

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

MODULATION DE LA VOIE DE SIGNALISATION HIPPO PAR L'A-TGG : RÔLES ANTI-INFLAMMATOIRES ET  
ANTI-INVASIFS DANS UN MODÈLE CELLULAIRE DE GLIOBLASTOME HUMAIN U87

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN BIOCHIMIE

PAR

ANGÉLIQUE SABAOTH KONAN

OCTOBRE 2025

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL  
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.12-2023). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

## REMERCIEMENTS

Je remercie mon directeur de recherche, le professeur Borhane Annabi, de m'avoir accordé l'opportunité d'intégrer son équipe de recherche, de m'initier à la recherche scientifique et de m'avoir poussé à la performance.

Je remercie Kaénon Prisca-Désiré Gnao pour ses précieux conseils, ses encouragements et ses mots de gentillesse et d'attention, Alain Zgheib pour son aide sans façons ni conditions et pour ses conseils pertinents.

Je suis énormément redevable à Carolane Veilleux pour la foule de conseils techniques et théoriques, et pour m'avoir appris les techniques de laboratoire inhérentes à mon projet de recherche, et de m'avoir écouté quand j'en avais besoin.

Je remercie aussi Marie-Ève Roy qui m'a permis d'avoir tous les outils nécessaires pour ma réussite.

À Souad Djedai et DR Naoufal Akla. Je vous remercie pour la patience que vous m'avez accordée durant ma première année. Je vous remercie aussi pour les conseils que vous m'avez donnés.

Je tiens à remercier chaleureusement le professeur Roger Gaudreault pour la mise à disposition du  $\alpha$ -TGG synthétique, ressource essentielle qui a permis de mener à bien mes travaux expérimentaux sur ce projet de recherche.

Je remercie énormément le professeur Alexandru Mircea Mateescu d'avoir contribué à mon intégration et ma réussite à l'UQAM, pour tous ses conseils si pertinents.

Je ne veux pas oublier mesdames Mylène Lacharité et Pascale Beauchemin qui répondaient à toutes mes questions, une mine d'information académique.

Je tiens à remercier la Fondation UQAM pour l'octroi d'une bourse d'études pour les étudiantes, étudiants étrangers au 2<sup>e</sup> cycle soumis aux droits de scolarité majorés qui m'a permis de faire ma maîtrise au sein de la Chaire en Prévention et Traitement du Cancer.

## DÉDICACE

Je dédie ce mémoire à mon père Kouakou Konan, ma mère Yao Amenan et ma sœur Konan Amino Tatiana sans qui, de par leurs encouragements et leurs sacrifices, je ne serai jamais où je suis en ce moment.  
Ma réussite est leur réussite.

À Kouakou Michèle Marie Ablan Manuella, Soré Kady.  
Je vous remercie pour tous les encouragements que vous m'avez donnés.

Je remercie également Zahoui Ouga Stanislas, mon petit ami, qui a tout mis en œuvre pour que je puisse venir au Canada et entreprendre cette maîtrise. Son soutien constant et ses sacrifices ont été essentiels dans la réalisation de ce projet.

## TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS .....	ii
DÉDICACE .....	iii
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX .....	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES.....	x
RÉSUMÉ .....	xiv
INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE .....	3
1.1 Définition du cancer .....	3
1.1.1 Altérations génétiques des cellules cancéreuses .....	4
1.1.2 Acquisition du phénotype tumoral .....	6
1.1.3 Métastase .....	6
1.2 Cancer du cerveau.....	7
1.2.1 Classification des tumeurs cérébrales .....	9
1.2.2 Classification des gliomes .....	11
1.3 Glioblastome .....	13
1.3.1 Généralités et caractéristique pathologiques.....	14
1.3.2 Inflammation et microenvironnement tumoral .....	16
1.3.3 COX-2 : médiateur de l'inflammation .....	19
1.3.4 Mécanismes d'invasion tumorale .....	21
1.3.5 Métalloprotéinases matricielles : enzymes pro-invasives .....	22
1.4 Voies de signalisation impliquées dans le glioblastome .....	25
1.4.1 Voie RAS/RAF/MEK/ERK (MAPK) .....	25
1.4.2 Voie PI3K/AKT/mTOR.....	28
1.4.3 Voie Hippo/YAP/TAZ .....	30
1.4.4 Voie de signalisation NFκB.....	35
1.5 Voies pro-inflammatoires et cibles pharmacologiques associées à l'agressivité du GBM .....	36
1.5.1 IκB et activation de NFκB.....	36
1.5.2 P-ERK et signalisation MAPK.....	38
1.5.3 Approches pharmacologiques anti-inflammatoires et anti-invasives .....	39
1.6 Traitements anti-cancéreux pour les glioblastomes.....	46
1.6.1 Chirurgie.....	46
1.6.2 Chimiothérapie .....	47
1.6.3 Radiothérapie.....	51
1.6.4 Autres thérapies.....	52

1.7 Composés naturels et chimioprévention .....	53
1.7.1 Intérêt des polyphénols dans le cancer .....	53
1.7.2 Chimioprévention par les composés naturels .....	54
1.8 1,3,6-tri-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucopyranose ( $\alpha$ -TGG) : un polyphénol naturel.....	56
1.8.1 Structure et origine .....	56
1.8.2 Propriétés biologiques connues.....	57
1.9 Projet de recherche.....	58
1.9.1 Problématique .....	58
1.9.2 Hypothèse de travail .....	59
1.9.3 Objectif de recherche .....	59
CHAPITRE 2 ARTICLE .....	60
2.1 Résumé.....	61
2.2 Abstract .....	61
2.3 Introduction .....	63
2.4 Materials and Method .....	64
2.4.1 Materials .....	64
2.4.2 Cell culture .....	65
2.4.3 Transfection method and RNA interference.....	65
2.4.4 Total RNA extraction, cDNA synthesis, and real-time quantitative PCR.....	65
2.4.5 PCR arrays .....	66
2.4.6 Protein-to-protein interactions .....	66
2.4.7 Western blot .....	66
2.4.8 Statistical data analysis .....	67
2.5 Results .....	67
2.5.1 Time-dependent inhibition of Concanavalin A-induced Phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B by $\alpha$ TGG in human U87 GBM cells. ....	67
2.5.2 Dose-dependent inhibition of Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B by $\alpha$ TGG in human U87 GBM cells. ....	67
2.5.3 Dose-dependent inhibition of Concanavalin A-induced Snail, COX2, and activation of proMMP-2 by $\alpha$ TGG in human U87 GBM cells. ....	67
2.5.4 Differential YAP/TEAD control of Concanavalin A-mediated regulation of Hippo pathway downstream effectors.....	68
2.5.5 Hippo pathway inhibitors alter the Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B in human U87 GBM cells. ....	68
2.5.6 The Hippo pathway inhibitor VT107 alters dose-dependently the Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B in human U87 GBM cells. ....	69
2.5.7 The Hippo pathway inhibitor VT107 and $\alpha$ TGG share a common anti-inflammatory molecular signature in Concanavalin A-primed human U87 GBM cells. ....	69
2.6 Discussion.....	70
2.7 Conclusion .....	71
2.8 References.....	84

CHAPITRE 3 DISCUSSION .....	88
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	97
RÉFÉRENCES .....	99

## LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: Incidence des cancers au Canada de 2017 à 2019 en fonction du sexe. ....	4
Figure 1.2: Formation des tumeurs possédant une population hétérogène de cellules. ....	7
Figure 1.3: Classification des tumeurs cérébrales. ....	10
Figure 1.4: Origine des glioblastomes. ....	14
Figure 1.5: Comparaison des caractéristiques et des marqueurs diagnostiques du gliome de grade IV selon la classification de l'OMS de la Santé avec ceux des gliomes de grade inférieur. ....	15
Figure 1.6: Voies inflammatoires dans la tumorigénèse et le cancer. ....	17
Figure 1.7: Inflammation chronique et initiation tumorale. ....	19
Figure 1.8: Aperçu des mécanismes permettant l'invasion des cellules du glioblastome (GBM) en modifiant le microenvironnement tumoral. ....	22
Figure 1.9: Illustration du rôle des MMP dans la progression du glioblastome (GBM), en mettant en évidence la croissance tumorale. ....	23
Figure 1.10: Rôle physiologique central de la voie Hippo ....	30
Figure 1.11: Voie de signalisation Hippo. ....	33
Figure 1.12: Schéma illustrant les effets de la vertéporfine sur le glioblastome. ....	46
Figure 1.13: Résumé des mécanismes utilisés par les traitements chimiothérapeutiques. ....	48
Figure 1.14: Structure chimique du Témzolomide. ....	49
Figure 1.15: Structure chimique de la carmustine ....	49
Figure 1.16: Structure chimique de la lomustine ....	50
Figure 1.17: Structure chimique du cyclophosphamide ....	51
Figure 1.18: Structure du TGG. ....	57
Figure 2.1: Time-dependent inhibition of Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B by $\alpha$ TGG in human U87 glioblastoma cells. ....	73
Figure 2.2: Dose-dependent inhibition of Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and IB by $\alpha$ TGG in human U87 glioblastoma cells. ....	74
Figure 2.3: Dose-dependent inhibition of Concanavalin A-induced Snail, COX2, and activation of proMMP-2 by $\alpha$ TGG in human U87 glioblastoma cells. ....	75



Figure 2.4: Differential YAP/TEAD control of Concanavalin A-mediated regulation of Hippo pathway downstream effectors. ....	76
Figure 2.5: Hippo pathway inhibitors alter the Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and IκB in human U87 glioblastoma cells.....	77
Figure 2.6: The Hippo pathway inhibitor VT107 alters dose-dependently the Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and IκB in human U87 glioblastoma cells. ....	78
Figure 2.7: The Hippo pathway inhibitor VT107 and aTGG share a common anti-inflammatory molecular signature in Concanavalin A-primed human U87 glioblastoma cells. ....	79

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1: Inflammatory gene expression Profile induced by ConcanavalinA (Con A) in U87 cells (RT-qPCR analysis, fold regulation values) .....	80
--	----

## LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ARN	Acide RiboNucléique
ADAMs	<i>A Disintegrin And Metalloproteinase</i>
AID	<i>Activation-Induced Cytidine Deaminase</i>
AINS	Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens
AKT	Protéine kinase B
AXL	<i>AXL receptor tyrosine kinase</i>
ATRX	<i>Alpha-thalassemia/mental retardation syndrome X-linked</i>
$\alpha$ -TGG	$\alpha$ -1,3,6-tri-O-galloyl-D-glucose
ANKRD1	<i>Ankyrin Repeat Domain 1</i>
Bcl-2	<i>B-cell lymphoma 2</i>
BRAF	<i>B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase</i>
BHE	Barrière hémato-encéphalique
CARD9	<i>Caspase Recruitment Domain Family Member 9</i>
CD3	<i>Cluster of Differentiation 3</i>
CD8	Lymphocytes T cytotoxiques exprimant le marqueur CD8
CD19	<i>Cluster of Differentiation 19</i>
ConA	Concanavaline A
COX2	Cyclooxygenase-2
CMV	<i>CytomégaloVirus</i>
CPA	Cyclophosphamide
CREB	<i>cAMP Response Element-Binding protein</i>
CTGF	<i>Connective Tissue Growth Factor</i>
CTLA-4	<i>Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4</i>
CTS	Cryptotanshinone
CXB	Celecoxib
CXCL12	<i>C-X-C motif chemokine ligand 12</i>
CXCR4	<i>C-X-C chemokine receptor type 4</i>
CYR61	<i>Cysteine-rich angiogenic inducer 61</i>
Dectin-1	Récepteur de type lectine de la famille CLEC7A

DC-SIGN	<i>Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin</i>
E545K (exon 9)	Mutation ponctuelle activatrice de la PI3K dans l'exon 9 du gène PIK3CA
Elk-1	<i>ETS Like-1</i> (facteur de transcription régulé par MAPK)
EMT	<i>Epithelial-Mesenchymal Transition</i>
ERK	<i>Extracellular signal-Regulated Kinase</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GBM	Glioblastome multiforme
H1047R (exon 20)	Mutation activatrice de PIK3CA dans l'exon 20
HER2	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i>
HIF-1 $\alpha$	<i>Hypoxia-Inducible Factor 1 alpha</i>
HPV	<i>Papillomavirus</i>
I $\kappa$ B	<i>Inhibitor of <math>\kappa</math>B</i>
IKK	<i>I<math>\kappa</math>B Kinase</i>
IFN- $\gamma$	Interféron gamma (cytokine pro-inflammatoire, immunomodulatrice)
IL-1 $\beta$	Interleukine 1 bêta
IL-6	Interleukine 6
JAK	<i>Janus kinase</i>
JNK	<i>c-Jun N-terminal Kinase</i>
LATS1/2	<i>Large Tumor Suppressor kinase 1/2</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MEC	Matrice extracellulaire
MMPs	<i>Matrix Metalloproteinases</i>
MT-MMPs	<i>Membrane-Type MMPs</i>
MT1-MMP	<i>Membrane-Type 1 MMP (MMP-14)</i>
MST1/2	<i>Mammalian STE20-like protein kinase 1/2</i>
NF2	Neurofibromin 2 (Merlin)
MDSC	<i>Myeloid-Derived Suppressor Cells</i>
MEK	<i>MAPK/ERK Kinase</i>
MKP-1	MAPK Phosphatase-1 (phosphatase qui désactive les MAPK)
MOB1	<i>Mps One Binder 1</i> (cofacteur de LATS1/2 dans la voie Hippo)
mTOR	<i>Mammalian Target of Rapamycin</i>

Myc	Proto-oncogène c-Myc
NFκB	<i>Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NPs	Nanoparticles
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandine E2
PC12	Lignée cellulaire dérivée de phéochromocytome de rat
PD-1	<i>Programmed Death-1</i>
PD-L1	<i>Programmed Death-Ligand 1</i>
PAM	<i>PI3K/AKT/mTOR pathway</i>
PDGFR	<i>Platelet-Derived Growth Factor Receptor</i>
PDX	<i>Patient-Derived Xenograft</i>
PI3K	<i>Phosphoinositide 3-Kinase</i>
PIK3CA	<i>Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha</i>
PIP2 / PIP3	Phosphatidylinositol bisphosphate / trisphosphate
PTEN	<i>Phosphatase and Tensin Homolog</i> – Suppresseur de tumeur
RTK	<i>Receptor Tyrosine Kinase</i>
RAS	Famille de protéines GTPases
RAF	<i>Rapidly Accelerated Fibrosarcoma</i> – Kinase MAP3K
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
STAT3	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription 3</i>
SAV1	<i>Salvador homolog 1</i>
Smad2/3	<i>Mothers against decapentaplegic homologs 2 et 3</i>
SYK	<i>Spleen Tyrosine Kinase</i>
TAZ	<i>Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif</i>
TEAD	<i>TEA Domain family member</i>
TGF-β	<i>Transforming Growth Factor-beta</i>
TIMP	<i>Tissue Inhibitor of Metalloproteinases</i>
TKI	<i>Tyrosine Kinase Inhibitor</i>
TMZ	Témozolomide
TNBC	<i>Triple-Negative Breast Cancer</i>
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
TRAF6	<i>TNF Receptor Associated Factor 6</i>
U118MG	Lignée cellulaire de glioblastome humain U118

U87	Lignée cellulaire de glioblastome humain U87
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VT107	Inhibiteur de la palmitoylation auto-catalytique des protéines TEAD (pan-TEAD inhibitor)
XIAP	<i>X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein</i>
YAP	<i>Yes-Associated Protein</i>

## RÉSUMÉ

Le glioblastome (GBM) est la tumeur maligne la plus fréquente et la plus agressive du système nerveux central chez l'adulte. Malgré les traitements standards actuels de chirurgie, radiothérapie et chimiothérapie à base de témozolomide, le pronostic des patients demeure très sombre, avec une survie médiane inférieure à 15 mois. La résistance aux traitements vient en partie de la nature du GBM. Ce n'est pas une tumeur homogène. Elle s'infiltré dans le tissu sain et génère un environnement inflammatoire qui facilite sa progression. Pour y faire face, des stratégies nouvelles se développent. Elles visent les voies de signalisation impliquées dans la croissance, l'invasion, ou l'inflammation, telles que les voies MAPK/ERK, PI3K/mTOR, NFkB et Hippo. La voie Hippo, potentiellement régule la prolifération cellulaire, l'apoptose et l'homéostasie des tissus. Si elle se dérègle, YAP et TAZ s'activent de façon anormale et favorisent la croissance de la tumeur. Dans ce contexte, des composés d'origine naturelle en mesure de moduler la voie Hippo représentent une piste thérapeutique innovante pour le traitement du GBM. L' $\alpha$ -TGG (1,3,6-tri-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucose), un dérivé synthétique du  $\beta$ -TGG extrait de *Terminalia chebula*, a été identifié pour ses propriétés anti-inflammatoires et antitumorales potentielles. Afin d'évaluer son intérêt dans le cadre du GBM, nous l'avons comparé à VT107, un inhibiteur clinique de la voie Hippo. À l'aide de la Concanavaline A (ConA) pour induire une réponse inflammatoire dans les cellules U87, nous avons observé que l' $\alpha$ -TGG et le VT107 inhibent la phosphorylation d'ERK et d'IkB, la conversion de la proMMP-2 en MMP-2 active, ainsi que l'expression de plusieurs marqueurs pro-inflammatoires tels que COX2, AICDA, CCL22 et TLR4. Nous avons également exploré l'effet de la ConA sur les effecteurs en aval de la voie Hippo. La ConA augmente l'expression de COX2 et IL6, tout en réduisant celles de AXL, CTGF et CYR61, et en induisant l'expression de NF2, un régulateur négatif de YAP. La répression génique de YAP1 et TEAD a mis en évidence leur rôle différentiel dans cette régulation : YAP1 et TEAD contrôlent l'induction de NF2, tandis que seul TEAD module l'expression de CYR61. Ces résultats indiquent que la ConA active la voie Hippo et que l' $\alpha$ -TGG, en mimant les effets du VT107, pourrait représenter une stratégie thérapeutique ciblée et complémentaire aux traitements conventionnels du GBM.

Mots clés :  $\alpha$ -TGG, VT107, Hippo, Inflammation, Invasion, ERK, IkB, Glioblastome, Concanavalin A

## INTRODUCTION

La compréhension du cancer évolue rapidement grâce aux progrès conjoints de la biologie moléculaire, de la génomique et de l'immunologie. Aujourd'hui, le cancer n'est plus seulement perçu comme une prolifération incontrôlée, mais comme une maladie systémique, marquée par l'instabilité génétique et la capacité d'adaptation cellulaire (Billaud *et al.*, 2020). Cette plasticité, couplée à une interaction dynamique et constante entre cellules tumorales et microenvironnement qu'il soit immunitaire, vasculaire ou stromal façonne l'évolution et la résistance des tumeurs (Wu *et al.*, 2021). Ainsi, même avec l'avènement de protocoles thérapeutiques personnalisés, la plupart des cancers demeurent difficiles à guérir ou sujets à la récurrence, illustrant tout l'enjeu médical et scientifique actuel face à cette complexité biologique (Fatima, 2025).

Parmi tous les types de cancers, les tumeurs du cerveau se distinguent par leur évolution particulièrement complexe. La neuro-oncologie moderne donne un éclairage sur la rapidité de progression, l'hétérogénéité phénotypique, et la capacité remarquable de remodelage de l'environnement neurologique par les cellules tumorales. Ces spécificités compliquent le diagnostic, rendent la chirurgie parfois risquée ou incomplète, et limitent le contrôle thérapeutique. Face à ces défis, l'arrivée de technologies avancées telles que l'imagerie fonctionnelle haute résolution, la biologie des cellules souches et les immunothérapies ciblées, permettent d'ouvrir de nouvelles pistes prometteuses pour le suivi, la prise en charge et la compréhension des cancers cérébraux (Sabeghi *et al.*, 2024).

Cependant, ces avancées récentes montrent aussi que l'intégration de multiples disciplines la biologie, la physique, la médecine clinique, l'informatique médicale devient indispensable pour comprendre les dynamiques cellulaires et moléculaires propres à chaque patient et à chaque type de tumeur. À ce stade, le rôle de la recherche fondamentale et appliquée dans la lutte contre le cancer du cerveau apparaît essentiel : explorer les mécanismes de transformation et de plasticité cellulaire, identifier les biomarqueurs diagnostiques et pronostiques, déchiffrer les voies de signalisation impliquées dans la croissance, la migration et la résistance, mais aussi repenser les stratégies thérapeutiques pour offrir à chaque patient des traitements mieux adaptés, moins invasifs et plus curatifs (Porter *et al.*, 2023).

C'est précisément dans ce contexte d'innovation, d'obstacles cliniques et de réflexion sur les enjeux sociétaux et humains du cancer du cerveau, que s'inscrit ce travail de recherche. L'impact de la maladie



ne se limite pas à la sphère médicale : il bouleverse la qualité de vie des patients et de leurs familles, impose de lourds défis psychologiques et économiques, et exige une mobilisation constante de la société et du monde scientifique pour améliorer la prévention, les diagnostics et les soins.

## **CHAPITRE 1**

### **REVUE DE LITTÉRATURE**

#### **1.1 Définition du cancer**

Le cancer demeure la principale cause de décès, au Canada et au Québec ([www.statcan.gc.ca](http://www.statcan.gc.ca) ; <https://statistique.quebec.ca/fr>), représentant environ 30% de l'ensemble des décès, devant les maladies cardiovasculaires et les maladies respiratoires chroniques (Statistiques Canada). Selon l'organisation mondiale et de la santé (OMS), le cancer constitue la deuxième cause de décès dans le monde, responsable d'environ un décès sur six, soit près de 10 millions de décès enregistrés en 2023 (OMS, 2023). Selon la société canadienne du cancer (2024), le nombre estimé de nouveaux cas de cancer pour l'année 2024 est de 247 100, avec environ 88 100 décès anticipés. Au Canada, environ deux canadiens sur cinq (44 % de femme et 45% hommes) recevront un diagnostic de cancers au cours de leur vie, et un sur quatre en mourra. Ces chiffres traduisent l'importance croissante de cette maladie, qui affecte profondément la santé publique. (Canadian Cancer Society, 2023).

Au Canada, les données les plus récentes indiquent qu'en 2024, environ 3 300 personnes recevront un diagnostic de cancer du cerveau ou de la moelle épinière, dont 1 850 hommes et 1 400 femmes. Le taux de mortalité associé est estimé à 6,7 décès pour 100 000 personnes, avec 2 600 décès attendus cette même année (Société canadienne du cancer, 2024). À l'échelle mondiale, les tumeurs du cerveau sont plus fréquentes chez les hommes et dans les populations d'ascendance européenne. Le glioblastome (GBM) demeure la forme la plus agressive et la plus fréquente des tumeurs malignes du cerveau chez l'adulte (Global Cancer Observatory, 2024).

Le terme « cancer » désigne un vaste groupe de maladies pouvant affecter n'importe quelle partie du corps. On parle également de tumeurs malignes et de néoplasmes. Une caractéristique du cancer est la création rapide de cellules anormales qui se développent au-delà de leurs limites habituelles de prolifération cellulaire et peuvent ensuite envahir les parties adjacentes du corps et se propager à d'autres organes ; ce dernier processus est appelé métastase. Les métastases généralisées sont la principale cause de décès par cancer (WHO,2023).

Selon une étude menée par White et ses collègues (2014), les taux d'incidence du cancer aux États-Unis en 2009 augmentaient avec l'âge, atteignant un sommet vers 70 ans, avant de diminuer par la suite. Une tendance comparable a été observée en ce qui concerne la probabilité de recevoir un diagnostic de cancer, et ont été relevées au Canada plusieurs années plus tard (Figure 1.1). En effet, les statistiques canadiennes sur le cancer indiquent qu'en 2024, la grande majorité des nouveaux cas et des décès liés au cancer concernent des personnes âgées de 50 ans et plus. L'incidence atteint son maximum entre 80 et 89 ans, puis diminue après 90 ans. Par ailleurs, le cancer demeure la principale cause de mortalité avec le vieillissement de la population canadienne, et cette tendance pourrait s'accroître chez les personnes de 90 ans et plus. (Société canadienne du cancer, 2021).

Cette évolution démographique est un facteur clé expliquant la hausse attendue du nombre absolu de cas de cancer, même si les taux d'incidence standardisés par âge tendent à diminuer grâce aux progrès en prévention et en traitement. (<https://cancer.ca/en/cancer-information/resources/publications/2021-canadian-cancer-statistics>).

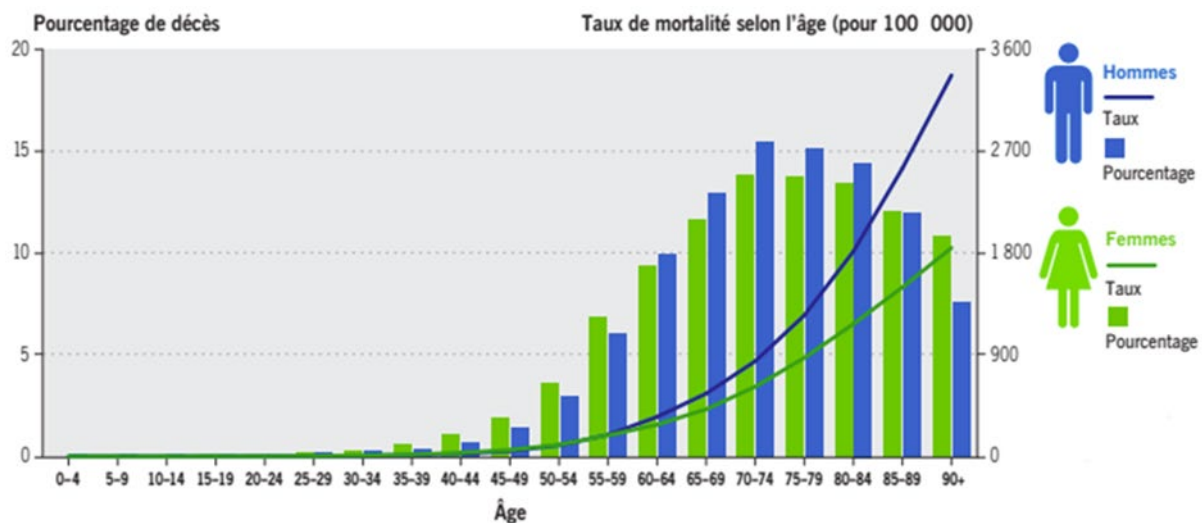


Figure 1.1: Incidence des cancers au Canada de 2017 à 2019 en fonction du sexe. (Adapté de <https://cancer.ca/en/cancer-information/resources/publications/2021-canadian-cancer-statistics>.

Consulté le 16 juin 2025)

### 1.1.1 Altérations génétiques des cellules cancéreuses

Le cancer est une maladie caractérisée par une prolifération anormale et incontrôlée des cellules, résultant de diverses altérations génétiques. Ces modifications perturbent généralement mécanismes qui assurent

le contrôle de la division cellulaire, la réparation des dommages génétiques et l'élimination des cellules anormales par apoptose (Louis *et al.*, 2002 ; Visvader, 2011). La formation des néoplasmes, c'est-à-dire l'ensemble des nouvelles cellules créées de façon désorganisée, apparaît lorsque ces altérations affectent certains gènes clés.

Certaines de ces mutations peuvent concerner la séquence même de l'ADN, comme la substitution d'un acide aminé, l'insertion ou la délétion d'un fragment, ou encore la duplication de segments entiers de gènes. Ces anomalies peuvent également résulter de réarrangements chromosomiques complexes et contribuer à l'apparition de tumeurs (Cullen et Breen, 2016). Par ailleurs, des changements épigénétiques peuvent influencer l'expression des gènes sans modifier directement leur séquence. Par exemple, la méthylation de l'ADN, l'acétylation des histones ou encore l'intervention des microARN peuvent mener à l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs, favorisant ainsi le développement de cancers comme ceux du sein, du côlon ou des reins (Cullen et Breen, 2016).

Trois types de gènes sont liés au cancer : les suppresseurs de tumeur, les proto-oncogènes, et ceux qui réparent l'ADN (Tandel *et al.*, 2019). Les gènes suppresseurs de tumeur régulent le cycle cellulaire. Ils déclenchent l'apoptose si une cellule est endommagée. Parmi eux, on retrouve P53 (TP53), RB1 et PTEN qui jouent un rôle central dans la prolifération cellulaire et la prévention de la tumorigénèse. Lorsque ces gènes sont inactivés, soit par mutation, soit par altération épigénétique, les cellules perdent leur capacité à se contrôler et continuent à se diviser malgré des dommages importants (Evan et Vousden, 2001 ; Burch, 2012). De leur côté, les gènes de réparation de l'ADN, lorsqu'ils sont altérés, deviennent incapables de corriger les erreurs génétiques, ce qui entraîne une instabilité génomique accrue et favorise la transformation maligne des cellules. Notamment, BRCA1, BRCA2 et MSH2 sont des gènes majeurs impliqués dans la réparation de l'ADN ; leurs mutations sont fortement associées au développement de cancers héréditaires comme le cancer du sein, de l'ovaire ou colorectal.

Enfin, les proto-oncogènes, lorsqu'ils subissent des mutations activatrices, deviennent des oncogènes capables de stimuler de façon excessive la division cellulaire. C'est le cas du gène RAS, qui code pour une protéine impliquée dans la régulation de la prolifération. D'autres proto-oncogènes bien connus incluent MYC et HER2, dont la surexpression ou l'activation anormale est fréquemment associée à plusieurs cancers du sein, du poumon et du côlon. Une mutation de ce gène peut entraîner une activation continue de la voie de signalisation, provoquant ainsi une multiplication incontrôlée des cellules, observée dans de

nombreux types de cancers (Greenberg *et al.*, 1985 ; Yarden *et al.*, 1987 ; Rak *et al.*, 1995 ; Tandel *et al.*, 2019).

### 1.1.2 Acquisition du phénotype tumoral

Après leur formation, les néoplasmes évoluent et les cellules qui les composent finissent par adopter un comportement de prolifération incontrôlée différent de celui des cellules normales (Rulyak *et al.*, 2003). Toutefois, les cellules cancéreuses au sein d'une même tumeur ne sont pas toutes identiques. Cette diversité résulte de l'instabilité génétique qui provoque des modifications successives au fil du temps. Ces changements génétiques entraînent une hétérogénéité des cellules tumorales, ce qui fait que certaines deviennent plus agressives que d'autres. Cela favorise la progression de la tumeur, sa capacité à envahir d'autres tissus (métastase) (Figure 1.2), et rend la maladie plus difficile à traiter. En effet, certaines de ces cellules peuvent finir par résister aux traitements disponibles, rendant la prise en charge thérapeutique plus complexe (Burrell *et al.*, 2013).

### 1.1.3 Métastase

La métastase désigne le processus par lequel certaines cellules cancéreuses quittent la tumeur d'origine pour aller coloniser d'autres parties du corps. Pour se déplacer, ces cellules empruntent les vaisseaux sanguins ou le système lymphatique, deux voies de transport efficaces à travers l'organisme (Bacac et Stamenkovic, 2008 ; Duffy *et al.*, 2008). Une fois détachées de la tumeur primaire, elles peuvent s'implanter dans un tissu ou un organe éloigné. Si les conditions leur sont favorables, elles s'y multiplient, donnant naissance à une nouvelle tumeur dite secondaire (Denardo *et al.*, 2008).

La métastase suit plusieurs étapes : des cellules quittent la tumeur primaire, dégradent leur environnement (la matrice extracellulaire (MEC) et les tissus environnants), envahissent le tissu proche, entrent dans la circulation, en sortent, et s'installent ailleurs (Fidler, 2003). À chaque étape, elles interagissent avec les cellules du microenvironnement : immunitaires, stromales, et celles de la MEC (Quail *et al.*, 2013).

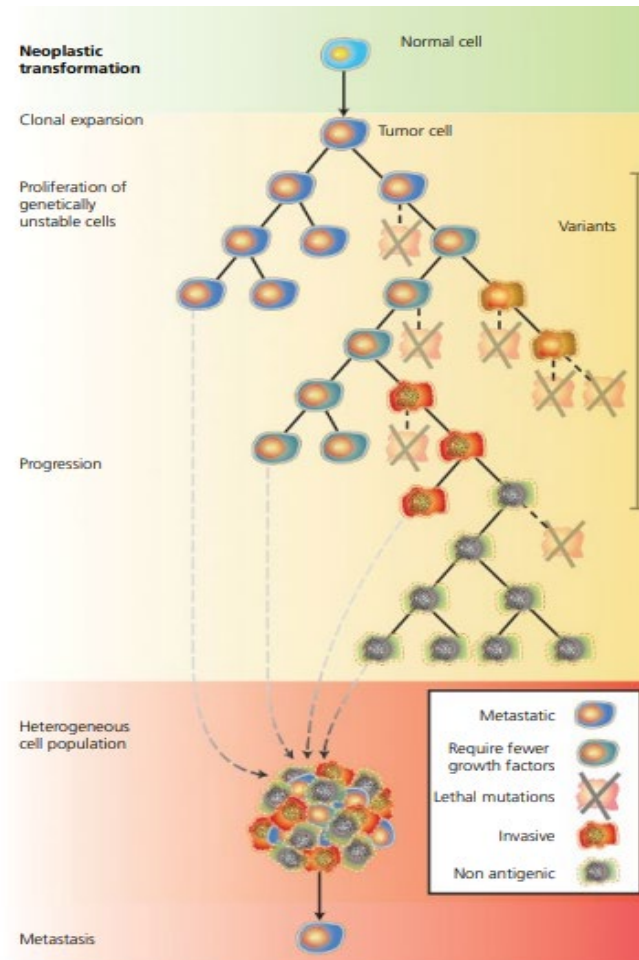


Figure 1.2: Formation des tumeurs possédant une population hétérogène de cellules. Une cellule tumorale naît d'une cellule saine, par mutation. Ensuite, elle prolifère. Ses descendantes deviennent instables. Peu à peu, la tumeur devient un ensemble de cellules différentes. Toutes ces cellules constitueront la tumeur maligne. Certaines d'entre elles peuvent ensuite métastaser (Cullen et Breen, 2016).

## 1.2 Cancer du cerveau

Le cancer du cerveau et du système nerveux central (SNC) est un problème majeur de santé publique comparé à d'autres types de cancers. En 2022, on estimait à 322 000 nouveaux cas de tumeurs cérébrales et du SNC dans le monde, avec une incidence plus élevée en Europe du Nord, en Amérique du Nord et en Australie, et plus faible en Afrique et en Asie du Sud-Est (Filho *et al.*, 2025).

Le processus de transformation néoplasique englobe tous les événements moléculaires et cellulaires qui conduisent une cellule normale à développer un phénotype tumoral. La transformation peut être amorcée

par l'action de divers agents cancérigènes, classés en trois catégories distinctes : chimiques, physiques et biologiques. Ces agents sont impliqués dans la carcinogenèse cérébrale en se basant sur des données expérimentales, épidémiologiques et cliniques récentes. Les composés chimiques, tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les amines aromatiques ou les éléments présents dans la fumée de tabac, sont réputés pour leur capacité à créer des adduits cancérigènes avec l'ADN. Ce stress génotoxique provoque des mutations et une instabilité chromosomique, des mécanismes connus pour provoquer la transformation maligne des cellules (Ostrowski *et al.*, 2025; Pagano *et al.*, 2023).

Plusieurs études épidémiologiques et méta-analyses confirment que l'exposition chronique à certains produits chimiques (pesticides, solvants, hydrocarbures) est associée à un risque accru de tumeurs gliales, dont le glioblastome, chez les sujets les plus exposés (agriculteurs, travailleurs industriels) (Lee *et al.*, 2024). Il est clairement établi que les rayonnements ionisants (rayons X, gamma) sont liés au cancer du cerveau en raison de leur lien étiologique avec les agents physiques. Les radiations provoquent des cassures à double brin d'ADN, ce qui favorise les mutations et les réarrangements chromosomiques irréversibles (Schaff & Mellinghoff, 2023 ; Hauptmann *et al.*, 2023 ; Lopes *et al.*, 2022). Les grandes cohortes de personnes exposées, tant dans le contexte médical (radiothérapie, imagerie médicale répétée) qu'accidentel, démontrent une relation dose-dépendante entre exposition aux rayonnements et augmentation du risque de survenue de gliomes ou de glioblastomes, parfois plusieurs décennies après l'exposition (Smith-Bindman *et al.*, 2025). En ce qui concerne les agents biologiques, tels que les virus oncogènes, il est difficile de définir clairement le lien direct avec les tumeurs cérébrales. Si le papillomavirus (HPV) est confirmé pour certains cancers épidermoïdes des voies aérodigestives supérieures, aucune preuve convaincante de son implication dans les tumeurs primitives du cerveau n'a été mise en évidence. Toutefois, la détection fréquente de cytomégalovirus (CMV) dans les tissus de glioblastome suggère qu'il pourrait jouer un rôle dans la progression tumorale, Peut-être en modulant l'environnement tumoral ou en agissant sur la prolifération et la résistance des cellules cancéreuses ; cependant, ce lien est actuellement discuté dans la littérature scientifique (Wu *et al.*, 2025 ; Mercado *et al.*, 2024). L'ensemble de ces altérations concourt à conférer aux cellules tumorales une plasticité fonctionnelle, une capacité d'adaptation et un potentiel invasif qui sont caractéristiques du phénotype cancéreux.

### 1.2.1 Classification des tumeurs cérébrales

Les tumeurs cérébrales sont généralement classées selon le type de cellule à partir duquel elles se développent. Dans le SNC, la majorité de ces tumeurs sont des gliomes, qui représentent environ 81% des tumeurs malignes (Ostrom *et al.*, 2014) et la grande majorité des tumeurs primaires (Ostrom *et al.*, 2013 ; Lapointe *et al.*, 2018). Ces tumeurs cérébrales apparaissent lorsque certaines cellules gliales qui constituent l'environnement des neurones commencent à se multiplier de manière anarchique (Jessen, 2004). Cela inclut les cellules gliales telles que les astrocytes, les oligodendrocytes et les épendymocytes, à l'origine respectivement des astrocytomes, des oligodendrogliomes et des épendymomes. On retrouve également des formes mixtes comme les oligoastrocytomes, ainsi que des gliomes dont le type cellulaire précis n'est pas défini (Shergalis *et al.*, 2018). Aussi certaines tumeurs, comme les médulloblastomes composés de cellules neuronales, gliales et musculaires (Valtz *et al.*, 1991), les gangliogliomes anaplasiques qui contiennent à la fois des cellules neuronales et gliales (Lucas *et al.*, 2015), ou encore les papillomes des plexus choroïdes dont les cellules épithéliales présentent des caractéristiques gliales (Wolburg et Paulus, 2010), peuvent parfois être classées parmi les gliomes (Figure 1.3) (Shergalis *et al.*, 2018). Ainsi la prise en compte de critères histopathologiques, moléculaires et génomiques permettrait un meilleur diagnostic et une orientation thérapeutique plus spécifique des tumeurs cérébrales (WHO Classification of Tumours, 2024).



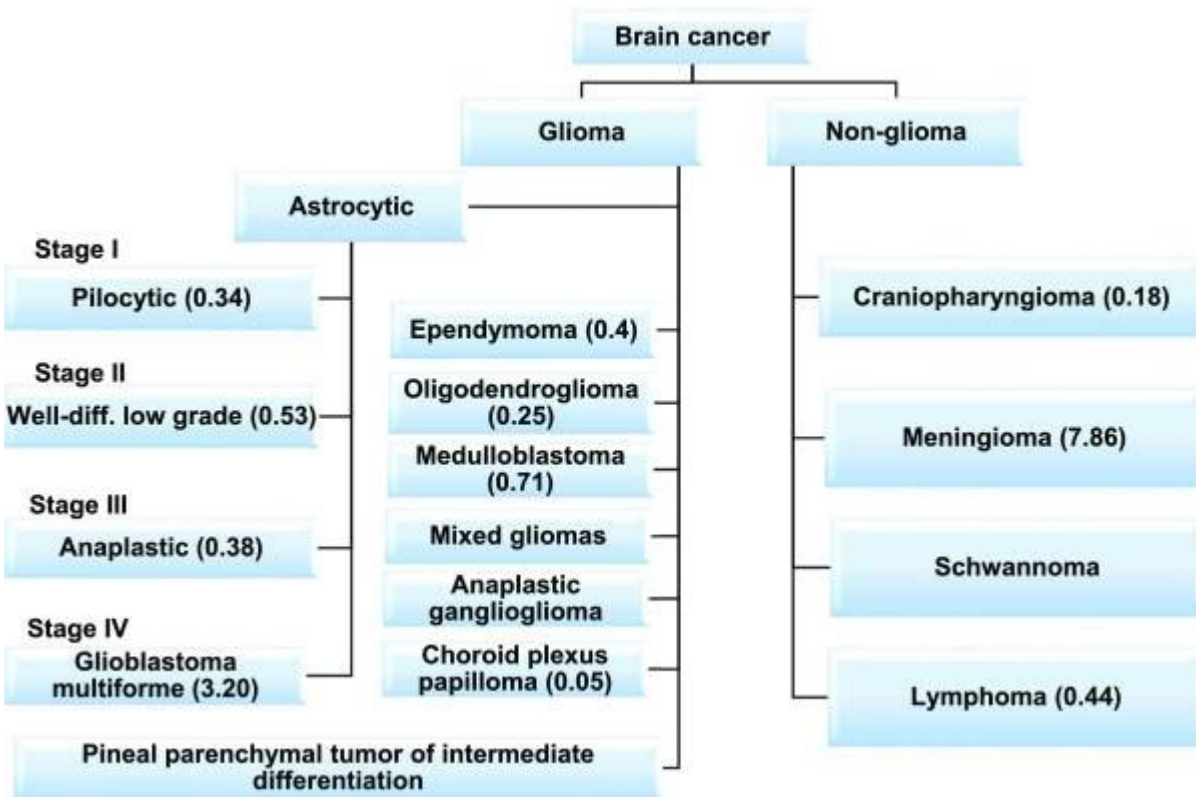


Figure 1.3: Classification des tumeurs cérébrales. Il y a des gliomes, des tumeurs où les cellules qui les constituent viennent des cellules gliales du SNC, et il y a les tumeurs d'où les cellules ne viennent pas des cellules gliales du SNC. Les chiffres en parenthèses représentent l'incidence sur 100 000 personnes. (Shergalis, A. et al., 2018)

Certaines tumeurs cérébrales se définissent par leurs mutations (Lapointe *et al.*, 2018). Le gène IDH (isocitrate déshydrogénase) est souvent muté. Il code pour une enzyme clé impliquée dans les réactions métaboliques telles que celle du cycle de Krebs, de la glutamine, de la synthèse des lipides et l'équilibre redox cellulaire (Badur *et al.*, 2018 ; Koh *et al.*, 2004 ; Lee *et al.*, 2004). Quand l'IDH est altéré, le métabolisme change. Ce déséquilibre favorise la survenue ou l'initiation de la tumeur (Han *et al.*, 2020).

