

LES GLIOBLASTOMES, UN EXEMPLE DE RECHERCHE TRANSLATIONNELLE ?

J. KROONEN (1), M.T. NGUYEN-KHAC (2), M. DEPRez (3), B. ROGISTER (4), P. ROBE (5)

RÉSUMÉ : Le pronostic des patients atteints de glioblastome multiforme (GBM) reste actuellement très sombre malgré l'apport de nouvelles approches thérapeutiques innovantes tant sur le plan chirurgical que radiothérapeutique ou encore médicamenteux. Cette tumeur du système nerveux central, la plus fréquente et la plus agressive, reste caractérisée par une récurrence quasi systématique et souvent fatale et ce, quel que soit le traitement utilisé en première intention. Comprendre l'origine de ces récurrences permettrait éventuellement la mise au point d'autres traitements innovants prévenant leur survenue. On a récemment décrit l'existence de cellules souches de GBM et démontré l'implication spécifique de celles-ci dans l'émergence des tumeurs expérimentales. Il est donc tentant actuellement de rechercher une éventuelle relation entre ces cellules souches de GBM et les cellules souches nerveuses persistant dans les zones neurogéniques. Dans cette revue, nous discutons des éventuelles relations pouvant exister entre les zones neurogéniques et les cellules souches de GBM et, plus précisément, de la présence potentielle de cellules souches tumorales au niveau de celles-ci, à distance de la masse tumorale proprement dite. Cette hypothèse a le mérite d'expliquer éventuellement le taux élevé de récurrence de cette tumeur après le traitement de première intention.

MOTS-CLÉS : Glioblastome multiforme - Tumeur cérébrale - Cellule souche cancéreuse - Neurogenèse adulte - Zone sous-ventriculaire

LE GLIOBLASTOME, PRINCIPALE TUMEUR CÉRÉBRALE PRIMITIVE

Les glioblastomes multiformes (GBM) représentent la forme la plus agressive, la plus résistante et la plus fréquente de tumeurs primitives du système nerveux central. Ces tumeurs se développent principalement entre 40 et 70 ans, mais peuvent survenir à tout âge (1). Leur incidence oscille entre 3 et 7 cas/100.000/an, soit 500 à 600 nouveaux cas annuels en Belgique. Si l'on observe une légère prévalence masculine (rapport H/F de 1/1.3) et chez les caucasiens par rapport aux individus d'origine africaine ou asiatique (rapport 1/2), l'étiologie de ces tumeurs demeure mal connue. Sur le plan génétique, on observe une faible tendance à l'agrégation familiale (2), et certains (rares !) syndromes tumoraux héréditaires (tels le syndrome de Li-Fraumeni et le syndrome de Tur-

GLIOBLASTOMA, AN EXAMPLE OF TRANSLATIONAL RESEARCH ?

SUMMARY : Among patients which develop glioblastoma multiform (GBM), recurrence is the rule despite continuous progress in surgery, radiotherapy and chemotherapy. In the adult, GBM is the most frequent and most aggressive tumour of the Central Nervous System. A better understanding of the mechanisms by which these tumours relapse could promote the use of preventive therapy and could increase patients' survival. GBM stem cells have been recently described and it was demonstrated that they are specifically implied in the experimental tumorigenesis. It is thus very attractive to speculate on a possible relationship between these GBM stem cells and the neural stem cells which are persisting in the neurogenic zones of the adult brain. In this review, we formulate and discuss the hypothesis by which, in a patient with GBM, malignant stem cells might be present in the neurogenic zones, away from the tumour mass. This hypothesis could explain the tumour relapse observed after the first treatments.

KEYWORDS : Glioblastoma multiform - Brain tumor - Tumor stem cell - Adult Neurogenesis - Subventricular zone

cot de type 1) prédisposent aux GBM. Parmi les causes environnementales, on a rapporté que l'irradiation focale et importante de l'encéphale pourrait provoquer l'émergence de ces tumeurs, avec toutefois un délai de plusieurs années. Certaines expositions professionnelles chroniques (chlorure de vinyle, arsenic, plomb, mercure et dérivés du pétrole) sont également évoquées comme facteurs de risque dans ce genre de cancer. La majeure partie des cas de GBM est toutefois sporadique et de cause inconnue.

