, S., Pinet, S., Vincent, F., Lalloué, F., Jauberteau, M.-O., 2014. The implications of sortilin/vps10p domain receptors in neurological and human diseases. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* 13, 1354–1365. <https://doi.org/10.2174/1871527313666141023151642>
- Wilson, E.H., Weninger, W., Hunter, C.A., 2010. Trafficking of immune cells in the central nervous system. *J. Clin. Invest.* 120, 1368–1379. <https://doi.org/10.1172/JCI41911>
- Wilson, T., Karajannis, M., Harter, D., 2014. Glioblastoma multiforme: State of the art and future therapeutics. *Surg. Neurol. Int.* 5, 64. <https://doi.org/10.4103/2152-7806.132138>
- Wintterle, S., Schreiner, B., Mitsdoerffer, M., Schneider, D., Chen, L., Meyermann, R., Weller, M., Wiendl, H., 2003. Expression of the B7-Related Molecule B7-H1 by Glioma Cells: A Potential Mechanism of Immune Paralysis. *Cancer Res.* 63, 7462–7467.
- Wirsching, H.-G., Galanis, E., Weller, M., 2016. Glioblastoma, in: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier, pp. 381–397. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802997-8.00023-2>
- Wischhusen, J., Friese, M.A., Mittelbronn, M., Meyermann, R., Weller, M., 2005. HLA-E protects glioma cells from NKG2D-mediated immune responses in vitro: implications for immune escape in vivo. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 64, 523–528. <https://doi.org/10.1093/jnen/64.6.523>

- Wolf, P., 1967. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br. J. Haematol.* 13, 269–288. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1967.tb08741.x>
- Woo, N.H., Teng, H.K., Siao, C.-J., Chiaruttini, C., Pang, P.T., Milner, T.A., Hempstead, B.L., Lu, B., 2005. Activation of p75^{NTR} by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. *Nat. Neurosci.* 8, 1069–1077. <https://doi.org/10.1038/nn1510>
- Wooten, M.W., Seibenhener, M.L., Mamidipudi, V., Diaz-Meco, M.T., Barker, P.A., Moscat, J., 2001. The atypical protein kinase C-interacting protein p62 is a scaffold for NF- κ B activation by nerve growth factor. *J. Biol. Chem.* 276, 7709–7712. <https://doi.org/10.1074/jbc.C000869200>
- Woroniecka, K., Chongsathidkiet, P., Rhodin, K., Kemeny, H., Dechant, C., Farber, S.H., Elsamadicy, A.A., Cui, X., Koyama, S., Jackson, C., Hansen, L.J., Johanns, T.M., Sanchez-Perez, L., Chandramohan, V., Yu, Y.-R.A., Bigner, D.D., Giles, A., Healy, P., Dranoff, G., Weinhold, K.J., Dunn, G.P., Fecci, P.E., 2018. T-Cell Exhaustion Signatures Vary with Tumor Type and Are Severe in Glioblastoma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 24, 4175–4186. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1846>
- Wu, C., Zhu, Y., Jiang, J., Zhao, J., Zhang, X.-G., Xu, N., 2006. Immunohistochemical localization of programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) in gastric carcinoma and its clinical significance. *Acta Histochem.* 108, 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2006.01.003>
- Wu, J.-S., Zhou, L.-F., Tang, W.-J., Mao, Y., Hu, J., Song, Y.-Y., Hong, X.-N., Du, G.-H., 2007. CLINICAL EVALUATION AND FOLLOW-UP OUTCOME OF DIFFUSION TENSOR IMAGING-BASED FUNCTIONAL NEURONAVIGATION. *Neurosurgery* 61, 935–949. <https://doi.org/10.1227/01.neu.0000303189.80049.ab>
- Wubbolts, R., Leckie, R.S., Veenhuizen, P.T.M., Schwarzmann, G., Möbius, W., Hoernschemeyer, J., Slot, J.-W., Geuze, H.J., Stoorvogel, W., 2003. Proteomic and biochemical analyses of human B cell-derived exosomes. Potential implications for their function and multivesicular body formation. *J. Biol. Chem.* 278, 10963–10972. <https://doi.org/10.1074/jbc.M207550200>
- Xiong, J., Zhou, L., Lim, Y., Yang, M., Zhu, Y.-H., Li, Z.-W., Zhou, F.H., Xiao, Z.-C., Zhou, X.-F., 2013a. Mature BDNF promotes the growth of glioma cells in vitro. *Oncol. Rep.* 30, 2719–2724. <https://doi.org/10.3892/or.2013.2746>
- Xiong, J., Zhou, L., Yang, M., Lim, Y., Zhu, Y., Fu, D., Li, Z., Zhong, J., Xiao, Z., Zhou, X.-F., 2013b. ProBDNF and its receptors are upregulated in glioma and inhibit the growth of glioma cells in vitro. *Neuro-Oncol.* 15, 990–1007. <https://doi.org/10.1093/neuonc/not039>
- Xu, R., Rai, A., Chen, M., Suwakulsiri, W., Greening, D.W., Simpson, R.J., 2018. Extracellular vesicles in cancer — implications for future improvements in cancer care. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 15, 617–638. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0036-9>
- Xu, S.-Y., Jiang, J., Pan, A., Yan, C., Yan, X.-X., 2018. Sortilin: a new player in dementia and Alzheimer-type neuropathology. *Biochem. Cell Biol. Biochim. Biol. Cell.* 96, 491–497. <https://doi.org/10.1139/bcb-2018-0023>
- Xue, S., Hu, M., Iyer, V., Yu, J., 2017a. Blocking the PD-1/PD-L1 pathway in glioma: a potential new treatment strategy. *J. Hematol. Oncol.* 10, 81. <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0455-6>
- Xue, S., Song, G., Yu, J., 2017b. The prognostic significance of PD-L1 expression in patients with glioma: A meta-analysis. *Sci. Rep.* 7, 4231. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04023-x>