Certaines altérations génétiques peuvent servir d'indicateurs clés pour classer les tumeurs cérébrales. Parmi celles-ci, la mutation du gène TP53 est particulièrement significative (Lapointe *et al.*, 2018). Ce gène code pour la protéine p53, un puissant régulateur connu pour préserver la stabilité du génome, ce qui lui a valu le surnom de "gardien du génome." En cas de dommage à l'ADN, p53 intervient en suspendant le cycle cellulaire ou en activant les voies d'apoptose et de sénescence (Fulci *et al.*, 1998). Lorsqu'une

mutation affecte TP53, celle-ci compromet cette protection, favorisant l'instabilité génomique et contribuant potentiellement à la progression du cancer (Leroy *et al.*, 2013 ; Muller et Voudsen, 2013).

Une autre mutation associée à certaines tumeurs cérébrales concerne le gène ATRX. Celui-ci code pour une protéine, connue sous le nom d'ATRX (Alpha-thalassemia/mental retardation syndrome X-linked), faisant partie de la famille des hélicases/ATPases chromatiniques. ATRX joue un rôle important dans la réparation de l'ADN, en particulier en effectuant la recombinaison homologue, la recombinaison et la régulation transcriptionnelle (Pang *et al.*, 2023 ; Juhász *et al.*, 2018). Cette protéine joue également un rôle essentiel dans la restructuration de la chromatine (Haase *et al.*, 2018). Des mutations ou une sous-expression du gène ATRX ont été constatées dans plusieurs cancers du cerveau, suggérant qu'il contribue à la survie des tumeurs (Pang *et al.*, 2023 ; Haase *et al.*, 2018)

La codélétion 1p/19q, phénomène génétique combinant la perte du bras court du chromosome 1 (1p) et du bras long du chromosome 19 (19q), constitue aussi un critère important de classification tumorale (Bradner *et al.*, 2022). Cette altération chromosomique pourrait découler d'une translocation déséquilibrée entre les deux chromosomes (Griffin *et al.*, 2006 ; Jenkins *et al.*, 2006). Bien que les mécanismes biologiques précis restent à être élucidés, cette codélétion est fortement corrélée à certains types de gliomes et à leur comportement cancéreux, caractérisé notamment par leur potentiel de multiplication, leur capacité à s'installer localement, leur propension à récidiver, ainsi que leur sensibilité aux médicaments et leur pronostic clinique (Mizoguchi *et al.*, 2012).

Enfin, les mutations du gène TERT, codant pour la sous-unité catalytique des télomérases, sont également importantes. Les télomérases ont pour fonction de rallonger les extrémités des chromosomes, appelées télomères, afin de préserver l'intégrité du génome cellulaire (Podlevsky et Chen, 2012). Une activité accrue des télomérases, observée dans près de 90 % des cancers, représente un facteur déterminant dans la prolifération cellulaire incontrôlée (Shay et Bacchetti, 1997 ; Shay *et al.*, 2001 ; Low et Tergaonkar, 2013).

### 1.2.2 Classification des gliomes

Les gliomes peuvent être classés en fonction de la vitesse de prolifération des cellules tumorales. Selon l'OMS, cette classification comporte quatre grades (I à IV) : les grades I et II sont désignés comme des tumeurs de bas grade, tandis que les grades III et IV sont considérés comme des tumeurs de haut grade (Weller *et al.*, 2015). La mise à jour de la classification en 2021 intègre désormais à la fois des critères

histopathologiques et des marqueurs moléculaires, offrant ainsi une meilleure précision diagnostique comparativement à la classification de 2016 (Louis *et al.*, 2016 ; Louis *et al.*, 2021).

Les gliomes de grade I sont dits « bien délimités », car ils présentent une frontière claire avec les tissus cérébraux avoisinants (Qin *et al.*, 2014). Ces tumeurs sont en général bénignes et peuvent être traitées efficacement par chirurgie. Elles n'expriment habituellement pas de mutation du gène IDH, et le pronostic pour les patients est généralement favorable (Louis *et al.*, 2016).

Les gliomes dits « diffus » s'infiltrent silencieusement dans le tissu cérébral adjacent. Même lorsqu'ils présentent un aspect bien circonscrit, leur extension microscopique empêche une résection complète. Ils incluent les grades II à IV. Leur classification repose sur des critères histologiques : les gliomes de grade II présentent souvent des noyaux atypiques, tandis que ceux de grade III montrent une forte activité mitotique (Louis *et al.*, 2016). Ces formes sont associées aux modifications des gènes IDH, TP53 et ATRX (Eckel-Passow *et al.*, 2015 ; Batista *et al.*, 2016), avec une espérance de survie qui peut aller de 2 à 12 ans (Lapointe *et al.*, 2018).

Les gliomes, de grade IV sont les plus fréquents parmi les tumeurs primitives du cerveau. Ils se caractérisent par une croissance rapide, une hétérogénéité cellulaire, et une infiltration marquée du parenchyme sain. Leur évolution est généralement défavorable, avec une espérance de vie moyenne avoisinant les cinq ans (Eckel-Passow *et al.*, 2015 ; Batista *et al.*, 2016). Malgré les avancées thérapeutiques, leur pronostic reste sombre. La survie médiane tourne autour de 15 mois, même après chirurgie, radiothérapie et chimiothérapie combinées (Stupp *et al.*, 2005 ; Ostrom *et al.*, 2022). Cette évolution défavorable s'explique par la capacité du GBM à contourner les traitements classiques et à remodeler son environnement. Les formes rares présentant cette mutation IDH résultent souvent de l'évolution progressive d'un gliome de bas grade ; on les désigne alors sous le nom de GBM secondaires (Ohgaki *et al.*, 2004 ; Ohgaki & Kleihues, 2007). Ces derniers offrent généralement un meilleur pronostic que les glioblastomes de type sauvage (IDH wild-type). Par ailleurs, la combinaison d'une mutation IDH avec une codélétion des bras chromosomiques 1p et 19q est corrélée à une survie prolongée, alors qu'une mutation du gène TERT est plutôt associée à un pronostic défavorable (Eckel-Passow *et al.*, 2015).

### 1.3 Glioblastome

Le glioblastome (GBM) représente la forme la plus agressive de gliome. Classé comme une tumeur de grade IV, il est associé à un taux de survie à cinq ans d'environ 5 % (Tamimi et Juweid, 2017). Les GBM se localisent généralement dans différentes régions cérébrales, notamment les lobes frontaux, temporaux, pariétaux et occipitaux (Chakrabarti *et al.*, 2005). L'âge moyen des patients atteints de GBM est de 64 ans. L'incidence augmente significativement entre 65 et 84 ans, mais tend à diminuer après 85 ans (Ostrom *et al.*, 2013). Le diagnostic des GBM dits « primaires » se fait en moyenne à 55 ans, avec un âge médian de 64 ans. En revanche, les GBM dits « secondaires » résultant d'une transformation d'un gliome de bas grade sont généralement diagnostiqués autour de 40 ans (Ostrom *et al.*, 2013 ; Chakrabarti *et al.*, 2005 ; Wilson *et al.*, 2014). Aux États-Unis, cette tumeur est plus fréquente chez les hommes (Thakkar *et al.*, 2014).

Les GBM sont composés de trois grands types cellulaires : les cellules souches neuronales, les astrocytes issus de ces cellules souches, ainsi que les cellules progénitrices des oligodendrocytes. Ces tumeurs présentent des caractéristiques morphologiques et des marqueurs de surface qui ressemblent fortement à ceux des cellules normales du SNC, tout en partageant également des profils génétiques similaires (Yao *et al.*, 2018). Des recherches menées chez la souris ont confirmé que plusieurs types cellulaires du SNC, incluant les cellules souches neuronales (Zhu *et al.*, 2005), les astrocytes dérivés de ces cellules (Chow *et al.*, 2011), ainsi que les précurseurs des oligodendrocytes, peuvent donner naissance à des GBM (Lui *et al.*, 2011) (Figure 1.4). En raison de cette grande hétérogénéité cellulaire, les GBM sont également appelés GBM multiformes (Soeda *et al.*, 2015).

Le GBM est caractérisé par une dysfonction de multiples voies de signalisation intracellulaires. Ce dérèglement implique la surexpression d'oncogènes tels que *EGF*, *EGFR*, *PDGF*, *AKT* et *mTOR*, et d'une perte de fonction des gènes suppresseurs de tumeurs comme *TP53*, *Rb*, *P16* ou *PTEN* (Alcantara Llaguno *et al.*, 2019). L'apparition de ces altérations, souvent liée au vieillissement, contribue à la transformation maligne de cellules gliales en tumeurs hautement invasives.

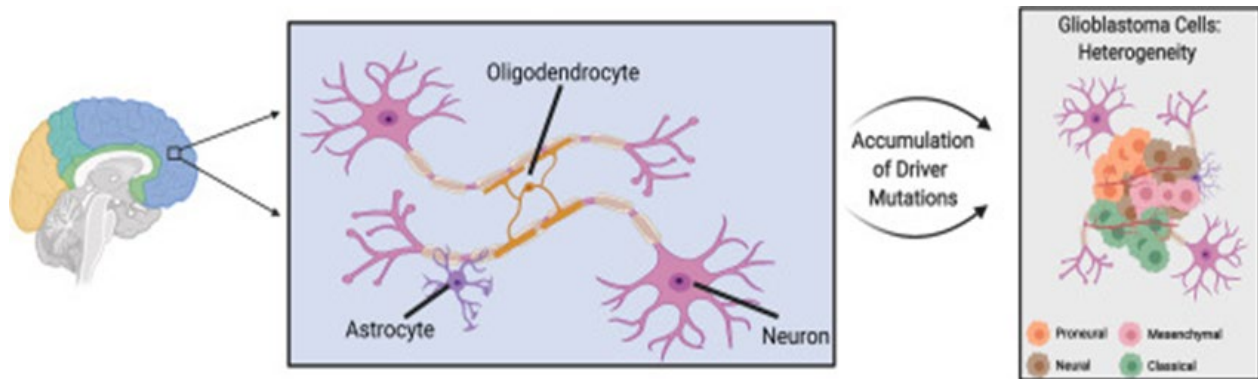


Figure 1.4: Origine des glioblastomes. Les glioblastomes peuvent dériver de différentes cellules du système nerveux central, notamment les astrocytes, les oligodendrocytes et certaines cellules neuronales. Des altérations génétiques successives au sein de cellules peuvent conduire à leur transformation maligne et à l'initiation du processus de cancérogenèse (Wu, *w et al.*, 2021).

### 1.3.1 Généralités et caractéristique pathologiques

Les GBM multiformes présentent une série de caractéristiques morphologiques, moléculaires et fonctionnelles qui favorisent leur agressivité et leur progression tumorale (Figure 1.5). L'une des premières propriétés observées est une prolifération cellulaire incontrôlée, conséquence directe de mutations génétiques permettant à la fois la multiplication anarchique des cellules et leur survie prolongée malgré des signaux normalement apoptotiques (Merlo *et al.*, 2006 ; Greaves et Maley, 2012).

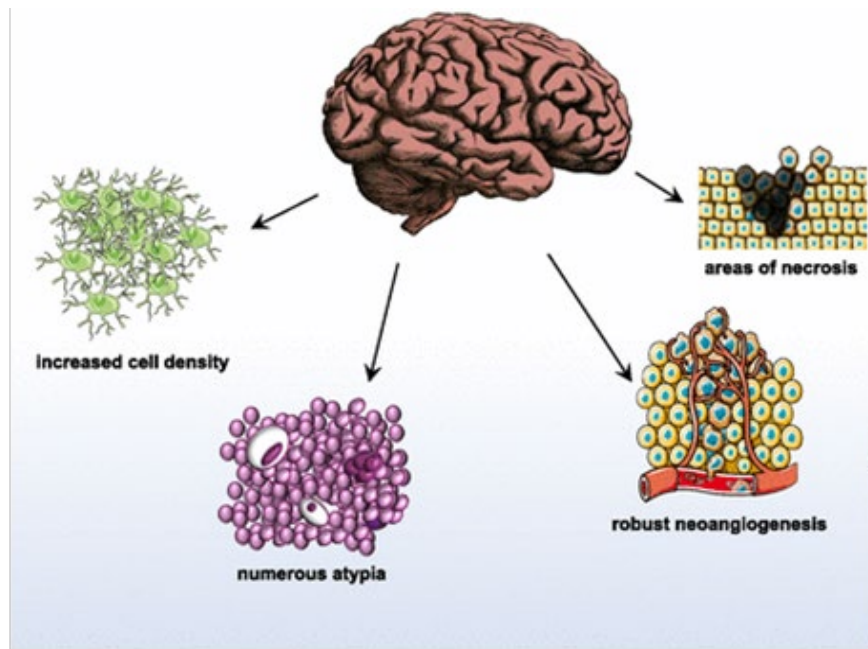


Figure 1.5: Comparaison des caractéristiques et des marqueurs diagnostiques du gliome de grade IV selon la classification de l'OMS de la Santé avec ceux des gliomes de grade inférieur. Les illustrations des structures cellulaires proviennent de Servier Medical Art. (Shergalis *et al.*, 2018)

Les GBM se distinguent aussi par une atypie cellulaire marquée : leurs noyaux sont souvent de forme ovale ou allongée, les chromatines sont hyperchromatiques et densément regroupées. On observe un ratio noyau/cytoplasme élevé ainsi qu'un pléomorphisme nucléaire important, reflet d'une variabilité anormale dans la taille et la forme des noyaux (Schult *et al.*, 2005). Une autre particularité est la vascularisation excessive autour de la tumeur. Les néovaisseaux formés présentent une structure atypique, rappelant celle des glomérules rénaux. Les cellules endothéliales qui les composent montrent une organisation désordonnée, une hyperplasie notable et une grande hétérogénéité morphologique. L'absence d'interaction avec les astrocytes empêche la formation d'une barrière hémato-encéphalique fonctionnelle, en raison de la présence de péricytes isolés (Rojiani et Dorovini-Zis, 1996 ; Cleaver et Melton, 2003 ; Ballabh *et al.*, 2004). À cela s'ajoutent la formation de thrombus et l'extravasation des globules rouges, témoins de lésions vasculaires majeures (Saima et Anwar, 2006).

Les régions nécrotiques sont également une caractéristique histopathologique des GBM. Deux types de nécroses sont décrits : une forme centrale, typique des GBM primaires, résultant d'un apport sanguin

insuffisant, et une forme multifocale, avec plusieurs foyers nécrotiques au sein de la tumeur, observée dans les formes primaires et secondaires. Ces zones sont souvent entourées de pseudo-palissades, régions riches en cellules, qui témoignent d'une réponse adaptative à l'hypoxie (Kleihues *et al.*, 2000 ; Brat *et al.*, 2004).

Les pseudo-palissades peuvent varier de 30 à 1500  $\mu\text{m}$  de largeur et de 50 à 3500  $\mu\text{m}$  de longueur. Celles de petites tailles ( $< 100 \mu\text{m}$ ) ne sont pas en contact avec des foyers nécrotiques, tandis que les plus étendues ( $> 500 \mu\text{m}$ ) sont souvent associées à des centres nécrotiques présentant des lumières vasculaires viables, dégénératives ou thrombosées (Brat *et al.*, 2004). Compte tenu de ces multiples mécanismes de progression, le traitement des GBM demeure un défi. Les options thérapeutiques actuelles permettent rarement une éradication complète de la tumeur. Les altérations génétiques qui sous-tendent leur développement peuvent être regroupées en deux grandes catégories : celles affectant la signalisation des facteurs de croissance, et celles perturbant les voies de régulation du cycle cellulaire (Ray et Ray, 2010).

### 1.3.2 Inflammation et microenvironnement tumoral

L'inflammation chronique, déclenchée par des infections, des irritants ou des maladies auto-immunes, contribue activement à la tumorigenèse en créant un microenvironnement propice aux dommages génétiques et à la prolifération cellulaire anormale (Figure 1.6) (Zhao *et al.*, 2021). Au cours de l'inflammation, les cellules immunitaires activées libèrent des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et des intermédiaires réactifs de l'azote, ce qui entraîne des dommages à l'ADN, une instabilité génomique et des modifications épigénétiques qui augmentent les taux de mutation (Morgillo *et al.*, 2018 ; Checa et Aran, 2020).

Dans le GBM, le microenvironnement tumoral est particulièrement marqué par l'abondance de macrophages, microglies et lymphocytes T qui adoptent majoritairement un phénotype immunosuppresseur et pro-inflammatoire. Ce favorise le contexte la production de cytokines telles qu'IL-6, IL-1 $\beta$  et TNF- $\alpha$ , ainsi qu'une activation persistante des voies NF $\kappa$ B et JAK-STAT, connue pour soutenir la prolifération et l'invasion des cellules GBM tout en renforçant leur résistance aux traitements. On observe également une forte plasticité cellulaire : les myéloïdes infiltrant la tumeur module dynamiquement l'inflammation locale, facilitant l'échappement immunitaire et la progression tumorale. De nouveaux travaux montrent que l'activation des voies cGAS/STING dans la cellule GBM pourrait recruter les cellules microgliales et augmenter la réponse inflammatoire antitumorale, ouvrant des perspectives prometteuses

de modulation thérapeutique dans les formes récurrentes de la maladie (Dadario et al., 2024 ; Chen et al., 2025 ; Miller et al., 2023).

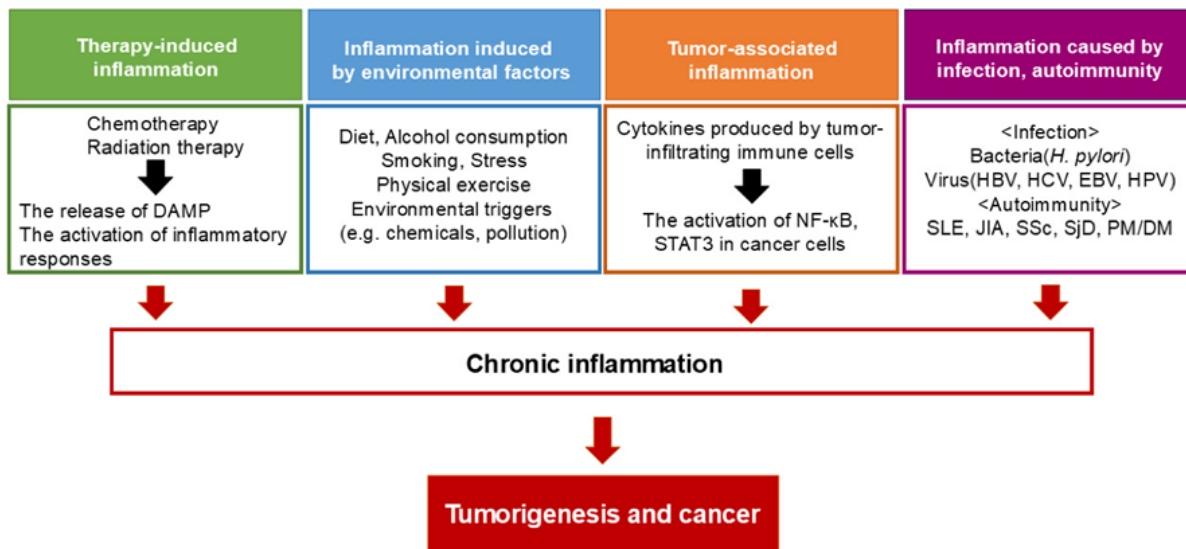


Figure 1.6: Voies inflammatoires dans la tumorigenèse et le cancer. L'inflammation chronique résultant d'infections ou de maladies auto-immunes précède souvent la tumorigenèse et contribue à sa pathogenèse par des mécanismes tels que l'induction de mutations oncogènes, l'instabilité génomique, la promotion tumorale précoce et l'angiogenèse. Une exposition prolongée à des irritants, ou des états comme l'obésité, entretiennent une inflammation de bas grade. Celle-ci, moins visible mais constante, favorise aussi l'apparition des tumeurs. Une fois la tumeur installée, l'inflammation persiste. Elle devient même un moteur de progression. De plus, les traitements anticancéreux standards déclenchent souvent des réponses inflammatoires en raison des traumatismes, de la nécrose et des lésions tissulaires induits par le traitement, ce qui peut contribuer à la récurrence tumorale et à la résistance thérapeutique. Cependant, dans des contextes spécifiques, l'inflammation induite par le traitement peut améliorer la présentation antigénique et activer l'éradication tumorale à médiation immunitaire. DAMP : motifs moléculaires associés au danger ; LED : lupus érythémateux disséminé ; AJI : arthrite juvénile idiopathique ; SSc : sclérodermie systémique ; SjD : maladie de Sjögren ; PM/DM : polymyosite/dermatomyosite ; VHB : virus de l'hépatite B ; VHC : virus de l'hépatite C ; VEB : virus d'Epstein-Barr ; VPH : virus du papillome humain ; *H. pylori* : *Helicobacter pylori*. (Nishida et Andoh, 2025).

Le cancer associé à la colite illustre parfaitement le lien étroit entre l'inflammation chronique et la carcinogenèse. Dans ce contexte pathologique, l'inflammation persistante joue un rôle essentiel dans



l'initiation et la progression tumorale en utilisant des mécanismes génétiques, épigénétiques et microenvironnementaux (Figure 1.7).

D'une part, l'activation continue des cellules immunitaires entraîne la libération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'intermédiaires réactifs de l'azote, responsables de dommages à l'ADN, d'une instabilité génomique et de modifications épigénétiques favorisant l'augmentation du taux de mutations (Morgillo *et al.*, 2018 ; Tafani *et al.*, 2016). Ce stress oxydatif a un impact significatif sur les gènes suppresseurs de tumeurs tels que p53, ainsi que sur d'autres gènes clés du développement tumoral dans les cellules épithéliales intestinales (Zhou *et al.*, 2023).

D'autre part, les médiateurs inflammatoires façonnent directement l'expression génique. Ainsi, le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ), cytokine pro-inflammatoire majeure, stimule la production intracellulaire de ROS et contribue à l'instabilité génétique. De plus, des cytokines telles que l'interleukine-6 (IL-6) et l'IL-23 favorisent un microenvironnement tumoral permissif en activant des voies de signalisation telles que NF $\kappa$ B et STAT3. Les facteurs de transcription contrôlent les gènes liés à la survie, à la prolifération et à l'évasion immunitaire, ce qui renforce l'initiation et la progression néoplasique (Ranneh *et al.*, 2017 ; Checa *et al.*, 2020).

Par ailleurs, l'inflammation favorise la croissance des tumeurs en augmentant la multiplication des cellules et en réduisant l'apoptose. Dans les tumeurs en croissance rapide, l'hypoxie devient un élément central : elle active HIF-1 $\alpha$ , un facteur clé qui induit l'angiogenèse, la reprogrammation métabolique et l'immunosuppression, contribuant à la survie et à l'expansion des cellules cancéreuses (Semenza, 2010 ; Noman *et al.*, 2014).

Enfin, l'inflammation chronique joue un rôle déterminant dans la dissémination métastatique. Elle favorise la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT), facilitant l'intravasation des cellules tumorales, leur survie sous forme de cellules tumorales circulantes (CTCs), ainsi que la formation de niches pré-métastatiques dans des organes distants (Mittal, 2018 ; Aiello et Kang, 2019).

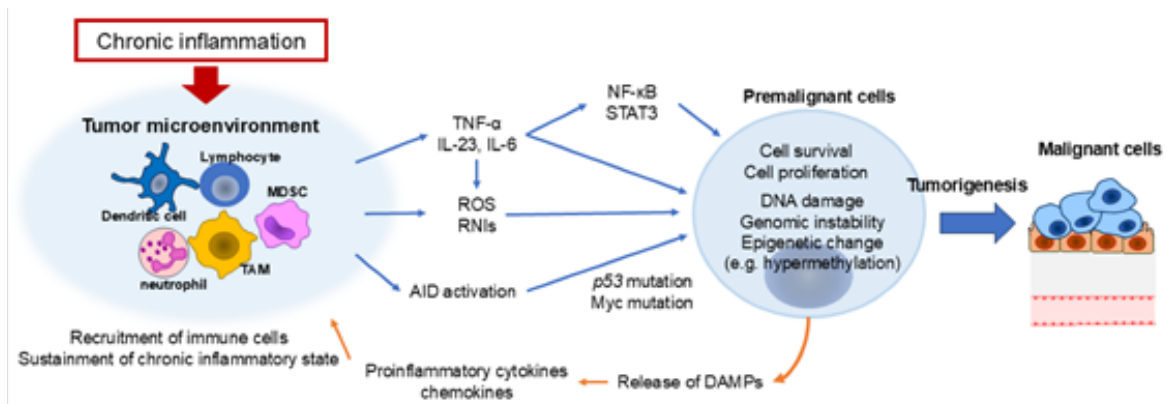


Figure 1.7: Inflammation chronique et initiation tumorale. L'inflammation persistante joue un rôle moteur dans les premières phases de la formation d'une tumeur. Elle introduit des altérations dans l'ADN, perturbe l'épigénome, et affaiblit les systèmes de réparation cellulaire. Ce déséquilibre prépare un terrain favorable à la transformation maligne. Le stress oxydatif, amplifié par l'inflammation, renforce ces effets délétères. Dès lors, les cellules deviennent plus vulnérables aux mutations et moins aptes à maintenir leur intégrité génomique. Certaines cytokines sont au cœur de ce processus telles que TNF- $\alpha$ , IL-6 et IL-23. Ces molécules pro-inflammatoires déclenchent des cascades de signalisation, comme les voies NF $\kappa$ B ou STAT3. Ces voies entretiennent une inflammation autocrine, qui nourrit la tumeur de l'intérieur et renforcent l'environnement propice à l'initiation tumorale (Nishida et Andoh.,2025). Abréviations : ROS (espèces réactives de l'oxygène), RNI (intermédiaires réactifs de l'azote), AID (désaminase de cytidine induite par activation), DAMP (motifs moléculaires associés au danger), TAM (macrophages associés aux tumeurs), MDSC (cellules myéloïdes suppressives).

### 1.3.3 COX-2 : médiateur de l'inflammation

La cyclooxygénase-2 (COX2) est une enzyme clé de l'inflammation dans les tissus tumoraux. Inductible, elle transforme l'acide arachidonique en prostaglandines. La plus connue d'entre elles, la PGE<sub>2</sub>, agit comme un puissant médiateur lipidique. Dans les cancers, COX2 est souvent surexprimée. Elle favorise plusieurs processus : l'angiogenèse, l'échappement immunitaire, et la prolifération cellulaire (Zelenay *et al.*, 2015 ; Böttcher *et al.*, 2018 ; Bonavita *et al.*, 2020).

Bell *et al.* (2022) ont montré que la chimiothérapie elle-même pouvait induire l'expression de COX2. Cette induction est strictement dépendante de l'activation transcriptionnelle du gène *Ptgs2*, codant pour COX2,

et non d'une simple stabilisation post-traductionnelle. L'augmentation de l'expression de COX2 s'accompagne d'une production accrue de PGE<sub>2</sub>, ce qui modifie profondément les propriétés inflammatoires des cellules tumorales traitées.

Cette réponse est universelle parmi les cellules cancéreuses murines et humaines exprimant COX2, indépendamment du type de tissu ou du mécanisme d'action du médicament cytotoxique utilisé (Bell *et al.*, 2022). L'induction de COX2 est associée à un arrêt de la prolifération cellulaire et à une reprogrammation du microenvironnement tumoral, principalement par le recrutement de cellules myéloïdes inflammatoires telles que les neutrophiles et les monocytes (Jin *et al.*, 2023 ; Pu *et al.*, 2021).

De plus, l'inhibition pharmacologique de COX2 par le célécoxib (CXB) permet de réduire la production de PGE<sub>2</sub> et de restaurer une réponse immunitaire antitumorale efficace, en augmentant l'infiltration des lymphocytes T CD8 et la production d'IFN- $\gamma$ , comme démontré par Bell *et al.* (2022). Cette stratégie s'est révélée particulièrement efficace dans les modèles de cancer du sein triple négatif (TNBC), où la combinaison de chimiothérapie, immunothérapie (anti-PD-1) et inhibition de COX2 a permis de réduire significativement les rechutes tumorales et les métastases pulmonaires.

Plusieurs études ont montré que COX2 est surexprimée dans les cellules tumorales du GBM, alors qu'elle est très peu présente dans le tissu cérébral sain. Cette surexpression de COX2 favorise la croissance, l'invasion et la résistance aux traitements du GBM. De plus, l'inhibition pharmacologique de COX-2, notamment par des inhibiteurs sélectifs comme le CXB ou le NS398, a été testée dans différents modèles cellulaires et animaux ; ces inhibiteurs permettent d'augmenter l'efficacité des chimiothérapies standards (comme le témozolomide (TMZ)), en réduisant la prolifération cellulaire, la capacité clonogénique et la résistance à l'apoptose. Ce rationnel a conduit à intégrer l'inhibition de COX2 dans plusieurs protocoles expérimentaux et essais cliniques chez le GBM (Qiu *et al.*, 2017 ; Lombardi *et al.*, 2022).

L'augmentation de l'expression de COX2/PGE<sub>2</sub> par les cellules cancéreuses mourantes constitue un obstacle majeur à l'immunité antitumorale induite par les thérapies cytotoxiques, et révèle une stratégie permettant d'améliorer l'efficacité des combinaisons entre immunothérapie et chimiothérapie (Bell *et al.*, 2022).

Dans le GBM, COX2 joue un rôle majeur en régulant le microenvironnement tumoral et en favorisant la progression de la maladie. L'enzyme est surexprimée dans la plupart des tumeurs de GBM et son produit

PGE<sub>2</sub> est corrélé à un phénotype agressif, à la résistance aux traitements et à un pronostic clinique défavorable. COX2 et PGE<sub>2</sub> participent activement à l'immunosuppression en recrutant et modulant les cellules immunitaires du stroma, notamment les macrophages et microglies, qui stimulent à leur tour l'angiogenèse et l'invasion. Plusieurs publications récentes mettent en avant l'intérêt du CXB dans le GBM : son association à la chimiothérapie (TMZ) permet d'augmenter la sensibilité des cellules tumorales, de réduire la prolifération et d'inhiber l'activité des voies de survie antioxydantes, tout en favorisant l'infiltration des lymphocytes T effecteurs. Cette stratégie combinée est actuellement utilisée dans différents modèles cellulaires (LN229, U87, LN18), et apporte de nouveaux espoirs pour contourner la résistance thérapeutique et améliorer les résultats cliniques chez les patients atteints de glioblastome (Augello *et al.*, 2025 ; Yin *et al.*, 2021 ; Dean et Hooks, 2023 ; Turizo-Smith *et al.*, 2024).

#### 1.3.4 Mécanismes d'invasion tumorale

L'invasion tumorale dans les GBM repose sur des mécanismes complexes impliquant à la fois les propriétés intrinsèques des cellules tumorales et les interactions avec leur microenvironnement. Les cellules de GBM adhèrent aux cellules adjacentes et à la ECM via des protéines telles que les intégrines, qui transmettent des signaux intracellulaires par l'intermédiaire de la kinase d'adhésion focale (FAK) (Hu *et al.*, 2006). La dégradation de l'ECM est facilitée par des enzymes protéolytiques produites par les cellules tumorales, notamment les métalloprotéinases matricielles (MMP-2, MMP-9), les ADAMs et les cathepsines (Seals et Courtneidge, 2003 ; Wang *et al.*, 2003 ; Gole *et al.*, 2012). Ces enzymes permettent aux cellules de se détacher de leur environnement et de progresser dans le tissu cérébral. La migration est également soutenue par des modifications du cytosquelette, en particulier par la myosine II, essentielle pour le déplacement à travers les espaces étroits du parenchyme cérébral (Beadle *et al.*, 2008 ; Picariello *et al.*, 2019). En outre, les cellules tumorales attirent des cellules du microenvironnement telles que les microglies, les astrocytes et les cellules endothéliales, qui sécrètent à leur tour des protéases favorisant l'invasion (Schiffer *et al.*, 2018). Ce réseau d'interactions est représenté dans la figure 1 de l'article, qui illustre les composants clés impliqués dans l'invasion : la cellule tumorale, la ECM, les récepteurs d'adhésion, les enzymes protéolytiques, les facteurs solubles et les cellules environnantes (Figure 1.8) (Vollmann-Zwerenz *et al.*, 2020).

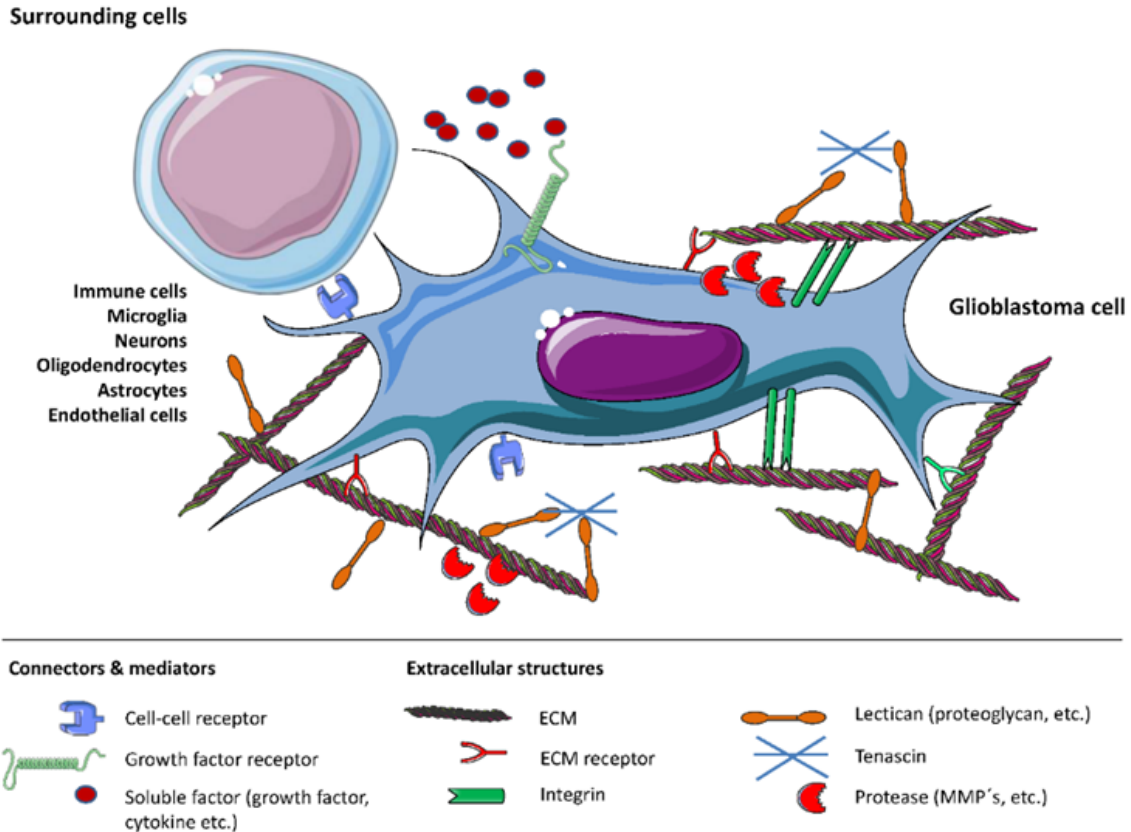


Figure 1.8: Aperçu des mécanismes permettant l'invasion des cellules du glioblastome (GBM) en modifiant le microenvironnement tumoral. Ces processus impliquent les cellules du GBM et la matrice extracellulaire (ECM), ainsi que les molécules et protéases de liaison, les facteurs solubles et liés et les cellules environnantes. Figure réalisée avec smart.servier.com. (Vollmann-Zwerenz *et al.*, 2020).

### 1.3.5 Métalloprotéinases matricielles : enzymes pro-invasives

Les métalloprotéinases matricielles (MMPs) sont une famille d'enzymes zinc-dépendantes impliquées dans la dégradation des composantes de la ECM, un processus essentiel dans la progression tumorale, notamment dans les gliomes (Dibdiakova, *et al.*, 2024). Initialement reconnues pour leur rôle dans la cicatrisation et le remodelage tissulaire, les MMPs sont aujourd'hui identifiées comme des acteurs clés de l'invasion tumorale, de l'angiogenèse, de la modulation immunitaire et de la rupture de la barrière hémato-encéphalique (figure 1.9) (Aitchison *et al.*, 2025).

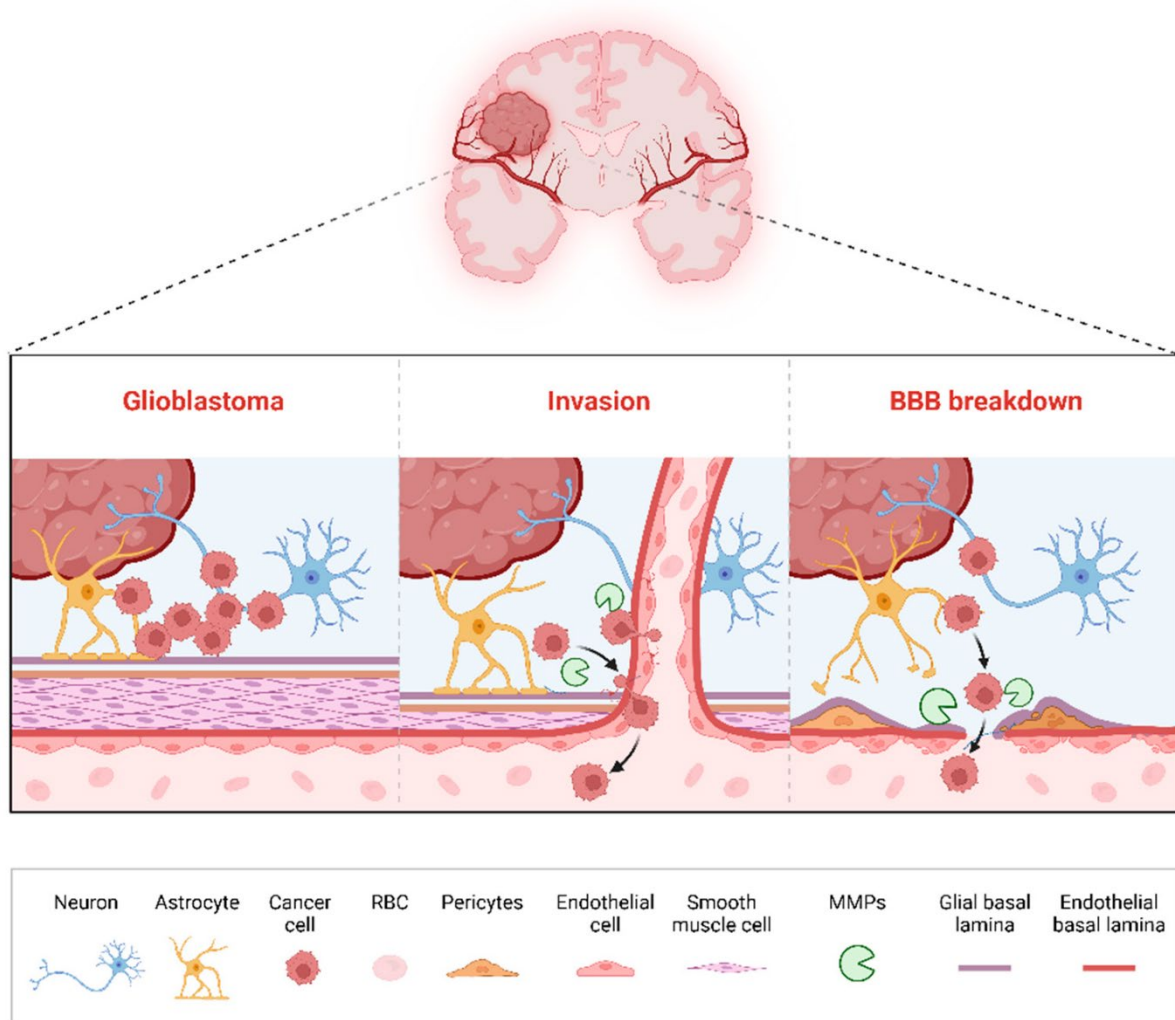


Figure 1.9: Illustration du rôle des MMP dans la progression du glioblastome (GBM), en mettant en évidence la croissance tumorale. L'invasion des tissus environnants et la dégradation de la barrière hémato-encéphalique (BHE). L'image montre l'infiltration des cellules tumorales du GBM dans le cerveau adjacent, facilitée par l'activité des MMP, ce qui provoque une altération de l'intégrité de la BHE et favorise la dissémination de la tumeur. Les flèches noires représentent la direction de migration des cellules cancéreuses depuis le foyer tumoral vers la BHE altérée. Les principaux éléments cellulaires et de la matrice extracellulaire impliqués sont identifiés : (Illustration réalisée avec BioRender.com) (<https://app.biorender.com>, consultée le 6 avril 2025) (Aitchison *et al.*, 2025). BHE, barrière hémato-encéphalique ; GR, globule rouge.

Sur le plan structural, les MMPs partagent un domaine catalytique contenant un site de liaison au zinc, un domaine propeptidique qui maintient l'enzyme inactive, et, pour certaines, un domaine hémapexine

conférant la spécificité de substrat (Laronha et Caldeira, 2020). Les MMPs de type membranaire, comme MMP-14 (MT1-MMP), possèdent un domaine transmembranaire leur permettant de dégrader localement la matrice pérécellulaire, facilitant ainsi la migration cellulaire (Itoh, 2024).

Dans les gliomes, les MMPs favorisent l'invasion tumorale en dégradant les composants de la membrane basale, notamment le collagène de type IV, via l'action des gélatinases MMP-2 et MMP-9 (Dobra *et al.*, 2023). MMP-14 joue également un rôle central en activant MMP-2 à la surface cellulaire, amplifiant la dégradation de la matrice (Ulasov *et al.*, 2013). D'autres MMPs, comme MMP-1, MMP-3, MMP-7 et MMP-13, sont impliquées dans la migration cellulaire, la libération de facteurs pro-angiogéniques et la modulation de l'environnement tumoral (Rome *et al.*, 2007 ; Pullen *et al.*, 2012).

L'expression élevée de MMPs est corrélée à des grades tumoraux plus élevés, à une récurrence accrue et à une survie réduite chez les patients atteints de gliomes (Choe *et al.*, 2002 ; Komatsu *et al.*, 2004). Par exemple, MMP-9 est fortement exprimée dans les GBM de haut grade, notamment dans les vaisseaux néoplasiques, et son activité est associée à la prolifération tumorale (Ricci *et al.*, 2017). De plus, MMP-13 et MMP-11 sont liées à des phénotypes invasifs et à une progression agressive de la tumeur (Dibdiakova *et al.*, 2024).

Enfin, les MMPs contribuent à la rupture de la BHE, facilitant l'infiltration des cellules tumorales et immunitaires dans le parenchyme cérébral. MMP-2, MMP-9 et MMP-14 sont particulièrement impliquées dans cette déstabilisation de la BHE, aggravant l'inflammation et la progression tumorale (Feng *et al.*, 2011 ; Shoari *et al.*, 2025 ; Mohanty *et al.*, 2017).

#### 1.3.5.1 Mécanisme d'activation de la pro-MMP-2

La pro-MMP-2 ou gélatinase A, est synthétisée sous forme inactive (zymogène) et nécessite une activation protéolytique pour exercer son activité enzymatique. Ce processus d'activation repose sur un mécanisme complexe impliquant les métalloprotéinases de type membranaire (MT-MMPs) et les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases (TIMPs) (Hagemann *et al.*, 2012).