Histologiquement, le GBM est la forme la plus maligne des gliomes (grade histologique IV dans la classification OMS). Les gliomes sont des tumeurs neuroépithéliales dérivant des astrocytes et des oligodendrocytes, initialement décrites par Virchow en 1863 (3). Hétérogènes, ces tumeurs sont actuellement distinguées selon la classification de l'OMS (1), basée sur le type histologique prédominant (astrocytaire, oligodendrogial, ou mixte) et sur l'attribution d'un grade de malignité - de I à IV - en fonction de la présence d'atypies cellulaires, de mitoses, d'hyperplasies endothéliales dans les néo-vaisseaux et de nécrose intra-tumorale (Fig. 1). Les glioblastomes (souvent surnommés multiformes, GBM) sont des tumeurs pléiomorphes, de croissance rapide, mal délimitées et caractérisées par la présence de nombreuses atypies cellulaires, de mitoses fréquentes, de zones de nécroses et de néovaisseaux à l'endothélium hyperplasique. Les GBM infiltrent diffusément le parenchyme du système nerveux central le long des faisceaux de substance blanche, de l'épendyme

(1) Boursier TELEVIE. Centre de Recherche en Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire, Unité de Neurobiologie du Développement, Université de Liège.

(3) Chef de Laboratoire, Service de Neuropathologie, CHU Sart Tilman, Liège.

(4) Chargé de Cours en Biochimie et Physiologie, Université de Liège. Service de Neurologie, CHU Sart Tilman, Liège.

(2) Assistant, (5) Chercheur Qualifié FNRS, Service de Neurochirurgie, CHU Sart Tilman, Liège.

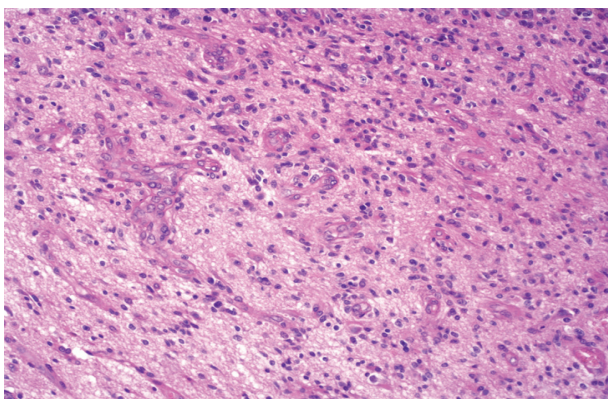


Figure 1. Coupe histologique colorée par hématoxyline/éosine d'un glioblastome multiforme caractérisé par une hypercellularité, une néovascularisation abondante et anormale et des zones typiques de nécrose.

et des vaisseaux. L'invasion tumorale intra-vasculaire est rare et la dissémination métastatique hémotogène reste exceptionnelle. Le développement des GBM peut suivre deux voies : soit le patient présente un GBM d'emblée au moment du diagnostic (GBM primaire), soit le GBM se développe au départ d'un astrocytome (voire, d'un oligodendrogliome) de grade histologique inférieur (GBM secondaire). Dans ce cas, la progression s'étend sur 1 à 10 ans, et peut survenir malgré le traitement préalable de la tumeur de bas grade. Si ces deux types de GBM (primaire et secondaire) sont histologiquement similaires et de pronostic sombre, ils présentent néanmoins des altérations génétiques différentes, caractérisées notamment par une immunoréactivité accrue pour la protéine p53 et le PDGFR dans les formes secondaires, et une surexpression de marqueurs tels que EGFR et MDM2 dans les formes primaires.