- Yakes, F.M., Chen, J., Tan, J., Yamaguchi, K., Shi, Y., Yu, P., Qian, F., Chu, F., Bentzien, F., Cancilla, B., Orf, J., You, A., Laird, A.D., Engst, S., Lee, L., Lesch, J., Chou, Y.-C., Joly, A.H., 2011. Cabozantinib (XL184), a Novel MET and VEGFR2 Inhibitor, Simultaneously Suppresses Metastasis, Angiogenesis, and Tumor Growth. *Mol. Cancer Ther.* 10, 2298–2308. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-11-0264>
- Yamamoto, Y., Tomiyama, A., Sasaki, N., Yamaguchi, H., Shirakihara, T., Nakashima, K., Kumagai, K., Takeuchi, S., Toyooka, T., Otani, N., Wada, K., Narita, Y., Ichimura, K., Sakai, R., Namba, H., Mori, K., 2018. Intracellular cholesterol level regulates sensitivity of glioblastoma cells against temozolomide-induced cell death by modulation of caspase-8 activation via death receptor 5-accumulation and activation in the plasma membrane lipid raft. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 495, 1292–1299. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.113>
- Yamazaki, T., Akiba, H., Iwai, H., Matsuda, H., Aoki, M., Tanno, Y., Shin, T., Tsuchiya, H., Pardoll, D.M., Okumura, K., Azuma, M., Yagita, H., 2002. Expression of programmed death 1 ligands by murine T cells and APC. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 169, 5538–5545. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.10.5538>
- Yan, H., Chao, M.V., 1991. Disruption of cysteine-rich repeats of the p75 nerve growth factor receptor leads to loss of ligand binding. *J. Biol. Chem.* 266, 12099–12104.
- Yang, W., Wu, P.-F., Ma, J.-X., Liao, M.-J., Wang, X.-H., Xu, L.-S., Xu, M.-H., Yi, L., 2019. Sortilin promotes glioblastoma invasion and mesenchymal transition through GSK-3 β / β -catenin/twist pathway. *Cell Death Dis.* 10, 208. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1449-9>
- Yang, Y., Li, C.-W., Chan, L.-C., Wei, Y., Hsu, J.-M., Xia, W., Cha, J.-H., Hou, J., Hsu, J.L., Sun, L., Hung, M.-C., 2018. Exosomal PD-L1 harbors active defense function to suppress T cell killing of breast cancer cells and promote tumor growth. *Cell Res.* 28, 862–864. <https://doi.org/10.1038/s41422-018-0060-4>
- Yao, Y., Tao, R., Wang, X., Wang, Y., Mao, Y., Zhou, L.F., 2009. B7-H1 is correlated with malignancy-grade gliomas but is not expressed exclusively on tumor stem-like cells. *Neuro-Oncol.* 11, 757–766. <https://doi.org/10.1215/15228517-2009-014>
- Yeiser, E.C., Rutkoski, N.J., Naito, A., Inoue, J., Carter, B.D., 2004. Neurotrophin signaling through the p75 receptor is deficient in *traf6*^{-/-} mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 24, 10521–10529. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1390-04.2004>
- Yekula, Anuroop, Yekula, Anudeep, Muralidharan, K., Kang, K., Carter, B.S., Balaj, L., 2019. Extracellular Vesicles in Glioblastoma Tumor Microenvironment. *Front. Immunol.* 10, 3137. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.03137>
- Yin, D., Zhou, H., Kumagai, T., Liu, G., Ong, J.M., Black, K.L., Koeffler, H.P., 2005. Proteasome inhibitor PS-341 causes cell growth arrest and apoptosis in human glioblastoma multiforme (GBM). *Oncogene* 24, 344–354. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208225>
- Ying, X., Wu, Q., Wu, X., Zhu, Q., Wang, Xinjing, Jiang, L., Chen, X., Wang, Xipeng, 2016. Epithelial ovarian cancer-secreted exosomal miR-222-3p induces polarization of tumor-associated macrophages. *Oncotarget* 7, 43076–43087. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9246>
- Yoo, J.K., Kim, J., Choi, S.-J., Noh, H.M., Kwon, Y.D., Yoo, H., Yi, H.S., Chung, H.M., Kim, J.K., 2012. Discovery and characterization of novel microRNAs during endothelial differentiation of human embryonic stem cells. *Stem Cells Dev.* 21, 2049–2057. <https://doi.org/10.1089/scd.2011.0500>
- Young, K.M., Merson, T.D., Sotthibundhu, A., Coulson, E.J., Bartlett, P.F., 2007. p75 neurotrophin receptor expression defines a population of BDNF-responsive