L'activation de la pro-MMP-2 débute par la formation d'un complexe de trois molécules situées à la surface des cellules. Dans ce complexe, le domaine hémapexine de la pro-MMP-2 interagit avec le domaine C-terminal de TIMP-2, tandis que la MT1-MMP (MMP-14) se lie au domaine N-terminal de TIMP-2, ce qui

inhibe temporairement son activité catalytique (Strongin *et al.*, 1995 ; Stetler-Stevenson, 1999 ; Deryugina et Quigle, 2006). Ce complexe permet à une deuxième molécule de MMP-14, non inhibée, de cliver le domaine propeptidique de la pro-MMP-2, générant ainsi une forme intermédiaire de l'enzyme. Cette forme intermédiaire est ensuite complètement activée par une autre molécule de MMP-2 (Hagemann *et al.*, 2012).

Ce mécanisme d'activation est dépendant de la présence de MMP-14, comme en témoigne l'absence de forme active de MMP-2 dans les cellules de gliome malignes dépourvues de MMP-14 (Yamamoto *et al.*, 1996). D'autres MT-MMPs, telles que MMP-15, MMP-24 et MMP-25, ont également été impliquées dans l'activation de la pro-MMP-2, suggérant une redondance fonctionnelle dans ce processus (Nakada *et al.*, 2002 ; Llano *et al.*, 1999 ; Velasco *et al.*, 2000). Par ailleurs, l'activation de la pro-MMP-2 peut être facilitée par des agents non protéolytiques, tels que les composés mercuriels, les agents réactifs au soufre (SH), les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou encore les dénaturants, qui perturbent l'interaction cystéine-zinc du site actif (Van Wart et Birkedal-Hansen, 1990 ; Hagemann *et al.*, 2012).

Enfin, l'activation de la pro-MMP-2 est également régulée par les TIMPs. TIMP-2 joue un double rôle en ce sens qu'il inhibe l'activité de MMP-14 et sert aussi de pont pour l'activation de la pro-MMP-2. Ce rôle a été confirmé par des études utilisant la zymographie *in situ*, qui ont démontré l'activité gélatinolytique de MMP-2 dans des conditions dépendantes de TIMP-2 (Hagemann *et al.*, 2012 ; Ratnikov *et al.*, 2002).

#### 1.4 Voies de signalisation impliquées dans le glioblastome

Dans le GBM multiforme, plusieurs voies de signalisation sont fréquemment altérées et contribuent à la croissance, la survie, l'invasion et la résistance aux traitements. Voici les cinq principales voies de signalisation oncogéniques impliquées dans le GBM :

##### 1.4.1 Voie RAS/RAF/MEK/ERK (MAPK)

- Rôle physiologique de la voie MAPK

La voie de signalisation RAS/RAF/MEK/ERK, aussi appelée voie MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), représente une cascade de transduction intracellulaire fondamentale, hautement conservée chez les eucaryotes. Elle intervient dans la régulation de nombreux processus cellulaires essentiels, notamment la



prolifération, la différenciation, la survie, la migration, ainsi que dans la réponse aux stress cellulaires (Pearson *et al.*, 2001 ; Cargnello et Roux, 2011).

L'activation de cette voie débute généralement par la stimulation de récepteurs membranaires à activité tyrosine kinase (RTK), tels que EGFR ou PDGFR, par des facteurs de croissance. Cette stimulation favorise l'activation de la petite GTPase Ras, qui initie la cascade MAPK en activant la kinase RAF (MAP3K). RAF phosphoryle ensuite MEK1/2 (MAP2K), qui à son tour active ERK1/2 (MAPK) par phosphorylation double sur les résidus thréonine et tyrosine (Shaul et Seger, 2007 ; Roskoski, 2012). Les kinases ERK activées migrent alors vers le noyau, où elles phosphorylent différents facteurs de transcription, tels que Elk-1, Myc ou CREB, régulant ainsi l'expression de gènes associés à la réponse biologique appropriée (Cargnello et Roux, 2011).

L'un des rôles fondamentaux de la voie MAPK est le contrôle de la prolifération cellulaire. En régulant des gènes tels que cyclin D1, ERK1/2 facilitent la progression du cycle cellulaire, notamment lors de la transition G1/S, qui est cruciale pour la réplication de l'ADN (Weber *et al.*, 1997 ; Shaul et Seger, 2007). Par ailleurs, l'activation soutenue ou transitoire de cette voie peut induire des effets différents sur le destin cellulaire. Des études menées sur les cellules PC12, lignée cellulaire dérivée d'un phéochromocytome de rat, ont montré que l'activation transitoire d'ERK stimule la prolifération, alors qu'une activation prolongée induit la différenciation neuronale, soulignant l'importance de la durée et de l'intensité du signal (Marshall, 1995).

La voie RAS/RAF/MEK/ERK joue également un rôle cytoprotecteur. L'activation d'ERK1/2 permet d'inhiber certaines voies pro-apoptotiques par la phosphorylation de protéines clés impliquées dans la mort cellulaire, notamment BAD, caspase-9 ou Bim (Cargnello et Roux, 2011). Cette inhibition contribue à la survie cellulaire dans des conditions de stress ou de dommages modérés. Enfin, cette voie de signalisation contribue à l'adaptation cellulaire face aux stimuli extérieurs, qu'il s'agisse de stress oxydatif, d'inflammation ou de variations de l'environnement extra- ou intracellulaire. Elle participe à des réponses adaptatives complexes en contrôlant l'expression de gènes cibles impliqués dans la plasticité cellulaire, la réparation et la tolérance au stress (Kyriakis et Avruch, 2001 ; Pearson *et al.*, 2001).

- Altérations fréquentes

La voie RAS/RAF/MEK/ERK, est l'une des cascades de signalisation intracellulaires les plus critiques pour le contrôle de la prolifération, de la différenciation, de la survie cellulaire et de la migration. Sa dérégulation est impliquée dans un grand nombre de pathologies humaines, en particulier les cancers, et elle représente une cible thérapeutique majeure. Les altérations les plus fréquentes de cette voie concernent en premier lieu des mutations activatrices au niveau des gènes RAS (KRAS, NRAS, HRAS), responsables d'environ 20 à 30 % de tous les cancers humains. Ces mutations affectent généralement les codons 12, 13 ou 61; Le codon 12 est le plus souvent muté dans KRAS, le codon 61 dans NRAS, tandis que HRAS présente habituellement des mutations sur les deux (12 et 61). Elles empêchent l'activité GTPase de RAS, maintenant la protéine dans un état actif permanent, ce qui entraîne une activation constitutive des kinases en aval (RAF, MEK, ERK) et favorise une prolifération incontrôlée (Prior *et al.*, 2012). En particulier, les mutations de KRAS sont observées dans plus de 90 % des cancers du pancréas, environ 40 % des cancers colorectaux, et jusqu'à 30 % des adénocarcinomes pulmonaires (Cox *et al.*, 2014). En aval de RAS, le gène BRAF est également sujet à des mutations activatrices, notamment la mutation V600E, qui remplace une valine par un glutamate à la position 600. Cette mutation, responsable d'une activation autonome de la kinase BRAF, est particulièrement fréquente dans certains types tumoraux : elle est retrouvée dans environ 50 % des mélanomes cutanés, 30 à 50 % des cancers de la thyroïde papillaire, et 5 à 10 % des cancers colorectaux (Davies *et al.*, 2002). Les mutations de MEK1/2 (MAP2K1/2), bien que plus rares (<1 %), peuvent apparaître de novo dans certains types tumoraux, notamment les mélanomes, ou être acquises en cours de traitements comme mécanisme de résistance aux inhibiteurs ciblant BRAF ou MEK (Emery *et al.*, 2009). Les mutations des gènes ERK1/2 (MAPK1/3) sont quant à elles extrêmement rares. Dans certains cancers comme le GBM, la voie MAPK est souvent activée de façon indirecte, non pas par des mutations de ses composants intracellulaires, mais par des altérations touchant les récepteurs tyrosine kinase (RTK) en amont. En effet, l'amplification ou la mutation du gène EGFR est rapportée dans 40 à 60 % des glioblastomes, entraînant une activation excessive de la signalisation dépendante de RAS et donc de la voie MAPK (Brennan *et al.*, 2013 ; Verhaak *et al.*, 2010). De telles altérations provoquent une activation soutenue d'ERK, menant à une prolifération non régulée, à une résistance à l'apoptose et à une progression tumorale accrue. En somme, les altérations de la voie RAS/RAF/MEK/ERK, qu'elles touchent directement ses composants (mutations de RAS, BRAF, MEK) ou indirectement par l'activation amont des RTK, représentent des événements clés de l'oncogenèse et sont associées à des signatures moléculaires spécifiques selon les types tumoraux.

- Conséquences biologiques et implications thérapeutiques

L'hyperactivation de la voie MAPK induit une prolifération cellulaire excessive, une résistance à l'apoptose et une progression tumorale accrue. Elle est également impliquée dans la résistance aux thérapies ciblées, notamment aux inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) et aux inhibiteurs de MEK ou BRAF (Samatar et Poulidakos, 2014). Des thérapies ciblées ont été développées pour inhiber cette voie, notamment les inhibiteurs de BRAF (comme le vemurafenib et le dabrafenib) et de MEK (comme le trametinib). Toutefois, leur efficacité est souvent limitée par l'apparition de mécanismes de résistance secondaire (Lito *et al.*, 2013).

#### 1.4.2 Voie PI3K/AKT/mTOR

- Rôle physiologique

La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR (PAM) est un réseau intracellulaire central, hautement conservé chez les eucaryotes supérieurs. Elle est activée par des stimuli extracellulaires, tels que les facteurs de croissance, et contrôle des fonctions cellulaires essentielles comme la croissance, la survie, la prolifération et le métabolisme. Les protéines clés de cette cascade sont PI3K et AKT, qui transmettent les signaux des récepteurs tyrosine kinase vers mTOR, un régulateur majeur de l'anabolisme cellulaire (Liu *et al.*, 2009 ; Laplante et Sabatini, 2012 ; Fruman *et al.*, 2017).

La dérégulation de cette voie est un mécanisme fondamental de tumorigenèse. Elle est activée dans environ 50 % des cancers humains, ce qui en fait l'une des voies oncogéniques les plus couramment impliquées dans le cancer (Samuels *et al.*, 2004 ; Porta *et al.*, 2014). Cette importance est largement mise en évidence dans l'article de Glaviano *et al.* (2023), qui souligne que la voie PAM est la voie la plus fréquemment activée dans les tumeurs humaines et constitue une cible majeure pour les thérapies anticancéreuses.

- Altérations fréquentes

- Mutations de PIK3CA

Le gène PIK3CA, codant pour la sous-unité catalytique p110 $\alpha$  de PI3K, est l'un des oncogènes les plus couramment mutés dans les cancers (Samuels *et al.*, 2004). Les mutations récurrentes, telles que E545K (exon 9) et H1047R (exon 20), conduisent à une activation constitutive de PI3K, indépendamment des signaux extracellulaires. Ces altérations sont présentes dans plusieurs cancers, notamment colorectal (Samuels *et al.*, 2004), mammaire (Saal *et al.*, 2005), pulmonaire (Engelman *et al.*, 2006), gastrique (Velho *et al.*, 2005), prostatique (Taylor *et al.*, 2010) et du col utérin (Wright *et al.*, 2013). Par ailleurs, Glaviano *et al.* (2023) rappellent que la mutation de PIK3CA peut agir de manière synergique avec la perte de PTEN, notamment dans le cancer de la prostate, pour favoriser la progression tumorale (Chalhoub et Baker, 2009).

- Perte ou mutation de PTEN

PTEN est une phosphatase suppresseur de tumeur qui empêche l'activation excessive de la voie PAM en déphosphorylant le PIP3 en PIP2. Sa perte de fonction, par mutation, délétion ou méthylation du promoteur, entraîne une activation continue d'AKT et mTOR (Li *et al.*, 1997 ; Chalhoub et Baker, 2009). Cette altération est fréquente dans les cancers du sein (Saal *et al.*, 2005), du côlon (Samuels *et al.*, 2004), de la vessie (Knowles, 2006), du glioblastome (Parsons *et al.*, 2008) et de la prostate (Taylor *et al.*, 2010).

- Conséquences biologiques et résistance à l'apoptose

L'activation incontrôlée de la voie PI3K/AKT/mTOR entraîne plusieurs effets oncogéniques : résistance à l'apoptose, augmentation de la migration cellulaire, induction de la EMT, et stimulation de la prolifération. Ces processus favorisent la progression tumorale, la formation de métastases et la résistance aux traitements anticancéreux (Thiery *et al.*, 2009 ; Lamouille *et al.*, 2014 ; Porta *et al.*, 2014). Selon Glaviano *et al.* (2023), la dérégulation de cette voie constitue un mécanisme majeur de résistance aux thérapies ciblées, en particulier dans les tumeurs solides, ce qui justifie son ciblage pharmacologique en oncologie.

### 1.4.3 Voie Hippo/YAP/TAZ

- Rôle physiologique

La voie de signalisation Hippo joue un rôle fondamental dans la régulation de la prolifération cellulaire, de l'apoptose, et dans le contrôle de la taille des organes (figure 1.10). Cette voie permet de maintenir l'homéostasie tissulaire en inhibant la croissance excessive des cellules. Son fonctionnement repose principalement sur une série de kinases dont MST1/2 et LATS1/2, qui phosphorylent les coactivateurs transcriptionnels YAP (Yes-associated protein) et TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif). Une fois phosphorylés, ces derniers sont retenus dans le cytoplasme ou dégradés, ce qui empêche leur activité nucléaire (Piccolo *et al.*, 2014 ; Meng *et al.*, 2016).

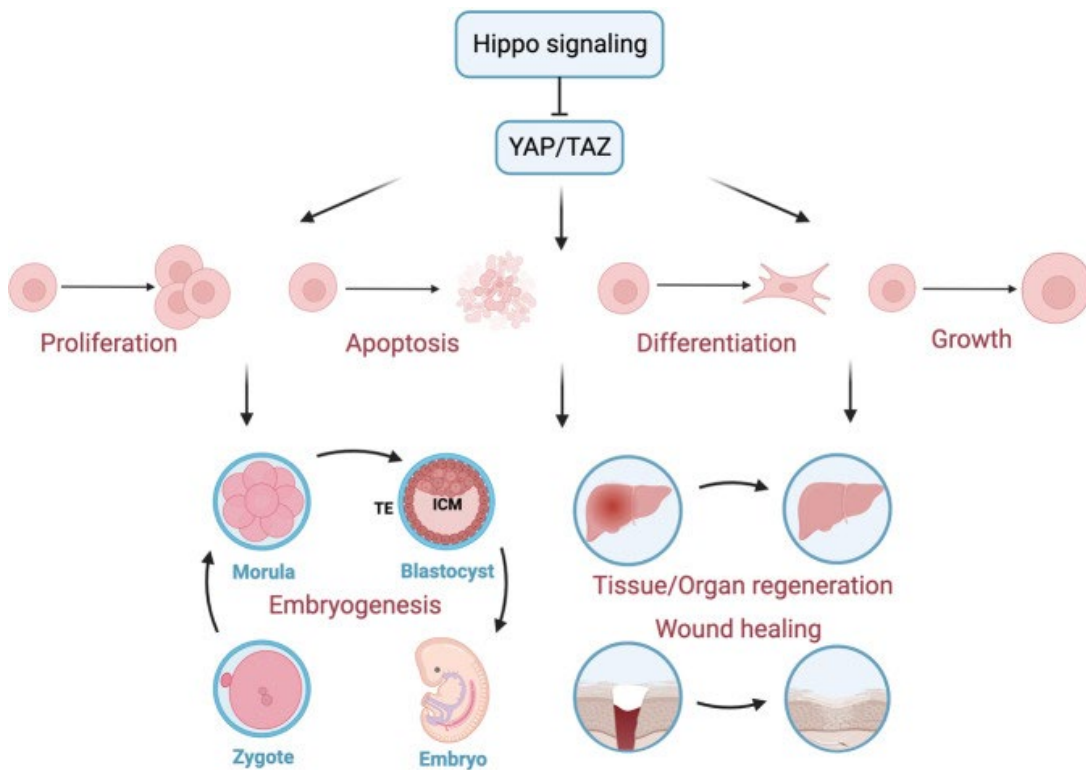


Figure 1.10: Rôle physiologique central de la voie Hippo

Les effecteurs YAP et TAZ interviennent dans la régulation de divers processus cellulaires tels que la prolifération, l'apoptose, la différenciation et la croissance. Par leur action, ils contribuent à des fonctions essentielles comme l'embryogenèse, le développement, la régénération tissulaire et organique, ainsi que la cicatrisation des plaies. (Fu *et al.*, 2022)

- Altérations fréquentes de la voie Hippo dans le cancer

La voie Hippo reste plus souvent altérée dans plusieurs types de cancers, principalement par l'inhibition des kinases MST1/2 ou LATS1/2. Cela empêche la phosphorylation normale de YAP et TAZ, qui deviennent alors actifs, s'accumulent dans le noyau, et échappent au contrôle négatif de la voie. Cette activation aberrante de YAP/TAZ est observée dans de nombreux cancers humains, notamment les glioblastomes, les cancers du sein, du foie, des ovaires et du poumon (Zhao *et al.*, 2023). Des mutations ou des pertes de fonction dans MST1/2, LATS1/2 ou leurs cofacteurs (comme NF2) sont fréquemment rapportées (Han *et al.*, 2024). De plus, des travaux publiés ont révélé des avancées majeures concernant la voie Hippo dans le glioblastome. En particulier, des études translationnelles et des essais cliniques ont été portés sur le développement d'inhibiteurs de l'interaction YAP/TEAD et sur la modulation pharmacologique des effecteurs Hippo en modèles précliniques et patients (Kaushik *et al.*, 2025 ; Bala *et al.*, 2025). Les nouvelles stratégies incluent notamment l'utilisation de molécules telles que VT107, GNE7883 ou des inhibiteurs de la palmitoylation TEAD, qui ont permis de réduire la résistance thérapeutique et d'améliorer la réponse immunitaire antitumorale dans des modèles de GBM (Ajongbolo et Langhans, 2025). Ainsi, la voie Hippo apparaît désormais clairement comme une cible prioritaire dans les protocoles innovants et combinés en neuro-oncologie, ouvrant la voie à une meilleure personnalisation des traitements pour les patients atteints de GBM (Castillo *et al.*, 2024).

- Impact de l'activation de YAP/TAZ sur les cellules tumorales

Une fois activés et localisés dans le noyau, YAP et TAZ agissent comme des coactivateurs transcriptionnels oncogéniques. Ils se lient aux facteurs de transcription de la famille TEAD, induisant l'expression de gènes impliqués dans la croissance cellulaire, la migration, la survie et parfois même l'évasion du système immunitaire, comme *CTGF*, *CYR61*, *Amphiregulin*, ou *PD-L1* (Zhao *et al.*, 2007 ; Totaro *et al.*, 2017). Cette activité pro-oncogénique favorise la progression tumorale, le développement de métastases et la résistance thérapeutique, notamment dans les tumeurs solides comme le GBM, le carcinome hépatocellulaire et le cancer du sein triple négatif (Ghaboura *et al.*, 2025 ; Nguyen *et al.*, 2024).

#### 1.4.3.1 Mécanismes de régulation de la voie Hippo

La voie Hippo est régulée par une série de mécanismes moléculaires qui assurent un contrôle strict de l'activité des coactivateurs transcriptionnels YAP (Yes-associated protein) et TAZ (Transcriptional

coactivator with PDZ-binding motif). Son activation dépend d'une cascade de phosphorylations impliquant principalement les kinases MST1/2 (mammalian STE20-like kinases 1/2) et LATS1/2 (Large tumor suppressor kinases 1/2). Lorsque la voie est active, MST1/2 phosphorylent et activent LATS1/2 avec l'aide de cofacteurs tels que SAV1 et MOB1. LATS1/2, à leur tour, phosphorylent YAP et TAZ, provoquant leur rétention dans le cytoplasme ou leur dégradation par le protéasome. Ce mécanisme empêche leur accumulation dans le noyau et l'activation de gènes pro-prolifératifs (Zhao *et al.*, 2007 ; Meng *et al.*, 2016). La régulation de la voie Hippo est aussi fortement influencée par des signaux mécaniques. En effet, des modifications de la tension cellulaire, de la forme des cellules, de la rigidité de la matrice extracellulaire ou encore de la densité cellulaire peuvent moduler l'activité de la cascade MST/LATS. Par exemple, sur une matrice rigide ou en condition de faible densité, la voie Hippo est inhibée, ce qui permet à YAP et TAZ d'échapper à la phosphorylation, de s'accumuler dans le noyau et d'activer la transcription de gènes cibles. À l'inverse, une forte densité cellulaire active la cascade Hippo, conduisant à l'inactivation de YAP/TAZ (Dupont *et al.*, 2011 ; Zanconato *et al.*, 2019) (figure 1.11).

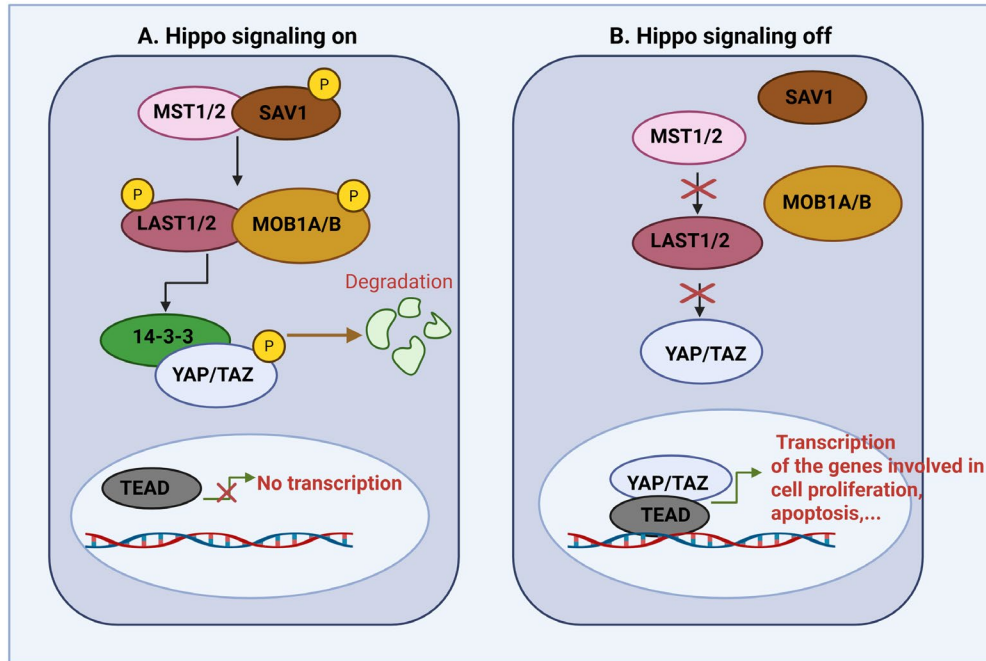


Figure 1.11: Voie de signalisation Hippo. Le diagramme schématique des composants principaux de la voie Hippo et de la transduction du signal. A, lorsque la signalisation Hippo est activée (dans une densité cellulaire élevée), une signalisation en amont inconnue conduit à l'activation de la protéine kinase 1 de type STE20 chez les mammifères (MST1) /2. Homologue 1 de Salvador activé par le phosphorylate MST1/2 (SAV1), qui, à son tour, phosphoryle les grands suppresseurs de tumeurs (LATS) et l'activateur kinase MOB 1 (MOB1). La protéine YES associée à LATS/MOB (YAP) phosphorylée activée/coactivateur transcriptionnel avec motif de liaison PDZ (TAZ), entraînant une rétention cytoplasmique par la protéine 14-3-3 et une dégradation protéasomique de YAP/TAZ ; B, lorsque la signalisation Hippo est désactivée (dans une faible densité cellulaire), les kinases MST1/2 et LATS sont inactives, ce qui inhibe la phosphorylation de YAP et TAZ. Le YAP/TAZ stabilisé dans les noyaux interagit avec le TEA domain transcription factor (TEAD) et la transcription des gènes ciblés liés à l'anti-apoptose et à la prolifération (Naghsh Nilchi *et al.* 2023). En plus des signaux mécaniques, la voie Hippo est également soumise à un contrôle croisé par d'autres voies de signalisation. Des interactions fonctionnelles ont été décrites avec les voies Wnt/ $\beta$ -caténine, TGF- $\beta$ /SMAD, EGFR, Notch ou encore PI3K/AKT. Ces communications entre voies de signalisation permettent une intégration fine des signaux extracellulaires. Par exemple, dans certains contextes, la voie TGF- $\beta$  peut favoriser la coopération de YAP/TAZ avec SMAD2/3 dans le noyau, renforçant la transcription de gènes impliqués dans la migration ou l'EMT. De même, l'activation de PI3K peut interférer avec LATS1/2 et ainsi favoriser indirectement l'activité nucléaire de YAP/TAZ (Totaro *et al.*, 2018 ; Lin *et al.*, 2015). Enfin, des



éléments métaboliques et des stress cellulaires, tels que l'hypoxie ou les perturbations du métabolisme énergétique, sont également capables de moduler cette voie. En condition hypoxique, par exemple, YAP et TAZ coopèrent avec HIF-1 $\alpha$  pour activer des gènes impliqués dans l'adaptation cellulaire et l'angiogenèse, contribuant à la survie cellulaire dans un environnement défavorable (Chang *et al.*, 2023). Ce lien entre régulation mécanique, métabolique et moléculaire confère à la voie Hippo une plasticité fonctionnelle importante dans le développement, la régénération et la tumorigenèse.

#### 1.4.3.2 Rôle des effecteurs YAP/TAZ dans le cancer

Les coactivateurs transcriptionnels YAP (*Yes-associated protein*) et TAZ (*Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif*), effecteurs terminaux de la voie Hippo, jouent un rôle central dans la tumorigenèse. Lorsqu'ils sont déphosphorylés, YAP/TAZ s'accumulent dans le noyau et s'associent principalement aux facteurs de transcription de la famille TEAD, activant la transcription de gènes impliqués dans plusieurs fonctions biologiques associées au cancer, telles que la prolifération cellulaire, l'angiogenèse, la migration, la plasticité cellulaire, l'invasion, ainsi que l'évasion du système immunitaire (Zanconato *et al.*, 2016 ; Totaro *et al.*, 2018).

Leur activité est désormais reconnue comme un moteur clé dans divers types de tumeurs solides, notamment les carcinomes hépatocellulaires, les glioblastomes, les cancers du sein triple négatif et le mésothéliome. Parmi les cibles les plus caractérisées de YAP/TAZ figurent les gènes AXL, CTGF, CYR61, et le régulateur en amont NF2, dont les altérations favorisent l'activation pathologique de cette voie (Cunningham *et al.*, 2023 ; Thrash *et al.*, 2023 ; Roy *et al.*, 2024).

- AXL

Parmi ces cibles, AXL est une tyrosine kinase réceptrice fortement induite par l'activité nucléaire de YAP. Son activation contribue à la migration cellulaire, à la EMT et à la résistance aux traitements, tout en favorisant une évasion immunitaire. Une étude récente a démontré que l'axe YAP–AXL permet aux cellules tumorales d'échapper à l'action des lymphocytes T cytotoxiques dans plusieurs cancers solides (Baroja *et al.*, 2024 ; Liu *et al.*, 2025).

- NF2

Le gène NF2 code pour la protéine Merlin, un régulateur positif de la voie Hippo. Merlin favorise l'activation des kinases MST1/2 et LATS1/2, inhibant YAP/TAZ par phosphorylation. En cas de mutation ou de perte de fonction de NF2, la cascade est inactivée, entraînant une activation constitutive de YAP/TAZ. Ce mécanisme est particulièrement bien documenté dans le mésothéliome malin (Kato *et al.*, 2025).

- *CTGF*

Un autre acteur majeur régulé par YAP/TAZ est le CTGF (*Connective Tissue Growth Factor*). Ce facteur sécrété joue un rôle important dans la prolifération, l'invasion, et l'angiogenèse tumorale. Dans le carcinome hépatocellulaire, la surexpression de CTGF activée par YAP est fortement corrélée à une progression tumorale rapide et à un remodelage pro-tumoral du microenvironnement (Lee *et al.*, 2021 ; Choi *et al.*, 2024 ; Li *et al.*, 2024).

- *CYR61*

Enfin, le gène CYR61 (aussi appelé CCN1) est une protéine matricielle régulée par YAP/TAZ, qui favorise l'adhésion, la migration, l'angiogenèse et l'acquisition d'un phénotype de cellules souches tumorales. Dans les cancers du sein triple négatif, CYR61 contribue à l'agressivité et à la formation de métastases, en partie grâce à sa coopération transcriptionnelle avec YAP (Kim *et al.*, 2024).

#### 1.4.4 Voie de signalisation NFκB

- Rôle de NFκB dans l'inflammation tumorale

Le facteur de transcription NFκB (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) joue un rôle central dans la régulation de l'inflammation, de la survie cellulaire, de l'angiogenèse et de la résistance aux stress cellulaires. Dans les cellules tumorales, l'activation de NFκB est fréquente et favorise l'expression de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-1β, TNF-α), de molécules anti-apoptotiques (Bcl-2, XIAP) et de protéines favorisant l'invasion tumorale (MMPs) (Taniguchi et Karin, 2018). Cette activité contribue à créer un microenvironnement tumoral inflammatoire, qui soutient la croissance, la progression et la dissémination des tumeurs, tout en induisant une résistance aux traitements anticancéreux (Khalaf *et al.*, 2021 ; Yi *et al.*, 2024 ; Tiwari *et al.*, 2022).

- Contrôle de l'inhibition

Le contrôle de l'inhibition de la voie NFκB peut guider sur des voies de réduction de l'inflammation et rendre les cellules tumorales sensibles aux traitements. En effet plusieurs types d'inhibition sont à l'étude tels que les Inhibiteurs de l'IKK (IκB kinase) car l'activation canonique de NFκB dépend de la phosphorylation de l'inhibiteur IκBα par le complexe IKK (IKKα, IKKβ, NEMO). Des molécules ciblant IKKβ, comme BMS-345541 ou MLN120B, empêchent cette phosphorylation, bloquant ainsi l'entrée de NFκB dans le noyau (Yang *et al.*, 2006 ; Barnabei *et al.*, 2021).

- Antioxydants ou inhibiteurs de la signalisation en amont

La signalisation en amont de NFκB implique souvent des médiateurs pro-inflammatoires comme TNF-α. L'utilisation d'anticorps anti-TNF-α (ex. infliximab, etanercept) ou d'antioxydants (comme la curcumine ou le resvératrol) peut indirectement réduire l'activation de NFκB dans les cellules cancéreuses (Shinde *et al.*, 2023 ; Nigam *et al.*, 2023 ; Aggarwal *et al.*, 2013 ; Aggarwal *et al.*, 2009).

- Objectif thérapeutique

L'objectif principal de l'inhibition de NFκB dans le cancer est de réduire l'inflammation chronique au sein du microenvironnement tumoral, diminuer la survie des cellules tumorales, et restaurer la sensibilité aux traitements tels que la chimiothérapie, la radiothérapie ou l'immunothérapie. Cette approche permettrait également de limiter l'expression de facteurs pro-métastatiques et immunosuppresseurs régulés par NFκB, rendant ainsi le microenvironnement tumoral moins favorable à la progression néoplasique (Taniguchi et Karin, 2018).

## 1.5 Voies pro-inflammatoires et cibles pharmacologiques associées à l'agressivité du GBM

### 1.5.1 IκB et activation de NFκB

Dans des conditions physiologiques, le facteur de transcription NFκB est maintenu sous une forme inactive dans le cytoplasme par son interaction avec les protéines inhibitrices de la famille IκB (Inhibitor of kappa B), en particulier IκBα, la forme, la mieux caractérisée. Cette liaison masque le domaine de localisation nucléaire de NFκB, empêchant sa translocation vers le noyau (Hayden & Ghosh, 2008). Lorsque des signaux

extracellulaires pro-inflammatoires, tels que le TNF- $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$ , ou les produits microbiens comme le LPS, sont détectés par les récepteurs de la cellule (TLRs, TNFR), cela conduit à l'activation du complexe IKK (I $\kappa$ B kinase), principalement composé de IKK $\alpha$ , IKK $\beta$ , et NEMO. Ce complexe phosphoryle alors I $\kappa$ B $\alpha$  sur des résidus sérine spécifiques (Ser32 et Ser36), entraînant sa polyubiquitination et sa dégradation par le protéasome 26S (Shimada *et al.*, 1999 ; Perkins et Gilmore, 2006 ; Huang et Hung, 2013 ; Taniguchi et Karin, 2018 ; Zhang *et al.*, 2023).

La dégradation d'I $\kappa$ B $\alpha$  libère les dimères de NF $\kappa$ B, principalement p65/p50, qui peuvent alors migrer dans le noyau et activer la transcription de nombreux gènes cibles impliqués dans la réponse inflammatoire, la survie cellulaire, l'angiogenèse, et la prolifération tumorale. Ce mécanisme est fortement dérégulé dans de nombreuses tumeurs, et la perte de fonction ou l'instabilité chronique d'I $\kappa$ B $\alpha$  est associée à une activation constitutive de NF $\kappa$ B, favorisant ainsi un environnement tumoral pro-inflammatoire et pro-survie (Zhang *et al.*, 2021).

Plusieurs études récentes ont également mis en évidence que certaines cellules tumorales peuvent contourner le système de régulation d'I $\kappa$ B, en surexprimant des formes altérées de IKK $\beta$  ou en produisant des signaux autocrines pro-inflammatoires constants. Cela rend la voie NF $\kappa$ B autonome, indépendante de stimuli extérieurs, et renforce la progression tumorale ainsi que la résistance aux traitements (Zhang *et al.*, 2021).

Dans le contexte du GBM, cette régulation devient particulièrement critique. Des recherches récentes montrent que la dérégulation de la voie NF $\kappa$ B dans le GBM, souvent couplée à des altérations de NF $\kappa$ BIA ou à une activation constitutive de l'axe EGFR/PI3K/AKT/NF $\kappa$ B, est liée à la prolifération exacerbée des cellules tumorales, au maintien du phénotype de cellules souches cancéreuses, à l'angiogenèse accrue et à une résistance marquée aux traitements standards (Ramar *et al.*, 2025 ; Shi *et al.*, 2023 ; Mao *et al.*, 2025 ; Uddin *et al.*, 2021). Cette hyperactivation favorise également l'invasion, la migration et l'immunosuppression locale, via la production de cytokines et de facteurs pro-angiogéniques. Enfin, la voie NF $\kappa$ B entretient des interactions complexes avec des microARN et autres régulateurs épigénétiques, contribuant à l'agressivité et à la plasticité des cellules de GBM. Plusieurs études et essais récents se sont concentrés sur l'inhibition de NF $\kappa$ B comme approche thérapeutique, montrant un ralentissement de la progression tumorale et une sensibilisation aux traitements classiques, bien que des défis subsistent quant à la spécificité et à la tolérance des inhibiteurs (Ramar *et al.*, 2025 ; Shi *et al.*, 2023 ; Guo *et al.*, 2024).

### 1.5.2 P-ERK et signalisation MAPK

La voie de signalisation MAPK/ERK (Mitogen-Activated Protein Kinase/Extracellular signal-Regulated Kinase) est l'un des modules de transduction du signal les plus fondamentaux dans la régulation des fonctions cellulaires telles que la prolifération, la différenciation, l'apoptose, l'angiogenèse et la réponse au stress (Guo *et al.*, 2020). Cette cascade repose sur une activation séquentielle de kinases : RAS (petite GTPase), RAF (MAP3K), MEK1/2 (MAPKK) et enfin ERK1/2 (MAPK), qui constitue l'étape terminale de la cascade. Une fois activé par phosphorylation sur les résidus Thr et Tyr, ERK (p-ERK) migre du cytoplasme vers le noyau, où il régule l'activité de nombreux facteurs de transcription tels que c-Fos, c-Jun, Elk-1, c-Myc et ATF2, influençant ainsi l'expression de gènes impliqués dans la croissance, la survie, la migration et la différenciation cellulaire. ERK peut également phosphoryler des protéines cytoplasmiques, notamment des protéines du cytosquelette comme MAP1, MAP2 et MAP4, contribuant à la réorganisation cellulaire (Guo *et al.*, 2020).

L'activation aberrante de cette voie est fréquemment observée dans divers cancers humains, notamment les cancers de l'ovaire, du côlon, du sein et du poumon, et est souvent associée à un mauvais pronostic. Par exemple, dans le cancer de l'ovaire, l'expression de p-ERK1/2 est significativement plus élevée dans les stades avancés (III/IV) que dans les stades précoces (I/II), et inversement corrélée à l'expression de la phosphatase MKP-1, un régulateur négatif de la voie (Denkert *et al.*, 2002).

La voie ERK/MAPK joue également un rôle central dans :

- La prolifération tumorale : elle favorise la progression du cycle cellulaire via l'induction de Cyclin D1 et inhibe l'apoptose (Sebolt-Leopold *et al.*, 1999).
- L'invasion et la métastase : elle régule l'expression des métalloprotéinases MMP-2, MMP-7 et MMP-9, facilitant la dégradation de la matrice extracellulaire (Maeda-Yamamoto *et al.*, 2003).
- L'angiogenèse tumorale : elle stimule la transcription de VEGF et inhibe des facteurs anti-angiogéniques comme thrombospondine-1, contribuant à la formation de néovaisseaux (Soula-Rothhut *et al.*, 2005).

Dans le glioblastome (GBM), la voie MAPK/ERK est fortement impliquée dans la progression, l'invasion et la résistance aux traitements. De nombreux travaux récents ont montré que la phosphorylation accrue d'ERK1/2 dans les cellules tumorales cérébrales est corrélée à une augmentation de la prolifération, de la plasticité cellulaire et à un microenvironnement tumoral plus immunogène, favorisant l'échappement aux mécanismes immunitaires (Kim *et al.*, 2024). Par ailleurs, cette hyperactivation du module ERK/MAPK dans le GBM facilite la migration et l'invasion par la modulation de facteurs tels que MMPs et la régulation de l'angiogenèse via VEGF (Wang *et al.*, 2024). Sur le plan thérapeutique, il a été démontré que les inhibiteurs de la voie MAPK, associés à l'immunothérapie (anti-PD-1), améliorent la sensibilité des cellules tumorales cérébrales et la réponse anti-tumorale médiée par les lymphocytes T. Plus récemment, il a été établi que la voie MAPK/ERK module aussi l'expression de molécules impliquées dans la présentation antigénique, interagissant significativement avec les cellules microgliales et influençant l'évolution du microenvironnement cérébral. Ainsi, l'intégration de ces données positionne la signalisation MAPK/ERK au cœur des nouveaux axes de recherche et des pistes thérapeutiques innovantes en neuro-oncologie, avec un potentiel majeur pour le contrôle de la progression du glioblastome et l'optimisation des traitements combinés (Kim *et al.*, 2024).

Enfin, la voie ERK interagit avec d'autres cascades comme PI3K/AKT et JNK, formant un réseau complexe de régulation qui soutient la plasticité tumorale, la résistance aux traitements et la progression néoplasique (Guo *et al.*, 2020).

### 1.5.3 Approches pharmacologiques anti-inflammatoires et anti-invasives

- Utilisation d'anti-inflammatoires ciblés

Les anti-inflammatoires ciblés sont des médicaments qui agissent spécifiquement sur certaines voies de signalisation impliquées dans l'inflammation, ce qui permet de limiter les effets indésirables associés aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) classiques. Parmi eux, on retrouve les inhibiteurs sélectifs de la COX2, comme le célécoxib, ainsi que les inhibiteurs de la voie JAK/STAT3, qui sont étudiés pour leur potentiel anti-inflammatoire et thérapeutique (Hodge *et al.*, 2005 ; Rostom *et al.*, 2007).

Les inhibiteurs sélectifs de COX2, tels que le CXB, ont été développés pour offrir une alternative aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) traditionnels, en ciblant spécifiquement l'enzyme COX2 impliquée dans la production des prostaglandines pro-inflammatoires. Cette sélectivité permet de réduire

significativement le risque d'effets indésirables gastro-intestinaux, notamment les ulcères et les hémorragies digestives, tout en maintenant une efficacité anti-inflammatoire comparable à celle des AINS classiques (Rostom *et al.*, 2007).

Par ailleurs, la voie de signalisation JAK/STAT3 joue un rôle central dans l'inflammation chronique, la prolifération cellulaire et la survie des cellules tumorales. Des inhibiteurs ciblant cette voie, comme le tofacitinib, ont démontré une efficacité anti-inflammatoire en bloquant l'activation de STAT3, notamment dans des modèles de maladies auto-immunes et de cancers (Hodge *et al.*, 2005). Ces agents sont actuellement utilisés ou en cours d'évaluation dans diverses indications inflammatoires et oncologiques.

Concernant GBM, la surexpression de COX2 au sein des cellules tumorales cérébrales est associée à la promotion de la croissance, de l'angiogenèse et à la résistance aux traitements standards, ce qui rend les inhibiteurs sélectifs de COX2 comme le CXB particulièrement pertinents pour l'étude de stratégies combinées en neuro-oncologie (Lombardi *et al.*, 2024 ; Yin *et al.*, 2021 ; Ye *et al.*, 2022). De récentes recherches indiquent que le CXB, utilisé seul ou combiné à la chimiothérapie (notamment le TMZ), pourrait améliorer la sensibilité tumorale et contribuer à surmonter la chimiorésistance dans le GBM. De plus, une activation persistante de la voie JAK/STAT3 est régulièrement documentée dans le GBM et contribue de façon significative à la prolifération, à la survie et à l'immunosuppression du microenvironnement tumoral. Les inhibiteurs de cette voie, actuellement en cours d'évaluation clinique, représentent une approche prometteuse pour limiter la progression de la tumeur (Fu *et al.*, 2023 ; Kim *et al.*, 2014). Ainsi, l'exploration clinique des anti-inflammatoires ciblés dans le glioblastome correspond à une volonté de freiner la progression tumorale, d'améliorer la sensibilité aux thérapies et de répondre au besoin pressant de nouveaux traitements dans cette pathologie cérébrale agressive (Shi *et al.*, 2024).

Objectif : Réduire l'inflammation et la prolifération tumorale

L'inflammation chronique constitue un facteur clé dans le développement et la progression de nombreuses tumeurs solides en favorisant la prolifération cellulaire, l'angiogenèse, l'invasion tumorale et l'évasion immunitaire. Le contrôle pharmacologique de l'inflammation est devenu un axe thérapeutique majeur en oncologie (Mantovani *et al.*, 2008). Aussi, l'objectif de certaines approches thérapeutiques modernes est de cibler spécifiquement les voies inflammatoires impliquées dans la tumorigenèse, tout en limitant les effets secondaires associés aux anti-inflammatoires classiques. À ce titre, les inhibiteurs sélectifs de COX2, comme le CXB, ont montré qu'ils peuvent réduire la production de prostaglandines pro-

inflammatoires, limiter l'infiltration immunitaire et diminuer la prolifération tumorale dans divers modèles expérimentaux (Bell *et al.*, 2022).

De même, les inhibiteurs de la voie JAK/STAT3, tels que le ruxolitinib, le tofacitinib, le baricitinib ou le napabucasin, en bloquant l'activation de STAT3, permettent de réduire l'expression de gènes liés à la survie cellulaire, à la migration et à l'immunosuppression. Cette inhibition entraîne un ralentissement de la croissance tumorale et une restauration partielle de la réponse immunitaire antitumorale (Hu *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2022).