Cliniquement, les gliomes en général et les GBM en particulier se singularisent par une résistance importante aux traitements chirurgicaux, radiothérapeutiques et chimiothérapeutiques, et par un taux très élevé de récurrence loco-régionale. La survie médiane des GBM est de trois à six mois après résection chirurgicale conventionnelle, et de 12 mois si on y associe la radiothérapie. Récemment, un protocole associant un agent alkylant (le témozolomide) à la radiothérapie après résection a permis d'augmenter la survie médiane globale des patients à 15 mois environ (4). De plus, cette combinaison thérapeutique a fait apparaître un groupe de patients «longs survivants», à pronostic favorable (survie jusqu'à 4 ans), et dont la tumeur présente une modification génétique particulière, la méthylation du promoteur du gène MGMT.

Diverses améliorations techniques ont, par ailleurs, récemment vu le jour. La neurochirurgie assistée par l'image (neuronavigation, écho-

graphie ultrasonore peropératoire, ou encore IRM peropératoire) et la généralisation des techniques de stimulations cérébrales peropératoires (chirurgie éveillée) réduisent la morbidité et permettent d'opérer plus complètement des lésions jadis réputées inopérables. La visualisation peropératoire des cellules tumorales, au moyen d'un microscope en fluorescence et après ingestion de 5-ALA par le patient, est de plus en plus largement disponible : cette technique augmente l'étendue des résections et la survie des patients (5, 6).

Malgré ces progrès thérapeutiques, le GBM reste une tumeur uniformément fatale et il est donc impératif d'obtenir une meilleure connaissance de la biologie de ces tumeurs afin de développer de nouveaux traitements plus actifs. En particulier, il faut préciser les voies métaboliques sous-tendant la prolifération, l'invasion parenchymateuse et la résistance aux traitements de ces tumeurs. Ce type de recherche nécessite une coopération étroite entre sciences de base et réalité clinique. Une des pierres angulaires de cette coopération est la mise en culture de pièces de résection de GBM, permettant de tester diverses hypothèses de travail sur du matériel humain, et, plus récemment, d'isoler à partir de ces tumeurs les cellules qui seraient à l'origine des récurrences de ces tumeurs : les cellules souches cancéreuses (7).

ORIGINE DES GLIOBLASTOMES ET CELLULES SOUCHES

Rappelons que ce n'est que depuis quelques années qu'on a démontré formellement la persistance d'une neurogenèse à l'âge adulte chez les mammifères en général et chez l'homme en particulier (8). Il persiste donc des cellules souches nerveuses dans des endroits restreints du système nerveux adulte. Une cellule souche est caractérisée par sa capacité à s'auto-renouveler et par sa multipotentialité, c'est-à-dire sa capacité à donner naissance à des types cellulaires histologiquement différents. Ces deux caractéristiques sont liées au fait qu'une cellule souche est capable de se diviser asymétriquement : la division cellulaire asymétrique aboutit dans ce cas à deux cellules-filles dont une sera une cellule souche (processus d'auto-renouvellement permettant de garder intactes les caractéristiques fonctionnelles de la cellule mère chez au moins une des filles, et de maintenir de cette façon le «pool» de cellules souches) et l'autre, sera une cellule progénitrice. Une cellule progénitrice est encore capable de proliférer activement, mais contrairement à une cellule souche, le nombre de cycles cellulaires que peut effectuer un progéni-

teur est limité. Par ailleurs, une cellule progénitrice est limitée à un destin, soit neuronal, soit astroglial, soit oligodendroglial dans le cas des cellules souches nerveuses, par exemple (9). L'émergence du concept de «cellule souche» présente dans de nombreux organes et dont les fonctions premières sont d'assurer, d'une part le développement de l'organe et des tissus à l'âge embryonnaire et, d'autre part, l'homéostasie tissulaire une fois le développement terminé, a suscité l'idée selon laquelle il existerait également des cellules souches cancéreuses présentes au sein des tumeurs de différents types. Depuis quelques années, cette hypothèse se voit confirmée par des arguments circonstanciels, voire conclusifs dans certains cas précis (10). En 1997, on a caractérisé les LIC ou «Leukemia-Initiating Cells». Ces cellules qui répondent parfaitement aux exigences de la définition opérationnelle des cellules souches (auto-renouvellement et multipotentialité) (11), ont été sélectionnées par dilutions successives d'une suspension de cellules leucémiques humaines avant l'injection à des souris immunodéficientes. Par cette approche, on a pu sélectionner des cellules leucémiques provoquant une leucémie chez la souris receveuse (cellule souche leucémique) et des cellules leucémiques qui ne provoquaient pas de leucémie chez la souris receveuse. Ce type d'expérience a été reproduit pour des tumeurs issues d'autres organes, y compris les GBM (12) (Fig. 2). Dans

