

## Résumé / Abstract

Dans le glioblastome (GBM), la radiothérapie est un outil thérapeutique essentiel. Néanmoins, la récurrence post-irradiation est quasiment inévitable, en raison de l'émergence d'une sous-population de cellules cancéreuses particulièrement radiorésistantes présentant une meilleure capacité proliférative, invasive et pro-angiogénique.

Notre étude *in vitro* a cherché à déterminer comment les cellules cancéreuses survivantes à l'irradiation pouvaient affecter la fonction des cellules tumorales voisines et les cellules endothéliales non irradiées, en focalisant notre attention sur l'échange des signaux intercellulaires, à savoir, les facteurs solubles et les microvésicules tumorales (TMVs).

La radiothérapie induit principalement un ralentissement de la prolifération des cellules de glioblastome (T98G et U87) et une mort cellulaire retardée (clonogénique) de 50-60%, sans engendrer d'apoptose. Grâce au suivi de la croissance cellulaire à long terme (*via* le système xCELLigence) et un test de blessure, nous avons confirmé que les cellules de glioblastome survivantes après irradiation libèrent des signaux qui peuvent modifier les fonctions de cellules endothéliales HUVEC et de cellules tumorales non-irradiées. Outre la sécrétion de certains facteurs solubles connus (VEGF, uPA), nous avons pu objectiver, en utilisant la microscopie électronique à balayage, le *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA), la libération de microvésicules tumorales (TMVs), dont la taille était globalement inférieure à 500 nm. Par NTA et cytométrie en flux, nous avons montré que cette libération de TMVs (exosome + "shedding vesicles"), peut être significativement stimulée par l'irradiation dans les 2 lignées, de façon temps-dépendant. D'après nos analyses protéomiques, les facteurs solubles tels que le VEGF ou l'IL-8, connus pour être des facteurs pro-angiogéniques, contribueraient plutôt à favoriser la survie, voire la prolifération, des cellules HUVEC, tandis que les TMVs libérées après irradiation, ont significativement modifié la capacité de migration des HUVEC et des cellules tumorales non-irradiées. Les propriétés pro-migratoires des TMVs pourraient en ce sens, contribuer aux processus de récurrence dans les glioblastomes après irradiation.

**Mots-clés:** Glioblastome, Irradiation, Microvésicules tumorales, Cellules endothéliales, Facteurs pro-angiogéniques

Radiation therapy is a major therapeutic tool for glioblastoma (GBM). However, the post-radiation recurrence is almost inevitable, due to the emergence of a subpopulation of radioresistant cancer cells with greater proliferative, invasive, and proangiogenic capacities.

The objective of this study was to investigate *in vitro* how irradiated cancer cells affect the function of untreated neighboring tumor cells and endothelial cells, focusing on signals exchange initiated by irradiation, such as soluble factors and tumor microvesicles (TMVs).

Radiotherapy has slowed down the proliferation of GBM cells (T98G, U87) and induced mitotic death of 50-60%, without significant apoptosis. Through long-term monitoring of cell growth (xCELLigence) and wound-healing assay, we have confirmed that surviving GBM cells after irradiation release signals that can change the functions of endothelial cells HUVEC and non-irradiated tumor cells. In addition to the secretion of known soluble factors (VEGF, uPA), we were able to show using scanning electron microscopy and the Nanoparticle Tracking Analysis (NTA), the release of tumor microvesicles (TMVs), whose size was generally less than 500 nm. By NTA and flow cytometry, we have shown that the release of TMVs (exosome + "shedding vesicles") can be significantly stimulated by irradiation in two lines, in a time-dependent manner. According to the proteomics analysis, soluble factors such as VEGF or IL-8, well known as pro-angiogenic factors, rather contribute to promote the survival or proliferation of HUVEC, while the released TMVs after irradiation, significantly altered the migration abilities of non-irradiated HUVEC and tumor cells. The pro-migratory properties of TMVs could thus contribute to glioblastoma recurrence after irradiation.

**Keywords:** Irradiation, Tumor microvesicles, Endothelial cells, Glioblastoma, Pro-angiogenic factor