- Inhibition de la métalloprotéinase de la matrice (MMPs)

MMP-2 et MMP-9 : actrices majeures de l'agression tumorale

Les métalloprotéinases matricielles (MMPs) sont des enzymes dépendantes du zinc. Leur fonction principale : dégrader les composants de la ECM. Parmi elles, MMP-2 et MMP-9, aussi appelées gélatinases, se distinguent. Elles ciblent spécifiquement le collagène de type IV, élément clé de la membrane basale. Leur action facilite plusieurs processus cruciaux : la migration cellulaire, l'angiogenèse, la rupture de la BHE, et la dissémination des cellules tumorales dans les tissus voisins (Cabral-Pacheco *et al.*, 2020 ; Overall et López-Otín, 2002). En modifiant l'environnement péricellulaire, ces enzymes rendent la tumeur plus invasive.

Stratégies d'inhibition : inhibiteurs pharmacologiques

Des inhibiteurs à petites molécules ont été développés pour cibler l'activité enzymatique des MMPs. Parmi eux, Prinomastat (AG3340) est un inhibiteur sélectif de MMP-2, MMP-3, MMP-9 et MMP-13, conçu pour éviter l'inhibition de MMP-1, ce qui permet de réduire les effets secondaires musculosquelettiques observés avec les inhibiteurs de première génération. Il fait partie des inhibiteurs de seconde génération développés pour améliorer la spécificité et la tolérance (Vandenbroucke et Libert, 2014 ; Cabral-Pacheco *et al.*, 2020).

Le marimastat est un inhibiteur à large spectre des MMPs, capable de bloquer l'activité enzymatique de MMP-2 et MMP-9. Il a montré une capacité à traverser la BHE et à inhiber l'activité des MMPs dans le



cerveau. Bien qu'il ait été initialement développé pour le traitement de cancers, son efficacité clinique a été limitée par des effets secondaires musculosquelettiques (Pijet *et al.*, 2020).

#### Inhibiteurs de MMPs : une stratégie encore limitée

Les inhibiteurs de MMPs n'ont malheureusement pas tenu leurs promesses en clinique. Le manque de spécificité enzymatique est leur défaut majeur. Cela a généré des effets indésirables importants, parfois sévères. Utilisées seules, ces molécules n'ont pu améliorer de manière significative la survie des patients. Ces résultats décevants ont conduit à de nouvelles approches. Désormais, ces inhibiteurs sont testés en association avec d'autres traitements, comme la chimiothérapie ou l'immunothérapie. Le but : renforcer l'effet antitumoral tout en réduisant la toxicité (Cabral-Pacheco *et al.*, 2020).

- Ciblage de la voie CXCL12/CXCR4

#### Rôle

La voie CXCL12/CXCR4 est une signalisation chimiotactique majeure dans les glioblastomes. La spécificité de cette voie réside également dans son implication dans la plasticité cellulaire et l'adaptation dynamique du glioblastome face aux stress du microenvironnement tumoral. Des travaux récents montrent que l'activation de CXCL12/CXCR4 est fortement impliquée dans la résistance aux traitements, en favorisant la survie des cellules tumorales sous chimiothérapie ou radiothérapie et en modulant des signaux de résistance anti-apoptotique et de réparation de l'ADN (El Kheir *et al.*, 2024 ; Miyazaki *et al.*, 2017). Certains inhibiteurs de CXCR4 sont actuellement testés en essais cliniques pour renforcer la réponse aux traitements conventionnels, et limiter la récurrence de la maladie. Par ailleurs, l'axe CXCL12/CXCR4 influencerait également l'interaction entre cellules tumorales et cellules immunitaires infiltrantes, participant ainsi à l'immunosuppression locale, un point clé dans l'agressivité et la récurrence du glioblastome (Würth *et al.*, 2014 ; Wang *et al.*, 2020).

CXCL12, sécrété par le microenvironnement tumoral, attire les cellules cancéreuses exprimant le récepteur CXCR4, facilitant leur migration vers des niches favorables, notamment les zones périvasculaires. Cette migration contribue à la formation de foyers tumoraux satellites et à la dissémination locale, tout en soutenant les cellules souches tumorales et l'angiogenèse (Ehtesham *et al.*, 2009 ; El Kheir *et al.*, 2024)

Stratégies Inhibiteurs de CXCR4 (ex. : plerixafor).

L'inhibition de la voie CXCL12/CXCR4 représente une stratégie thérapeutique prometteuse dans le traitement du glioblastome, notamment pour limiter l'invasion tumorale et la dissémination des cellules cancéreuses dans le cerveau. Le plerixafor (AMD3100), inhibiteur réversible du récepteur CXCR4 initialement utilisé en hématologie pour la mobilisation des cellules souches hématopoïétiques, a été réorienté vers l'oncologie. Il s'illustre aussi par son efficacité démontrée chez certains patients porteurs de glioblastome avec mutation MGMT non méthylée, où il facilite la réponse aux protocoles combinés de radiothérapie et chimiothérapie, ouvrant la voie à de nouveaux biomarqueurs prédictifs pour les traitements personnalisés. Dans un essai clinique de phase I/II chez des patients atteints de glioblastome, il a été administré en perfusion continue après radio-chimiothérapie standard (Thomas *et al.*, 2019). Dans cette étude, le plerixafor a montré une bonne tolérance, sans provoquer de toxicité sévère liée au traitement. Les auteurs ont observé une amélioration du contrôle local de la maladie, avec un retard de la repousse tumorale dans la région traitée ; la majorité des rechutes survenaient en dehors du champ irradié, ce qui suggère une véritable efficacité locorégionale de l'inhibition de CXCR4 après radio-chimiothérapie. Ces résultats soutiennent l'intérêt de cette stratégie pour limiter la récurrence et la revascularisation dans le glioblastome, tout en ouvrant la voie à de nouveaux protocoles thérapeutiques combinés pour cette pathologie agressive. L'inhibition de la voie CXCL12/CXCR4 empêche le recrutement de macrophages reconstituteurs via cette voie chimokine, limitant la revascularisation tumorale, la dissémination locale vers les zones périvasculaires et améliorant le contrôle tumoral local.

Objectif : Réduire la dispersion des cellules tumorales : cibler CXCL12/CXCR4

Dans le glioblastome, la voie CXCL12/CXCR4 est impliquée dans la dispersion des cellules tumorales dans le cerveau. En bloquant le récepteur CXCR4, par exemple avec le plerixafor, on coupe le lien chimiotactique qui oriente les cellules vers les zones riches en CXCL12. Ces régions, souvent hypoxiques, sont situées près des vaisseaux sanguins. Ce blocage empêche la formation de niches protectrices, réduit l'invasion du parenchyme, et améliore le contrôle local de la tumeur. Après radiothérapie ou chimiothérapie, ces effets sont particulièrement bénéfiques. Des études confirment que le plerixafor inhibe fortement la migration et l'invasion des cellules de GBM, aussi bien in vitro que dans les modèles précliniques. Lors des tests in vivo, son intervention a entraîné une réduction du nombre de cellules tumorales dans le cerveau greffé, ainsi que l'impact sur l'environnement tumoral : le plerixafor régule la polarisation des

macrophages/cellules microgliales en accentuant le phénotype M1 anti-tumoral, et diminue considérablement la vascularisation et la propagation à distance, freinant ainsi efficacement l'évolution du glioblastome (Mercurio *et al.*, 2016). Il représente ainsi un outil prometteur pour limiter la dissémination tumorale.

- Ciblage de la voie YAP/TAZ (voie Hippo)

Quand la voie Hippo est désactivée, ses effecteurs YAP et TAZ s'activent. Ce changement favorise trois processus clés dans le GBM : la migration, l'invasion tissulaire, et la résistance aux traitements. Ce processus s'explique par le fait que cette activation va remodeler l'expression de multiples gènes impliqués dans la dynamique du cytosquelette, permettre aux cellules tumorales d'exploiter la matrice extracellulaire, et faciliter leur passage à travers les réseaux vasculaires du cerveau (So *et al.*, 2021 ; Doroszko *et al.*, 2025). La surexpression de YAP/TAZ active des gènes qui favorisent le mouvement cellulaire et empêchent la mort programmée. Les cellules deviennent plus mobiles, plus invasives, et moins sensibles à la chimiothérapie (Pontes *et al.*, 2023). Des recherches montrent que l'inhibition de ce mécanisme, notamment via la vertéporfine, initialement utilisée en ophtalmologie comme agent photosensibilisant, s'est révélée être un inhibiteur spécifique de YAP/TAZ (Jeising *et al.*, 2022, limite la migration et l'invasion in vitro et in vivo. Cette molécule prolonge aussi la survie (Barrette *et al.*, 2022). Enfin, la dérégulation chronique de la voie Hippo est associée à une plus grande résistance au TMZ. Les cellules qui surexpriment le complexe YAP–TAZ–TEAD y résistent davantage (Casati *et al.*, 2021). Cela positionne la voie Hippo comme une cible stratégique dans le traitement du GBM.

Stratégies : Inhibiteurs indirects (ex. : vertéporfine, inhibiteurs de TEAD)

Pour bloquer indirectement l'activité de YAP/TAZ, les chercheurs utilisent la vertéporfine. Ce médicament, déjà approuvé par la FDA pour la dégénérescence maculaire, inhibe le complexe YAP–TEAD. Dans les modèles de GBM, la vertéporfine réduit nettement la migration et l'invasion tumorale. Cet effet est lié à sa capacité à inhiber l'activation de YAP, ce qui désorganise les réseaux de gènes responsables du déplacement cellulaire et de l'infiltration des tissus sains. Elle prolonge aussi la survie. Une étude dirigée par Barrette *et al.* (2022), publiée dans *NeuroOncology*, démontre l'efficacité anti-invasive de ce traitement dans des modèles orthotopiques dérivés de patients (PDX). Elle met également en évidence un effet antiprolifératif et une amélioration de la survie (figure 1.12) (Barrette *et al.*, 2022). Par ailleurs, d'autres petites molécules ciblent spécifiquement le domaine TEAD. Certaines bloquent la palmitoylation

autocatalytique de TEAD, ce qui favorise sa dégradation et empêche son interaction avec YAP/TAZ. Même si elles en sont encore aux phases précliniques, ces molécules montrent une bonne perméabilité à la BHE. De plus, elles exercent un effet anti-angiogénique intéressant dans les modèles expérimentaux (Baroja *et al.*, 2024).

Objectif : Réduire l'agressivité cellulaire et la plasticité tumorale

L'objectif du ciblage de la voie YAP/TAZ dans le GBM est de réduire l'agressivité cellulaire et la plasticité tumorale, deux caractéristiques responsables de l'invasion rapide et de la résistance thérapeutique. Dans des modèles précliniques de GBM, l'inhibition de l'interaction YAP–TEAD par la verteporfine réduit fortement la migration et l'invasion des cellules tumorales. Cette perturbation de la signalisation altère le remodelage de la TEM, diminue l'expression de marqueurs prolifératifs comme Ki-67, et prolonge significativement la survie des modèles testés. Ces résultats suggèrent que la verteporfine peut limiter la plasticité adaptative des cellules de GBM, les rendant plus sensibles aux traitements standards (Barrette *et al.*, 2022).

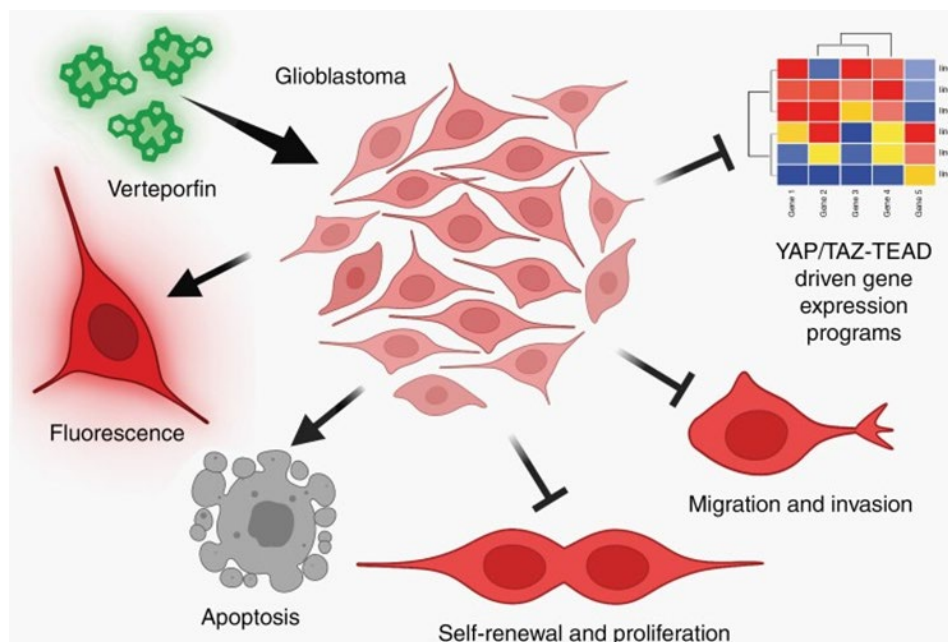


Figure 1.12: Schéma illustrant les effets de la vertéporfine sur le glioblastome. Créé avec [Biorender.com](https://www.biorender.com) (Barrette *et al.*, 2022).

## 1.6 Traitements anti-cancéreux pour les glioblastomes

Le principal objectif des traitements contre le GBM est d'éliminer autant que possible la masse tumorale. Cela peut être réalisé par une chirurgie d'exérèse visant à retirer la tumeur. D'autres approches incluent la chimiothérapie, qui repose sur l'utilisation de substances ciblant l'ADN des cellules cancéreuses pour induire leur mort, ainsi que la radiothérapie, dont le but est également de détruire les cellules tumorales.

### 1.6.1 Chirurgie

La chirurgie, ou résection tumorale, constitue l'un des piliers du traitement du cancer. Elle vise à retirer la totalité de la tumeur ou du tissu cancéreux localisé. Son efficacité est accrue lorsque le diagnostic est posé précocement (Société canadienne du cancer, 2024). Dans le cas des tumeurs cérébrales ou médullaires, plusieurs critères guident l'indication chirurgicale : l'absence de métastases, l'état général du patient, mais aussi des paramètres comme l'âge, les antécédents médicaux, la localisation ou encore la nature supposée de la tumeur (Rajaratnam *et al.*, 2020). Les ressources techniques disponibles influencent aussi la décision opératoire. L'utilisation de l'acide 5-aminolévulinique (5-ALA), grâce à la résection guidée par fluorescence, a permis de renforcer la précision de l'exérèse. Le 5-ALA est métabolisé en protoporphyrine

IX (PPIX), molécule fluorescente qui révèle les cellules tumorales au cours de l'intervention (Picart *et al.*, 2017). Ce phénomène s'explique par une accumulation sélective de PPIX dans les cellules du glioblastome, due à une faible activité de la ferrochélatase et à l'augmentation de transporteurs spécifiques, ce qui favorise la biosynthèse de PPIX à partir du 5-ALA dans le tissu tumoral (Traylor *et al.*, 2021). Ce guidage augmente les chances de résection complète et améliore la survie sans récurrence.

#### 1.6.2 Chimiothérapie

La chimiothérapie repose sur l'administration de médicaments visant à détruire les cellules cancéreuses (figure 1.13). Son objectif principal est d'inhiber la prolifération cellulaire et la croissance tumorale, afin de limiter l'invasion locale et la formation de métastases (Amjad *et al.*, 2022 ; Amjad & Kasi, 2021). Toutefois, l'un de ses principaux inconvénients réside dans son manque de spécificité, car elle affecte aussi bien les cellules cancéreuses que les cellules saines, entraînant ainsi des effets secondaires importants (Tan *et al.*, 2020). Pendant longtemps, les nitrosourées ont constitué le traitement de référence en première ligne pour les tumeurs cérébrales (Simon *et al.*, 2005). Aujourd'hui, la chimiothérapie comprend différents types d'agents, notamment les agents alkylants comme le TMZ, les nitrosourées telles que carmustine, lomustine, et les sels de platine comme le carboplatine (Sanson, 2007).

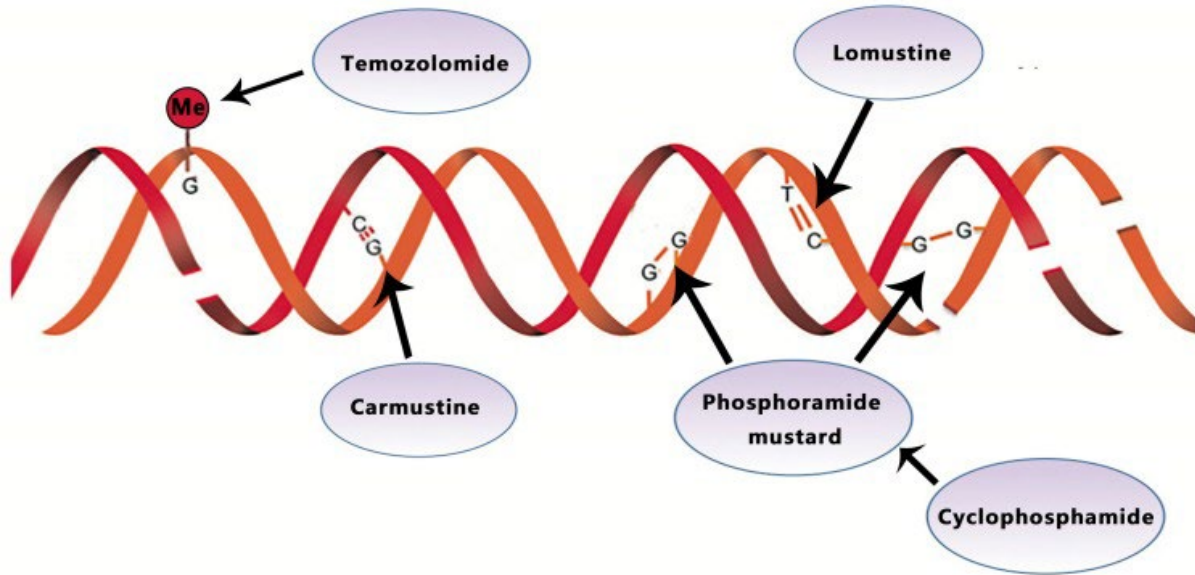


Figure 1.13: Résumé des mécanismes utilisés par les traitements chimiothérapeutiques. Le témozolomide, la lomustine, la carmustine et le cyclophosphamide freinent la prolifération tumorale en induisant des modifications chimiques de l'ADN, par alkylation ou méthylation, perturbant ainsi la réticulation de l'ADN et bloquant la division cellulaire (Zhang *et al.*, 2019).

#### 1.6.2.1 Témzolomide

Le TMZ est actuellement l'agent chimiothérapeutique de référence pour le traitement du GBM. Il a été approuvé en 2005 par la Food and Drug Administration (FDA). Son mécanisme d'action repose sur l'alkylation ou la méthylation de l'ADN, ciblant principalement les résidus de guanine aux positions O6 et N7 (Stupp *et al.*, 2014). En pratique clinique, le TMZ est généralement utilisé en association avec la radiothérapie, cette combinaison permettant d'allonger la survie médiane des patients à 14,6 mois, contre 12,1 mois pour la radiothérapie seule (Stupp *et al.*, 2005). Selon les recommandations de la Société européenne d'oncologie médicale (ESMO), le TMZ doit être administré quotidiennement, en parallèle d'une radiothérapie dispensée cinq jours par semaine, toutes les quatre semaines, pour un total de six cycles de traitement (Stupp *et al.*, 2014).

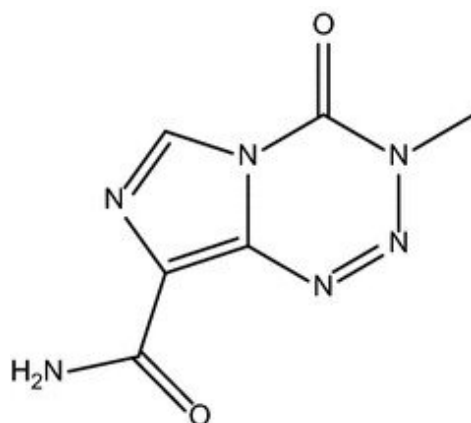


Figure 1.14: Structure chimique du Témzolomide (Sang *et al.*, 2014)

#### 1.6.2.2 Carmustine

La carmustine est un agent alkylant dont l'approbation par la FDA remonte à 2002. Elle agit en créant des liaisons covalentes entre deux bases nucléotidiques sur les brins d'ADN, ce qui bloque la réplication de l'ADN et freine ainsi la prolifération des cellules tumorales (Xing *et al.*, 2015). L'utilisation de la carmustine a permis une amélioration de la survie médiane des patients, passant de 11,6 à 13,8 mois. Toutefois, ce traitement peut entraîner des effets indésirables, notamment une fuite du liquide céphalo-rachidien, due à la pression exercée sur l'œdème cérébral (Westphal *et al.*, 2006).

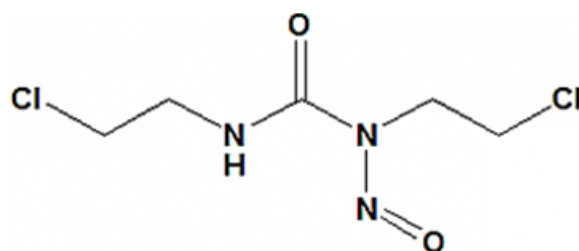


Figure 1.15: Structure chimique de la carmustine (Biersack *et al.*, 2019)

#### 1.6.2.3 Lomustine

La lomustine est un agent alkylant de la famille des nitrosourées, dont le mécanisme d'action repose sur la formation de liaisons alkyles entre deux nucléotides situés sur un même brin d'ADN. Ce traitement présente un avantage important : sa forte liposolubilité lui permet de traverser aisément la barrière hémato-encéphalique (Cheng *et al.*, 1972 ; Baer *et al.*, 1993). Par ailleurs, une étude de phase III a



démontré que l'association de la lomustine avec le TMZ prolonge significativement la survie des patients. En effet, la survie globale médiane passe de 31,4 mois avec le TMZ seul à 48,1 mois lorsque la lomustine est ajoutée au traitement (Herrlinger *et al.*, 2019).

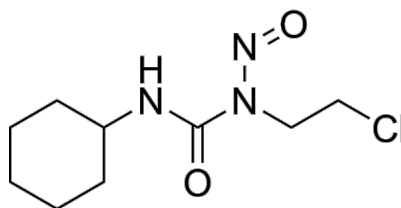


Figure 1.16: Structure chimique de la lomustine (Weller, 2022)

#### 1.6.2.4 Cyclophosphamide

Le cyclophosphamide (CPA) agit en créant des liaisons chimiques au sein de l'ADN grâce à son métabolite actif, la moutarde phosphoramidate. Celui-ci établit des liens croisés entre certaines bases azotées, ce qui perturbe le fonctionnement normal de l'ADN. En conséquence, les cellules cancéreuses ne peuvent plus se diviser ni se multiplier (Chamberlain et Tsao-Wei, 2004 ; Chamberlain et Tsao-Wei, 2006). Une étude clinique de phase II a montré que le CPA peut prolonger la survie sans progression de la maladie, c'est-à-dire la durée entre le début du traitement et la progression tumorale ou le décès du patient (Gutman *et al.*, 2013). Dans cette étude, le CPA a permis une survie sans progression de 20 % chez des patients atteints de GBM résistants au TMZ, et de 30 % chez ceux présentant des astrocytomes anaplasiques (Chamberlain et Tsao-Wei, 2004).

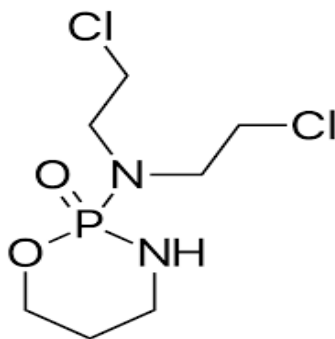


Figure 1.17: Structure chimique du cyclophosphamide (Olowe et al., 2024)

### 1.6.3 Radiothérapie

La radiothérapie est une modalité thérapeutique largement utilisée dans le traitement du cancer. Environ 50 % des patients atteints de cancer y auront recours au cours de leur prise en charge. Son objectif principal est de détruire les cellules cancéreuses à l'aide de rayonnements ionisants. Ces radiations pénètrent les cellules, provoquant soit leur destruction directe, soit des dommages à l'ADN, ce qui empêche leur prolifération (Baskar *et al.*, 2012). Bien que la radiothérapie puisse également affecter les cellules saines, celles-ci ont généralement une capacité de réparation plus efficace que les cellules tumorales. Cela rend les cellules cancéreuses plus vulnérables à ces dommages, les empêchant de se diviser et entraînant leur mort. Malgré cela, la radiothérapie vise toujours à minimiser l'exposition des tissus sains (Begg *et al.*, 2011).

Lorsqu'elle est combinée à la chirurgie, la radiothérapie peut être utilisée avant l'intervention pour réduire le volume tumoral, ou après celle-ci pour éliminer les cellules cancéreuses résiduelles (Baskar *et al.*, 2012). L'intensité des rayonnements est mesurée en Gray (Gy), l'unité du Système international qui équivaut à un joule par kilogramme (Einstein *et al.*, 2007).

Chez les patients de 70 ans ou moins, la radiothérapie est généralement associée au TMZ. Il est recommandé d'initier le traitement le plus tôt possible afin d'en maximiser l'efficacité. Dans le cas du GBM, une radiothérapie partielle du cerveau est souvent préconisée après la chirurgie. Le protocole standard consiste en une radiothérapie externe administrée à une dose totale de 60 Gy, fractionnée en doses de 2 Gy par séance sur une période de six semaines (Sulman *et al.*, 2017).

Pour les patients âgés de plus de 70 ans, une approche par radiothérapie hypofractionnée est souvent privilégiée. Cette technique a permis d'obtenir des temps de survie pouvant atteindre 20 mois (Jastaniyah *et al.*, 2013). Elle offre plusieurs avantages : réduction de la durée du traitement, limitation de la repopulation tumorale et augmentation de la cytotoxicité (Budach *et al.*, 1997 ; Hingorani *et al.*, 2012). Une étude a montré qu'un protocole administrant 60 Gy en 20 fractions permettait un taux de survie à un an de 40%, avec une survie sans progression de 5,2 mois. La toxicité observée était modérée, avec seulement deux cas d'œdème cérébral significatif (Sultanem *et al.*, 2001). Toutefois, il n'existe pas encore de protocole standardisé pour la radiothérapie hypofractionnée chez les patients âgés, et des recherches sont toujours en cours pour en optimiser les modalités.

#### 1.6.4 Autres thérapies

Parmi les nombreuses approches thérapeutiques émergentes dans le traitement du cancer, on retrouve la thérapie ciblée, l'immunothérapie, l'hormonothérapie, ainsi que des perspectives innovantes comme la nanomédecine. La thérapie ciblée constitue l'une des premières stratégies développées en oncologie. Elle repose sur le blocage du domaine extracellulaire d'un ligand ou d'un récepteur, ou encore sur la reconnaissance d'un antigène de surface par un anticorps, sans pénétration intracellulaire. En s'appuyant sur des altérations génomiques, épigénétiques et transcriptionnelles spécifiques à chaque tumeur, cette approche permet d'optimiser le traitement en ciblant précisément certaines enzymes, facteurs de croissance ou protéines de signalisation impliquée dans les mécanismes oncogéniques. Par exemple, dans les gliomes, le bevacizumab agit en inhibant les récepteurs du VEGF et du FGF (Tsimberidou, 2015).

L'immunothérapie, considérée comme une forme particulière de thérapie ciblée, repose principalement sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux (mAbs), reconnaissables au suffixe « -mab ». Ces anticorps peuvent être utilisés seuls, conjugués ou sous forme bispécifique. Utilisés seuls, ils se fixent sur une cible tumorale, marquant ainsi la cellule cancéreuse pour qu'elle soit détruite par le système immunitaire c'est notamment le cas du bevacizumab, utilisé dans le traitement de plusieurs types de cancer, dont le GBM. Les anticorps monoclonaux conjugués sont liés à des agents cytotoxiques ou radioactifs, permettant un ciblage précis de la cellule tumorale. Quant aux anticorps bispécifiques, ils sont conçus pour reconnaître simultanément deux antigènes différents, comme le blinatumomab, qui se lie à la fois au CD19 et au CD3. Actuellement, l'immunothérapie vise aussi des points de régulation du cycle cellulaire, notamment les protéines CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4) et PD-1 (Programmed Death-1) (Seebacher *et al.*, 2019).

Enfin, la nanomédecine représente une stratégie thérapeutique anticancéreuse particulièrement prometteuse. Les nanoparticules (NPs) peuvent être utilisées pour transporter de manière ciblée des agents cytotoxiques ou des molécules adjuvantes, améliorer la présentation des antigènes tumoraux aux cellules immunitaires, ou encore être couplées à des techniques comme la thérapie photothermique (Kim et Khang, 2020).

## 1.7 Composés naturels et chimioprévention

### 1.7.1 Intérêt des polyphénols dans le cancer

Les polyphénols, composés bioactifs d'origine végétale, sont de plus en plus étudiés pour leurs effets bénéfiques dans la prévention et le traitement du cancer. Ils regroupent une grande diversité de molécules, dont les flavonoïdes (quercétine, kaempférol), les acides phénoliques, les stilbènes (resvératrol) et les curcuminoïdes (curcumine). Ces substances manifestent leur propriété en modulant divers processus biologiques impliqués dans l'initiation ou la survenue du cancer tels que la prolifération cellulaire, l'apoptose, l'angiogenèse et l'invasion tumorale.

Bhosale *et al.* (2020) ont analysé les effets anticancéreux de plusieurs polyphénols à travers 84 études originales *in vitro* et *in vivo*. Les polyphénols exercent une activité antitumorale notable. Ils induisent l'apoptose, bloquent le cycle cellulaire, et freinent l'angiogenèse comme la formation de métastases. Parmi eux, la quercétine est largement étudiée. Elle favorise l'apoptose dans plusieurs lignées tumorales (HepG2, MCF-7, HCT116), arrête la progression du cycle en phase G2/M, et inhibe des voies clés comme PI3K/AKT/mTOR ou JAK/STAT3. D'autres molécules, comme la curcumine, le kaempférol et le resvératrol, présentent des effets similaires dans des modèles de cancers du côlon, de la prostate, de l'ovaire et du sein. Farhan (2023) souligne également leur impact sur l'inflammation tumorale. Les polyphénols modulent le microenvironnement tumoral : ils réduisent les cytokines pro-inflammatoires, freinent l'activation de NFκB, et régulent les métalloprotéinases (MMPs), impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire. Enfin, leur potentiel synergique avec les traitements classiques ouvre des perspectives thérapeutiques nouvelles. Plusieurs travaux récents soulignent que les polyphénols naturels représentent une nouvelle classe de molécules d'intérêt dans le traitement du glioblastome. Leur capacité à cibler divers axes du microenvironnement tumoral, tels que l'inflammation chronique, l'immunosuppression, ou la plasticité cellulaire, en fait des candidats prometteurs pour limiter l'agressivité

et la progression de la tumeur (Smolińska *et al.*, 2025 ; Wang *et al.*, 2025). En modulant certaines voies de signalisation, notamment celles qui régulent la survie, l'invasion et la résistance thérapeutique (incluant PI3K/AKT, STAT3, ou encore le stress oxydant), les polyphénols contribuent à augmenter la sensibilité des cellules de GBM à la chimiothérapie et à la radiothérapie (Malesu, 2025). Ce potentiel justifie l'intérêt grandissant des recherches translationnelles actuelles pour leur utilisation en association aux traitements conventionnels chez les patients atteints de GBM.

Des études épidémiologiques soutiennent également cette approche : une consommation accrue de flavonoïdes est associée à une diminution significative du risque de plusieurs cancers (gastrique, colorectal, mammaire, prostatique). Ces données confirment l'intérêt croissant pour les polyphénols en tant qu'agents chimiopréventifs et adjuvants thérapeutiques potentiels.

Selon Bhosale *et al.* (2020) et Farhan (2023), les polyphénols représentent une piste prometteuse en oncologie. Leur capacité à cibler plusieurs voies à la fois, combinée à une faible toxicité, en fait des candidats de choix pour renforcer les thérapies classiques. Mais un défi majeur subsiste : leur faible biodisponibilité. Pour y répondre, des formulations innovantes sont à l'étude, dans le but d'améliorer leur stabilité, leur absorption, et donc leur efficacité *in vivo*.

#### 1.7.2 Chimioprévention par les composés naturels

La chimioprévention par les composés naturels issus de l'alimentation ou de plantes vise à prévenir, retarder, ou inverser la carcinogenèse avant toute manifestation clinique. Cette approche s'est développée face aux limites de la chimiothérapie conventionnelle tant en termes de toxicité que d'efficacité. Les acteurs clés dans ce domaine sont : polyphénols, flavonoïdes, glucosinolates, isothiocyanates, indoles, caroténoïdes, acides gras polyinsaturés, qui agissent via plusieurs mécanismes interconnectés : inhibition de la prolifération cellulaire, induction de l'apoptose, protection antioxydante, modulation de l'inflammation, inhibition de l'angiogenèse et perturbation des voies de signalisation tumorales. Ces molécules offrent ainsi une multi-modulation biologique qui cible différents stades du développement tumoral, en maintenant une toxicité systémique plus faible que celle des traitements traditionnels (Langner et Rzeski, 2012 ; Mitsiogianni *et al.*, 2019).

Parmi ces composés, les polyphénols alimentaires tels que la quercétine, le resvératrol et l'apigénine font l'objet d'un intérêt croissant pour leur large spectre d'activités anticancéreuses. Présents dans des

aliments courants (fruits, légumes, thé, vin), ces molécules agissent sur plusieurs cibles intracellulaires : elles induisent l'apoptose via l'activation des caspases et la régulation des protéines Bcl-2/Bax, bloquent le cycle cellulaire à différentes phases (G0/G1 ou G2/M), et inhibent les voies pro-survie telles que PI3K/AKT. En outre, elles réduisent l'expression de facteurs inflammatoires (NFκB, COX-2), limitent l'angiogenèse en modulant le VEGF, et restreignent l'invasion tumorale en inhibant les métalloprotéinases MMP-2 et MMP-9. Leur effet synergique avec les agents chimiothérapeutiques comme le cisplatine, la doxorubicine ou le 5-FU a également été démontré, permettant d'en augmenter l'efficacité tout en réduisant les doses nécessaires et les effets secondaires (Singaravelan et Tollefsbol, 2025).

L'extrait de *Xanthium strumarium* L (Asteraceae), est également un composé naturel à fort potentiel chimiopréventif qui se distingue par ses propriétés antiprolifératives remarquables sur les cellules tumorales. Cette plante présente des effets spécifiques sur des lignées de cellules cancéreuses humaines dans le cancer de l'ovaire. Les travaux de Fernandez *et al.* (2019), avec l'extrait de *Xanthium strumarium* sur deux lignées cellulaires de cancer de l'ovaire humain : SK-OV-3 et ES-2, résistants à la chimiothérapie, indique que cet extrait provoque un blocage du cycle cellulaire en phase G2/M, par interférence directe avec la dynamique des microtubules. Cette dysfonction du fuseau mitotique empêche la séparation correcte des chromosomes, entraînant un arrêt en transition métaphase-anaphase et une apoptose massive induite par catastrophe mitotique.

Ce mécanisme d'action est particulièrement intéressant, car il diffère de celui des chimiothérapies conventionnelles comme les taxanes et les sels de platine. Il permettrait potentiellement de contourner les mécanismes classiques de résistance observés dans certains cancers de l'ovaire. L'étude a également mis en évidence que l'effet anticancéreux était en grande partie dû à la présence de xanthatine, une lactone sesquiterpénique bioactive contenue dans l'extrait, connue pour sa capacité à désorganiser les structures microtubulaires mitotiques (Fernandez *et al.*, 2019).

Parallèlement, les β-glucanes issus de *Saccharomyces cerevisiae* illustrent l'action des molécules naturelles à la fois sur la tumeur et sur la réponse immunitaire hôte. D'après Yoon *et al.* (2008), ces polysaccharides activent les macrophages et les cellules Natural Killer, stimulent la production de cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6, IFN-γ), et contribuent à la destruction des cellules cancéreuses tout en limitant leur dissémination (Yoon *et al.*, 2008). En complément, une synthèse récente confirme que les

$\beta$ -glucanes induisent également l'arrêt du cycle cellulaire et l'apoptose dans diverses lignées tumorales, renforçant l'intérêt de leur utilisation en chimioprévention (Noorbakhsh Varnosfaderani *et al.*, 2024).

## 1.8 1,3,6-tri-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucopyranose ( $\alpha$ -TGG) : un polyphénol naturel

### 1.8.1 Structure et origine

L' $\alpha$ -TGG est un gallotannin souple, composé d'un squelette glucose portant trois groupements acides galliques estérifiés en positions 1, 3 et 6. Cette disposition lui confère une structure flexible, à la différence de la pentagalloylglucose, plus rigide en raison de ses liaisons intramoléculaires. Selon Pauvert *et al.* (2023), cette flexibilité permet aux groupements gallés de s'orienter librement dans l'espace, favorisant des interactions multiples (par exemple, des liaisons hydrogènes avec des cibles protéiques) tout en adaptant la molécule à différents microenvironnements. De plus, il a été démontré que cette structure souple rend le composé particulièrement intéressant pour la modulation d'activités biologiques ciblées, notamment par inhibition d'enzymes ou d'agrégats pathologiques. On trouve l' $\alpha$ -TGG parmi les produits d'extraction végétale, même s'il ne s'agit pas, à proprement parlé, d'une molécule naturelle abondante : cet anomère est rarement identifié à l'état pur dans les extraits de *Terminalia chebula* ou *Paeonia lactiflora* en raison de sa très faible teneur et de la prépondérance de l'anomère  $\beta$ , mais les rendements d'extraction y sont faibles. Par exemple, Pauvert *et al.* (2023) rapportent qu'on peut obtenir seulement 37 mg d' $\alpha$ -TGG à partir de 2,65 kg de fruits de *Paeonia lactiflora*, ce qui illustre la rareté du composé dans la nature et la difficulté de son extraction à grande échelle. À cela s'ajoutent plusieurs défis techniques : la présence d' $\alpha$ -TGG en quantités aussi infimes oblige à utiliser de grandes quantités de matière végétale, ce qui augmente considérablement les coûts, le temps et les ressources nécessaires pour l'obtenir sous forme purifiée. De plus, chaque étape d'extraction et de purification comporte des pertes supplémentaires et nécessite des protocoles chromatographiques avancés pour séparer l' $\alpha$ -TGG des autres gallotanins structurellement proches. Enfin, la variabilité induite du contenu en  $\alpha$ -TGG selon la provenance des plantes ou les conditions de récolte rend difficile la standardisation du procédé et l'approvisionnement reproductible pour la recherche biologique ou la production à visée thérapeutique. Face à cette contrainte, la synthèse chimique s'est imposée comme alternative. Pauvert *et al.* (2023) ont récemment mis au point une méthode de synthèse contrôlée, permettant la production ciblée de l'anomère  $\alpha$ -TGG, désormais exploité dans des études biologiques précises.

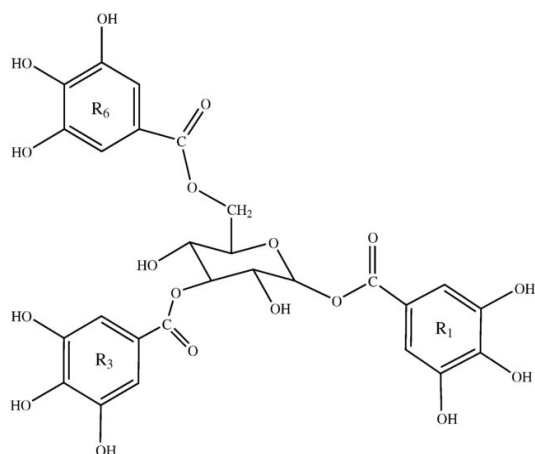


Figure 1.18: Structure du TGG (Gaudreault et al., 2002)

### 1.8.2 Propriétés biologiques connues

L' $\alpha$ -TGG ou 1,3,6-Tri-O-galloyl- $\beta$ -D-glucopyranose, (NCBI, 2024) est un composé phytochimique de la famille des gallotannins, que l'on retrouve à l'état naturel principalement sous forme d'anomères dans certains végétaux, mais dont l'anomère  $\alpha$  est très faiblement abondant et généralement obtenu par synthèse pour la recherche (Ou *et al.*, 2024). Ce composé est bien identifié comme phytométabolite dans plusieurs espèces de plantes médicinales, mais il se distingue par une distribution parfois restreinte dans le règne végétal et une présence qui peut varier selon les organes ou les stades de développement de la plante. Les bases de données phytochimiques montrent que l' $\alpha$ -TGG est notamment associé aux tissus riches en tanins hydrolysables, comme les cosses de fruits et certains bois, ce qui reflète une spécificité biologique et écologique du métabolite dans la source végétale (Veilleux *et al.*, 2025). C'est un polyphénol connu pour ses propriétés biologiques variées, notamment antioxydantes et anti-inflammatoires. Les rendements globaux de purification du  $\beta$ -TGG à partir de sources végétales sont relativement faibles, en raison de la complexité structurale du composé. Aussi le développement de méthodes de synthèse chimique est suggéré. Une synthèse totale améliorée de l' $\alpha$ -anomère du TGG ( $\alpha$ -TGG) a ainsi été récemment rapportée par Pauvert *et al.* (2023), ouvrant la voie à une production plus accessible du composé. Les propriétés chimiopréventives de cette forme  $\alpha$  n'ont cependant pas encore été caractérisées, et restent à explorer dans le cadre d'études pharmacologiques.

Veilleux *et al.* (2025), dans leur étude, présentent l' $\alpha$ -TGG comme un composé à potentiel chimiopréventif capable d'interférer avec plusieurs voies biologiques impliquées dans l'inflammation, l'invasion cellulaire et la TEM, qui sont des processus clés dans la progression tumorale. L' $\alpha$ -TGG est notamment associé à la



modulation de cibles moléculaires telles que les MMPs, COX2, ainsi que les voies de signalisation Smad/Snail, impliquées dans la plasticité cellulaire et l'agressivité tumorale.

## 1.9 Projet de recherche

### 1.9.1 Problématique

Le GBM est la tumeur maligne la plus fréquente et la plus agressive du SNC chez l'adulte. Malgré les avancées thérapeutiques associant chirurgie, radiothérapie et chimiothérapie (notamment avec le TMZ), le traitement de cette pathologie reste un défi majeur. Cette difficulté est en grande partie due à la nature hautement invasive du GBM, à sa capacité à contourner les traitements via des mécanismes de résistance, et à la présence d'un microenvironnement tumoral pro-inflammatoire favorisant sa progression.

Parmi les voies de signalisation impliquées dans ces processus, la voie Hippo joue un rôle central dans la régulation de la prolifération cellulaire, de l'apoptose, de la migration et de l'invasion tumorale. Son dérèglement est associé à une activation aberrante de YAP/TAZ, des coactivateurs transcriptionnels favorisant l'agressivité tumorale. Ainsi, cibler cette voie représenterait une stratégie potentielle pour limiter la progression du GBM.