le cas des GBM, on a ensuite montré que la fraction des cellules qui exprimaient le marqueur CD133 (ou prominine, une glycoprotéine ancrée au feuillet interne de la membrane cellulaire et qui joue un rôle important dans la division asymétrique (13)) était capable d'induire la formation de tumeur lorsqu'elle est injectée à des souris immunodéficientes (14, 15).

A côté de la sélection basée sur l'expression de divers marqueurs, les cellules souches de GBM sont principalement isolées en utilisant des conditions de culture spécifiques pour la culture de cellules souches nerveuses humai-



Figure 2. L'injection de cellules cancéreuses dans le striatum de souris adultes immunodéficientes est réalisée à l'aide d'un instrument de stéréotaxie adapté à la taille des rongeurs. Après anesthésie générale, les souris reçoivent une injection d'une suspension cellulaire au niveau de leur striatum droit, selon des coordonnées stéréotaxiques également adaptées aux rongeurs.

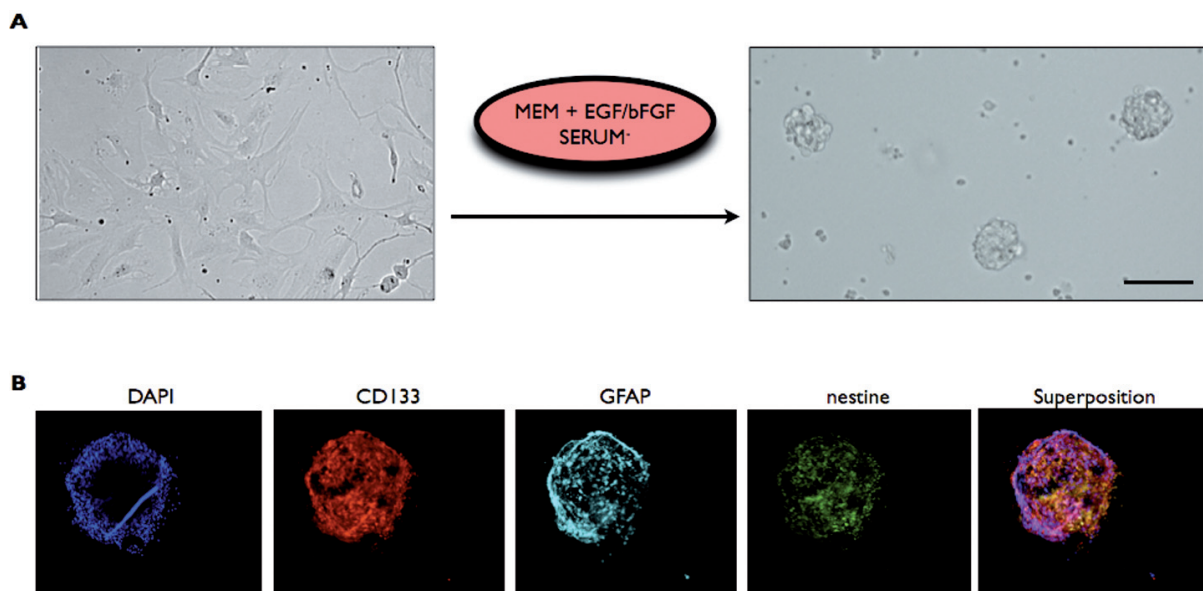


Figure 3. A) Les cellules de glioblastomes sont cultivées en boîtes de culture adhérentes et en présence de sérum. Dans ces conditions, on observe les cellules étalées sur le fond de la boîte en microscopie à contraste de phase (photo de gauche). Les cellules sont détachées de la boîte de culture et placées ensuite dans une boîte dont le plastique permet moins d'adhésion des cellules et en présence d'un milieu dépourvu de sérum mais contenant un mélange des facteurs de croissance EGF et bFGF. Dans ces conditions, les cellules souches de glioblastome restent en suspension et forment des « sphères » contenant entre 10 et 100 cellules. Les cellules prolifèrent activement dans ces sphères observables également au microscope à contraste de phase (photo de droite). B) Des immunomarquages de ces sphères montrent la co-expression de CD133 (rouge), de la GFAP (cyan) et de la nestine (vert) par ces cellules cancéreuses formant des sphères. Ces trois marqueurs sont co-exprimés par les cellules souches nerveuses adultes et par les cellules souches de glioblastomes. Les noyaux des cellules sont marqués de manière spécifique à l'aide de DAPI (bleu) qui a peu pénétré au centre de la sphère. La barre d'échelle en A = 300µm.