- neurogenic precursor cells. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 27, 5146–5155. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0654-07.2007>
- Young, R.M., Jamshidi, A., Davis, G., Sherman, J.H., 2015. Current trends in the surgical management and treatment of adult glioblastoma. *Ann. Transl. Med.* 3, 15.
- Yovino, S., Kleinberg, L., Grossman, S.A., Narayanan, M., Ford, E., 2013. The etiology of treatment-related lymphopenia in patients with malignant gliomas: modeling radiation dose to circulating lymphocytes explains clinical observations and suggests methods of modifying the impact of radiation on immune cells. *Cancer Invest.* 31, 140–144. <https://doi.org/10.3109/07357907.2012.762780>
- Zeng, A., Wei, Z., Yan, W., Yin, J., Huang, X., Zhou, X., Li, R., Shen, F., Wu, W., Wang, X., You, Y., 2018. Exosomal transfer of miR-151a enhances chemosensitivity to temozolomide in drug-resistant glioblastoma. *Cancer Lett.* 436, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2018.08.004>
- Zeng, J., Zhang, X.-K., Chen, H.-D., Zhong, Z.-H., Wu, Q.-L., Lin, S.-X., 2016. Expression of programmed cell death-ligand 1 and its correlation with clinical outcomes in gliomas. *Oncotarget* 7, 8944–8955. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6884>
- Zhang, C., Zhu, Q.-X., 2017. Allergy is associated with reduced risk of glioma: A meta-analysis. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)* 45, 553–559. <https://doi.org/10.1016/j.aller.2016.12.005>
- Zhang, G., Huang, S., Wang, Z., 2012. A meta-analysis of bevacizumab alone and in combination with irinotecan in the treatment of patients with recurrent glioblastoma multiforme. *J. Clin. Neurosci.* 19, 1636–1640. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2011.12.028>
- Zhang, H., Deng, T., Liu, R., Bai, M., Zhou, L., Wang, Xia, Li, S., Wang, Xinyi, Yang, H., Li, J., Ning, T., Huang, D., Li, H., Zhang, L., Ying, G., Ba, Y., 2017. Exosome-delivered EGFR regulates liver microenvironment to promote gastric cancer liver metastasis. *Nat. Commun.* 8, 15016. <https://doi.org/10.1038/ncomms15016>
- Zhang, J., Li, S., Li, L., Li, M., Guo, C., Yao, J., Mi, S., 2015. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 13, 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.02.001>
- Zhang, L., Zhang, S., Yao, J., Lowery, F.J., Zhang, Q., Huang, W.-C., Li, P., Li, M., Wang, X., Zhang, C., Wang, H., Ellis, K., Cheerathodi, M., McCarty, J.H., Palmieri, D., Saunus, J., Lakhani, S., Huang, S., Sahin, A.A., Aldape, K.D., Steeg, P.S., Yu, D., 2015. Microenvironment-induced PTEN loss by exosomal microRNA primes brain metastasis outgrowth. *Nature* 527, 100–104. <https://doi.org/10.1038/nature15376>
- Zhang, W., Lin, Z.-C., Zhang, T.-X., Liu, S., Liu, X., Liu, J.-J., Niu, Y., 2014. TrkC expression predicts favorable clinical outcome in invasive ductal carcinoma of breast independent of NT-3 expression. *Am. J. Cancer Res.* 4, 811–823.
- Zhang, X., Schwartz, J.-C.D., Guo, X., Bhatia, S., Cao, E., Lorenz, M., Cammer, M., Chen, L., Zhang, Z.-Y., Edidin, M.A., Nathanson, S.G., Almo, S.C., 2004. Structural and functional analysis of the costimulatory receptor programmed death-1. *Immunity* 20, 337–347. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(04\)00051-2](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(04)00051-2)
- Zhao, H., Cai, W., Su, S., Zhi, D., Lu, J., Liu, S., 2014. Allergic conditions reduce the risk of glioma: a meta-analysis based on 128,936 subjects. *Tumor Biol.* 35, 3875–3880. <https://doi.org/10.1007/s13277-013-1514-4>
- Zhao, K., Wang, L., Li, T., Zhu, M., Zhang, C., Chen, L., Zhao, P., Zhou, H., Yu, S., Yang, X., 2017. The role of miR-451 in the switching between proliferation and migration in malignant glioma cells: AMPK signaling, mTOR modulation and Rac1 activation required. *Int. J. Oncol.* 50, 1989–1999. <https://doi.org/10.3892/ijo.2017.3973>