L'exploration de nouveaux composés naturels aux propriétés anticancéreuses, comme l' $\alpha$ -TGG, dérivé des tanins galliques, apparaît très intéressant. Même si des études aient démontré que les effets antitumoraux de certaines molécules d'origine végétale comme l'EGCG, leur mécanisme d'action précis, notamment sur la voie Hippo, demeure encore inconnus. Ainsi, l' $\alpha$ -TGG pourrait représenter une alternative thérapeutique innovante, en modulant cette voie et en réduisant les phénomènes inflammatoires et invasifs caractéristiques du GBM.

Dès lors, une question centrale émerge : Dans quelle mesure l' $\alpha$ -TGG est-il capable de moduler la voie de signalisation Hippo et d'exercer des effets anti-inflammatoires et anti-invasifs dans un modèle cellulaire de GBM humain U87 ? Cette approche se distingue par l'emploi d'un polyphénol naturel original jusqu'à très peu étudié dans le contexte tumoral cérébral, alors que la plupart des recherches antérieures ont été portées sur d'autres molécules végétales plus classiques. Cette question de recherche nous amène à comparer les effets de l' $\alpha$ -TGG à ceux d'un inhibiteur clinique connu de la voie Hippo (VT107), en utilisant la Concanavaline A (ConA) pour induire un phénotype inflammatoire et invasif dans les cellules U87.

L'objectif est donc de mieux maîtriser les mécanismes d'actions moléculaires de l' $\alpha$ -TGG et d'évaluer son potentiel pharmacologique en tant qu'agent thérapeutique complémentaire ou alternatif dans le traitement du GBM. Ce protocole présente une originalité notable puisque l' $\alpha$ -TGG, rarement étudié dans ce contexte, est directement comparé à un standard clinique dans un cadre expérimental rigoureux, renforçant ainsi la pertinence et la solidité de la démarche méthodologique proposée pour caractériser son action anticancéreuse.

### 1.9.2 Hypothèse de travail

L' $\alpha$ -TGG, un polyphénol synthétique dérivé des tanins galliques, pourrait agir sur la voie Hippo dans les cellules U87 de GBM humain. Cette hypothèse, centrale dans ce travail, repose sur la capacité présumée de l' $\alpha$ -TGG à moduler les voies inflammatoires et invasives. En réduisant l'inflammation et en freinant l'invasion cellulaire, cette molécule pourrait avoir des effets comparables à ceux du VT107, un modulateur clinique bien connu de la voie Hippo. Si cette similitude se confirme, l' $\alpha$ -TGG pourrait constituer une alternative thérapeutique intéressante contre le GBM.

### 1.9.3 Objectif de recherche

L'objectif principal de ce projet est d'évaluer le potentiel pharmacologique de l' $\alpha$ -TGG, une molécule naturelle dérivée des tanins galliques, dans la modulation de la voie de signalisation Hippo, connue pour son rôle clé dans la régulation de la prolifération, de l'invasion et de l'inflammation dans les cellules tumorales. En utilisant un modèle cellulaire de GBM humain U87, notre étude vise à déterminer si l' $\alpha$ -TGG est en mesure d'atténuer les réponses inflammatoires et invasives induites par la ConA, en comparaison avec un inhibiteur clinique de la voie Hippo, le VT107. Ce protocole permet de positionner l' $\alpha$ -TGG dans une perspective translationnelle innovante, où sa comparaison directe avec un modulateur clinique établit non seulement la preuve de concept de son efficacité, mais aussi la pertinence de son intégration dans des stratégies thérapeutiques alternatives ou complémentaires pour le glioblastome. Il s'agit d'une approche originale, rarement mise en œuvre dans les études sur les polyphénols, ce qui renforce la valeur du projet et la robustesse de ses conclusions. À travers cette démarche, nous cherchons à mieux comprendre les mécanismes d'action moléculaires de l' $\alpha$ -TGG, et à explorer son potentiel thérapeutique, en tant qu'agent complémentaire dans le traitement du GBM, une tumeur particulièrement résistante aux traitements actuels.

## CHAPITRE 2

### ARTICLE

Synthetic 1,3,6-tri-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucose Mimics the Hippo Pathway Inhibitor VT107 in Suppressing Concanavalin A-Induced Inflammation in Human Glioblastoma Cells

Angélique Sabaoth Konan<sup>1</sup>, Rosalie Zilinski<sup>1</sup>, Mirolla Tadrous<sup>1</sup>, Alain Zgheib<sup>1</sup>, Roger Gaudreault<sup>2</sup>, and Borhane Annabi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Laboratoire d'Oncologie Moléculaire, Chaire en Prévention et Traitement du Cancer, Université du Québec à Montréal, Montreal, QC, H3C 3P8, Canada, and* <sup>2</sup>*Département de Chimie, Université Du Québec à Montréal, Montréal, QC, H3C 3P8, Canada.*

*Running title:*  $\alpha$ TGG as a functional analog of VT107 in glioblastoma cells

#### Contribution des auteurs

Conceptualisation : Angélique Sabaoth Konan, Borhane Annabi; Investigation, Angélique Sabaoth Konan, Rosalie Zilinski, Mirolla Tadrous; Méthodologie : Angélique Sabaoth Konan, Rosalie Zilinski, Mirolla Tadrous; Conservation des données : Angélique Sabaoth Konan, Alain Zgheib; Analyse formelle : Angélique Sabaoth Konan, Alain Zgheib, Borhane Annabi; Montage des figures : Angélique Sabaoth Konan, Borhane Annabi; Acquisition du financement : Borhane Annabi; Supervision : Borhane Annabi; Écriture – ébauche originale : Angélique Sabaoth Konan, Roger Gaudreault, Borhane Annabi; Écriture – révision et corrections : Angélique Sabaoth Konan, Rosalie Zilinski, Roger Gaudreault, Borhane Annabi. Tous les auteurs ont lu et approuvé le manuscrit final.

## 2.1 Résumé

Le glioblastome (GBM) est la tumeur primitive la plus agressive du système nerveux central (SNC) chez l'adulte, caractérisée par une prolifération rapide et une infiltration cérébrale diffuse. Le traitement standard actuel comprend une résection chirurgicale suivie d'une radiothérapie et d'une chimiothérapie, mais le pronostic reste mauvais. La voie de signalisation Hippo, un régulateur clé de la prolifération, de l'apoptose et de la différenciation cellulaires, est apparue comme une cible thérapeutique potentielle. Nous avons étudié les effets anti-inflammatoires et anti-invasifs du 1,3,6-tri-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucose ( $\alpha$ TGG), l'anomère  $\alpha$  du  $\beta$ TGG issu du *Terminalia chebula*, par rapport aux inhibiteurs pharmacologiques de la voie Hippo IAG933, VT107 et GNE7883. Les cellules U87 GBM ont été traitées avec de la Concanavaline A (ConA) afin d'induire un phénotype inflammatoire et invasif. Le traitement par ConA s'est avéré induire la phosphorylation de l'ERK et de l'I $\kappa$ B, ce qui correspond à l'activation des voies inflammatoires. L' $\alpha$ TGG et les inhibiteurs de la voie Hippo ont empêché ces événements de phosphorylation, le VT107 étant le plus puissant. La ConA a activé la voie Hippo en réduisant les niveaux de transcription de l'AXL/CTGF/CYR61 et s'est avérée nécessiter un contrôle TEAD. De plus, les composés  $\alpha$ TGG et VT107 ont tous deux réduit l'activation induite par la ConA de la proMMP-2 en MMP-2 et ont régulé à la baisse l'expression des marqueurs pro-inflammatoires, notamment COX2, CCL22, CCR2, CCR4, CXCL10, CXCL12, CXCR1, FASLG, IFNG, IL13 et IL17A. Ces résultats établissent l' $\alpha$ TGG comme un candidat thérapeutique prometteur doté de propriétés anti-inflammatoires et anti-invasives comparables à celles des inhibiteurs établis de la voie Hippo, ce qui suggère son utilité potentielle dans le traitement du GBM chimiorésistant par la modulation des mécanismes médiés par la voie Hippo.

## 2.2 Abstract

Glioblastoma (GBM) is the most aggressive primary tumor of the adult central nervous system, characterized by rapid proliferation and diffuse brain infiltration. Current standard-of-care includes surgical resection followed by radiotherapy and chemotherapy, yet prognosis remains poor. The Hippo signaling pathway, a key regulator of cell proliferation, apoptosis, and differentiation, has emerged as a potential therapeutic target. Here, we investigated the anti-inflammatory and anti-invasive effects of 1,3,6-tri-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucose ( $\alpha$ TGG), the  $\alpha$ -anomer of  $\beta$ TGG from *Terminalia chebula*, in comparison to pharmacological Hippo pathway inhibitors IAG933, VT107 and GNE7883. U87 GBM cells were treated with Concanavalin A (ConA) to induce an inflammatory and invasive phenotype. ConA treatment was found to

induce phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B, consistent with activation of inflammatory pathways. Both  $\alpha$ TGG and Hippo pathway inhibitors prevented these phosphorylation events, with VT107 being the most potent. ConA activated the Hippo pathway through reduced *AXL/CTGF/CYR61* transcript levels and found to require TEAD control. Additionally, both  $\alpha$ TGG and VT107 compounds reduced the ConA-induced activation of proMMP-2 to MMP-2 and downregulated expression of pro-inflammatory markers including COX2, CCL22, CCR2, CCR4, CXCL10, CXCL12, CXCR1, FASLG, IFNG, IL13, and IL17A. These findings establish  $\alpha$ TGG as a promising therapeutic candidate with anti-inflammatory and anti-invasive properties comparable to established Hippo pathway inhibitors, suggesting its potential utility in treating chemoresistant GBM through modulation of Hippo pathway-mediated mechanisms.

#### Significance statement

$\alpha$ TGG, shows powerful potential against brain cancer cells. By mimicking the effects of cutting-edge Hippo pathway inhibitors,  $\alpha$ TGG blocks inflammation and invasion in glioblastoma cells. This reveals a promising new route to tackle treatment-resistant tumors through signaling pathway targeting.

#### Keywords

Concanavalin A, Glioblastoma, Hippo Pathway Inhibitors, Inflammation.

## 2.3 Introduction

Neuroinflammation plays a critical role in the progression and aggressiveness of glioblastoma (GBM), the most lethal primary brain tumor in adults<sup>1,2</sup>. The tumor microenvironment (TME) is characterized by chronic inflammation, which promotes tumor growth, angiogenesis, and resistance to therapy<sup>3</sup>. Inflammatory cytokines and chemokines secreted by GBM cells and infiltrating immune cells enhance tumor cell proliferation and invasion. Moreover, continuous release of pro-inflammatory cytokines (e.g., IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6) in chronic inflammation contributes to the disruption of the blood-brain barrier, facilitating tumor spread and immune evasion<sup>4</sup>. Activation of inflammatory pathways such as NF- $\kappa$ B, MAPK, and Hippo further sustains a pro-tumorigenic inflammatory environment<sup>5,6</sup>. This persistent inflammatory state also impairs the efficacy of immunotherapies and conventional treatments<sup>7</sup>. Targeting inflammation could therefore suppress tumor-promoting signals, reduce invasiveness, and improve therapeutic outcomes. Anti-inflammatory strategies may also reprogram the immune microenvironment to support anti-tumor immunity<sup>8,9</sup>. Thus, inflammation represents a key therapeutic target in the multifaceted approach to glioblastoma treatment.

Recent pharmacological strategies for GBM increasingly focus on modulating inflammation within the TME. Small-molecule inhibitors targeting key inflammatory pathways, such as NF- $\kappa$ B and STAT3, have shown promise in preclinical models<sup>10</sup>. Drugs like VT107 and verteporfin, which interfere with Hippo pathway signaling, also exhibit anti-inflammatory effects<sup>11</sup>. Accordingly, repurposed anti-inflammatory agents, including minocycline and celecoxib, are being evaluated for their ability to reduce glioma-associated inflammation and enhance treatment response<sup>12,13</sup>. Nowadays, immunomodulatory therapies, such as checkpoint inhibitors, are being combined with anti-inflammatory agents to overcome immune suppression. Natural compounds like curcumin are gaining attention for their dual anti-inflammatory and anti-invasive properties<sup>14</sup>. Targeting tumor-associated macrophages with CSF-1R inhibitors is another emerging approach<sup>15</sup>. These strategies aim to reprogram the inflammatory TME and to suppress tumor progression. Collectively, they may represent a shift toward integrated, inflammation-targeted GBM therapy.

The Hippo signaling pathway plays a pivotal role in regulating cell proliferation, apoptosis, and tissue homeostasis, and its dysregulation is increasingly implicated in GBM progression<sup>16</sup>. Central to this pathway are the transcriptional co-activators YAP and TAZ, which, when dephosphorylated, translocate to the

nucleus and drive the expression of genes promoting invasion and inflammation<sup>17</sup>. In GBM, aberrant Hippo signaling leads to sustained YAP/TAZ activity, enhancing the expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and pro-inflammatory cytokines such as IL-6 and TNF- $\alpha$ <sup>6,18</sup>. This promotes extracellular matrix degradation and immune cell recruitment, fostering a tumor-supportive microenvironment. YAP/TAZ also interact with NF- $\kappa$ B and STAT3 pathways, amplifying inflammatory signaling<sup>19</sup>. Moreover, Hippo pathway dysregulation contributes to resistance against apoptosis and immune evasion<sup>20</sup>. Pharmacological inhibition of YAP/TAZ has been shown to reduce GBM cell invasiveness and inflammatory marker expression<sup>21</sup>. Thus, targeting the Hippo pathway offers a promising strategy to mitigate both the inflammatory and invasive phenotypes of GBM.

Here, we wished to assess the anti-inflammatory properties of 1,3,6-tri-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucose ( $\alpha$ TGG), the  $\alpha$ -anomer of  $\beta$ TGG from *Terminalia chebula*. Given the Hippo signaling pathway, a key regulator of cell proliferation, apoptosis, and differentiation, has emerged as a potential therapeutic target,  $\alpha$ TGG may thus offer novel anti-inflammatory therapeutic avenues and was compared to Hippo pathway inhibitors IAG933, VT107 and GNE7883 in a human GBM-derived cell line.

## 2.4 Materials and Method

### 2.4.1 Materials

Sodium dodecyl sulfate (SDS) and bovine serum albumin (BSA) were purchased from Sigma-Aldrich Corp (St. Louis, MO, USA). The Hippo pathway inhibitors IAG933, VT107 and GNE7883 were obtained from Chemietek (Indianapolis, IN, USA).  $\alpha$ TGG was provided by Dr Yann Pauvert<sup>22</sup>. Cell culture media Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) was from Wisent (320-005 CL). Electrophoresis reagents were purchased from Bio-Rad Laboratories (Hercules, CA, USA). The HyGLO™ Chemiluminescent HRP (horseradish peroxidase) Antibody Detection Reagents were from Denville Scientific Inc (Metuchen, NJ, USA). Micro bicinchoninic acid (BCA) protein assay reagents were from Pierce (Micro BCA™ Protein Assay Kit; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Antibodies against GAPDH (D4C6R – CAT# 97166 S), I $\kappa$ B $\alpha$  (4814S), phospho-I $\kappa$ B $\alpha$  Ser32/36 (9246S), p44/42 MAPK (ERK1/2), and phospho-p44/42 MAPK (ERK1/2) were from Cell Signaling Technology (Danvers, MA, USA). HRP-conjugated donkey anti-rabbit and anti-mouse immunoglobulin (Ig) G secondary antibodies were from Jackson ImmunoResearch Laboratories (West Grove, PA, USA).

#### 2.4.2 Cell culture

Cells and culture media were from the American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, VA, USA). The human U87 GBM-derived cells were cultured in 10% fetal bovine serum. Cells were kept subconfluent and expanded by a 1:2 bi-weekly split, in a humidified incubator at 37°C with 5% CO<sub>2</sub>.

#### 2.4.3 Transfection method and RNA interference

For gene silencing experiments, U87 cells were transiently transfected with siRNA sequences using Lipofectamine-2000 transfection reagent (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Gene silencing was performed using 20 nM siRNA against YAP1 (Hs\_YAP1\_5 siRNA, SI02662954), TEAD (Hs\_TEAD1\_5 siRNA, SI04181261), or scrambled sequences (AllStar Negative Control siRNA, 1027281). The above small interfering RNA and mismatch siRNA were all synthesized by QIAGEN and annealed to form duplexes. Gene silencing efficacy was assessed by RT-qPCR as described above.

#### 2.4.4 Total RNA extraction, cDNA synthesis, and real-time quantitative PCR

Total RNA was extracted from U87 cell monolayers using TRIzol, following the manufacturer's recommendations (Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA). Total RNA concentration was measured using a NanoPhotometer P330 (Implen) and 2 µg were reverse-transcribed into cDNA using a high-capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems; Foster City, CA, USA). Samples were prepared with primer sets and SsoFast EvaGreen Supermix (Bio-Rad; 1725204). The primer sets used were all purchased from QIAGEN: The following QuantiTect primer sets were provided by QIAGEN: YAP1 (Hs\_YAP1\_1\_SG, QT00080822), TEAD1 (Hs\_TEAD1\_1\_SG, QT00000721), CTGF (Hs\_CTGF\_1\_SG, QT00052899), CYR61 (Hs\_CYR61\_1\_SG, QT00003451), AXL (Hs\_AXL\_1\_SG, QT00067725), NF2 (Hs\_NF2\_va.1\_SG, QT01004934), COX-2 (Hs\_PTGS2\_1\_SG, QT00040586), IL6 (Hs\_IL6\_1\_SG, QT00083720), GAPDH (Hs\_GAPDH\_1\_SG, QT00079247) and PPIA (Hs\_PPIA\_4\_SG, QT01866137). Gene expression was quantified by real-time quantitative PCR (RT-qPCR) on a CFX Connect (Bio-Rad) with the Bio-Rad CFX manager Software version 3.0. The relative RNA quantities of each target gene were normalized against two housekeeping genes, *GAPDH* and *PPIA*, using the standard  $2^{-\Delta\Delta C_q}$  method.



#### 2.4.5 PCR arrays

Premade RT<sup>2</sup> Profiler PCR arrays for Human Inflammatory Cytokines and Receptors (PAHS-011ZD) and for Human Cancer Inflammation and Immunity Crosstalk (PAHS-181Z) were purchased from QIAGEN and used following the manufacturer's instructions. Briefly, the genomic DNA was removed before 0.5 µg of total RNA was reverse transcribed via the RT<sup>2</sup> First Strand Kit (QIAGEN, 330404). Each plate was used to assess one cDNA sample prepared with RT<sup>2</sup> SYBR Green qPCR Mastermix (QIAGEN, 330502). The relative expression analysis of 141 genes and controls was performed through the GeneGlobe analysis center, a website provided by QIAGEN (<https://geneglobe.qiagen.com/us/analyze>), via the standard fold change  $2^{-\Delta\Delta Cq}$  method. Based on the overall number of genes and modulation profile, the fold regulation used in the figures for upregulated genes was cutoff >2, and for downregulated genes cutoff < -2.

#### 2.4.6 Protein-to-protein interactions

The database STRING v11 (<https://www.string-db.org/>) was used to identify and build protein-to-protein interaction networks<sup>23</sup>, with a confidence score of 0.4. The maximum number of interactions shown was set to 10, to help with the readability of the predictions.

#### 2.4.7 Western blot

Total cell lysis was performed in a buffer containing 1 mM each of sodium fluoride (NaF) and sodium orthovanadate (Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>). Proteins (10-20 µg) were then separated by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). Next, proteins were electro-transferred to low-fluorescence polyvinylidene difluoride membranes and blocked for 1 hour at room temperature with 5% nonfat dry milk in Tris-buffered saline (150 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl, pH 7.5) containing 0.3% Tween-20 (TBST; Bioshop, TWN510-500). Membranes were washed in TBST and incubated overnight with the appropriate primary antibodies (1/1,000 dilution) in TBST containing 3% BSA and 0.1% sodium azide (Sigma-Aldrich) at 4°C and on a shaker. After three washes with TBST, the membranes were incubated for 1 hour with horseradish peroxidase-conjugated anti-rabbit or anti-mouse IgG at 1/2,500 dilutions in TBST containing 5% nonfat dry milk. Immunoreactive material was visualized by ECL.

#### 2.4.8 Statistical data analysis

All statistical analyses were conducted using the GraphPad Prism 7 software (<https://www.graphpad.com>; San Diego, CA). Data and error bars are presented as the mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM) from three or more independent experiments, unless otherwise specified. Hypothesis testing was performed using the Mann-Whitney test (two group comparisons). Probability values of less than 0.05 (\*) were considered significant.

### 2.5 Results

#### 2.5.1 Time-dependent inhibition of Concanavalin A-induced Phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B by $\alpha$ TGG in human U87 GBM cells.

Concanavalin A (ConA) is widely used in experimental immunology and cell biology as a pro-inflammatory pharmacological tool<sup>24-27</sup>. Here, we first wished to assess and optimize U87 cell responsiveness to ConA. Serum-starved human U87 GBM cells were treated with 30  $\mu$ g/ml ConA in the absence or presence of 30  $\mu$ M  $\alpha$ TGG, and phosphorylation of ERK and of I $\kappa$ B found to be triggered (Fig 2.1A). Densitometric analysis shows that phosphorylation of ERK peaked at 5 minutes, whereas that of I $\kappa$ B did at 2 minutes (Fig 2.1B). In both conditions,  $\alpha$ TGG treatment prevented these increases.

#### 2.5.2 Dose-dependent inhibition of Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B by $\alpha$ TGG in human U87 GBM cells.

We next screened for the optimal  $\alpha$ TGG-to-ConA capacity of cell signaling inhibition (Fig 2.2A). Serum-starved human U87 GBM cells were therefore treated with increasing concentrations of ConA for 5 min in the absence or presence of 30  $\mu$ M  $\alpha$ TGG and found to significantly inhibit ERK phosphorylation starting at 3  $\mu$ g/ml ConA (Fig 2.2B, left panel). Similarly, I $\kappa$ B phosphorylation was also tested at 2 minutes stimulation with ConA, and  $\alpha$ TGG found to prevent phosphorylation starting at 1  $\mu$ g/ml ConA (Fig 2.2B, right panel).

#### 2.5.3 Dose-dependent inhibition of Concanavalin A-induced Snail, COX2, and activation of proMMP-2 by $\alpha$ TGG in human U87 GBM cells.

Downstream induction by ConA of inflammatory and EMT biomarkers expression of respectively COX2 and Snail, and impact of  $\alpha$ TGG, was next assessed. Serum-starved human U87 GBM cells were treated with

increasing concentrations of  $\alpha$ TGG in the absence or presence of ConA for 24 hours. The expression of both Snail and COX2 was effectively triggered by ConA and found to be prevented by  $\alpha$ TGG (Fig 2.3A). Expression of GAPDH in the cell lysates, which served as a loading control, remained unaltered. Along with the above inhibitions of downstream inflammatory biomarkers in ConA-primed U87 cells,  $\alpha$ TGG capacity to further inhibit proMMP-2 activation by ConA was examined as previously reported<sup>28,29</sup>. Conditioned media was isolated from the respective conditions and  $\alpha$ TGG found to dose-dependently alter the extent of ConA-induced proMMP-2 activation as assessed by gelatin zymography (Fig 2.3B). Given the long-term treatment, cell viability was assessed and found unaltered upon increasing  $\alpha$ TGG treatment concentrations (Fig 2.3C).

#### 2.5.4 Differential YAP/TEAD control of Concanavalin A-mediated regulation of Hippo pathway downstream effectors.

We next wished to address the signaling crosstalk that would inter-relate the Hippo pathway to the pharmacological effects of ConA. Serum-starved human U87 GBM cells were treated with the indicated concentrations of ConA for 24 hours, total RNA was extracted and RT-qPCR performed as described in the Methods section. ConA dose-dependently triggered the expression of *COX2* and *IL6* as previously reported<sup>27</sup> (Fig 2.4A, left top and bottom panels). Interestingly, it also decreased the expression of downstream Hippo pathway effectors *AXL*, *CTGF*, and *CYR61* gene expression, while inducing that of *NF2* (Fig 2.4A). In order to next assess the involvement of the upstream control exerted by YAP1 and TEAD, transient gene silencing was performed and extent and specificity of gene repression confirmed (Fig 2.4B). Interestingly, YAP1 and TEAD silencing prevented the effects of ConA on *NF2*, while neither reversed the effects on *AXL* or *CTGF* (Fig 2.4C). On the other hand, only TEAD appeared to control ConA-mediated *CYR61* gene expression, while basal levels of *CTGF* in untreated cells also appeared to be decreased (Fig 2.4C). ConA-mediated downregulation of *CTGF*, *CYR61*, and *AXL* gene expression is consistent with activation of the Hippo signaling pathway<sup>30,31</sup>. Hippo pathway pharmacological targeting was next assessed.

#### 2.5.5 Hippo pathway inhibitors alter the Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B in human U87 GBM cells.

Capacity of Hippo pathway inhibitors IAG933, GNE7883, and VT107 was next tested to assess their impact on signal transducing events triggered by ConA. Serum-starved human U87 GBM cells were treated with ConA for 5 min in the absence or presence of 3  $\mu$ M IAG933 (IAG), GNE7883 (GNE), or VT107 (VT)

respectively (Fig 2.5A). It was found that the phosphorylation status of ERK (Fig.5B, left panel, black bars) and of I $\kappa$ B (Fig 2.5B, right panel, black bars) in ConA-primed cells was significantly reduced by all three inhibitors, similarly to the impact of  $\alpha$ TGG (Fig 2.1 and Fig 2.2). VT107 was found to be the most effective inhibitors and was next further characterized.

#### 2.5.6 The Hippo pathway inhibitor VT107 alters dose-dependently the Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B in human U87 GBM cells.

In order to further assess the cell signaling impact of VT107, serum-starved U87 glioblastoma cells were treated with ConA for 5 min (ERK) or 2 min (I $\kappa$ B) in the absence or presence of increasing concentrations of VT107 (Fig 2.6A, VT). Phosphorylation status of ERK (Fig 2.6B, left panel) and of I $\kappa$ B (Fig 2.6B, right panel) was both inhibited by VT107 with an IC<sub>50</sub> of 0.72 and 0.51  $\mu$ M respectively against ERK and I $\kappa$ B phosphorylation. Conditioned media was further collected and impact of VT107 against ConA-mediated proMMP-2 activation as assessed by gelatin zymography as described in the Methods section. Along with the above demonstrated cell signaling inhibitory impact, VT107 was further found to prevent proMMP-2 activation into MMP-2 (Fig 2.6C).

#### 2.5.7 The Hippo pathway inhibitor VT107 and $\alpha$ TGG share a common anti-inflammatory molecular signature in Concanavalin A-primed human U87 GBM cells.

Given the evident cell signaling inhibitory profiles and shared capacity to alter downstream events from ConA-primed cells between  $\alpha$ TGG and the three Hippo pathway inhibitors tested herein, we next proceeded with a transcriptomic gene array screen of inflammatory-associated biomarkers using panels of 141 genes as described in the Methods section. Serum-starved human U87 GBM cells were treated for 24 hours with ConA, total RNA extracted, and gene expression assessed by RT-qPCR. ConA was effectively found to trigger, among the genes investigated, the expression of 41 genes (Fig 2.7A, green). These included members of the CXCL (*CXCL2*, *CXCL9*, *CXCL10*, *CXCL11*, *CXCL12*, *CXCL13*), CXCR (*CXCR1*, *CXCR2*, and *CXCR4*), CCL (*CCL16*, *CCL17*, *CCL22*, *CCL28*, and *CCL3*), CCR (*CCR2*, *CCR3*, *CCR4*, and *CCR6*), and some interleukins/interleukin receptor (*IL9*, *IL10*, *IL13*, *IL17A*, *IL17C*, *IL17F*, *IL23A*, *IL33*, *IL1R1*, *IL1RN*) (Supplemental Table 2.1). In addition, 17 genes were concomitantly downregulated upon ConA treatment (Supplemental Table 2.1) Next, the 10 commonly shared genes which expression was triggered by ConA, and that was altered by treatment with all three Hippo pathway inhibitors tested, were compared to the inhibitory effects of  $\alpha$ TGG. It was found that the best correlation existed when  $\alpha$ TGG was compared to

VT107 ( $r^2 = 0.87$ ), while no correlation was found when  $\alpha$ TGG effects were compared to those of either GNE7883 or IAG933 (Fig.7B). Protein-to-protein interaction network of the 10 commonly shared and downregulated genes between all the inhibitors tested in ConA-treated cells was determined with STRING and confirms the predicted inter-relationship they have between them.

## 2.6 Discussion

Concanavalin A (ConA) is widely used in experimental immunology and cell biology as a pro-inflammatory pharmacological tool in numerous cell types<sup>24-27</sup>. In this study, we aimed to validate and optimize U87 GBM cell responsiveness to ConA, and investigate the pharmacological impact of  $\alpha$ TGG and Hippo pathway inhibitors on several ConA-induced signaling events and downstream biomarkers. We chose to focus on the phosphorylation status of ERK and I $\kappa$ B, expression levels of downstream inflammatory and invasion biomarkers (Snail, COX2) or processes (proMMP-2 activation), and transcriptomic inflammation profiling.

The findings from our study have several important implications for both GBM research and the broader field of inflammation-targeted cancer therapy. We validated ConA as a pro-inflammatory pharmacological agonist in a GBM cell model through robust activation of ERK and I $\kappa$ B signaling, requiring the Hippo pathway, and mimicking inflammatory conditions. This supports the use of ConA as a reliable pharmacological tool to model *in vitro* inflammation-driven tumor progression in GBM. Further,  $\alpha$ TGG was found to exert potent anti-inflammatory properties as it effectively inhibited ConA-induced phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B, as well as downstream biomarkers expression involving Snail and COX2, as well as preventing proMMP-2 activation. This suggests  $\alpha$ TGG may have therapeutic potential in dampening tumor-associated inflammation and EMT, a key process in GBM invasiveness.

Three Hippo pathway inhibitors were also tested for their potential as novel anti-inflammatory modulators. These Hippo pathway inhibitors, especially VT107, appeared to mimic  $\alpha$ TGG's effects, suggesting a shared anti-inflammatory mechanism as VT107's dose-dependent inhibition of ERK/I $\kappa$ B phosphorylation and proMMP-2 activation highlights its potential as a dual-action agent targeting both oncogenic signaling and inflammatory cascades. Transcriptomic evidence of a shared molecular signature is also provided through the overlap in inflammatory gene expression profiles between  $\alpha$ TGG and VT107 ( $r^2 = 0.87$ ) and strengthens the case for a common Hippo pathway-mediated anti-inflammatory molecular signature. Downregulation

of several of the identified chemokines, cytokines, and interleukin receptors suggests these compounds may reshape the TME to be less supportive of tumor growth and immune evasion.

Therapeutic implications of these findings open the door to combination therapies using  $\alpha$ TGG or Hippo inhibitors to suppress inflammation-driven tumor progression, reduce GBM invasiveness via EMT inhibition, and to potentially sensitize tumors to immunotherapy by modulating cytokine/chemokine networks. Recently, combining temozolomide (TMZ) with a YAP inhibitor enhanced anti-tumor efficacy in GBM models<sup>32,33</sup>, suggesting that targeting the Hippo/YAP axis helps overcome TMZ resistance, a major clinical challenge in GBM<sup>34</sup>.

The ERK/I $\kappa$ B signaling axis is activated by a variety of upstream glycoprotein receptors and membrane-bound lectin sensors, which play critical roles in immune responses, inflammation, and cancer progression<sup>35</sup>. Future perspectives should therefore dissect the precise molecular targets of  $\alpha$ TGG and VT107 within the ERK/I $\kappa$ B signaling axis and their upstream regulators, potentially including  $\alpha$ -D-mannosyl and  $\alpha$ -D-glucosyl residues on glycoproteins, C-type lectin receptors including Dectin-1, DC-SIGN, and mannose receptor. The anti-inflammatory and anti-invasive effects of  $\alpha$ TGG and VT107 should further be validated in GBM xenograft or orthotopic mouse models to assess therapeutic relevance and bioavailability. Given their anti-inflammatory properties,  $\alpha$ TGG and Hippo inhibitors should be explored in combination with standard-of-care treatments (e.g., TMZ, radiotherapy) or immune checkpoint inhibitors to enhance therapeutic efficacy. Finally, the transcriptomic data screen provides a foundation for identifying predictive biomarkers of response to  $\alpha$ TGG or Hippo pathway inhibition, which could guide patient stratification in future clinical applications.

## 2.7 Conclusion

Altogether, this study demonstrates that ConA effectively induces a pro-inflammatory signaling cascade in human U87 GBM cells, and that  $\alpha$ TGG significantly inhibited these responses in a time- and dose-dependent manner, suggesting its potential as a potent anti-inflammatory agent in potentially more than only GBM models. Furthermore, Hippo pathway inhibitors, particularly VT107, exhibited similar inhibitory effects on ConA-induced signaling and downstream inflammatory responses and highly correlated transcriptomic anti-inflammatory signature with  $\alpha$ TGG. These findings highlight a convergence between  $\alpha$ TGG and Hippo pathway inhibition in modulating inflammation-associated oncogenic signaling in GBM.

## Funding

This work was funded by a grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC, RGPIN-2024-04541) to BA.

## Acknowledgements

BA holds an Institutional Research Chair in Cancer Prevention and Treatment at UQAM. The authors thank Dr Yann Pauvert (Université de Montréal, Montreal, QC, Canada) for kindly providing  $\alpha$ TGG.

## Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

## Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

## Abbreviations

ATCC, American type culture collection; BSA, Bovine serum albumin; ConA, Concanavalin A; ECM, extracellular matrix; EMT, epithelial-to-mesenchymal transition; ERK, extracellular signal-regulated kinases; GBM, glioblastoma; I $\kappa$ B, MAPK, mitogen-activated protein kinase; MMP, Matrix metalloproteinase; SDS, Sodium dodecyl sulfate; STAT3, signal transducer and activator of transcription 3; TAZ, transcriptional coactivator with a PDZ-binding domain; TME, tumor microenvironment; YAP, yes-associated protein.

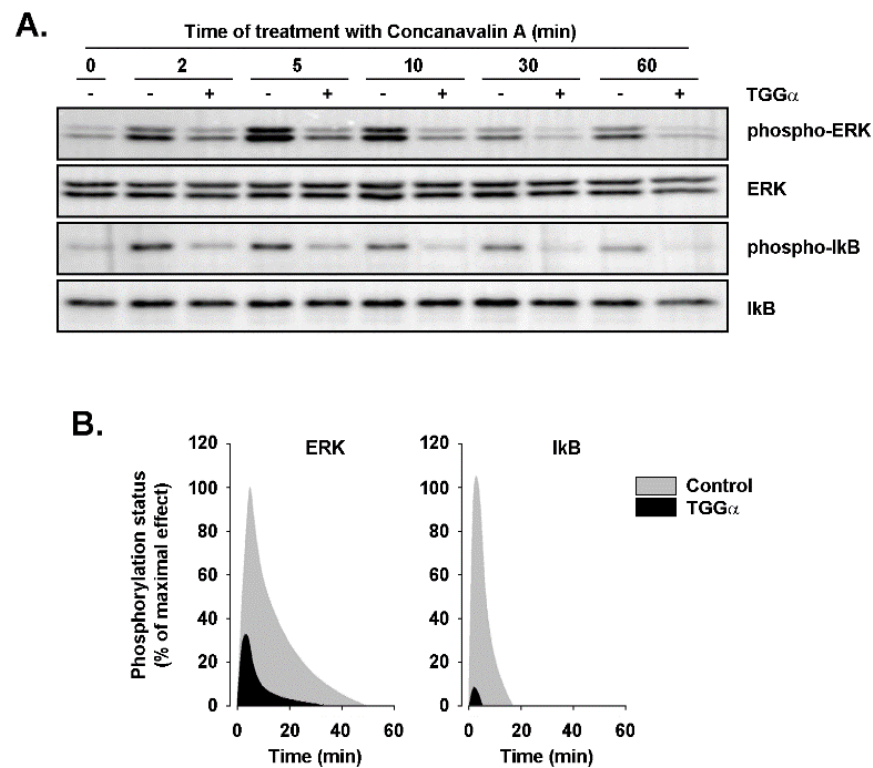


Figure 2.1: Time-dependent inhibition of Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and IkB by  $\alpha$ TGG in human U87 glioblastoma cells. Serum-starved human U87 glioblastoma cells were treated with 30  $\mu$ g/ml Concanavalin A (ConA) for the indicated time in the absence or presence of 30  $\mu$ M  $\alpha$ TGG. A) Protein cell lysates were harvested and processed for immunoblotting as described in the Methods section, to detect the phosphorylation status of ERK and of IkB. B) Densitometric analysis was performed and phosphorylation status expressed as the maximal value of phospho-ERK/ERK or phospho-IkB/IkB ratios for control (grey shades) vs  $\alpha$ TGG (black shades).



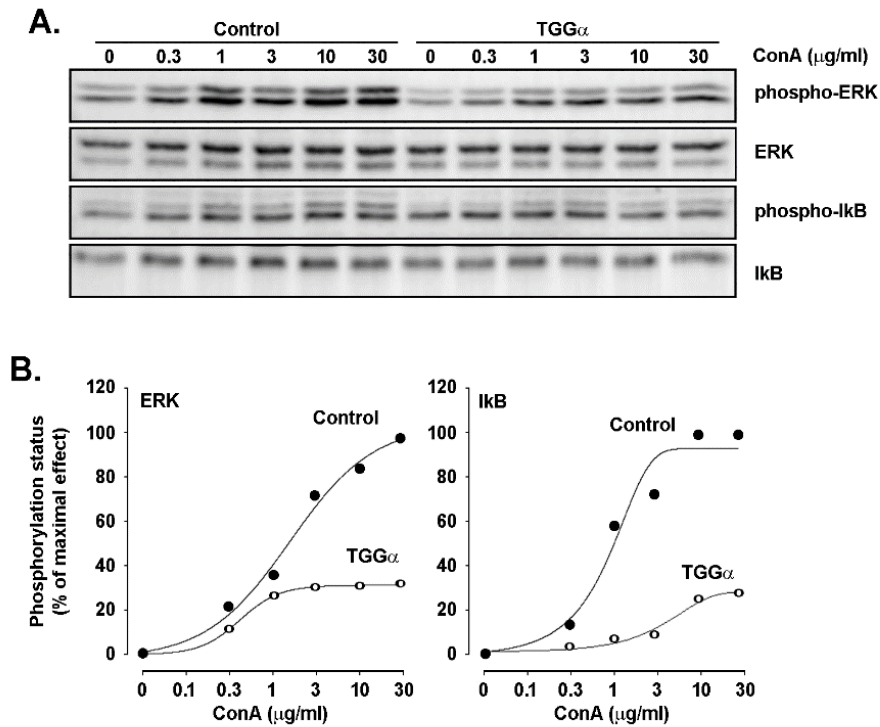


Figure 2.2: Dose-dependent inhibition of Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and IB by  $\alpha$ TGG in human U87 glioblastoma cells. Serum-starved human U87 glioblastoma cells were treated with the indicated concentrations of Concanavalin A (ConA) for 5 min in the absence or presence of 30  $\mu$ M  $\alpha$ TGG. A) Protein cell lysates were harvested and processed for immunoblotting as described in the Methods section, to detect the phosphorylation status of ERK and of I $\kappa$ B. B) A representative densitometric analysis was performed and phosphorylation status expressed as the maximal value of phospho-ERK/ERK or phospho-I $\kappa$ B/I $\kappa$ B ratios for control (closed circles) vs  $\alpha$ TGG (open circles).

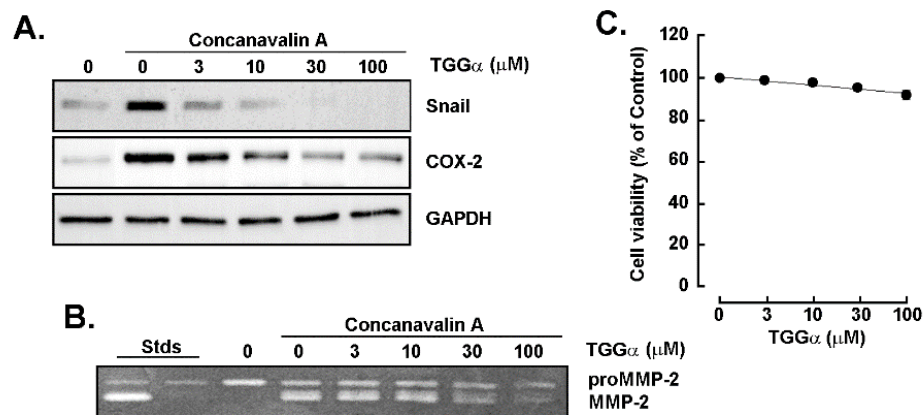


Figure 2.3: Dose-dependent inhibition of Concanavalin A-induced Snail, COX2, and activation of proMMP-2 by  $\alpha$ TGG in human U87 glioblastoma cells. Serum-starved human U87 glioblastoma cells were treated with the indicated concentrations of  $\alpha$ TGG in the absence or presence of 30  $\mu$ g/ml Concanavalin A (ConA) for 24 hours. A) Protein cell lysates were harvested and processed for immunoblotting as described in the Methods section, to detect the expression levels of Snail and COX2. GAPDH served as a loading control. B) A gelatin zymography was performed using the conditioned media isolated from the respective conditions as described in the Methods section to assess the effect of  $\alpha$ TGG on the extent of ConA-induced proMMP-2 activation. C) U87 glioblastoma cells were treated with the indicated concentrations of  $\alpha$ TGG for 24 hours. Cell viability was evaluated for each concentration using the Trypan Blue exclusion assay and a TC20 Automated Cell Counter (Biorad). Data are representative from two independent experiments.