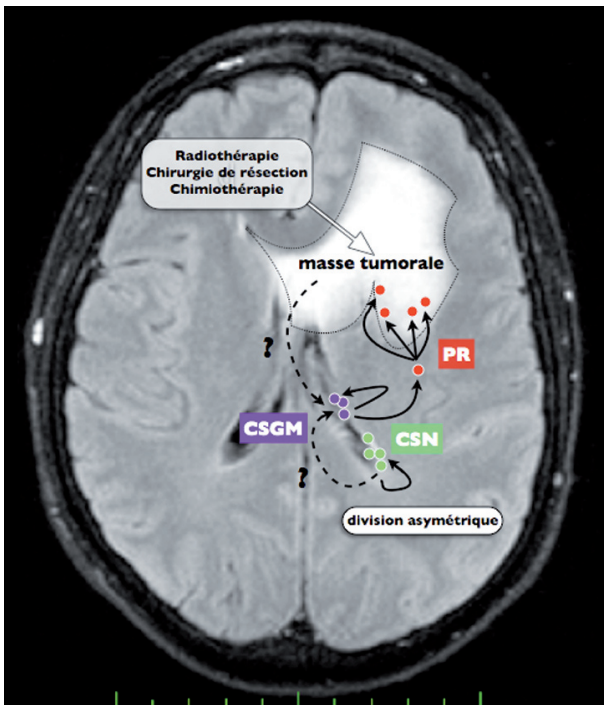


Figure 4. La division asymétrique d'une cellule souche de glioblastome multiforme (CSGM) éventuellement localisée préférentiellement au niveau de la paroi latérale du ventricule latéral (zone sous-ventriculaire) donnerait naissance d'une part à une cellule souche fille et d'autre part à un progéniteur tumoral (PR) proliférant et migrant pour rejoindre et/ou former la masse tumorale. Les thérapies actuellement utilisées (chirurgie de résection, radiothérapie et chimiothérapie) ciblent principalement la masse cancéreuse ou les cellules proliférantes et non les CSGM localisées au niveau de la zone neurogénique et qui resteraient relativement quiescentes la plupart du temps. Ces CSGM potentiellement responsables des récurrences pourraient provenir soit d'une mutation de CSN soit de la migration de cellules souches présentes au niveau de la masse tumorale. Les flèches pleines symbolisent l'auto-renouvellement.

nes permettant la formation de «sphères» (16) (Fig. 3). Cette technique impose l'utilisation d'un milieu de culture particulier (c'est-à-dire dépourvu de sérum, mais contenant deux facteurs trophiques pour cellules souches, l'EGF ou Epidermal Growth Factor et le bFGF ou basic Fibroblast Growth Factor). Dans ces conditions, on peut obtenir une culture clonale (c'est-à-dire, une population cellulaire dérivant d'une seule cellule présente au départ dans la boîte de culture) et les cellules du clone peuvent former des tumeurs lorsqu'elles sont injectées dans le cerveau de souris immunodéficientes (17). A leur tour, ces tumeurs issues des cellules injectées peuvent être rééquées pour être transplantées sous forme d'une suspension cellulaire à de nouvelles souris. On obtient alors des tumeurs dites secondaires et qui présentent les mêmes caractéristiques que la tumeur mère, démontrant ainsi l'auto-renouvellement *in vivo* des cellules souches de GBM (18).