- Zhao, S., Wu, J., Wang, C., Liu, H., Dong, X., Shi, Chen, Shi, Changbin, Liu, Y., Teng, L., Han, D., Chen, X., Yang, G., Wang, L., Shen, C., Li, H., 2013. Intraoperative Fluorescence-Guided Resection of High-Grade Malignant Gliomas Using 5-Aminolevulinic Acid-Induced Porphyrins: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *PLoS ONE* 8, e63682. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063682>
- Zheng, H., Ying, H., Yan, H., Kimmelman, A.C., Hiller, D.J., Chen, A.-J., Perry, S.R., Tonon, G., Chu, G.C., Ding, Z., Stommel, J.M., Dunn, K.L., Wiedemeyer, R., You, M.J., Brennan, C., Wang, Y.A., Ligon, K.L., Wong, W.H., Chin, L., DePinho, R.A., 2008. p53 and Pten control neural and glioma stem/progenitor cell renewal and differentiation. *Nature* 455, 1129–1133. <https://doi.org/10.1038/nature07443>
- Zheng, Y., Liu, L., Wang, Y., Xiao, S., Mai, R., Zhu, Z., Cao, Y., 2021. Glioblastoma stem cell (GSC)-derived PD-L1-containing exosomes activates AMPK/ULK1 pathway mediated autophagy to increase temozolomide-resistance in glioblastoma. *Cell Biosci.* 11, 63. <https://doi.org/10.1186/s13578-021-00575-8>
- Zhou, J., Mahoney, K.M., Giobbie-Hurder, A., Zhao, F., Lee, S., Liao, X., Rodig, S., Li, J., Wu, X., Butterfield, L.H., Piesche, M., Manos, M.P., Eastman, L.M., Dranoff, G., Freeman, G.J., Hodi, F.S., 2017. Soluble PD-L1 as a Biomarker in Malignant Melanoma Treated with Checkpoint Blockade. *Cancer Immunol. Res.* 5, 480–492. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0329>
- Zhou, W., Fong, M.Y., Min, Y., Somlo, G., Liu, L., Palomares, M.R., Yu, Y., Chow, A., O'Connor, S.T.F., Chin, A.R., Yen, Y., Wang, Y., Marcusson, E.G., Chu, P., Wu, J., Wu, X., Li, A.X., Li, Z., Gao, H., Ren, X., Boldin, M.P., Lin, P.C., Wang, S.E., 2014. Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis. *Cancer Cell* 25, 501–515. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.03.007>
- Zimmerman, B., Kelly, B., McMillan, B.J., Seegar, T.C.M., Dror, R.O., Kruse, A.C., Blacklow, S.C., 2016. Crystal Structure of a Full-Length Human Tetraspanin Reveals a Cholesterol-Binding Pocket. *Cell* 167, 1041-1051.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.09.056>
- Zitvogel, L., Regnault, A., Lozier, A., Wolfers, J., Flament, C., Tenza, D., Ricciardi-Castagnoli, P., Raposo, G., Amigorena, S., 1998. Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nat. Med.* 4, 594–600. <https://doi.org/10.1038/nm0598-594>
- Zülch, K.J., 1979. Histological typing of tumours of the central nervous system, International histological classification of tumours. World Health Organization, Geneva.