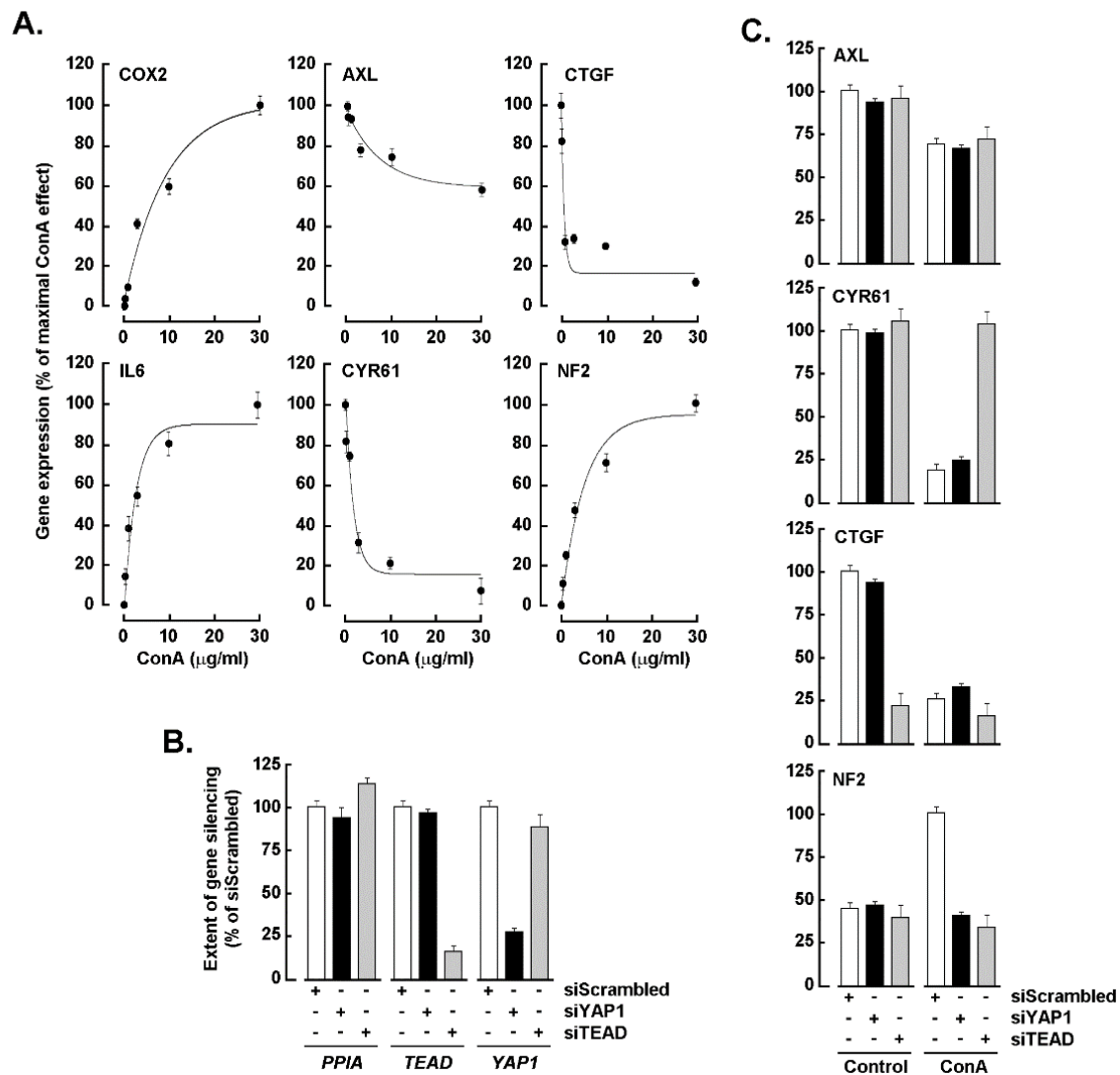


Figure 2.4: Differential YAP/TEAD control of Concanavalin A-mediated regulation of Hippo pathway downstream effectors. Serum-starved human U87 glioblastoma cells were treated with the indicated concentrations of ConA for 24 hours, total RNA was extracted and RT-qPCR performed as described in the Methods section. A) Gene expression of inflammatory (*COX2*, *IL6*) and downstream Hippo pathway effectors (*AXL*, *CTGF*, *CYR61*, and *NF2*). B) Transient gene silencing of YAP1 and TEAD was performed and extent and specificity of gene repression compared to *PPIA*. C) Impact of YAP1 and TEAD silencing on ConA-mediated effects on downstream Hippo pathway effectors.

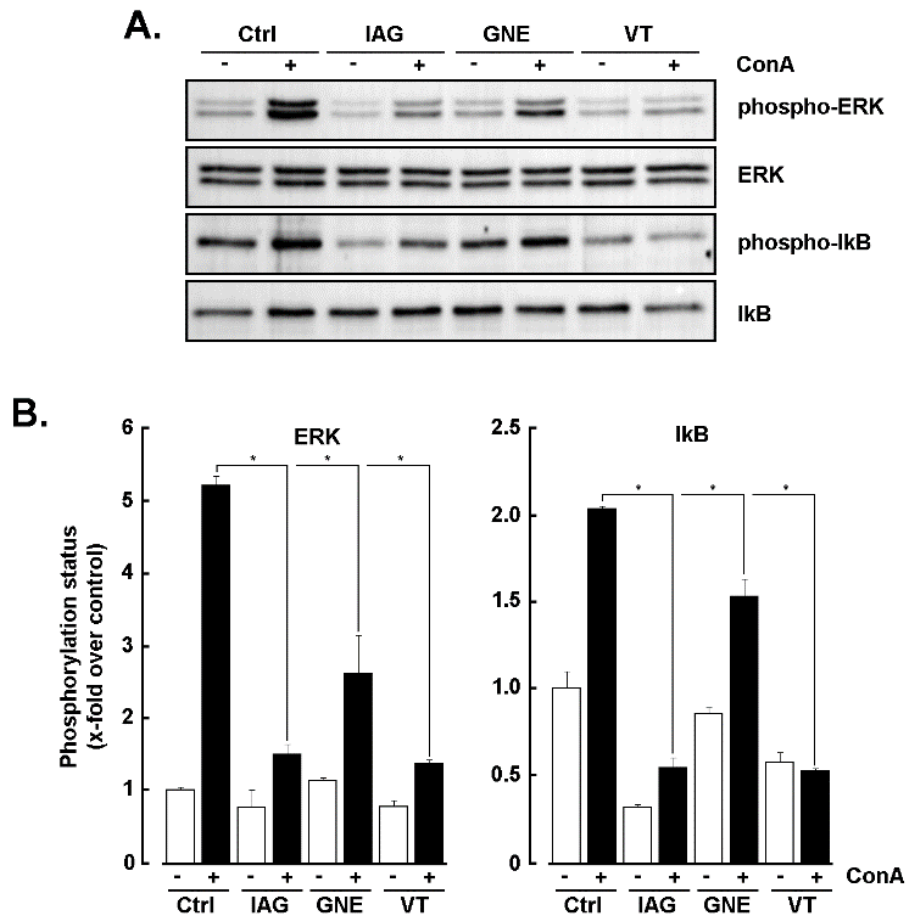


Figure 2.5: Hippo pathway inhibitors alter the Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and IκB in human U87 glioblastoma cells. Serum-starved human U87 glioblastoma cells were treated with 30 μg/ml Concanavalin A (ConA) for 5 min in the absence or presence of 3 μM IAG933 (IAG), GNE7883 (GNE), or VT107 (VT). A) Protein cell lysates were harvested and processed for immunoblotting as described in the Methods section, to detect the phosphorylation status of ERK and of IκB. B) Densitometric analysis was performed and phosphorylation status expressed as the extent of phospho-ERK/ERK or phosphor-IκB/IκB ratios over untreated control cells.

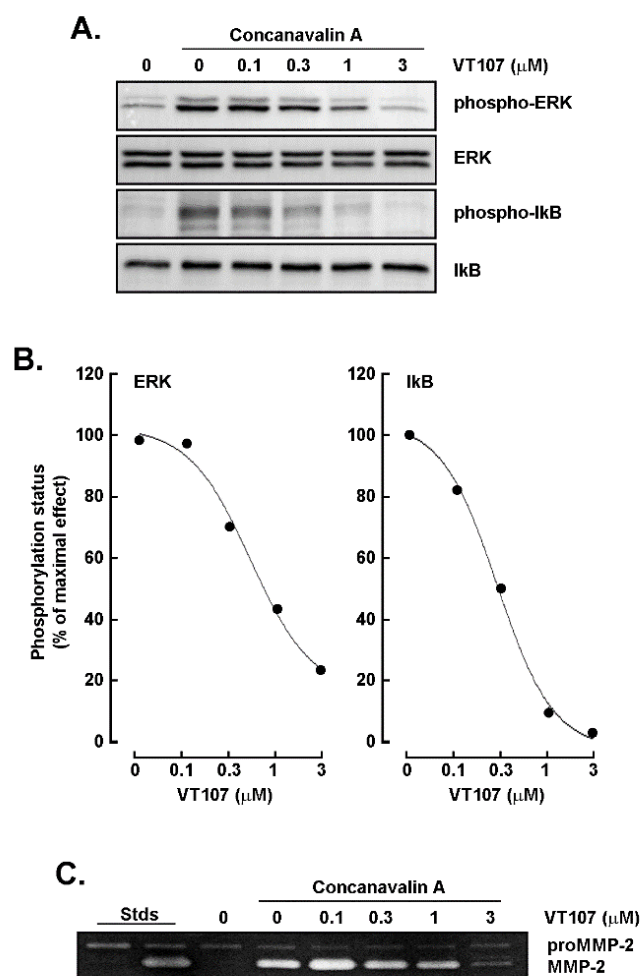


Figure 2.6: The Hippo pathway inhibitor VT107 alters dose-dependently the Concanavalin A-induced phosphorylation of ERK and I $\kappa$ B in human U87 glioblastoma cells. Serum-starved human U87 glioblastoma cells were treated with 30  $\mu$ g/ml Concanavalin A (ConA) for 5 min in the absence or presence of the indicated concentrations of VT107 (VT). A) Protein cell lysates were harvested and processed for immunoblotting as described in the Methods section, to detect the phosphorylation status of ERK and of I $\kappa$ B. B) A representative densitometric analysis was performed and phosphorylation status expressed as the percent of phospho-ERK/ERK or phospho-I $\kappa$ B/I $\kappa$ B ratios of ConA-treated cells. C) Conditioned media was collected and gelatin zymography performed as described in the Methods section to monitor the impact of VT107 on proMMP-2 activation.

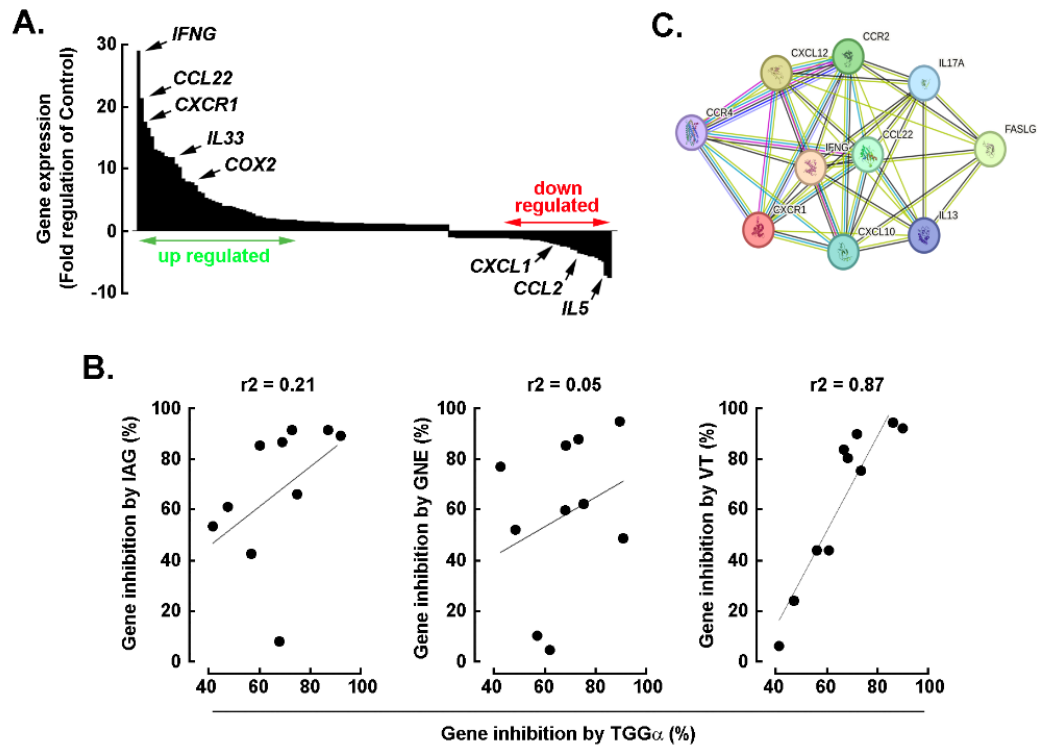


Figure 2.7: The Hippo pathway inhibitor VT107 and  $\alpha$ TGG share a common anti-inflammatory molecular signature in Concanavalin A-primed human U87 glioblastoma cells. A) Serum-starved human U87 glioblastoma cells were treated for 24 hours with 30  $\mu$ g/ml Concanavalin A (ConA), total RNA extracted and processed for a gene array screen of 141 inflammatory-associated genes as described in the Methods section by RT-qPCR. B) Serum starved cells were similarly treated with ConA in the presence of 1  $\mu$ M of either IAG933 (IAG), GNE7883 (GNE) or VT107 (VT) for 24 hours and extent of inhibition of the 10 most induced common genes assessed and correlated to that of 30  $\mu$ M  $\alpha$ TGG. C) Protein-to-protein interaction network of the 10 commonly shared and downregulated genes between all the inhibitors tested in ConA-treated cells as determined with STRING.

Tableau 1.1: Inflammatory gene expression Profile induced by ConcanavalinA (Con A) in U87 cells (RT-qPCR analysis, fold regulation values)

Gene ID	ConA (Fold regulation)
IFNG	28,84
CCL22	21,26
CXCR1	17,39
IGF1	16,45
TLR4	15,14
CXCL12	13
FASLG	12,73
CXCR4	12,47
CTLA4	11,96
GZMB	11,79
IL33	11,76
CCL16	10,67
IL17A	10,2
PTGS2	8,34
CCR2	7,89
CCL22	7,81
IL1RN	7,71
CCL28	7,31
IL13	6,3
CCR4	6,06
CCR6	5,26
CXCL13	5,08
CCL3	4,81
CXCR2	4,52
IFNA2	4,43
CXCL10	3,96
CXCL11	3,96
IL1R1	3,88
SPP1	3,83
CCL17	3,52
IL17F	3,47
IL9	3,31
CCR3	3,02
NOS2	2,93
IL17C	2,72
IL23A	2,36

MYC	2,33
CXCL2	2,14
IL10	2,03
CXCL9	2,01
CXCR3	1,95
HLA-B	1,89
MICA	1,73
TGFB1	1,71
ACKR3	1,68
GZMA	1,68
IL4	1,68
CXCL6	1,65
KITLG	1,64
IL6	1,53
IL21	1,52
CCL18	1,46
CCL5	1,45
MICB	1,43
CCL11	1,35
CCR8	1,34
HLA-C	1,3
NFKB1	1,3
CCL26	1,27
CXCR5	1,27
CCL4	1,25
NAMPT	1,25
IL10RA	1,24
CCR9	1,22
CD274	1,21
STAT3	1,21
BCL2	1,2
TNFSF4	1,17
CCR7	1,16
IL5RA	1,16
AIMP1	1,14
RPLP0	1,13
PDCD1	1,12
STAT1	1,12
IL16	1,11
HIF1A	1,1
CCR1	1,08



EGFR	1,08
CCL13	1,06
HLA-A	1,05
IL3	1,05
IL9R	1,04
OSM	1,04
ACTB	1,03
CD40LG	1,03
CXCL3	1,03
CXCL8	1,03
CX3CR1	1,02
B2M	1,01
MIF	1,01
TP53	1,01
GAPDH	1
CCL21	-1,03
IL12A	-1,03
IL27	-1,05
LTA	-1,05
HPRT1	-1,06
LTB	-1,06
MYD88	-1,06
VEGFA	-1,06
TNFSF13	-1,08
CCL20	-1,1
CCR5	-1,1
CSF1	-1,1
IL10RB	-1,13
IL15	-1,13
TLR2	-1,13
BMP2	-1,14
CCL1	-1,16
FOXP3	-1,16
CCL23	-1,19
CCL7	-1,23
CCL8	-1,27
EGF	-1,27
IL2	-1,29
CXCL5	-1,31
TNFSF10	-1,42
CCL24	-1,43

TNFSF11	-1,47
BCL2L1	-1,58
CCL15	-1,7
IL12B	-1,88
C5	-1,96
X3CL1	-2,13
CSF3	-2,16
CCR10	-2,46
IL7	-2,5
IL1B	-2,55
IL1A	-2,89
CXCL1	-3,12
TNFSF13B	-3,57
CSF2	-3,71
TNF	-3,84
CCL2	-4,08
IRF1	-4,08
IDO1	-4,32
TNFRSF11B	-4,7
GBP1	-4,86
IL5	-7,13
TLR3	-7,52

## 2.8 References

1. Li, X., Gou, W., & Zhang, X. (2024). Neuroinflammation in glioblastoma: Progress and perspectives. *Brain Sciences*, 14(7), 687. <https://doi.org/10.3390/brainsci14070687>
2. Roesler, R., Dini, S. A., & Isolan, G. R. (2021). Neuroinflammation and immunoregulation in glioblastoma and brain metastases: Recent developments in imaging approaches. *Clinical and Experimental Immunology*, 206(3), 314-324. <https://doi.org/10.1111/cei.13668>
3. Alorfi, N. M., Ashour, A. M., Alharbi, A. S., & Alshehri, F. S. (2024). Targeting inflammation in glioblastoma: An updated review from pathophysiology to novel therapeutic approaches. *Medicine*, 103(21), e38245. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000038245>
4. Landskron, G., De La Fuente, M., Thuwajit, P., Thuwajit, C., & Hermoso, M. A. (2014). Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *Journal of Immunology Research*, 2014, 1-19. <https://doi.org/10.1155/2014/149185>
5. Fu M, Hu Y, Lan T, Guan KL, Luo T, Luo M. The Hippo signalling pathway and its implications in human health and diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1):376. doi: 10.1038/s41392-022-01191-9. Erratum in: *Signal Transduct Target Ther*. 2024;9(1):5. doi: 10.1038/s41392-023-01682-3.
6. Mia MM, Singh MK. Emerging roles of the Hippo signaling pathway in modulating immune response and inflammation-driven tissue repair and remodeling. *FEBS J*. 2022;289(14):4061-4081. doi: 10.1111/febs.16449.
7. Zhao H, Wu L, Yan G, Chen Y, Zhou M, Wu Y, Li Y. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):263. doi: 10.1038/s41392-021-00658-5.
8. Pelly VS, Moeini A, Roelofsen LM, Bonavita E, Bell CR, Hutton C, Blanco-Gomez A, Banyard A, Bromley CP, Flanagan E, Chiang SC, Jørgensen C, Schumacher TN, Thommen DS, Zelenay S. Anti-inflammatory drugs remodel the tumor immune environment to enhance immune checkpoint blockade efficacy. *Cancer Discov*. 2021;11(10):2602-2619. doi: 10.1158/2159-8290.CD-20-1815.
9. Vizcaino Castro A, Daemen T, Oyarce C. Strategies to reprogram anti-inflammatory macrophages towards pro-inflammatory macrophages to support cancer immunotherapies. *Immunol Lett*. 2024 ;267 :106864. doi: 10.1016/j.imlet.2024.106864.
10. Atkinson GP, Nozell SE, Benveniste ET. NF-kappaB and STAT3 signaling in glioma: targets for future therapies. *Expert Rev Neurother*. 2010;10(4):575-86. doi: 10.1586/ern.10.21.

11. Liu-Chittenden Y, Huang B, Shim JS, Chen Q, Lee SJ, Anders RA, Liu JO, Pan D. Genetic and pharmacological disruption of the TEAD-YAP complex suppresses the oncogenic activity of YAP. *Genes Dev.* 2012;26(12):1300-5. doi: 10.1101/gad.192856.112.
12. Lyne SB, Yamini B. An Alternative Pipeline for Glioblastoma Therapeutics: A Systematic Review of Drug Repurposing in Glioblastoma. *Cancers (Basel).* 2021;13(8):1953. doi: 10.3390/cancers13081953.
13. Alomari S, Zhang I, Hernandez A, Kraft CY, Raj D, Kedda J, Tyler B. Drug repurposing for glioblastoma and current advances in drug delivery - A comprehensive review of the literature. *Biomolecules.* 2021;11(12):1870. doi: 10.3390/biom11121870.
14. Kunnumakkara AB, Hegde M, Parama D, Girisa S, Kumar A, Daimary UD, Garodia P, Yeniseti SC, Oommen OV, Aggarwal BB. Role of turmeric and curcumin in prevention and treatment of chronic diseases: Lessons learned from clinical trials. *ACS Pharmacol Transl Sci.* 2023;6(4):447-518. doi: 10.1021/acsptsci.2c00012.
15. Ries CH, Cannarile MA, Hoves S, Benz J, Wartha K, Runza V, Rey-Giraud F, Pradel LP, Feuerhake F, Klamann I, Jones T, Jucknischke U, Scheiblich S, Kaluza K, Gorr IH, Walz A, Abiraj K, Cassier PA, Sica A, Gomez-Roca C, de Visser KE, Italiano A, Le Tourneau C, Delord JP, Levitsky H, Blay JY, Rüttinger D. Targeting tumor-associated macrophages with anti-CSF-1R antibody reveals a strategy for cancer therapy. *Cancer Cell.* 2014;25(6):846-59. doi: 10.1016/j.ccr.2014.05.016.
16. Casati G, Giunti L, Iorio AL, Marturano A, Galli L, Sardi I. Hippo Pathway in Regulating Drug Resistance of Glioblastoma. *Int J Mol Sci.* 2021;22(24):13431. doi: 10.3390/ijms222413431.
17. Ortega Á, Vera I, Diaz MP, Navarro C, Rojas M, Torres W, Parra H, Salazar J, De Sanctis JB, Bermúdez V. The YAP/TAZ signaling pathway in the tumor microenvironment and carcinogenesis: Current knowledge and therapeutic promises. *Int J Mol Sci.* 2021;23(1):430. doi: 10.3390/ijms23010430.
18. Totaro A, Panciera T, Piccolo S. YAP/TAZ upstream signals and downstream responses. *Nat Cell Biol.* 2018;20(8):888-899. doi: 10.1038/s41556-018-0142-z.
19. Ajongbolo AO, Langhans SA. YAP/TAZ-associated cell signaling - at the crossroads of cancer and neurodevelopmental disorders. *Front Cell Dev Biol.* 2025;13:1522705. doi: 10.3389/fcell.2025.1522705.
20. Nguyen CDK, Yi C. YAP/TAZ Signaling and resistance to cancer therapy. *Trends Cancer.* 2019;5(5):283-296. doi: 10.1016/j.trecan.2019.02.010.
21. Masliantsev K, Karayan-Tapon L, Guichet PO. Hippo signaling pathway in gliomas. *Cells.* 2021;10(1):184. doi: 10.3390/cells10010184.

22. Pauvert, Y., Gaudreault, R., Charette, A.B., 2023. Improved total synthesis of 1,3,6-Trigalloyl- $\beta$ -D-glucose from glucose. *Synthesis*. 2023;55(15),2325-32. doi.org/ 10.1055/s-0042-1752404.
23. Szklarczyk D, Gable AL, Nastou KC, Lyon D, Kirsch R, Pyysalo S, Doncheva NT, Legeay M, Fang T, Bork P, Jensen LJ, von Mering C. The STRING database in 2021: customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(D1):D605-D612. doi: 10.1093/nar/gkaa1074. Erratum in: *Nucleic Acids Res*. 2021;49(18):10800. doi: 10.1093/nar/gkab835.
24. Akla N, Pratt J, Annabi B. Concanavalin-A triggers inflammatory response through JAK/STAT3 signalling and modulates MT1-MMP regulation of COX-2 in mesenchymal stromal cells. *Exp Cell Res*. 2012;318(19):2498-506. doi: 10.1016/j.yexcr.2012.08.003.
25. Desjarlais M, Pratt J, Lounis A, Mounier C, Haidara K, Annabi B. Tetracycline derivative minocycline inhibits autophagy and inflammation in concanavalin-A-activated human hepatoma cells. *Gene Regul Syst Bio*. 2014;8:63-73. doi: 10.4137/GRSB.S13946.
26. Huldani H, Rashid AI, Turaev KN, Opulencia MJC, Abdelbasset WK, Bokov DO, Mustafa YF, Al-Gazally ME, Hammid AT, Kadhim MM, Ahmadi SH. Concanavalin A as a promising lectin-based anti-cancer agent: the molecular mechanisms and therapeutic potential. *Cell Commun Signal*. 2022;20(1):167. doi: 10.1186/s12964-022-00972-7.
27. Veilleux C, Khalifa J, Zgheib A, Konan AS, Gaudreault R, Annabi B. Probing into the chemopreventive properties of synthetic 1,3,6-tri-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucose ( $\alpha$ -TGG) against glioblastoma and triple-negative breast cancer-derived cell models. *Curr Res Pharmacol Drug Discov*. 2025; 8:100219. doi: 10.1016/j.crphar.2025.100219.
28. Desjarlais M, Annabi B. Dual functions of ARP101 in targeting membrane type-1 matrix metalloproteinase: Impact on U87 glioblastoma cell invasion and autophagy signaling. *Chem Biol Drug Des*. 2019;93(3):272-282. doi: 10.1111/cbdd.13410.
29. Nanni SB, Pratt J, Beauchemin D, Haidara K, Annabi B. Impact of Concanavalin-A-Mediated Cytoskeleton Disruption on Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein-1 Internalization and Cell Surface Expression in Glioblastomas. *Biomark Cancer*. 2016;8:77-87. doi: 10.4137/BIC.S38894.
30. Calses PC, Crawford JJ, Lill JR, Dey A. Hippo pathway in cancer: Aberrant regulation and therapeutic opportunities. *Trends Cancer*. 2019;5(5):297-307. doi: 10.1016/j.trecan.2019.04.001.
31. Kumar R, Hong W. Hippo signaling at the hallmarks of cancer and drug resistance. *Cells*. 2024;13(7):564. doi: 10.3390/cells13070564.

32. Tang J, Karbhari N, Campian JL. Therapeutic targets in glioblastoma: Molecular pathways, emerging strategies, and future directions. *Cells*. 2025;14(7):494. doi: 10.3390/cells14070494.
33. Wong C.L.E, Mei Yee Karrie Kiang, Ka Kit Gilberto Leung. Targeting hippo signaling pathway to overcome chemoresistance in glioblastoma [abstract]. In: Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2024; Part 1 (Regular Abstracts); 2024 Apr 5-10; San Diego, CA. Philadelphia (PA): AACR; Cancer Res 2024;84(6\_Suppl): Abstract nr 7207.
34. Lee SY. Temozolomide resistance in glioblastoma multiforme. *Genes Dis*. 2016 ;3(3):198-210. doi: 10.1016/j.gendis.2016.04.007.
35. Gauthier NP. Types of glycoprotein receptors and signal transduction pathways. *J Cell Signal*. 2023 ; 8:340. doi: 10.35248/2576-1471.23.8.340.

### CHAPITRE 3

#### DISCUSSION

Cette étude vise à comparer l'effet de l' $\alpha$ -TGG (1,3,6-tri-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucose), un gallotannin synthétique, à celui du VT107, un inhibiteur de la voie Hippo/YAP1, sur la modulation des voies de signalisation impliquées dans l'agressivité du GBM. Le GBM demeure la tumeur cérébrale la plus agressive du SNC chez l'adulte, caractérisée par une forte capacité d'invasion, une hétérogénéité moléculaire et une résistance aux traitements standards (DeCordova *et al.*, 2020 ; Yalamarty *et al.*, 2023). Cette agressivité repose notamment sur l'activation chronique de voies telles que MAPK/ERK (Bahar *et al.*, 2023), NF $\kappa$ B (Pandey *et al.*, 2025) et, plus récemment, la voie Hippo/YAP1 (Yang et Li, 2025), qui régulent la prolifération, la migration, la survie cellulaire et la résistance aux traitements. L'activation de ces axes moléculaires, souvent stimulés par des facteurs de l'environnement tumoral ou par des agents expérimentaux comme la ConA, une lectine végétale extraite de *Canavalia ensiformis*, largement utilisée pour ses propriétés immunomodulatrices et pro-inflammatoires. Dans les modèles cellulaires du GBM, ConA est souvent choisie pour reproduire un microenvironnement inflammatoire in vitro. Ce modèle est couramment utilisé dans les études sur les tumeurs de haut grade (Pratt *et al.*, 2012). Dans notre étude, l'efficacité de la ConA a été validée sur les cellules U87. Elle active fortement les voies de signalisation ERK1/2 et I $\kappa$ B, deux acteurs majeurs dans la réponse inflammatoire. ERK1/2 stimule la prolifération cellulaire et soutient leur survie (Li *et al.*, 2011 ; Huldani *et al.*, 2022). En parallèle, la dégradation d'I $\kappa$ B libère NF $\kappa$ B, un facteur de transcription qui gouverne l'expression des gènes inflammatoires (Pratt *et al.*, 2012). Ces effets ne sont pas limités aux cellules U87. Ils se reproduisent dans d'autres lignées de gliome, comme U251 ou LN229, ce qui renforce la pertinence du modèle pour étudier la réponse inflammatoire et invasive dans divers contextes cellulaires (Diao *et al.*, 2019), soulignant l'intérêt de la ConA. Comparée aux méthodes classiques (ajout de TNF $\alpha$  ou IL-1 $\beta$ ), la ConA présente plusieurs atouts : une activation plus rapide, une bonne stabilité, et une reproductibilité renforcée. Nos résultats confirment ceux de Zhuang *et al.* (2016) et Liu *et al.* (2022), qui montrent que la ConA induit une réponse inflammatoire rapide et soutenue, en activant notamment les voies MAPK et NF $\kappa$ B. Dans le GBM multiforme, l'exploration des liens entre inflammation et microenvironnement tumoral est essentielle pour découvrir de nouvelles cibles thérapeutiques. L'usage de modèles d'inflammation simulée, comme la stimulation par la ConA, constitue une approche robuste. Elle permet de recréer, de manière contrôlée, un environnement tumoral pro-inflammatoire. Ces modèles in vitro, plus simples que les co-cultures immunitaires ou les modèles animaux, sont également plus reproductibles et faciles à manipuler. En comparaison, les organoïdes cérébraux (GBM organoids) offrent

une représentation fidèle de l'architecture et de l'hétérogénéité tumorales, mais leur coût, leur complexité technique et leur faible standardisation limitent leur utilisation dans les criblages à haut débit. Cela dit, des modèles tridimensionnels plus accessibles émergent, fondés sur des biomatériaux ou des systèmes microfluidiques. Ils permettent de mieux modéliser l'écosystème tumoral tout en réduisant les contraintes logistiques. Ces avancées récentes encouragent le développement de modèles *in vitro* simplifiés mais suffisamment représentatifs pour étudier les processus inflammatoires tumoraux (Pasqualini *et al.*, 2020 ; Wang *et al.*, 2023 ; Zhou *et al.*, 2025).

De plus, l'induction de biomarqueurs tels que Snail, COX2, ainsi que l'activation de proMMP-2, observée dans notre étude après traitement des cellules U87 par la ConA, renforce la pertinence de ce modèle pour explorer les mécanismes d'invasion et de plasticité cellulaire associés à la progression du GBM. Ces marqueurs sont classiquement associés à l'agressivité tumorale et à la capacité des cellules cancéreuses à modifier leur phénotype pour s'adapter à des environnements hostiles ou favoriser leur dissémination (Myung *et al.*, 2010 ; Myung *et al.*, 2014 ; Aitchison *et al.*, 2025).

La surexpression de Snail, facteur de transcription central de l'EMT, constitue un indicateur majeur de la plasticité cellulaire. Bien que les cellules U87 ne présentent pas un phénotype épithélial strict, Snail reste activé dans les GBM dans le cadre d'un processus EMT, favorisant la perte des jonctions cellulaires, la réorganisation du cytosquelette, et la migration (Myung *et al.*, 2014). L'activation de Snail est souvent couplée à l'activation des voies pro-inflammatoires, notamment NFκB, qui en régule directement la transcription dans de nombreux cancers, y compris le GBM (Wu *et al.*, 2009). Plusieurs études ont clairement montré que l'inflammation chronique, via l'activation de la voie NFκB, induit l'expression de Snail dans les lignées de gliomes, ce qui favorise la perte des jonctions cellulaires, la migration et l'acquisition de propriétés invasives (Wu *et al.*, 2009 ; Wu et Zhou, 2010 ; Myung *et al.*, 2014 ; Yuan *et al.*, 2019).

Par ailleurs, la forte induction de COX2 par la ConA dans notre modèle reflète une activation inflammatoire soutenue. COX2 est une enzyme inductible impliquée dans la biosynthèse des prostaglandines, en particulier la PGE<sub>2</sub>, qui favorise l'angiogenèse, la survie cellulaire et la suppression de la réponse immunitaire dans le microenvironnement tumoral (Dean et Hooks, 2023 ; Lombardi *et al.*, 2024).

Jiang *et al.* (2016) ont décrit en détail les expériences et observations mettant en évidence le rôle de COX2/PGE<sub>2</sub> dans la progression tumorale : elles compilent des résultats montrant que l'activation de la



voie COX2 favorise l'angiogenèse (via l'augmentation de facteurs comme VEGF), soutient la survie cellulaire (en régulant l'apoptose), et participe à la suppression de la réponse immunitaire antitumorale dans les GBM. Dans les GBM, l'enzyme COX2 est souvent surexprimée. Cette élévation est liée à une tumeur plus agressive, une progression rapide, et une forte résistance aux traitements (Dean *et al.*, 2023 ; Lombardi *et al.*, 2024). L'idée d'inhiber pharmacologiquement COX2 a donc suscité beaucoup d'intérêt. Parmi les inhibiteurs testés, le CXB a montré des résultats prometteurs. Les travaux de Alorfi *et al.* (2024) et Lombardi *et al.* (2024) ont mis en évidence ses effets antitumoraux. Le CXB montre une triple action sur les cellules de glioblastome, diminue leur prolifération, freine leur capacité à envahir, et limite la formation de nouveaux vaisseaux. Il agit en modulant les gènes liés à l'agressivité tumorale. En prime, il semble accroître la sensibilité des cellules aux traitements conventionnels. Ces effets renforcent l'idée que COX2 est une cible thérapeutique pertinente, notamment dans des combinaisons destinées à ralentir la progression du GBM. En parallèle, après exposition à la ConA, l'activation de proMMP-2, la forme latente de MMP-2, suggère un remodelage actif de la ECM. Ce processus est essentiel pour que la tumeur progresse. MMP-2, ou gélatinase A, dégrade le collagène de type IV de la membrane basale. Cela permet aux cellules tumorales de franchir la barrière glio-vasculaire et d'envahir les tissus cérébraux voisins (Nagase, 1998). Cliniquement, une forte expression de MMP-2 est associée à un mauvais pronostic dans les gliomes de haut grade, y compris les glioblastomes. Ramachandran *et al.* (2017) ont rapporté que des niveaux élevés de MMP-2 réduisent la survie, surtout chez les patients au-delà de 8,5 mois de suivi. In vitro, les cellules U87 activent fortement proMMP-2 sous ConA, confirmant la pertinence de ce modèle pour étudier l'invasion tumorale (Sina *et al.*, 2010).

Dans ce contexte, l'identification de nouvelles molécules à potentiel thérapeutique représente un enjeu majeur. L' $\alpha$ -TGG, un gallotanin d'origine naturelle, s'est révélé particulièrement intéressant en raison de ses effets anti-inflammatoires et anti-invasifs observés in vitro sur les cellules U87 exposées à la ConA, un agent pro-inflammatoire bien établi dans les modèles de gliomes (Veilleux *et al.*, 2025). Nos résultats ont montré que l' $\alpha$ -TGG diminue significativement la phosphorylation de deux protéines clés de la signalisation cellulaire : ERK et I $\kappa$ B. La voie MAPK/ERK est bien connue pour sa contribution à la prolifération, à l'inflammation et à l'invasion tumorale dans le GBM. Tandis que la dégradation de I $\kappa$ B libère le facteur de transcription NF $\kappa$ B, favorisant l'expression de gènes pro-inflammatoires (Soubannier et Stifani., 2017). L' $\alpha$ -TGG semble donc interférer précocement avec l'activation de ces voies, suggérant une action rapide et efficace sur la réponse cellulaire au stress inflammatoire.

Nous avons également observé une diminution de l'expression des protéines Snail et COX2 après traitement par l' $\alpha$ TGG. Dans le microenvironnement tumoral, les voies de signalisation inflammatoires, notamment celles activées par TGF- $\beta$ , sont capables d'induire l'expression de Snail dans divers types cellulaires, y compris les cellules gliales (Katsuno *et al.*, 2013 ; Savary *et al.*, 2013). Cette activation favorise un phénotype invasif en lien avec la plasticité cellulaire observée dans les formes agressives de GBM. Ainsi, la régulation transcriptionnelle de Snail contribue à l'établissement d'un sous-type mésenchymateux de GBM, reconnu pour sa forte agressivité (Iser *et al.*, 2017). COX2, quant à elle, est une enzyme pro-inflammatoire qui est surexprimée dans de nombreux types de cancers, y compris dans le glioblastome. Son expression élevée est associée à l'augmentation de la prolifération, de l'invasion et de l'angiogenèse tumorale, ainsi qu'à un mauvais pronostic pour les patients (Dean et Hooks, 2023 ; Lombardi *et al.*, 2024). De plus, COX2 joue un rôle important dans la création d'un microenvironnement tumoral inflammatoire favorisant la progression tumorale dans divers cancers (Stasinopoulos *et al.*, 2013). La réduction conjointe de Snail et COX2 par l' $\alpha$ TGG pourrait donc refléter une double action anti-inflammatoire et anti-invasives sur les cellules tumorales activées.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Veilleux *et al.* (2025), qui ont montré que l' $\alpha$ TGG exerce des effets à la fois anti-inflammatoires et anti-invasifs dans des cellules de U87 de GBM. Leur étude a mis en évidence une réduction significative de l'expression de COX2 et de Snail, accompagnée d'une inhibition de la migration et de la prolifération cellulaire, soutenant l'idée que ce composé peut moduler des voies moléculaires clés impliquées dans l'agressivité tumorale. Ces observations s'inscrivent dans un ensemble plus large de résultats rapportés dans la littérature concernant les effets des polyphénols naturels sur les cellules de GBM. Beylerli *et al.* (2022) ont montré que des polyphénols tels que la curcumine, la quercétine, l'EGCG ou encore le resvératrol possèdent des propriétés anti-tumorales intéressantes : ils réduisent l'activation de voies de signalisation pro-inflammatoires, inhibent la croissance cellulaire, l'angiogenèse et limitent la capacité d'invasion des cellules tumorales.

Certains polyphénols naturels, comme les anthocyanidines, montrent une activité anticancéreuse intéressante. Chez les cellules de GBM, ils peuvent bloquer la EMT, un processus qui favorise l'invasion tumorale. Cette action passe par la voie TGF- $\beta$ /Snail. Ouanouki *et al.* (2017) ont observé que, dans les cellules U-87 MG, les anthocyanidines inhibent l'activation du facteur Snail. Ce qui rend la cellule moins susceptible de migrer ou envahir les tissus voisins. Ce blocage repose sur l'inhibition de la phosphorylation de Smad2, un messenger clé de la voie TGF- $\beta$ . En parallèle, les niveaux de Snail et de la fibronectine

diminuent. Ainsi, ces polyphénols réduisent l'agressivité du GBM, en coupant un maillon crucial de la chaîne pro-inflammatoire et invasive.

D'autres travaux se sont concentrés sur la capacité de polyphénols à réduire l'expression de COX2, une enzyme centrale de l'inflammation tumorale. Zhao *et al.* (2017) ont mis en évidence que la curcumine, seule ou en association avec la chimiothérapie, réduit significativement l'expression de COX-2 dans des cellules de GBM U87 et U118, en inhibant la voie NFκB. Cette diminution de COX-2 est associée à une baisse de la migration et de la prolifération tumorales. De façon complémentaire, Zoi *et al.* (2021) ont montré que la curcumine améliore la sensibilité des cellules de GBM à la chimiothérapie, en partie via l'abaissement de l'expression de COX2 et la suppression de NFκB, confirmant le rôle anti-inflammatoire potentiel de certains polyphénols dans le microenvironnement tumoral.

L'analyse zymographique a révélé que l'αTGG inhibe l'activation de proMMP-2, une métalloprotéinase clé dans la dégradation de la ECM et la migration des cellules de GBM (Hagemann *et al.*, 2012). Dans cette étude, nous avons démontré que l'α-TGG exerce un effet inhibiteur dose-dépendant sur l'activation de proMMP-2 dans les cellules U87 de GBM humain traitées par la ConA. L'activation de la proMMP-2, bien connue pour jouer un rôle majeur dans la dégradation de la matrice extracellulaire et la dissémination des cellules tumorales, a été quasiment abolie à une concentration de 100 μM TGG, entraînant une inhibition d'environ 95% de l'activité enzymatique détectée par zymographie. Cette observation revêt une importance particulière, car les MMPs notamment MMP-2 sont suractivées dans le GBM et contribuent directement à son caractère infiltrant, qui le rend particulièrement résistant aux traitements conventionnels (Kesanakurti *et al.*, 2013). L'activation de la proMMP-2 (forme zymogène) dépend souvent de l'induction de MMPs activatrices comme MT1-MMP et est régulée par des voies inflammatoires telles que NFκB, très actives dans un microenvironnement tumoral agressif comme celui du GBM (Nakada *et al.*, 2001 ; Annabi *et al.*, 2009).

Nos résultats viennent confirmer ceux rapportés par Veilleux *et al.* (2025), qui ont été les premiers à montrer que l'α-TGG inhibe drastiquement l'activation de proMMP-2 dans des modèles cellulaires tumoraux (U87 et MDA-MB-231) soumis à une stimulation pro-inflammatoire exogène, incluant la ConA et le TGF-β. Dans leur étude, l'α-TGG à 100 μM supprimait également la migration cellulaire et l'expression associés à l'EMT, ce qui suggère que l'effet sur proMMP-2 n'est pas isolé mais intégré à un ensemble d'événements anti-invasifs. Ces observations suggèrent que l'α-TGG agit à la fois en amont, sur les voies

de signalisation précoces, et sur les processus effecteurs impliqués dans l'inflammation et l'invasion tumorale. En modulant des acteurs clés de l'EMT comme Snail ou encore les MMPs, l' $\alpha$ -TGG semble capable de freiner la réorganisation phénotypique des cellules tumorales, limitant ainsi leur capacité à migrer et à infiltrer les tissus adjacents. En inhibant ces mécanismes, l' $\alpha$ -TGG pourrait donc contribuer à réduire la dissémination des cellules tumorales, une caractéristique particulièrement critique dans le GBM, dont l'envahissement rapide du tissu cérébral environnant rend tout traitement local largement insuffisant.

Les résultats obtenus au cours de ce travail ont permis de démontrer le potentiel thérapeutique de l' $\alpha$ -TGG comme agent anti-inflammatoire et anti-invasif dans un modèle cellulaire de GBM. En agissant à différents niveaux d'inhibition des voies de signalisation (ERK, NF $\kappa$ B), régulation négative de l'expression de gènes associés à l'EMT (Snail) et à l'inflammation (COX2), ainsi que blocage de l'activation enzymatique de la proMMP-2, l' $\alpha$ -TGG apparaît comme un composé naturel à action multifactorielle. Ces effets sont en accord avec les stratégies thérapeutiques modernes qui visent à cibler plusieurs mécanismes tumoraux simultanément pour limiter la progression et la dissémination des tumeurs. Afin de valider et approfondir ces observations, plusieurs pistes de recherche doivent désormais être envisagées.

Pour valider les effets observés *in vitro*, il sera crucial d'utiliser des modèles animaux de GBM, notamment des xénogreffes orthotopiques ou issues de prélèvements de patients (PDX), qui reproduisent fidèlement la structure histopathologique, la biologie tumorale et les altérations moléculaires du GBM (Alcaniz *et al.*, 2023). Ces modèles permettent non seulement de mesurer la capacité de l' $\alpha$ -TGG à traverser la BHE, mais aussi d'évaluer son impact sur la croissance tumorale, l'invasion cellulaire et la modulation du microenvironnement.