La récurrence *quasi* systématique des GBM malgré les traitements chirurgicaux, radiothérapeutiques et chimiothérapeutiques, pourrait éventuellement être expliquée par l'existence de cellules

souches de GBM. On peut en effet imaginer que la cellule souche de GBM soit présente à distance de la tumeur et réside éventuellement dans les zones neurogéniques du système nerveux central (8). Les cellules souches de GBM qui seraient présentes dans ces zones neurogéniques soit dérivent par transformation cancéreuse de cellules souches nerveuses locales, soit seraient attirées de la tumeur vers ces zones. Par division asymétrique, la cellule souche de GBM donne éventuellement naissance à un progéniteur tumoral, capable de proliférer de manière incontrôlée et infinie. Ce progéniteur migrerait hors des zones neurogéniques et constituerait la tumeur à distance de celles-ci (19). Ceci expliquerait que la résection chirurgicale épargnerait les cellules souches de GBM qui seraient localisées en dehors de la tumeur et que la radiothérapie ciblée les atteindrait peu (Fig. 4). De plus, tant la radiothérapie que la chimiothérapie ciblent les cellules hautement proliférantes. Or, une cellule souche est quiescente la plupart du temps. L'analogie la plus parlante à ce niveau est à emprunter au monde végétal : les cellules souches végétales sont présentes dans les bourgeons. Ceux-ci peuvent rester quiescents pendant de longues périodes de temps, voire des années et suite à une activation (par exemple par bouturage) les cellules sont «réveillées» et prolifèrent activement. Il en va de même des cellules souches animales en général : elles effectuent de temps à autre une division asymétrique mais reste en inter-cycle la plupart du temps et ce sont les progéniteurs qui sont principalement responsables de l'hyperplasie cellulaire. Ceci explique donc également que les cellules souches de GBM seraient peu sensibles à la radio- et à la chimiothérapie et que des tumeurs récurrentes apparaissent parfois proches de la zone sous-ventriculaire dans de courts délais.

Il y a quelques années, on pensait que l'apparition d'un GBM résultait d'une transformation cancéreuse de cellules gliales matures, ceci sur la base d'observations expérimentales décrivant une «cancérisation *in vitro*» d'astrocytes en culture (20). Cette approche expérimentale nécessite cependant un taux élevé de prolifération des cellules, permettant l'accumulation de multiples altérations génétiques nécessaires à la cancérisation. Or, la plupart du temps, les astrocytes du système nerveux sont quiescents et, donc, cette possibilité est actuellement controversée (21). Une autre hypothèse expliquant l'origine des GBM est basée sur une transformation d'une cellule souche nerveuse. En effet, on connaît déjà le cas du médulloblastome, une tumeur de la fosse postérieure de l'enfant, qui

dérive de progéniteurs neuronaux devant constituer la couche granulaire du cortex cérébelleux. Pour diverses raisons, ces progéniteurs n'ont pu gagner cette couche et dès lors, ces neuroblastes ne deviennent pas quiescents, mais au contraire, continuent de proliférer de manière anarchique et tumorale pour constituer le médulloblastome (22). Rappelons que chez l'adulte, on a décrit deux zones neurogéniques, le gyrus dentatus de l'hippocampe et la zone sous-ventriculaire bordant le ventricule latéral (8). Cette dernière région apparaît de plus en plus être un bon candidat à l'origine des gliomes (23). Par ailleurs, il se pourrait également que les zones parenchymateuses bordant les vaisseaux soient capables d'héberger des cellules souches de GBM (24).