Caractérisation et implication d'un nouveau complexe protéique p75^{NTR} / PD-L1 dans les exosomes de glioblastome

Le glioblastome (GBM) est la forme la plus fréquente et la plus agressive de tumeurs cérébrales chez l'adulte. Les traitements actuels ne sont pas en mesure de bloquer la récurrence tumorale et l'apparition de clones résistants. Il est donc nécessaire de caractériser de nouvelles cibles thérapeutiques afin de limiter le développement tumoral. Des travaux préliminaires ont mis en évidence la fonction de p75^{NTR} sur la prolifération et la survie tumorale ainsi que son transfert dans les vésicules extracellulaires (EVs). Il a été également démontré que PD-L1 permettait la croissance tumorale et la mise en place d'un microenvironnement propice. Des études récentes ont démontré que dans le mélanome les 2 protéines, exprimées de concert, favorisent la mise en place de ces conditions favorables. Leurs effets sont notamment dus à leur libération dans les vésicules extracellulaires impliquées dans le contrôle du microenvironnement. Le lien étroit entre PD-L1 et p75^{NTR} ainsi que leur libération commune dans les EVs, nous a conduit à rechercher le lien existant entre ces deux protéines dans le GBM. Outre, leur mauvais pronostic mis en évidence *in silico*, les deux protéines interagissent sous la forme d'un complexe p75^{NTR} / PD-L1. La présence de ce complexe a été confirmée *in vitro* et *ex vivo* dans les lignées tumorales et les cultures primaires de GBM, ainsi que dans les exosomes de celles-ci et ceux de sérums de patients. La dissémination des exosomes transportant le complexe favorise la prolifération des cellules réceptrices. Par conséquent, nos travaux suggèrent que ce complexe pourrait représenter un nouveau biomarqueur circulant permettant de suivre l'évolution tumorale, mais également une cible thérapeutique potentielle permettant de contourner l'échappement aux immunothérapies constatée dans le GBM.

Mots-clés : Glioblastome, p75^{NTR}, PD-L1, biomarqueur, exosomes, agressivité

Characterization and implication of a new protein complex p75^{NTR} / PD-L1 in glioblastoma exosomes

Glioblastoma (GBM) is the most common and aggressive form of brain tumor in adults. Current treatments are not able to block tumor recurrence and the development of resistant clones. It is therefore necessary to characterize new therapeutic targets to limit tumor development. Preliminary work has demonstrated the function of p75^{NTR} on tumor proliferation and survival as well as its transfer to extracellular vesicles (EVs). PD-L1 has also been shown to enable tumor growth and the establishment of a supportive microenvironment. Recent studies have shown that in melanoma, the two proteins, expressed in concert, favor the establishment of these favorable conditions. Their effects are notably due to their release into the extracellular vesicles involved in the control of the microenvironment. The close link between PD-L1 and p75^{NTR} and their common release in EVs led us to investigate the link between these two proteins in GBM. In addition to their poor prognosis demonstrated *in silico*, the two proteins interact in the form of a p75^{NTR} / PD-L1 complex. The presence of this complex was confirmed *in vitro* and *ex vivo* in tumor lines and primary cultures of GBM, as well as in their exosomes and those of patient sera. The dissemination of exosomes carrying the complex promotes the proliferation of recipient cells. therefore, our work suggests that this complex could represent a new circulating biomarker to monitor tumor progression, but also a potential therapeutic target to circumvent the escape from immunotherapies observed in GBM.

Keywords : Glioblastoma, p75^{NTR}, PD-L1, biomarker, exosomes, aggressiveness