Avant toute application clinique, il est essentiel de caractériser, dès les premières étapes de l'évaluation préclinique, le profil pharmacocinétique et toxicologique de composés tels que l' $\alpha$ -TGG. Cette évaluation vise à déterminer leur biodisponibilité, leur capacité à traverser la BHE et leur sécurité d'emploi. La BHE constitue un obstacle majeur dans le traitement des tumeurs cérébrales, empêchant plus de 98 % des petites molécules et l'ensemble des macromolécules non liposolubles d'atteindre efficacement le tissu tumoral (Wu *et al.*, 2023). À titre d'exemple, l'étude de Huseman *et al.* (2024) a exploré les propriétés d'un nouvel agent imidazotétrazine expérimental, le KL-50, dans le traitement de tumeurs cérébrales résistantes. Dans des modèles murins de GBM, incluant des xénogreffes orthotopiques et sous-cutanées, le composé KL 50 a montré une bonne tolérance et une faible toxicité hématologique (Huseman *et al.*,

2024). Ces résultats rappellent combien les modèles *in vivo* sont essentiels pour anticiper le comportement d'une molécule dans un environnement tumoral complexe. Une démarche similaire serait justifiée pour l'évaluation de l' $\alpha$ TGG. La combinaison thérapeutique est aujourd'hui incontournable en oncologie. Elle vise à augmenter l'efficacité tout en limitant la résistance. Par exemple, l'association de l'isocnicin à la radiothérapie dans les lignées U87 et T98 entraîne une mort cellulaire accrue et perturbe leur cycle (Tsafa *et al.*, 2024). Autre exemple : la cryptotanshinone couplée au TMZ réduit l'expression de STAT3 et MGMT, tout en favorisant l'apoptose (Zhu *et al.*, 2023). Enfin, l'utilisation de nanoparticules permet une délivrance ciblée. Elles traversent mieux la tumeur et renforcent l'effet des traitements classiques (Bartusik-Aebisher *et al.*, 2025).

Pour l' $\alpha$ -TGG, sa combinaison avec TMZ, radiothérapie, voire des agents ciblés ou immunomodulateurs (anti-PD-1, anti-CTLA-4) mérite d'être explorée afin de vérifier l'existence de potentielles synergies. Des protocoles tels que CUSP9v3, qui combinent neuf médicaments repositionnés à faible dose avec le TMZ, illustrent l'efficacité des stratégies multi-cibles dans le traitement du GBM. Un cocktail thérapeutique a été développé pour répondre à l'hétérogénéité des cellules tumorales dans le GBM. *In vitro*, ce mélange réduit la prolifération et la migration des cellules. Chez certains patients en situation « compassionate use », les premiers résultats ont montré une bonne tolérance (Halatsch *et al.*, 2021). Ce qui est remarquable, c'est la convergence observée entre les effets de ce cocktail et ceux de l' $\alpha$ TGG, mais aussi de l'inhibiteur VT107, qui cible la voie Hippo. Dans les cellules U87, VT107 provoque une réduction dose-dépendante de la phosphorylation d'ERK (voie MAPK) et d'I $\kappa$ B. Ces deux régulateurs sont aussi inhibés par l' $\alpha$ TGG. La voie Hippo ne se limite donc pas à contrôler la prolifération. Elle agit également sur les réponses inflammatoires. Quand ses composants clés (comme Mst1/Mst2) sont inactivés, on observe une activation de YAP/TAZ et l'activation en cascade de plusieurs voies inflammatoires : ERK, STAT3, Smad2, I $\kappa$ B et NF $\kappa$ B (Wang *et al.*, 2017 ; Kim *et al.*, 2018). Ce croisement entre signalisation tumorale et inflammation ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques.

Les inhibiteurs de la voie Hippo de type TEAD, comme VT107, agissent principalement en bloquant la palmitoylation des TEADs. Ce blocage réduit la transcription dépendante de YAP/TAZ, et diminue l'expression de gènes cibles comme CTGF, CYR61 et ANKRD1 (Kulkarni *et al.*, 2024). Des études menées sur des lignées mésothéliales mutées pour la voie Hippo révèlent une baisse de prolifération et une modulation de l'expression génique. Cependant, à ce jour, aucune preuve directe n'atteste d'un effet dose-dépendant de VT107 sur la phosphorylation d'ERK ou d'I $\kappa$ B. L'analyse mécanistique montre plutôt

que l'association de VT107 avec un inhibiteur de MEK/ERK, comme le trametinib, produit un effet synergique sur la prolifération. Cela suggère que la voie MAPK/ERK reste active malgré l'inhibition de TEAD, et que sa modulation nécessite une inhibition combinée (Evsen *et al.*, 2023 ; Kulkarni *et al.*, 2024).

Nous avons observé que le VT107 bloque l'activation de la forme latente proMMP-2, limitant potentiellement l'invasion tumorale. Bien que Roy *et al.*, n'aient pas quantifié directement MMP-2, ils ont constaté que les inhibiteurs Hippo, dont VT107, réduisent significativement le mimétisme vasculogénique, un phénomène intimement lié à l'activité protéolytique (CTGF, Cyr61) (Roy *et al.*, 2024). Ces résultats suggèrent que l'action de l' $\alpha$ -TGG sur MMP-2 s'inscrit dans un mécanisme analogue à celui de VT107, où l'inhibition de Hippo entraîne une contrainte sur l'invasion tumorale.

L'analyse transcriptomique a révélé une corrélation élevée ( $r^2 = 0,87$ ) entre les signatures génétiques induites par VT107 et celles observées avec l' $\alpha$ -TGG. Roy *et al.* ont montré que l'inhibition de YAP/TEAD par VT107 diminue l'expression de CTGF et Cyr61 dans les cellules U87 pendant le mimétisme vasculogénique (VM) (Roy *et al.*, 2024). De notre côté, nous constatons une diminution de Snail, COX-2 et de l'activation de MMP-2. Le chevauchement des signatures transcriptionnelles confirme que ces deux agents convergent vers un programme anti-invasif et anti-inflammatoire similaire, bien qu'ils ciblent la voie Hippo de manière différente.

Les effets convergents de l' $\alpha$ TGG et de l'inhibiteur YAP/TEAD VT107 pointent vers une modulation de la voie Hippo. Cette convergence ouvre de nouvelles pistes de recherche. En laboratoire, on observe que VT107 et  $\alpha$ TGG inhibent, de façon dose-dépendante, la phosphorylation de ERK1/2 et d'I $\kappa$ B. Cela indique une répression des voies MAPK et NF $\kappa$ B. Par ailleurs, Wang *et al.* (2020) ont montré que la voie Hippo régule directement NF $\kappa$ B, via la modulation de TRAF6 et IKK. En dérégulant la phosphorylation d'I $\kappa$ B, elle agit comme un interrupteur central. Ces données positionnent VT107 et  $\alpha$ -TGG comme deux composés capables de cibler à la fois les voies de survie et les signaux inflammatoires dans le GBM.

Les lectines de type C, telles que Dectin-1, DC-SIGN et le récepteur au mannose jouent un rôle fondamental dans la reconnaissance des patrons glucidiques (ex : ConA) et dans l'initiation de réponses inflammatoires. Dectin-1 est pro-inflammatoire et favorise l'infiltration, la différenciation macrophagique et la sécrétion d'IL-1 $\beta$  dans la colite et d'autres modèles inflammatoires. Le récepteur au mannose, au contraire, semble atténuer le processus inflammatoire ; leur déficit amplifie l'inflammation intestinale (Rahabi *et al.*, 2020). DC-SIGN est principalement impliqué dans la reconnaissance des mannoses et dans l'induction de l'IL-10,

un modulateur immunosuppresseur, et il peut antagoniser la réponse de Dectin-1 dans certains contextes (Lugo-Villarino *et al.*, 2018). La Dectin-1 et DC-SIGN, reconnaissent la ConA et activent la voie SYK/CARD9, conduisant à l'activation de NFκB (Leibund Gut-Landmann *et al.*, 2007 ; Wagener *et al.*, 2018). Si VT107 et α-TGG modulent cet axe, ils pourraient inhiber la phase initiale d'activation inflammatoire. L'effet n'a pas encore été testé, mais l'importance du SYK/CARD9 dans la signalisation C-lectine soutient ce mécanisme (Wagener *et al.*, 2018).

La voie Hippo est une cascade de signalisation hautement conservée qui régule la croissance cellulaire, l'apoptose et l'homéostasie tissulaire. Son rôle dans le cancer est désormais bien établi, notamment à travers ses effecteurs YAP (Yes-associated protein) et TAZ (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif), qui agissent comme coactivateurs transcriptionnels. Lorsqu'ils échappent à l'inhibition par phosphorylation, YAP/TAZ migrent vers le noyau et induisent l'expression de gènes pro-prolifératifs, pro-inflammatoires et pro-invasifs, illustrant une plasticité transcriptionnelle adaptative au sein du microenvironnement tumoral (Franklin *et al.*, 2023). Dans un contexte inflammatoire, cette plasticité est exacerbée. YAP/TAZ interagissent avec des facteurs de transcription tels que TEADs, AP-1 ou NFκB pour activer des gènes codant pour des cytokines (IL-6, TNF-α), des chimiokines et des métalloprotéinases (MMP-2, MMP-9), favorisant ainsi l'invasion tumorale et la dégradation de la matrice extracellulaire. Cette capacité à remodeler le transcriptome en réponse à des signaux inflammatoires positionne la voie Hippo comme un intégrateur transcriptionnel central dans les cancers inflammatoires (Kodaka *et al.*, 2015). Des études spécifiques sur des cancers comme le carcinome hépatocellulaire ont montré que l'activation aberrante de YAP/TAZ est associée à une reprogrammation transcriptionnelle massive, conférant aux cellules tumorales une plasticité fonctionnelle leur permettant de résister aux traitements, de migrer et de coloniser d'autres tissus. Cette plasticité est également modulée par des signaux mécaniques, métaboliques et immunitaires, renforçant l'idée que la voie Hippo est au cœur de l'adaptabilité tumorale (Shi *et al.*, 2023).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le GBM est l'une des tumeurs cérébrales les plus agressives. Sa croissance rapide, son hétérogénéité moléculaire, sa résistance aux traitements, et son invasion marquée rendent sa prise en charge très complexe. Face aux limites actuelles des traitements, deux axes deviennent prioritaires, identifier de nouvelles cibles moléculaires, et développer des composés innovants. Ces approches pourraient transformer la stratégie thérapeutique, en adaptant les traitements aux spécificités de la tumeur. Dans ce contexte, notre travail a permis de valider un modèle pro-inflammatoire et pro-invasif dans les cellules U87 en utilisant la ConA, agent connu pour induire une réponse inflammatoire. Ce modèle s'est révélé pertinent, notamment par l'activation des voies de signalisation intracellulaires telles que ERK et NF $\kappa$ B/I $\kappa$ B, l'augmentation de l'expression de COX2 et du facteur Snail, ainsi que par l'activation de la proMMP-2, protéase clé de la dégradation de la ECM.

L' $\alpha$ -TGG, un polyphénol naturel, agit sur plusieurs cibles inflammatoires et invasives. Il inhibe l'activation d'ERK et d'I $\kappa$ B, diminue l'expression de COX2 et Snail, et freine l'activation de proMMP-2. Ces effets conjoints en font un candidat intéressant, à la fois anti-inflammatoire et anti-invasif. VT107, de son côté, inhibiteur clinique de la voie Hippo, produit des effets similaires. Il réduit, de façon dose-dépendante, l'activité d'ERK, d'I $\kappa$ B et de proMMP-2. Les profils transcriptomiques induits par VT107 et  $\alpha$ -TGG se recoupent largement, ce qui suggère une convergence d'action sur les voies inflammatoires et invasives via YAP/TAZ.

Enfin, l'ensemble des données expérimentales obtenues dans ce travail soutient l'hypothèse selon laquelle l' $\alpha$ -TGG pourrait agir, au moins en partie, via la modulation de la voie Hippo, en mimant les effets d'inhibiteurs pharmacologiques comme le VT107. Cette hypothèse ouvre de nombreuses pistes de recherche : identification des cibles moléculaires directes de ces composés, exploration des récepteurs en amont (ex. : lectines de type C telles que Dectin-1 ou DC-SIGN) impliqués dans la reconnaissance de la ConA, et étude du rôle de la plasticité transcriptionnelle induite par YAP/TAZ dans un microenvironnement tumoral inflammatoire.

Ces résultats ouvrent plusieurs perspectives, à la fois cliniques et expérimentales. Plusieurs pistes méritent d'être explorées. D'abord, tester  $\alpha$ -TGG et VT107 dans des modèles *in vivo*, comme les xénogreffes orthotopiques ou sous-cutanées, permettrait de valider leur efficacité dans un contexte tumoral



complexe. Ensuite, combiner ces composés à des traitements standards, comme le TMZ ou la radiothérapie, pourrait améliorer la réponse thérapeutique et contourner certains mécanismes de résistances. Autre perspective : les intégrer à des protocoles d'immunothérapie. L'association à des anticorps anti-PD-1 ou anti-CTLA-4 pourrait renforcer la réponse immunitaire. En parallèle, moduler le microenvironnement tumoral, en limitant les cytokines pro-tumorales, contribuerait à réduire l'évasion immunitaire. Enfin, des analyses transcriptomiques aideraient à mieux caractériser les profils moléculaires sensibles à ces traitements. Stratifier les patients selon leur activation de la voie Hippo ou leur signature inflammatoire permettrait d'ajuster les thérapies. Au-delà du GBM, ces composés pourraient aussi être testés dans d'autres cancers où l'inflammation joue un rôle clé : sein, pancréas, côlon.

## RÉFÉRENCES

- Aggarwal, B. B., & Harikumar, K. B. (2009). Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41(1), 40–59.
- Ajongbolo, A. O., & Langhans, S. A. (2025). YAP/TAZ-associated cell signaling - at the crossroads of cancer and neurodevelopmental disorders. *Frontiers in cell and developmental biology*, 13, 1522705.
- Aggarwal, B. B., Gupta, S. C., & Sung, B. (2013). Curcumin: an orally bioavailable blocker of TNF and other pro-inflammatory biomarkers. *British Journal of Pharmacology*, 169(8), 1672–1692.
- Aiello, N. M., & Kang, Y. (2019). Context-dependent EMT programs in cancer metastasis. *Journal of Experimental Medicine*, 216(5), 1016-1026.
- Aitchison, E. E., Dimesa, A. M., & Shoari, A. (2025). Matrix Metalloproteinases in Glioma: Drivers of Invasion and Therapeutic Targets. *BioTech*, 14(2), 28.
- Alcaniz, J., Winkler, L., Dahlmann, M., Becker, M., Orthmann, A., Haybaeck, J., ... & Hoffmann, J. (2023). Clinically relevant glioblastoma patient-derived xenograft models to guide drug development and identify molecular signatures. *Frontiers in Oncology*, 13, 1129627.
- Alcantara Llaguno, S., Sun, D., Pedraza, A. M., Vera, E., Wang, Z., Burns, D. K., & Parada, L. F. (2019). Cell-of-origin susceptibility to glioblastoma formation declines with neural lineage restriction. Alcantara Llaguno, S., Sun, D., Pedraza, A. M., Vera, E., Wang, Z., Burns, D. K., & Parada, L. F. (2019). Cell-of-origin susceptibility to glioblastoma formation declines with neural lineage restriction. *Nat Neurosci*, 22, 545–555., 22, 545–555.
- Alorfi, N. M., Ashour, A. M., Alharbi, A. S., & Alshehri, F. S. (2024). Targeting inflammation in glioblastoma: An updated review from pathophysiology to novel therapeutic approaches. *Medicine*, 103(21), e38245.
- Amjad, M. T., Chidharla, A., & Kasi, A. (2023). Cancer Chemotherapy. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Annabi, B., Laflamme, C., Sina, A., Lachambre, M. P., & Béliveau, R. (2009). A MT1-MMP/NF-kappaB signaling axis as a checkpoint controller of COX-2 expression in CD133+ U87 glioblastoma cells. *Journal of Neuroinflammation*, 6, 8.
- Augello, F. R., Lombardi, F., Ciummo, V., Ciafarone, A., Cifone, M. G., Cinque, B., & Palumbo, P. (2025). COX-2 Inhibition in Glioblastoma Cells Counteracts Resistance to Temozolomide by Inducing Oxidative Stress. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 14(4), 459.
- Baer, J. C., Freeman, A. A., Newlands, E. S., Watson, A. J., Rafferty, J. A., & Margison, G. P. (1993). Depletion of O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase correlates with potentiation of temozolomide and CCNU toxicity in human tumour cells. *British Journal of Cancer*, 67(6), 1299–1302.

- Bahar, M. E., Kim, H. J., & Kim, D. R. (2023). Targeting the RAS/RAF/MAPK pathway for cancer therapy: From mechanism to clinical studies. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 455.
- Bala, R., Madaan, R., Bedi, O., Singh, A., Taneja, A., Dwivedi, R., Figueroa-González, G., Reyes-Hernández, O. D., Quintas-Granados, L. I., Cortés, H., Büsselberg, D., Leyva-Gómez, G., Sharifi-Rad, J., & Cho, W. C. (2025). Targeting the Hippo/YAP Pathway: A Promising Approach for Cancer Therapy and Beyond. *MedComm*, 6(9), e70338.
- Ballabh, P., Braun, A., & Nedergaard, M. (2004). The blood–brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiology of disease*, 16(1), 1–13.
- Barnabei, L., Laplantine, E., Mbongo, W., Rieux-Laucat, F., & Weil, R. (2021). NF-κB: At the Borders of Autoimmunity and Inflammation. *Frontiers in Immunology*, 12, 716469.
- Baroja, I., Kyriakidis, N. C., Halder, G., & Moya, I. M. (2024). Expected and unexpected effects after systemic inhibition of Hippo transcriptional output in cancer. *Nature Communications*, 15(1), 2700.
- Baroja, I., Kyriakidis, N. C., Halder, G., & Moya, I. M. (2024). Expected and unexpected effects after systemic inhibition of Hippo transcriptional output in cancer. *Nature Communications*, 15(1), 2700.
- Barrette, A. M., Ronk, H., Joshi, T., Mussa, Z., Mehrotra, M., Bouras, A., ... & Tsankova, N. M. (2022). Anti-invasive efficacy and survival benefit of the YAP-TEAD inhibitor verteporfin in preclinical glioblastoma models. *Neuro-Oncology*, 24(5), 694–707.
- Bartusik-Aebischer, D., Rogóż, K., & Aebischer, D. (2025). Nanoparticles for glioblastoma treatment. *Pharmaceutics*, 17(6), 688.
- Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., & Yeoh, K. W. (2012). Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *International Journal of Medical Sciences*, 9(3), 193.
- Batista, R., Cruvinel-Carlioni, A., Vinagre, J., Peixoto, J., Catarino, T. A., Campanella, N. C., ... & Lima, J. (2016). The prognostic impact of TERT promoter mutations in glioblastomas is modified by the rs2853669 single nucleotide polymorphism. *International journal of cancer*, 139(2), 414–423.
- Beadle, C., Assanah, M. C., Monzo, P., Vallee, R., Rosenfeld, S. S., & Canoll, P. (2008). The role of myosin II in glioma invasion of the brain. *Molecular biology of the cell*, 19(8), 3357–3368.
- Begg, A. C., Stewart, F. A., & Vens, C. (2011). Strategies to improve radiotherapy with targeted drugs. *Nature Reviews Cancer*, 11(4), 239–253.
- Bell, C. R., Pelly, V. S., Moeini, A., Chiang, S. C., Flanagan, E., Bromley, C. P., ... & Zelenay, S. (2022). Chemotherapy-induced COX-2 upregulation by cancer cells defines their inflammatory properties and limits the efficacy of chemoimmunotherapy combinations. *Nature Communications*, 13(1), 2063.
- Bell, C. R., Pelly, V. S., Moeini, A., Chiang, S. C., Flanagan, E., Bromley, C. P., ... & Zelenay, S. (2022). Chemotherapy-induced COX-2 upregulation by cancer cells defines their inflammatory properties and limits the efficacy of chemoimmunotherapy combinations. *Nature Communications*, 13, 2063.

- Beylerli, O., Beilerli, A., Shumadalova, A., Wang, X., Yang, M., Sun, H., & Teng, L. (2022). Therapeutic effect of natural polyphenols against glioblastoma. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 1036809.
- Bhosale, P. B., Ha, S. E., Vetrivel, P., Kim, H. H., Kim, S. M., & Kim, G. S. (2020). Functions of polyphenols and its anticancer properties in biomedical research: a narrative review. *Translational Cancer Research*, 9(12), 7619–7631.
- Biersack, B. (2019). Alkylating anticancer agents and their relations to microRNAs. *Cancer drug resistance (Alhambra, Calif.)*, 2(1), 1–17.
- Bonavita, E., Bromley, C. P., Jonsson, G., Pelly, V. S., Sahoo, S., Walwyn-Brown, K., ... & Zelenay, S. (2020). Antagonistic Inflammatory Phenotypes Dictate Tumor Fate and Response to Immune Checkpoint Blockade. *Immunity*, 53(6), 1215–1229.e8.
- Bottcher, J. P., Bonavita, E., Chakravarty, P., Blees, H., Cabeza-Cabrerizo, M., Sammiceli, S., ... & Zelenay, S. (2018). NK Cells Stimulate Recruitment of cDC1 into the Tumor Microenvironment Promoting Cancer Immune Control. *Cell*, 172(5), 1022–1037.e14.
- Brat, D. J., Castellano-Sanchez, A. A., Hunter, S. B., Pecot, M., Cohen, C., Hammond, E. H., ... & Van Meir, E. G. (2004). Pseudopalisades in glioblastoma are hypoxic, express extracellular matrix proteases, and are formed by an actively migrating cell population. *Cancer research*, 64(3), 920–927.
- Brennan, C. W., Verhaak, R. G., McKenna, A., Campos, B., Nounshmehr, H., Salama, S. R., ... & TCGA Research Network. (2013). The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell*, 155(2), 462–477.
- Brenner, D. R., Poirier, A., Woods, R. R., Ellison, L. F., Billette, J. M., Demers, A. A., ... & Holmes, E. (2022). Projection du fardeau du cancer au Canada en 2022. *CMAJ : Canadian Medical Association journal*, 194(23), E819–E826.
- Budach, W., Gioioso, D., Taghian, A., Stuschke, M., & Suit, H. D. (1997). Repopulation capacity during fractionated irradiation of squamous cell carcinomas and glioblastomas in vitro. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 39(3), 743–750.
- Burch, P. R. (2012). *The biology of cancer: A new approach*. Springer Science & Business Media.
- Burrell, R. A., McGranahan, N., Bartek, J., & Swanton, C. (2013). The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. *Nature*, 501(7467), 338–345.
- Cabral-Pacheco, G. A., Garza-Veloz, I., Castruita-De la Rosa, C., Ramirez-Acuña, J. M., Perez-Romero, B. A., Guerrero-Rodriguez, J. F., Martinez-Avila, N., & Martinez-Fierro, M. L. (2020). The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), 9739.
- Canadian Cancer Society. (2023). *Canadian cancer statistics 2024*. <https://www.cancer.ca>
- Cargnello, M., & Roux, P. P. (2011). Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75(1), 50–83.

- Casati, G., Giunti, L., Iorio, A. L., Marturano, A., Galli, L., & Sardi, I. (2021). Hippo pathway in regulating drug resistance of glioblastoma. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13431.
- Castillo, C., Grieco, M., D'Amone, S., Lolli, M. G., Ursini, O., & Cortese, B. (2024). Hypoxia effects on glioblastoma progression through YAP/TAZ pathway regulation. *Cancer letters*, 588, 216792.
- Chakrabarti, I., Cockburn, M., Cozen, W., Wang, Y. P., & Preston-Martin, S. (2005). A population-based description of glioblastoma multiforme in Los Angeles County, 1974–1999. *Cancer*, 104(12), 2798–2806.
- Chalhoub, N., & Baker, S. J. (2009). PTEN and the PI3-kinase pathway in cancer. *Annual Review of Pathology*, 4, 127–150.
- Chamberlain, M. C., & Tsao-Wei, D. D. (2004). Salvage chemotherapy with cyclophosphamide for recurrent, temozolomide-refractory glioblastoma multiforme. *Cancer*, 100(6), 1213–1220.
- Chamberlain, M. C., Tsao-Wei, D. D., & Groshen, S. (2006). Salvage chemotherapy with cyclophosphamide for recurrent temozolomide-refractory anaplastic astrocytoma. *Cancer*, 106(1), 172–179.
- Chang, H. A., Ou Yang, R. Z., Su, J. M., Nguyen, T. M. H., Sung, J. M., Tang, M. J., & Chiu, W. T. (2023). YAP nuclear translocation induced by HIF-1 $\alpha$  prevents DNA damage under hypoxic conditions. *Cell Death Discovery*, 9(1), 385.
- Checa, J., & Aran, J. M. (2020). Airway Redox Homeostasis and Inflammation Gone Awry: From Molecular Pathogenesis to Emerging Therapeutics in Respiratory Pathology. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 9317.
- Cheng, C. J., Fujimura, S., Grunberger, D., & Weinstein, I. B. (1972). Interaction of 1-(2-chloroethyl)-3-cyclohexyl-1-nitrosourea (NSC 79037) with nucleic acids and proteins in vivo and in vitro. *Cancer Research*, 32(1), 22–27.
- Chen, X., Wang, J., Liu, S., Han, Q., Zhang, H., & Wu, J. (2025). Research landscape of glioma and inflammation over the past two decades. *Frontiers in immunology*, 16, 1605346.
- Choe, G., Park, J. K., Jouben-Steele, L., Kremen, T. J., Liao, L. M., Vinters, H. V., Cloughesy, T. F., & Mischel, P. S. (2002). Active matrix metalloproteinase 9 expression is associated with primary glioblastoma subtype. *Clinical Cancer Research*, 8(9), 2894–2901.
- Choi, S. H., & Kim, D. Y. (2024). Regulation of Tumor Microenvironment through YAP/TAZ under Tumor Hypoxia. *Cancers*, 16(17), 3030.
- Cox, A. D., Fesik, S. W., Kimmelman, A. C., Luo, J., & Der, C. J. (2014). Drugging the undruggable RAS: Mission possible?. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(11), 828–851.
- Cullen, J. M., & Breen, M. (2016). An overview of molecular cancer pathogenesis, prognosis, and diagnosis. In *Tumors in Domestic Animals* (pp. 1–26).

- Cunningham, R., Jia, S., Purohit, K., Salem, O., Hui, N. S., Lin, Y., Carragher, N. O., & Hansen, C. G. (2023). YAP/TAZ activation predicts clinical outcomes in mesothelioma and is conserved in in vitro model of driver mutations. *Clinical and Translational Medicine*, 13(2), e1190.
- Dadario, N. B., Boyett, D. M., Teasley, D. E., Chabot, P. J., Winans, N. J., Argenziano, M. G., Sperring, C. P., Canoll, P., & Bruce, J. N. (2024). Unveiling the Inflammatory Landscape of Recurrent Glioblastoma through Histological-Based Assessments. *Cancers*, 16(19), 3283.
- Davies, H., Bignell, G. R., Cox, C., Stephens, P., Edkins, S., Clegg, S., ... & Futreal, P. A. (2002). Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*, 417(6892), 949–954.
- Dean, P. T., & Hooks, S. B. (2023). Pleiotropic effects of the COX-2/PGE2 axis in the glioblastoma tumor microenvironment. *Frontiers in Oncology*, 12, 1116014.
- Denardo, D. G., Johansson, M., & Coussens, L. M. (2008). Immune cells as mediators of solid tumor metastasis. *Cancer and Metastasis Reviews*, 27(1), 11–18.
- Denkert, C., Schmitt, W. D., Berger, S., Reles, A., Pest, S., Siegert, A., ... & Hauptmann, S. (2002). Expression of mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 (MKP-1) in primary human ovarian carcinoma. *International Journal of Cancer*, 102(5), 507–513.
- Deryugina, E. I., & Quigley, J. P. (2006). Matrix metalloproteinases and tumor metastasis. *Cancer Metastasis Reviews*, 25(1), 9–34.
- Dibdiakova, K., Majercikova, Z., Galanda, T., Richterova, R., Kolarovszki, B., Racay, P., & Hatok, J. (2024). Relationship between the Expression of Matrix Metalloproteinases and Their Tissue Inhibitors in Patients with Brain Tumors. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5), 2858.
- Diao, W., Tong, X., Yang, C., Zhang, F., Bao, C., Chen, H., Liu, L., Li, M., Ye, F., Fan, Q., Wang, J., & Ou-Yang, Z. C. (2019). Behaviors of Glioblastoma Cells in in Vitro Microenvironments. *Scientific reports*, 9(1), 85.
- Dobra, G., Gyukity-Sebestyén, E., Bukva, M., Harmati, M., Nagy, V., Szabó, Z., ... & Buzás, K. (2023). MMP-9 as Prognostic Marker for Brain Tumours: A Comparative Study on Serum-Derived Small Extracellular Vesicles. *Cancers*, 15(3), 712.
- Doroszko, M., Stockgard, R., Uppman, I., Heinold, J., Voukelatou, F., Mangukiya, H. B., Millner, T. O., Skeppås, M., Ballester Bravo, M., Elgendy, R., Berglund, M., Elfineh, L., Krona, C., Kundu, S., Koltowska, K., Marino, S., Larsson, I., & Nelander, S. (2025). The invasion phenotypes of glioblastoma depend on plastic and reprogrammable cell states. *Nature communications*, 16(1), 6662.
- Duffy, M. J., McGowan, P. M., & Gallagher, W. M. (2008). Cancer invasion and metastasis: changing views. *The Journal of Pathology*, 214(3), 283–293.
- Dupont, S., Morsut, L., Aragona, M., Enzo, E., Giulitti, S., Cordenonsi, M., ... & Piccolo, S. (2011). Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *Nature*, 474(7350), 179–183.

- Eckel-Passow, J. E., Lachance, D. H., Molinaro, A. M., Walsh, K. M., Decker, P. A., Sicotte, H., ... & Jenkins, R. B. (2015). Glioma groups based on 1p/19q, IDH, and TERT promoter mutations in tumors. *New England Journal of Medicine*, 372(26), 2499–2508.
- Ehtesham, M., Mapara, K. Y., Stevenson, C. B., & Thompson, R. C. (2009). CXCR4 mediates the proliferation of glioblastoma progenitor cells. *Cancer Letters*, 274(2), 305–312.
- Einstein, A. J., Moser, K. W., Thompson, R. C., Cerqueira, M. D., & Henzlova, M. J. (2007). Radiation dose to patients from cardiac diagnostic imaging. *Circulation*, 116(11), 1290–1305.
- El Kheir, W., Naasri, S., Marcos, B., Virgilio, N., Paquette, B., Faucheux, N., & Lauzon, M. A. (2024). CXCL12 impact on glioblastoma cells behaviors under dynamic culture conditions: Insights for developing new therapeutic approaches. *PLOS ONE*, 19(12), e0315038.
- Emery, C. M., Vijayendran, K. G., Zipser, M. C., Sawyer, A. M., Niu, L., Kim, J. J., ... & Garraway, L. A. (2009). MEK1 mutations confer resistance to MEK and B-RAF inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(48), 20411–20416.
- Engelman, J. A., Chen, L., Tan, X., Crosby, K., Guimaraes, A. R., Upadhyay, R., ... & Wong, K. K. (2008). Effective use of PI3K and MEK inhibitors to treat mutant Kras G12D and PIK3CA H1047R murine lung cancers. *Nature Medicine*, 14(12), 1351–1356.
- Evan, G. I., & Vousden, K. H. (2001). Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature*, 411(6835), 342–348.
- Evsen, L., Morris, P. J., Thomas, C. J., & Ceribelli, M. (2023). Comparative assessment and high-throughput drug-combination profiling of TEAD-palmitoylation inhibitors in Hippo pathway deficient mesothelioma. *Pharmaceuticals*, 16(12), 1635.
- Farhan, M. (2023). Insights on the role of polyphenols in combating cancer drug resistance. *Biomedicines*, 11(6), 1709.
- Feng, S., Cen, J., Huang, Y., Shen, H., Yao, L., Wang, Y., & Chen, Z. (2011). Matrix metalloproteinase-2 and -9 secreted by leukemic cells increase the permeability of blood-brain barrier by disrupting tight junction proteins. *PLOS ONE*, 6(8), e20599.
- Fidler, I. (2003). Pathogénèse des métastases cancéreuses : l'hypothèse « semence et terreau » revisitée. *Nature Reviews Cancer*, 3, 453–458.
- Filho, A. M., Znaor, A., Sunguc, C., Zahwe, M., Marcos-Gragera, R., Figueroa, J. D., & Bray, F. (2025). Cancers of the brain and central nervous system: global patterns and trends in incidence. *Journal of Neuro-Oncology*, 172(3), 567–578.
- Francisco Fernandez, M., Charfi, C., Piloto-Ferrer, J., González, M. L., Lamy, S., & Annabi, B. (2019). Targeting ovarian cancer cell cytotoxic drug resistance phenotype with *Xanthium strumarium* L. extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 6073019.
- Franklin, J. M., Wu, Z., & Guan, K. L. (2023). Insights into recent findings and clinical application of YAP and TAZ in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 23(8), 512–525.

- Fruman, D. A., Chiu, H., Hopkins, B. D., Bagrodia, S., Cantley, L. C., & Abraham, R. T. (2017). The PI3K Pathway in Human Disease. *Cell*, 170(4), 605–635.
- Fu, M., Hu, Y., Lan, T., Guan, K. L., Luo, T., & Luo, M. (2022). The Hippo signalling pathway and its implications in human health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 376.
- Fu, W., Hou, X., Dong, L., & Hou, W. (2023). Roles of STAT3 in the pathogenesis and treatment of glioblastoma. *Frontiers in cell and developmental biology*, 11, 1098482.
- Fulci, G., & Ishii, N., & Van Meir, E. G. (1998). p53 and Brain Tumors: From Gene Mutations to Gene Therapy. *Brain Pathology*, 8(3), 599–613.
- Gaudreault, R., van de Ven, T. G., & Whitehead, M. A. (2002). Molecular modeling of poly(ethylene oxide) model cofactors; 1,3,6-tri-O-galloyl-beta-D-glucose and corilagin. *Journal of Molecular Modeling*, 8(3), 73–80.
- Ghaboura, N. (2025). Unraveling the Hippo pathway: YAP/TAZ as central players in cancer metastasis and drug resistance. *EXCLI Journal*, 24, 612–637.
- Glaviano, A., Foo, A. S. C., Lam, H. Y., Yap, K. C. H., Jacot, W., Jones, R. H., ... & Kumar, A. P. (2023). PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer. *Molecular Cancer*, 22, 138.
- Gole, B., Huszthy, P. C., Popović, M., Jeruc, J., Ardebili, Y. S., Bjerkvig, R., & Lah, T. T. (2012). The regulation of cysteine cathepsins and cystatins in human gliomas. *International Journal of Cancer*, 131(8), 1779–1789.
- Greaves, M., & Maley, C. C. (2012). Clonal evolution in cancer. *Nature*, 481(7381), 306–313.
- Greenberg, M. E., Greene, L. A., & Ziff, E. B. (1985). Nerve growth factor and epidermal growth factor induce rapid transient changes in proto-oncogene transcription in PC12 cells. *Journal of Biological Chemistry*, 260(26), 14101–14110.
- Griffin, C. A., Burger, P., Morsberger, L., Yonescu, R., Swierczynski, S., Weingart, J. D., & Murphy, K. M. (2006). Identification of der(1;19)(q10;p10) in five oligodendrogliomas suggests mechanism of concurrent 1p and 19q loss. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 65(10), 988–994.
- Guo, Y. J., Pan, W. W., Liu, S. B., Shen, Z. F., Xu, Y., & Hu, L. L. (2020). ERK/MAPK signalling pathway and tumorigenesis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 19(3), 1997–2007.
- Gutman, S. I., Piper, M., Grant, M. D., Basch, E., Olinisky, D. M., & Aronson, N. (2013). *Progression-free survival: What does it mean for psychological well-being or quality of life?* Agency for Healthcare Research and Quality (US).
- Haase, S., Garcia-Fabiani, M. B., Carney, S., Altshuler, D., Núñez, F. J., Méndez, F. M., Núñez, F., Lowenstein, P. R., & Castro, M. G. (2018). Mutant ATRX: uncovering a new therapeutic target for glioma. *Expert opinion on therapeutic targets*, 22(7), 599–613.



- Hagemann, C., Anacker, J., Ernestus, R. I., & Vince, G. H. (2012). A complete compilation of matrix metalloproteinase expression in human malignant gliomas. *World Journal of Clinical Oncology*, 3(5), 67–79.
- Halatsch, M. E., Dwucet, A., Schmidt, C. J., Mühlnickel, J., Heiland, T., Zeiler, K., ... & Karpel-Massler, G. (2021). In vitro and clinical compassionate use experiences with the drug-repurposing approach CUSP9v3 in glioblastoma. *Pharmaceuticals*, 14(12), 1241.
- Han, H., Huang, Z., Xu, C., Seo, G., An, J., Yang, B., ... & Wang, W. (2024). Functional annotation of the Hippo pathway somatic mutations in human cancers. *Nature Communications*, 15(1), 10106.
- Han, S., Liu, Y., Cai, S. J., Qian, M., Ding, J., Larion, M., ... & Yang, C. (2020). IDH mutation in glioma: molecular mechanisms and potential therapeutic targets. *British Journal of Cancer*, 122(11), 1580–1589.
- Hauptmann, M., Byrnes, G., Cardis, E., Bernier, M. O., Blettner, M., Dabin, J., Engels, H., Istad, T. S., Johansen, C., Kaijser, M., Kjaerheim, K., Journy, N., Meulepas, J. M., Moissonnier, M., Ronckers, C., Thierry-Chef, I., Le Cornet, L., Jahnen, A., Pokora, R., Bosch de Basea, M., ... Kesminiene, A. (2023). Brain cancer after radiation exposure from CT examinations of children and young adults: results from the EPI-CT cohort study. *The Lancet. Oncology*, 24(1), 45–53.
- Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2008). Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell*, 132(3), 344–362.
- Herrlinger, U., Tzaridis, T., Mack, F., Steinbach, J. P., Schlegel, U., Sabel, M., ... & Society, C. (2019). Lomustine-temozolomide combination therapy versus standard temozolomide therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CeTeG/NOA-09): A randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet*, 393(10172), 678–688.
- Hingorani, M., Colley, W. P., Dixit, S., & Beavis, A. M. (2012). Hypofractionated radiotherapy for glioblastoma: Strategy for poor-risk patients or hope for the future? *British Journal of Radiology*, 85(1017), e770–e781.
- Hodge, D. R., Hurt, E. M., & Farrar, W. L. (2005). The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. *European Journal of Cancer*, 41(16), 2502–2512.
- Hu, B., Jarzynka, M. J., Guo, P., Imanishi, Y., Schlaepfer, D. D., & Cheng, S. Y. (2006). Angiopoietin 2 induces glioma cell invasion by stimulating matrix metalloprotease 2 expression through the alphavbeta1 integrin and focal adhesion kinase signaling pathway. *Cancer Research*, 66(2), 775–783.
- Huang, W. C., & Hung, M. C. (2013). Beyond NF-κB activation: nuclear functions of IκB kinase α. *Journal of Biomedical Science*, 20(1), 3.
- Huldani, H., Rashid, A. I., Turaev, K. N., Opulencia, M. J. C., Abdelbasset, W. K., Bokov, D. O., ... & Ahmadi, S. H. (2022). Concanavalin A as a promising lectin-based anti-cancer agent: The molecular mechanisms and therapeutic potential. *Cell Communication and Signaling*, 20(1), 167.

- Huseman, E. D., Lo, A., Fedorova, O., Elia, J. L., Gueble, S. E., Lin, K., ... & Herzon, S. B. (2024). Mechanism of action of KL-50, a candidate imidazotetrazine for the treatment of drug-resistant brain cancers. *Journal of the American Chemical Society*, 146(27), 18241–18252.
- Iser, I. C., Pereira, M. B., Lenz, G., & Wink, M. R. (2017). The epithelial-to-mesenchymal transition-like process in glioblastoma: An updated systematic review and in silico investigation. *Medicinal Research Reviews*, 37(2), 271–313.
- Itoh, Y. (2024). Investigation of MT1-MMP Activity in Cancer Cells. In *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2747, 151–166.
- Jastaniyah, N., Murtha, A., Pervez, N., Le, D., Roa, W., Patel, S., ... & Abdulkarim, B. (2013). Phase I study of hypofractionated intensity modulated radiation therapy with concurrent and adjuvant temozolomide in patients with glioblastoma multiforme. *Radiation Oncology*, 8(1), 1–9.
- Jeising, S., Geerling, G., Guthoff, R., Hänggi, D., Sabel, M., Rapp, M., & Nickel, A. C. (2022). In-Vitro Use of Verteporfin for Photodynamic Therapy in Glioblastoma. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, 40, 103049.
- Jenkins, R. B., Blair, H., Ballman, K. V., Giannini, C., Arusell, R. M., Law, M., ... & Buckner, J. C. (2006). A t(1;19)(q10;p10) mediates the combined deletions of 1p and 19q and predicts a better prognosis of patients with oligodendroglioma. *Cancer Research*, 66(20), 9852–9861.
- Jessen, K. R. (2004). Glial cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(10), 1861–1881.
- Jiang, J., Qiu, J., Li, Q., & Shi, Z. (2017). Prostaglandin E2 signaling: Alternative target for glioblastoma?. *Trends in Cancer*, 3(2), 75–78.
- Jin, K., Qian, C., Lin, J., & Liu, B. (2023). Cyclooxygenase-2-Prostaglandin E2 pathway: A key player in tumor-associated immune cells. *Frontiers in Oncology*, 13, 1099811.
- Juhász, S., Elbakry, A., Mathes, A., & Löbrich, M. (2018). ATRX Promotes DNA Repair Synthesis and Sister Chromatid Exchange during Homologous Recombination. *Molecular cell*, 71(1), 11–24.e7.
- Kato, T., Tanaka, I., Huang, H., Okado, S., Imamura, Y., Nomata, Y., ... & Chen-Yoshikawa, T. F. (2025). Molecular mechanisms of tumor progression and novel therapeutic and diagnostic strategies in mesothelioma. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(9), 4299.
- Kaushik, I., Rajan, R., Gaikwad, S., Eltokhy, M. A., & Srivastava, S. K. (2025). Moxidectin Unravels the Role of the Hippo-YAP Pathway in Maintaining Immunity of Glioblastoma Multiforme. *Molecular cancer therapeutics*, 24(8), 1156–1170.
- Khalaf, K., Hana, D., Chou, J. T., Singh, C., Mackiewicz, A., & Kaczmarek, M. (2021). Aspects of the tumor microenvironment involved in immune resistance and drug resistance. *Frontiers in Immunology*, 12, 656364.
- Kim, J. E., Patel, M., Ruzevick, J., Jackson, C. M., & Lim, M. (2014). STAT3 Activation in Glioblastoma: Biochemical and Therapeutic Implications. *Cancers*, 6(1), 376–395.