RELATIONS ENTRE LES ZONES NEUROGÉNIQUES ET LES GLIOBLASTOMES

Un grand nombre de tumeurs cérébrales se développent au sein ou au voisinage de la zone sous-ventriculaire (25), ce qui suggère encore une fois l'implication des cellules souches neurales adultes et du micro-environnement moléculaire (très particulier) offert par la zone neurogénique dans les cas du GBM. Par ailleurs, plusieurs observations décrivent de nombreuses similitudes entre cellules souches nerveuses et de GBM toutes deux auto-renouvelables et multi-potentes : 1) l'activation par les mêmes facteurs mitogènes exogènes suggère la présence des mêmes récepteurs à la surface cellulaire des deux types cellulaires ainsi que des mécanismes de signalisation intracellulaire identiques (26); 2) l'expression de marqueurs tels que la nestine, CD133, Musashi-1, sox2 et MELK est identique entre les cellules souches «normales» et cancéreuses (27). A ce propos, il est quasi certain que le micro-environnement offert par la zone sous-ventriculaire joue un rôle essentiel dans le maintien des cellules souches neurales adultes et il est probable que cette région puisse également constituer une «niche» pour les cellules souches tumorales. Actuellement, plusieurs groupes de recherches associant cliniciens et fondamentalistes tentent d'approfondir l'étude des parallélismes entre cellules souches cancéreuses localisées dans la tumeur, mais aussi éventuellement, dans les zones neurogènes, et cellules souches nerveuses adultes humaines normales. La comparaison au niveau moléculaire de ces deux types cellulaires pourrait s'avérer cruciale dans l'identification de l'un ou l'autre marqueur spécifique des cellules souches cancéreuses et dans la compréhension de leur mécanisme d'apparition. Outre les implications évidentes sur le

plan diagnostique, l'identification et la caractérisation de cellules souches de GBM présentes à la fois dans la masse tumorale et dans la zone sous-ventriculaire seraient particulièrement interpellantes : on pourrait en effet imaginer que ces deux types de cellules souches de GBM répondent à des impératifs différents. Les cellules de la masse tumorale sont responsables du développement de la tumeur (et, en cela, elles seraient proches des cellules progénitrices telles que nous les avons définies ci-dessus) tandis que les cellules réfugiées au niveau des zones neurogéniques, et qui seraient plus quiescentes, seraient quant à elles responsables tantôt de l'apparition d'un foyer tumoral secondaire, tantôt d'une récurrence après exérèse.

CONCLUSION

Le glioblastome multiforme (GBM), la forme la plus fréquente et la plus agressive des gliomes, est caractérisé par une résistance aux traitements actuels, et donc le pronostic reste très mauvais dès le moment du diagnostic. Ces dernières années sont caractérisées par des progrès dans la prise en charge de ces tumeurs mais ces progrès ont permis principalement d'améliorer le bien-être des patients (résection chirurgicale «plus fine» ne laissant qu'un minimum de séquelles post-opératoires) et n'ont que peu influencé la courbe de survie. La découverte de la persistance de cellules souches nerveuses chez l'adulte et la caractérisation quasi concomitante de cellules souches de GBM jettent un jour nouveau sur des hypothèses étiopathogéniques susceptibles d'expliquer certaines des raisons des échecs thérapeutiques actuels. Dès lors, nous pensons que la prise en charge des patients atteints de ce type de tumeurs est peut-être à l'aube d'une ère «translationnelle» : une collaboration étroite entre cliniciens et fondamentalistes représente sans doute à l'heure actuelle la meilleure chance de compréhension des taux élevés de récurrences de ces tumeurs. Cette compréhension est selon nous, un prérequis indispensable à une ou des modification(s) réfléchi(e)s et logique(s) des traitements proposés visant à une amélioration substantielle du pronostic chez ces patients.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Monsieur le Professeur D. Martin pour sa collaboration et Madame P. Ernst pour son assistance technique. J. Kroonen, P. Robe et B. Rogister sont soutenus par le TELEVIE, le Fonds National de la

Recherche Scientifique et le Centre anti-cancéreux près l'Université de Liège.