- Kim, H., Son, S., Ko, Y., Lim, H., Lee, J., Lee, K. M., & Shin, I. (2024). CYR61 confers chemoresistance by upregulating survivin expression in triple-negative breast cancer. *Carcinogenesis*, 45(7), 510–519.
- Kim, K., & Khang, D. (2020). Past, present, and future of anticancer nanomedicine. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 5719–5743.
- Kim, W., Khan, S. K., Liu, Y., Xu, R., Park, O., He, Y., ... & Yang, Y. (2018). Hepatic Hippo signaling inhibits protumoural microenvironment to suppress hepatocellular carcinoma. *Gut*, 67(9), 1692–1703.
- Kleihues, P., Burger, P. C., Collins, V. P., & Cavenee, W. K. (2000). *Pathology and genetics of tumours of the nervous system*. IARC Press, Lyon.
- Knowles, M. A. (2006). Molecular subtypes of bladder cancer: Jekyll and Hyde or chalk and cheese? *Carcinogenesis*, 27(3), 361–373.
- Kodaka, M., & Hata, Y. (2015). The mammalian Hippo pathway: Regulation and function of YAP1 and TAZ. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(2), 285–306.
- Koh, H. J., Lee, S. M., Son, B. G., Lee, S. H., Ryoo, Z. Y., Chang, K. T., ... & Huh, T. L. (2004). Cytosolic NADP<sup>+</sup>-dependent isocitrate dehydrogenase plays a key role in lipid metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, 279(38), 39968–39974.
- Komatsu, K., Nakanishi, Y., Nemoto, N., Hori, T., Sawada, T., & Kobayashi, M. (2004). Expression and quantitative analysis of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human gliomas. *Brain Tumor Pathology*, 21(3)
- Kulkarni, A., Mohan, V., Tang, T. T., Post, L., Chan, Y. C., Manning, M., ... & Harvey, K. F. (2024). Identification of resistance mechanisms to small-molecule inhibition of TEAD-regulated transcription. *EMBO Reports*, 25(9), 3944–3969.
- Langner, E., & Rzeski, W. (2012). Dietary derived compounds in cancer chemoprevention. *Contemporary Oncology*, 16(5), 394–400.
- Lapante, M., & Sabatini, D. M. (2012). mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*, 149(2), 274–293.
- Lapointe, S., Perry, A., & Butowski, N. A. (2018). Primary brain tumours in adults. *The Lancet*, 392(10145), 432–446.
- Laronha, H., & Caldeira, J. (2020). Structure and Function of Human Matrix Metalloproteinases. *Cells*, 9(5), 1076.
- Lee, N. H., Kim, S. J., & Hyun, J. (2021). MicroRNAs regulating Hippo-YAP signaling in liver cancer. *Biomedicines*, 9(4), 347.
- Lee, S. H., Jo, S. H., Lee, S. M., Koh, H. J., Song, H., Park, J. W., ... & Huh, T. L. (2004). Role of NADP<sup>+</sup>-dependent isocitrate dehydrogenase (NADP<sup>+</sup>-ICDH) on cellular defence against oxidative injury by  $\gamma$ -rays. *International Journal of Radiation Biology*, 80(9), 635–642.

- Lee, Y., Kwon, Y. J., Jang, Y. J. M., Ma, Y. J. M. S., Jun, Y. J. M. S. K. Y., Yoon, Y. J. M. S. K. Y. M., & Ye, Y. J. M. S. K. Y. M. S. (2024). Glioblastoma in a paper industry worker exposed to high concentrations of formaldehyde: a case report. *Annals of Occupational and Environmental Medicine*, 36, e17.
- LeibundGut-Landmann, S., Gross, O., Robinson, M. J., Osorio, F., Slack, E. C., Tsoni, S. V., ... & Reis e Sousa, C. (2007). Syk- and CARD9-dependent coupling of innate immunity to the induction of T helper cells that produce interleukin 17. *Nature Immunology*, 8(6), 630–638.
- Leroy, B., Fournier, J. L., Ishioka, C., Monti, P., Inga, A., Fronza, G., & Soussi, T. (2013). The TP53 website: an integrative resource centre for the TP53 mutation database and TP53 mutant analysis. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D962–D969.
- Li, J., Yen, C., Liaw, D., Podsypanina, K., Bose, S., Wang, S. I., ... & Parsons, R. (1997). PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science*, 275(5308), 1943–1947.
- Li, S., Hao, L., Li, N., Hu, X., Yan, H., Dai, E., & Shi, X. (2024). Targeting the Hippo/YAP1 signaling pathway in hepatocellular carcinoma: From mechanisms to therapeutic drugs (Review). *International Journal of Oncology*, 65(3), 88.
- Li, W. W., Yu, J. Y., Xu, H. L., & Bao, J. K. (2011). Concanavalin A: A potential anti-neoplastic agent targeting apoptosis, autophagy and anti-angiogenesis for cancer therapeutics. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 414(2), 282–286.
- Li, X., Jiang, W., Dong, S., Li, W., Zhu, W., & Zhou, W. (2022). STAT3 Inhibitors: A Novel Insight for Anticancer Therapy of Pancreatic Cancer. *Biomolecules*, 12(10), 1450.
- Lin, C. H., Pelissier, F. A., Zhang, H., Lakins, J., Weaver, V. M., Park, C., & LaBarge, M. A. (2015). Microenvironment rigidity modulates responses to the HER2 receptor tyrosine kinase inhibitor lapatinib via YAP and TAZ transcription factors. *Molecular Biology of the Cell*, 26(22), 3946–3953.
- Lito, P., Rosen, N., & Solit, D. B. (2013). Tumor adaptation and resistance to RAF inhibitors. *Nature Medicine*, 19(11), 1401–1409.
- Liu, C., Sage, J. C., Miller, M. R., Verhaak, R. G., Hippenmeyer, S., Vogel, H., ... & Zong, H. (2011). Mosaic analysis with double markers reveals tumor cell of origin in glioma. *Cell*, 146(2), 209–221.
- Liu, P., Cheng, H., Roberts, T. M., & Zhao, J. J. (2009). Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, 8(8), 627–644.
- Liu, Y., Hao, H., & Hou, T. (2022). Concanavalin A-induced autoimmune hepatitis model in mice: Mechanisms and future outlook. *Open Life Sciences*, 17(1), 91–101.
- Liu, Y., Xu, L., Dou, Y., & He, Y. (2025). AXL: shapers of tumor progression and immunosuppressive microenvironments. *Molecular Cancer*, 24(1), 11.
- Llano, E., Pendás, A. M., Freije, J. P., Nakano, A., Knäuper, V., Murphy, G., & López-Otín, C. (1999). Identification and characterization of human MT5-MMP, a new membrane-bound activator of progelatinase A overexpressed in brain tumors. *Cancer Research*, 59(11), 2570–2576.

- Lombardi, F., Augello, F. R., Artone, S., Ciafarone, A., Topi, S., Cifone, M. G., ... & Palumbo, P. (2024). Involvement of cyclooxygenase-2 in establishing an immunosuppressive microenvironment in tumorspheres derived from TMZ-resistant glioblastoma cell lines and primary cultures. *Cells*, 13(3), 258.
- Lombardi, F., Augello, F. R., Artone, S., Gugu, M. K., Cifone, M. G., Cinque, B., & Palumbo, P. (2022). Up-Regulation of Cyclooxygenase-2 (COX-2) Expression by Temozolomide (TMZ) in Human Glioblastoma (GBM) Cell Lines. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1545.
- Lopes, J., Baudin, C., Leuraud, K., Klovov, D., & Bernier, M. O. (2022). Ionizing radiation exposure during adulthood and risk of developing central nervous system tumors: systematic review and meta-analysis. *Scientific reports*, 12(1), 16209.
- Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., Von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., ... & Ellison, D. W. (2016). The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathologica*, 131(6), 803–820.
- Louis, D. N., Perry, A., Wesseling, P., Brat, D. J., Cree, I. A., Figarella-Branger, D., ... & Ellison, D. W. (2021). The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Neuro-Oncology*, 23(8), 1231–1251.
- Louis, D. N., Pomeroy, S. L., & Cairncross, J. G. (2002). Focus on central nervous system neoplasia. *Cancer Cell*, 1(2), 125–128.
- Low, K. C., & Tergaonkar, V. (2013). Telomerase: central regulator of all of the hallmarks of cancer. *Trends in Biochemical Sciences*, 38(9), 426–434.
- Maeda-Yamamoto, M., Suzuki, N., Sawai, Y., Miyase, T., Sano, M., Hashimoto-Ohta, A., & Isemura, M. (2003). Association of suppression of extracellular signal-regulated kinase phosphorylation by epigallocatechin gallate with the reduction of matrix metalloproteinase activities in human fibrosarcoma HT1080 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7), 1858–1863.
- Mantovani, A., Allavena, P., Sica, A., & Balkwill, F. (2008). Cancer-related inflammation. *Nature*, 454(7203), 436–444.
- Mao, H., Zhao, X., & Sun, S. C. (2025). NF-κB in inflammation and cancer. *Cellular & molecular immunology*, 22(8), 811–839.
- Marshall, C. J. (1995). Specificity of receptor tyrosine kinase signaling: transient versus sustained extracellular signal-regulated kinase activation. *Cell*, 80(2), 179–185.
- Meng, Z., Moroishi, T., & Guan, K. L. (2016). Mechanisms of Hippo pathway regulation. *Genes & Development*, 30(1), 1–17.
- Mercado, N. B., Real, J. N., Kaiserman, J., Panagioti, E., Cook, C. H., & Lawler, S. E. (2024). Clinical implications of cytomegalovirus in glioblastoma progression and therapy. *NPJ precision oncology*, 8(1), 213.

- Mercurio, L., Ajmone-Cat, M. A., Cecchetti, S., Ricci, A., Bozzuto, G., Molinari, A., ... & Minghetti, L. (2016). Targeting CXCR4 by a selective peptide antagonist modulates tumor microenvironment and microglia reactivity in a human glioblastoma model. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 35, 55.
- Merlo, L. M., Pepper, J. W., Reid, B. J., & Maley, C. C. (2006). Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nature Reviews Cancer*, 6(12), 924–935.
- Miller, T. E., El Farran, C. A., Couturier, C. P., Chen, Z., D'Antonio, J. P., Verga, J., Villanueva, M. A., Castro, L. N. G., Tong, Y. E., Saadi, T. A., Chiocca, A. N., Fischer, D. S., Heiland, D. H., Guerriero, J. L., Petrecca, K., Suva, M. L., Shalek, A. K., & Bernstein, B. E. (2023). Programs, Origins, and Niches of Immunomodulatory Myeloid Cells in Gliomas. *bioRxiv: the preprint server for biology*, 2023.10.24.563466.
- Mitsiogianni, M., Koutsidis, G., Mavroudis, N., Trafalis, D. T., Botaitis, S., Franco, R., ... & Panayiotidis, M. I. (2019). The role of isothiocyanates as cancer chemo-preventive, chemo-therapeutic and anti-melanoma agents. *Antioxidants*, 8(4), 106.
- Mittal, V. (2018). Epithelial Mesenchymal Transition in Tumor Metastasis. *Annual Review of Pathology*, 13, 395–412.
- Miyazaki, T., Uemae, Y., & Ishikawa, E. (2017). CXCL12/CXCR4 signaling in glioma stem cells— prospects for therapeutic intervention. *Translational Cancer Research*, 6(Suppl 2), S434–S437.
- Mohanty, S., Chen, Z., Li, K., Morais, G. R., Klockow, J., Yerneni, K., ... & Daldrup-Link, H. E. (2017). A Novel Theranostic Strategy for MMP-14-Expressing Glioblastomas Impacts Survival. *Molecular Cancer Therapeutics*, 16(9), 1909–1921.
- Morgillo, F., Dallio, M., Della Corte, C. M., Gravina, A. G., Viscardi, G., Loguercio, C., ... & Federico, A. (2018). Carcinogenesis as a Result of Multiple Inflammatory and Oxidative Hits: a Comprehensive Review from Tumor Microenvironment to Gut Microbiota. *Neoplasia*, 20(7), 721–733.
- Muller, P., & Vousden, K. (2013). p53 mutations in cancer. *Nature Cell Biology*, 15, 2–8.
- Myung, J. K., Choi, S. A., Kim, S. K., Wang, K. C., & Park, S. H. (2014). Snail plays an oncogenic role in glioblastoma by promoting epithelial mesenchymal transition. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 7(5), 1977–1987.
- Myung, J., Cho, B. K., Kim, Y. S., & Park, S. H. (2010). Snail and COX-2 expressions are associated with WHO tumor grade and survival rate of patients with gliomas. *Neuropathology*, 30(3), 224–231.
- Nagase, H. (1998). Cell surface activation of progelatinase A (proMMP-2) and cell migration. *Cell Research*, 8(3), 179–186.
- Nakada, M., Kita, D., Futami, K., Yamashita, J., Fujimoto, N., Sato, H., & Okada, Y. (2001). Roles of membrane type 1 matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinases 2 in invasion and dissemination of human malignant glioma. *Journal of Neurosurgery*, 94(3), 464–473.

- Nguyen, C. D. K., & Yi, C. (2019). YAP/TAZ Signaling and Resistance to Cancer Therapy. *Trends in Cancer*, 5(5), 283–296.
- Nigam, M., Mishra, A. P., Deb, V. K., Dimri, D. B., Tiwari, V., Bungau, S. G., Bungau, A. F., & Radu, A. F. (2023). Evaluation of the association of chronic inflammation and cancer: Insights and implications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 164, 115015.
- Nishida, A., & Andoh, A. (2025). The Role of Inflammation in Cancer: Mechanisms of Tumor Initiation, Progression, and Metastasis. *Cells*, 14, 488.
- Noman, M. Z., Desantis, G., Janji, B., Hasmim, M., Karray, S., Dessen, P., ... & Chouaib, S. (2014). PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 $\alpha$ , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation. *Journal of Experimental Medicine*, 211(5), 781–790.
- Noorbakhsh Varnosfaderani, S. M., Ebrahimzadeh, F., Akbari Oryani, M., Khalili, S., Almasi, F., Mosaddeghi Heris, R., ... & Alagheband Bahrami, A. (2024). Potential promising anticancer applications of  $\beta$ -glucans: A review. *Bioscience Reports*, 44(1), BSR20231686.
- Ohgaki, H., & Kleihues, P. (2007). Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *The American Journal of Pathology*, 170(5), 1445–1453.
- Ohgaki, H., Dessen, P., Jourde, B., Horstmann, S., Nishikawa, T., Di Patre, P. L., ... & Kleihues, P. (2004). Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Research*, 64(19), 6892–6899.
- Olowe, T. G., Oyovwi, M. O., Nwangwa, K. E., Ohwin, E. P., & Oghenetega, O. B. (2024). Propriétés cytotoxiques du cyclophosphamide : analyse de ses effets mécanistiques sur les fonctions gonadiques masculines. *Journal of Exploratory Research in Pharmacology*, 9(2), 106–115.
- Organisation mondiale de la santé (OMS). (2023). *Cancer fact sheet*. <https://www.who.int>
- Ostrom, Q. T., et al. (2014). The epidemiology of glioma in adults: a "state of the science" review. *Neuro-Oncology*, 16(7), 896–913.
- Ostrom, Q. T., Gittleman, H., Farah, P., Ondracek, A., Chen, Y., Wolinsky, Y., ... & Barnholtz-Sloan, J. S. (2013). CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006–2010. *Neuro-Oncology*, 15(suppl\_2), ii1–ii56.
- Ostrowski, R. P., Acewicz, A., He, Z., Pucko, E. B., & Godlewski, J. (2025). Environmental Hazards and Glial Brain Tumors: Association or Causation? *International journal of molecular sciences*, 26(15), 7425.
- Ou, L., Zhu, Z., Hao, Y., Li, Q., Liu, H., Chen, Q., Peng, C., Zhang, C., Zou, Y., Jia, J., Li, H., Wang, Y., Su, B., Lai, Y., Chen, M., Chen, H., Feng, Z., Zhang, G., & Yao, M. (2024). 1,3,6-Trigalloylglucose: A Novel Potent Anti-*Helicobacter pylori* Adhesion Agent Derived from Aqueous Extracts of *Terminalia chebula* Retz. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 29(5), 1161.
- Overall, C. M., & López-Otín, C. (2002). Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nature Reviews. Cancer*, 2(9), 657–672.

- Pagano, C., Navarra, G., Coppola, L., Savarese, B., Avilia, G., Giarra, A., Pagano, G., Marano, A., Trifuoggi, M., Bifulco, M., & Laezza, C. (2023). Impacts of Environmental Pollution on Brain Tumorigenesis. *International journal of molecular sciences*, 24(5), 5045.
- Pang, Y., Chen, X., Ji, T., Cheng, M., Wang, R., Zhang, C., Liu, M., Zhang, J., & Zhong, C. (2023). The Chromatin Remodeler ATRX: Role and Mechanism in Biology and Cancer. *Cancers*, 15(8), 2228.
- Pandey, P., Lakhanpal, S., Mahmood, D., Kang, H. N., Kim, B., Kang, S., ... & Kim, B. (2025). An updated review summarizing the anticancer potential of flavonoids via targeting NF- $\kappa$ B pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1513422.
- Parsons, D. W., Jones, S., Zhang, X., Lin, J. C., Leary, R. J., Angenendt, P., ... & Kinzler, K. W. (2008). An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*, 321(5897), 1807–1812.
- Pasqualini, C., Kozaki, T., Bruschi, M., Nguyen, T. H. H., Minard-Colin, V., Castel, D., ... & Ginhoux, F. (2020). Modeling the interaction between the microenvironment and tumor cells in brain tumors. *Neuron*, 108(6), 1025–1044.
- Pauvert, Y., Gaudreault, R., & Charette, A. B. (2023). Improved total synthesis of 1,3,6-Trigalloyl- $\beta$ -D-glucose from glucose. *Synthesis*, 55(15), 2325–2332.
- Pearson, G., Robinson, F., Beers Gibson, T., Xu, B. E., Karandikar, M., Berman, K., & Cobb, M. H. (2001). Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocrine Reviews*, 22(2), 153–183.
- Perkins, N. D., & Gilmore, T. D. (2006). Good cop, bad cop: the different faces of NF-kappaB. *Cell Death and Differentiation*, 13(5), 759–772.
- Picariello, H. S., Kenchappa, R. S., Rai, V., Crish, J. F., Dovas, A., Pogoda, K., ... & Rosenfeld, S. S. (2019). Myosin IIA suppresses glioblastoma development in a mechanically sensitive manner. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(31), 15550–15559.
- Picart, T., Armoiry, X., Berthiller, J., Dumot, C., Pelissou-Guyotat, I., Signorelli, F., & Guyotat, J. (2017). Is fluorescence-guided surgery with 5-ALA in eloquent areas for malignant gliomas a reasonable and useful technique? *Neurochirurgie*, 63, 189–196.
- Piccolo, S., Dupont, S., & Cordenonsi, M. (2014). The biology of YAP/TAZ: hippo signaling and beyond. *Physiological Reviews*, 94(4), 1287–1312.
- Pijet, B., Konopka, A., Rejmak, E., Stefaniuk, M., Khomiak, D., Bulska, E., Pikul, S., & Kaczmarek, L. (2020). The matrix metalloproteinase inhibitor marimastat inhibits seizures in a model of kainic acid-induced status epilepticus. *Scientific Reports*, 10(1), 21314.
- Podlevsky, J. D., & Chen, J. J. L. (2012). It all comes together at the ends: telomerase structure, function, and biogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 730(1–2), 3–11.
- Pontes, B., & Mendes, F. A. (2023). Mechanical properties of glioblastoma: Perspectives for YAP/TAZ signaling pathway and beyond. *Diseases*, 11(2), 86.



- Porta, C., Paglino, C., & Mosca, A. (2014). Targeting PI3K/Akt/mTOR Signaling in Cancer. *Frontiers in Oncology*, 4, 64.
- Pratt, J., Roy, R., & Annabi, B. (2012). Concanavalin-A-induced autophagy biomarkers requires membrane type-1 matrix metalloproteinase intracellular signaling in glioblastoma cells. *Glycobiology*, 22(9), 1245–1255.
- Prior, I. A., Lewis, P. D., & Mattos, C. (2012). A comprehensive survey of Ras mutations in cancer. *Cancer Research*, 72(10), 2457–2467.
- Pu, D., Yin, L., Huang, L., Qin, C., Zhou, Y., Wu, Q., ... & Li, L. (2021). Cyclooxygenase-2 Inhibitor: A Potential Combination Strategy With Immunotherapy in Cancer. *Frontiers in Oncology*, 11, 637504.
- Qiu, J., Shi, Z., & Jiang, J. (2017). Cyclooxygenase-2 in glioblastoma multiforme. *Drug discovery today*, 22(1), 148–156.
- Quail, D. F., & Joyce, J. A. (2013). Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nature Medicine*, 19(11), 1423–1437.
- Rahabi, M., Jacquemin, G., Prat, M., Meunier, E., AlaEddine, M., Bertrand, B., ... & Coste, A. (2020). Divergent roles for macrophage C-type lectin receptors, Dectin-1 and mannose receptors, in the intestinal inflammatory response. *Cell Reports*, 30(13), 4386–4398.e5.
- Rajaratnam, V., Islam, M. M., Yang, M., Slaby, R., Ramirez, H. M., & Mirza, S. P. (2020). Glioblastoma: Pathogenesis and current status of chemotherapy and other novel treatments. *Cancers*, 12.
- Rak, J., Filmus, J., Finkenzeller, G., Grugel, S., Marme, D., & Kerbel, R. S. (1995). Oncogenes as inducers of tumor angiogenesis. *Cancer and Metastasis Reviews*, 14(4), 263–277.
- Ramachandran, R. K., Sørensen, M. D., Aaberg-Jessen, C., Hermansen, S. K., & Kristensen, B. W. (2017). Expression and prognostic impact of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in astrocytomas. *PLOS ONE*, 12(2), e0172234.
- Ramar, V., Guo, S., Wang, G., & Liu, M. (2025). The Pivotal Role of NF-κB in Glioblastoma: Mechanisms of Activation and Therapeutic Implications. *International journal of molecular sciences*, 26(16), 7883.
- Rome, C., Arsaut, J., Taris, C., Couillaud, F., & Loiseau, H. (2007). MMP-7 (matrilysin) expression in human brain tumors. *Molecular Carcinogenesis*, 46(6), 446–452.
- Roskoski, R., Jr. (2012). ERK1/2 MAP kinases: structure, function, and regulation. *Pharmacological Research*, 66(2), 105–143.
- Rostom, A., Dubé, C., Lewin, G., Tsertsvadze, A., Barrowman, N., Code, C., ... & Moher, D. (2007). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 inhibitors for primary prevention of colorectal cancer: A systematic review prepared for the U.S. Preventive Services Task Force. *Annals of Internal Medicine*, 146(5), 376–389.

- Roy, M. E., Elimam, R., Zgheib, A., & Annabi, B. (2024). A role for the Hippo/YAP1 pathway in the regulation of in vitro vasculogenic mimicry in glioblastoma cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 28(24), e70304.
- Roy, M. E., Veilleux, C., Paquin, A., Gagnon, A., & Annabi, B. (2024). Transcriptional regulation of CYR61 and CTGF by LM98: a synthetic YAP-TEAD inhibitor that targets in-vitro vasculogenic mimicry in glioblastoma cells. *Anti-Cancer Drugs*, 35(8), 709–719.
- Sakr, M., Takino, T., Sabit, H., Nakada, M., Li, Z., & Sato, H. (2016). MiR-150-5p and miR-133a suppress glioma cell proliferation and migration through targeting membrane-type-1 matrix metalloproteinase. *Gene*, 587.
- Sang, D. P., Li, R. J., & Lan, Q. (2014). Quercetin sensitizes human glioblastoma cells to temozolomide in vitro via inhibition of Hsp27. *Acta pharmacologica Sinica*, 35(6), 832–838.
- Samatar, A. A., & Poulikakos, P. I. (2014). Targeting RAS-ERK signalling in cancer: promises and challenges. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(12), 928–942.
- Samuels, Y., Wang, Z., Bardelli, A., Silliman, N., Ptak, J., Szabo, S., ... & Velculescu, V. E. (2004). High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers. *Science*, 304(5670), 554.
- Savary, K., Caglayan, D., Caja, L., Tzavlaki, K., Bin Nayeem, S., Bergström, T., ... & Moustakas, A. (2013). Snail depletes the tumorigenic potential of glioblastoma. *Oncogene*, 32(47), 5409–5420.
- Schaff, L. R., & Mellinghoff, I. K. (2023). Glioblastoma and Other Primary Brain Malignancies in Adults: A Review. *JAMA*, 329(7), 574–587.
- Sebolt-Leopold, J. S., Dudley, D. T., Herrera, R., Van Becelaere, K., Wiland, A., Gowan, R. C., ... & Saltiel, A. R. (1999). Blockade of the MAP kinase pathway suppresses growth of colon tumors in vivo. *Nature Medicine*, 5(7), 810–816.
- Seebacher, N. A., Stacy, A. E., Porter, G. M., & Merlot, A. M. (2019). Clinical development of targeted and immune-based anti-cancer therapies. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 38, 156.
- Shaul, Y. D., & Seger, R. (2007). The MEK/ERK cascade: from signaling specificity to diverse functions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1773(8), 1213–1226.
- Shay, J. W., & Bacchetti, S. (1997). A survey of telomerase activity in human cancer. *European Journal of Cancer*, 33(5), 787–791.
- Shay, J. W., Zou, Y., Hiyama, E., & Wright, W. E. (2001). Telomerase and cancer. *Human Molecular Genetics*, 10(7), 677–685.
- Shergalis, A., Bankhead, A., Luesakul, U., Muangsin, N., & Neamati, N. (2018). Current Challenges and Opportunities in Treating Glioblastoma. *Pharmacological Reviews*, 70(3), 412–445.
- Shi, H., Zou, Y., Zhong, W., Li, Z., Wang, X., Yin, Y., ... & Li, M. (2023). Complex roles of Hippo-YAP/TAZ signaling in hepatocellular carcinoma. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 149(16).

- Shi, P., Xu, J., & Cui, H. (2023). The Recent Research Progress of NF- $\kappa$ B Signaling on the Proliferation, Migration, Invasion, Immune Escape and Drug Resistance of Glioblastoma. *International journal of molecular sciences*, 24(12), 10337.
- Shimada, T., Kawai, T., Takeda, K., Matsumoto, M., Inoue, J., Tatsumi, Y., Kanamaru, A., & Akira, S. (1999). IKK-i, a novel lipopolysaccharide-inducible kinase that is related to IkappaB kinases. *International Immunology*, 11(8), 1357–1362.
- Shinde, A., Tang, X., Singh, R., & Brindley, D. N. (2023). Infliximab, a monoclonal antibody against TNF- $\alpha$ , inhibits NF- $\kappa$ B activation, autotaxin expression and breast cancer metastasis to lungs. *Cancers*, 16(1), 52.
- Sina, A., Proulx-Bonneau, S., Roy, A., Poliquin, L., Cao, J., & Annabi, B. (2010). The lectin concanavalin-A signals MT1-MMP catalytic independent induction of COX-2 through an IKK $\gamma$ /NF- $\kappa$ B-dependent pathway. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 4(1), 31–38.
- Singaravelan, N., & Tollefsbol, T. O. (2025). Polyphenol-based prevention and treatment of cancer through epigenetic and combinatorial mechanisms. *Nutrients*, 17(4), 616.
- Soubannier, V., & Stifani, S. (2017). NF- $\kappa$ B signalling in glioblastoma. *Biomedicines*, 5(2), 29.
- Soula-Rothhut, M., Coissard, C., Sartelet, H., Boudot, C., Bellon, G., Martiny, L., & Rothhut, B. (2005). The tumor suppressor PTEN inhibits EGF-induced TSP-1 and TIMP-1 expression in FTC-133 thyroid carcinoma cells. *Experimental Cell Research*, 304(1), 187–201.
- Smith-Bindman, R., Chu, P. W., Azman Firdaus, H., Stewart, C., Malekhedayat, M., Alber, S., Bolch, W. E., Mahendra, M., Berrington de González, A., & Miglioretti, D. L. (2025). Projected Lifetime Cancer Risks From Current Computed Tomography Imaging. *JAMA internal medicine*, 185(6), 710–719.
- Smolińska, E., Grabarczyk, M., Justyńska, W., Bielenin, A., Glabinski, A., & Szpakowski, P. (2025). Potential Therapeutic Appliances of Dietary Polyphenols: Resveratrol and Curcumin in Treatment of Gliomas. *International journal of molecular sciences*, 26(13), 6154.
- So, J. S., Kim, H., & Han, K. S. (2021). Mechanisms of Invasion in Glioblastoma: Extracellular Matrix, Ca<sup>2+</sup> Signaling, and Glutamate. *Frontiers in cellular neuroscience*, 15, 663092.
- Stasinopoulos, I., Shah, T., Penet, M. F., Krishnamachary, B., & Bhujwalla, Z. M. (2013). COX-2 in cancer: Gordian knot or Achilles heel? *Frontiers in Pharmacology*, 4, 34.
- Statistique Canada. (2021). *Canadian cancer statistics 2021*. <https://www.statcan.gc.ca>
- Statistique Québec. (2024). *Causes de décès au Québec*. <https://statistique.quebec.ca>
- Stupp, R., Mason, W. P., van den Bent, M. J., Weller, M., Fisher, B., Taphoorn, M. J., ... & Mirimanoff, R. O. (2005). Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *New England Journal of Medicine*, 352(10), 987–996.

- Sulman, E. P., Ismaila, N., & Chang, S. M. (2017). Radiation therapy for glioblastoma: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline endorsement of the American Society for Radiation Oncology guideline. *Journal of Oncology Practice*, 13(2), 123–127.
- Sultanem, K., Lambert, C., Gopaul, D., Corns, R., Leblanc, R., & Souhami, L. (2001). The use of hypofractionated accelerated intensity modulated irradiation in the treatment of glioblastoma multiforme: Preliminary results of a phase I trial. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 51(3), 204.
- Tamimi, A. F., & Juweid, M. (2017). Epidemiology and outcome of glioblastoma. In *Exon Publications*, 143–153.
- Tan, A. C., Ashley, D. M., López, G. Y., Malinzak, M., Friedman, H. S., & Khasraw, M. (2020). Management of glioblastoma: State of the art and future directions. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 70(4), 299–312.
- Tandel, G. S., Biswas, M., Kakde, O. G., Tiwari, A., Suri, H. S., Turk, M., ... & Suri, J. S. (2019). A review on a deep learning perspective in brain cancer classification. *Cancers*, 11(1), 111.
- Taniguchi, K., & Karin, M. (2018). NF- $\kappa$ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nature Reviews. Immunology*, 18(5), 309–324.
- Thomas, R. P., Nagpal, S., Iv, M., Soltys, S. G., Bertrand, S., Pelpola, J. S., ... & Recht, L. D. (2019). Macrophage Exclusion after Radiation Therapy (MERT): A First in Human Phase I/II Trial using a CXCR4 Inhibitor in Glioblastoma. *Clinical Cancer Research*, 25(23), 6948–6957.
- Thrash, H. L., & Pendergast, A. M. (2023). Multi-functional regulation by YAP/TAZ signaling networks in tumor progression and metastasis. *Cancers*, 15(19), 4701.
- Tiwari, A., Trivedi, R., & Lin, S. Y. (2022). Tumor microenvironment: barrier or opportunity towards effective cancer therapy. *Journal of Biomedical Science*, 29(1), 83.
- Totaro, A., Castellan, M., Battilana, G., Zanconato, F., Azzolin, L., Giulitti, S., ... & Piccolo, S. (2017). YAP/TAZ link cell mechanics to Notch signalling to control epidermal stem cell fate. *Nature Communications*, 8, 15206.
- Tsafa, E., Dimitriadis, K., Kalampoki, L., Papapetrou, P., Georgalis, P. A., Bozios, G., ... & Lazari, D. (2024). Synergistic anti-cancer effects of isocnicin and radiotherapy in glioblastoma: A natural compound's potential. *Biomedicines*, 12(12), 2793.
- Tsimberidou, A. M. (2015). Targeted therapy in cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 76(6), 1113–1132.
- Uddin, M. S., Kabir, M. T., Mamun, A. A., Sarwar, M. S., Nasrin, F., Emran, T. B., Alanazi, I. S., Rauf, A., Albadrani, G. M., Sayed, A. A., Mousa, S. A., & Abdel-Daim, M. M. (2021). Natural Small Molecules Targeting NF- $\kappa$ B Signaling in Glioblastoma. *Frontiers in pharmacology*, 12, 703761.

- Van Wart, H. E., & Birkedal-Hansen, H. (1990). The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(14), 5578–5582.
- Vandenbroucke, R. E., & Libert, C. (2014). Is there new hope for therapeutic matrix metalloproteinase inhibition? *Nature Reviews. Drug Discovery*, 13(12), 904–927.
- Veilleux, C., Khalifa, J., Zgheib, A., Konan, A. S., Gaudreault, R., & Annabi, B. (2025). Probing into the chemopreventive properties of synthetic 1,3,6-tri-O-galloyl- $\alpha$ -D-glucose ( $\alpha$ -TGG) against glioblastoma and triple-negative breast cancer-derived cell models. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*, 8, 100219.
- Verhaak, R. G., Hoadley, K. A., Purdom, E., Wang, V., Qi, Y., Wilkerson, M. D., ... & Cancer Genome Atlas Research Network. (2010). Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma. *Cancer Cell*, 17(1), 98–110.
- Visvader, J. E. (2011). Cells of origin in cancer. *Nature*, 469(7330), 314–322.
- Wagener, M., Hoving, J. C., Ndlovu, H., & Marakalala, M. J. (2018). Dectin-1–Syk–CARD9 signaling pathway in TB immunity. *Frontiers in Immunology*, 9, 225.
- Wang, M., Wang, Y., & Zhang, H. (2025). Dietary polyphenols for tumor therapy: bioactivities, nano-therapeutic systems and delivery strategies. *Food & function*, 16(3), 853–866.
- Wang, S., Zhou, L., Ling, L., Meng, X., Chu, F., Zhang, S., & Zhou, F. (2020). The crosstalk between Hippo–YAP pathway and innate immunity. *Frontiers in Immunology*, 11, 323.
- Wang, S., Chen, C., Li, J., Xu, X., Chen, W., & Li, F. (2020). The CXCL12/CXCR4 axis confers temozolomide resistance to human glioblastoma cells via up-regulation of FOXM1. *Journal of the neurological sciences*, 414, 116837.
- Wang, X., Sun, Y., Zhang, D. Y., Ming, G. L., & Song, H. (2023). Glioblastoma modeling with 3D organoids: Progress and challenges. *Oxford Open Neuroscience*, 2, kvad008.
- Wang, Y., Yu, A., & Yu, F. X. (2017). The Hippo pathway in tissue homeostasis and regeneration. *Protein & Cell*, 8(5), 349–359.
- Weller, M., & Le Rhun, E. (2020). How did lomustine become standard of care in recurrent glioblastoma? *Cancer treatment reviews*, 87, 102029.
- Weber, J. D., Raben, D. M., Phillips, P. J., & Baldassare, J. J. (1997). Sustained activation of ERK1 is required for the continued expression of cyclin D1. *Biochemical Journal*, 326(1), 61–68.
- Westphal, M., Ram, Z., Riddle, V., Hilt, D., & Bortey, E. (2006). Gliadel® wafer in initial surgery for malignant glioma: Long-term follow-up of a multicenter controlled trial. *Acta Neurochirurgica*, 148(3), 269–275.
- White, M. C., Espey, D. K., Swan, J., Wiggins, C. L., Ehemann, C., & Miles, S. (2014). Disparities in cancer incidence trends. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 23(6), 1096–1105.

- Wolburg, H., & Paulus, W. (2010). Choroid plexus: biology and pathology. *Acta Neuropathologica*, 119(1), 75–88.
- Wu, W., Klockow, J. L., Zhang, M., Lafortune, F., Chang, E., Jin, L., ... & Daldrop-Link, H. E. (2021). Glioblastoma multiforme (GBM): An overview of current therapies and mechanisms of resistance. *Pharmacological Research*, 171, 105780.
- Wu, X., Zhang, Z., Zhang, L., & Daniels, D. J. (2025). Role of cytomegalovirus in glioblastoma development: promoter or culprit? *Virology journal*, 22(1), 194.
- Wu, D., Chen, Q., Chen, X., Han, F., Chen, Z., & Wang, Y. (2023). The blood-brain barrier: Structure, regulation, and drug delivery. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 217.
- Wu, Y., & Zhou, B. P. (2010). TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B/Snail pathway in cancer cell migration and invasion. *British Journal of Cancer*, 102(4), 639–644.
- Wu, Y., Deng, J., Rychahou, P. G., Qiu, S., Evers, B. M., & Zhou, B. P. (2009). Stabilization of Snail by NF- $\kappa$ B is required for inflammation-induced cell migration and invasion. *Cancer Cell*, 15(5), 416–428.
- Würth, R., Bajetto, A., Harrison, J. K., Barbieri, F., & Florio, T. (2014). CXCL12 modulation of CXCR4 and CXCR7 activity in human glioblastoma stem-like cells and regulation of the tumor microenvironment. *Frontiers in cellular neuroscience*, 8, 144.
- Xing, W. K., Shao, C., Qi, Z. Y., Yang, C., & Wang, Z. (2015). The role of Gliadel wafers in the treatment of newly diagnosed GBM: A meta-analysis. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 3341.
- Yalamarty, S. S. K., Filipczak, N., Li, X., Subhan, M. A., Parveen, F., Ataide, J. A., ... & Torchilin, V. P. (2023). Mechanisms of resistance and current treatment options for glioblastoma multiforme (GBM). *Cancers*, 15(7), 2116.
- Yang, J., Amiri, K. I., Burke, J. R., Schmid, J. A., & Richmond, A. (2006). BMS-345541 targets inhibitor of kappaB kinase and induces apoptosis in melanoma: involvement of nuclear factor kappaB and mitochondria pathways. *Clinical Cancer Research*, 12(3 Pt 1), 950–960.
- Yang, P., & Li, S. (2025). Atypical Hippo signaling network: Uncovering novel insights into head and neck cancer biology and advancements in precision intervention. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 13, 1610471.
- Yao, M., Li, S., Wu, X., Diao, S., Zhang, G., He, H., ... & Lu, Y. (2018). Cellular origin of glioblastoma and its implication in precision therapy. *Cellular & Molecular Immunology*, 15(8), 737–739.
- Yarden, Y., Kuang, W. J., Yang-Feng, T., Coussens, L., Munemitsu, S., Dull, T. J., ... & Ullrich, A. (1987). Human proto-oncogene c-kit. *EMBO Journal*, 6(11), 3341–3351.
- Ye, S. Y., Li, J. Y., Li, T. H., Song, Y. X., Sun, J. X., Chen, X. W., Zhao, J. H., Li, Y., Wu, Z. H., Gao, P., & Huang, X. Z. (2022). The Efficacy and Safety of Celecoxib in Addition to Standard Cancer Therapy: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Current oncology (Toronto, Ont.)*, 29(9), 6137–6153.

- Yin, D., Jin, G., He, H., Zhou, W., Fan, Z., Gong, C., Zhao, J., & Xiong, H. (2021). Celecoxib reverses the glioblastoma chemo-resistance to temozolomide through mitochondrial metabolism. *Aging*, 13(17), 21268–21282.
- Yi, M., Li, T., Niu, M., Zhang, H., Wu, Y., Wu, K., & Dai, Z. (2024). Targeting cytokine and chemokine signaling pathways for cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 9(1), 176.
- Yoon, T. J., Kim, T. J., Lee, H., Shin, K. S., Yun, Y. P., Moon, W. K., Kim, D. W., & Lee, K. H. (2008). Anti-tumor metastatic activity of beta-glucan purified from mutated *Saccharomyces cerevisiae*. *International Immunopharmacology*, 8(1), 36–42.
- Yuan, Y., Li, S. L., Cao, Y. L., Li, J. J., & Wang, Q. P. (2019). LKB1 suppresses glioma cell invasion via NF- $\kappa$ B/Snail signaling repression. *OncoTargets and Therapy*.
- Zanconato, F., Cordenonsi, M., & Piccolo, S. (2016). YAP/TAZ at the roots of cancer. *Cancer Cell*, 29(6), 783–803.
- Zanconato, F., Cordenonsi, M., & Piccolo, S. (2019). YAP and TAZ: a signalling hub of the tumour microenvironment. *Nature Reviews Cancer*, 19(8), 454–464.
- Zelenay, S., van der Veen, A. G., Böttcher, J. P., Snelgrove, K. J., Rogers, N., Acton, S. E., ... & Reis e Sousa, C. (2015). Cyclooxygenase-dependent tumor growth through evasion of immunity. *Cell*, 162(6), 1257–1270.
- Zhang, H., Wang, R., Yu, Y., Liu, J., Luo, T., & Fan, F. (2019). Glioblastoma treatment modalities besides surgery. *Journal of Cancer*, 10(20), 4793.
- Zhang, J., Zhang, R., Li, W., Ma, X. C., Qiu, F., & Sun, C. P. (2023). I $\kappa$ B kinase  $\beta$  (IKK $\beta$ ): Structure, transduction mechanism, biological function, and discovery of its inhibitors. *International Journal of Biological Sciences*, 19(13), 4181–4203.
- Zhang, T., Ma, C., Zhang, Z., Zhang, H., & Hu, H. (2021). NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer. *MedComm*, 2(4), 618–653.
- Zhao, B., Ye, X., Yu, J., Li, L., Li, W., Li, S., ... & Guan, K. L. (2008). TEAD mediates YAP-dependent gene induction and growth control. *Genes & Development*, 22(14), 1962–1971.
- Zhao, H., Wu, L., Yan, G., Chen, Y., Zhou, M., Wu, Y., & Li, Y. (2021). Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), 263.
- Zhao, J., Zhu, J., Lv, X., Xing, J., Liu, S., Chen, C., & Xu, Y. (2017). Curcumin potentiates the potent antitumor activity of ACNU against glioblastoma by suppressing the PI3K/AKT and NF- $\kappa$ B/COX-2 signaling pathways. *OncoTargets and Therapy*, 10, 5471–5482. (Retraction published *Onco Targets Ther.* 2022 Dec 02;15:1479-1480)
- Zhao, Y., Sheldon, M., Sun, Y., & Ma, L. (2023). New Insights into YAP/TAZ-TEAD-Mediated Gene Regulation and Biological Processes in Cancer. *Cancers*, 15(23), 5497.

- Zhou, J., Xie, G., & Yan, X. (2011). *Natural sources and applications Vol. 5: Isolated compounds T-Z, references, TCM plants and congeners*. Springer: Berlin, Heidelberg.
- Zhou, M., Yue, K., Zhao, J., Gong, S., Xie, Y., Wu, W., ... & Guo, J. (2025). Optimizing GBM organoid construction with hydrogel-based models: GelMA-HAMA scaffold supports GBM organoids with clonal growth for drug screening. *Cell Transplantation*, 34, 9636897251347537.
- Zhu, S., Guo, J., Yu, L., Liu, J., Chen, J., Xin, J., ... & Duan, C. (2023). Synergistic effect of cryptotanshinone and temozolomide treatment against human glioblastoma cells. *Scientific Reports*, 13(1), 21835.
- Zhu, Y., Guignard, F., Zhao, D., Liu, L., Burns, D. K., Mason, R. P., ... & Parada, L. F. (2005). Early inactivation of p53 cooperating with NF1 loss induces malignant astrocytoma. *Cancer Cell*, 8(2), 119–130.
- Zoi, V., Galani, V., Lianos, G. D., Voulgaris, S., Kyritsis, A. P., & Alexiou, G. A. (2021). The role of curcumin in cancer treatment. *Biomedicines*, 9(9), 1086.