BIBLIOGRAPHIE

1. Kleihues PC, Cavanee WK.— Tumours of the Nervous System. *IARC Press*, 2000, 55, 314.
2. Ohgaki H, Kleihues P.— Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol*, 2005, **109**, 93-108.
3. de Buscher J, Scherer HJ.— Les gliomes de l'encéphale. Bruxelles : l'Edition Universelle, SA.
4. Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ et al.— Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*, 2005, **352**, 987-996.
5. Stummer W, Dimberg U, Meinel T et al. — Fluorescent-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol*, 2006, **7**, 392-401.
6. Robe P, Martin D — Actualités thérapeutiques dans le traitement des tumeurs cérébrales. *Rev Med Liège*, 2007, **62**, 405-409.
7. Vescovi AL, Galli R, Reynolds BA.— Brain tumour stem cells. *Nat Rev Cancer*, 2006, **6**, 425-436.
8. Pirote D, Rogister B.— La neurogenèse adulte ou l'histoire d'un dogme qui s'écroule. *Rev Med Liège*, 2008, **63**, 245-250.
9. Roegiers F, Jan YN.— Asymmetric cell division. *Curr Op Cell Biol*, 2004, **16**, 195-205.
10. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF et al.— Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*, 2001, **414**, 105-111.
11. Bonnet D, Dick JE.— Human acute myeloid leukaemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*, 1997, **3**, 730-737.
12. Hemmati HD, Nakano I, Lazareff JA, et al.— Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**, 15178-15183.
13. Wodarz A, Huttner WB.— Asymmetric cell division during neurogenesis in *Drosophila* and vertebrates. *Mech Dev*, 2003, **120**, 1297-1309.
14. Singh SK, Clarke ID, Terasaki M et al.— Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res*, 2003, **63**, 12544-12555.
15. Ignatova TN, Kukekov VG, Laywell ED, et al.— Human cortical glial tumors contain neural stem like cells expressing astroglial and neuronal markers in vitro. *Glia*, 2002, **17**, 648-657.
16. Galli R, Binda E, Orfanelli U et al.— Isolation and Characterization of Tumorigenic, Stem-like Neural Precursors from Human Glioblastoma. *Cancer Res*, 2004, **64**, 7011-7021.
17. Nakada M, Nakada S, Demuth T et al.— Molecular targets of glioma invasion. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2007, **64**, 458-644.
18. Yuan X, Curtin J, Xiong Y et al.— Isolation of cancer stem cells from adult glioblastoma multiforme. *Oncogene*, 2004, **23**, 9392-9400.
19. Berger F, Gay E, Pelletier L et al.— Development of gliomas: potential role of asymmetrical cell division of neural stem cells. *Lancet Oncol*, 2004, **5**, 511-514.
20. Holland EC, Celestino J, Dai C et al.— Combined activation of Ras and Akt in neural progenitors induces glioblastoma formation in mice. *Nat Genet*, 2000, **25**, 55-57.
21. Fan X, Salford LG, Widgren B.— Glioma stem cells: Evidence and limitation. *Sem Canc Biol*, 2007, **17**, 214-218.
22. Wechsler-Reya R, Scott MP.— The developmental biology of brain tumors. *Annu Rev Neurosci*, 2001, **24**, 385-428.
23. Sanai N, Alvarez-Buylla A, Berger MS.— Neural stem cells and the origin of gliomas. *N Engl J Med*, 2005, **353**, 811-822.
24. Calabrese C, Poppleton H, Kocak M.— A perivascular niche for brain tumors stem cells. *Cancer Cell*, 2007, **11**, 69-82.
25. Globus JH, Kuhlenbeck H.— The subependymal plate (matrix) and its relationship to brain tumors of the ependymal type. *J Neuropath Exp Neurol*, 1944, **3**, 1-35.
26. Jackson EL, Garcia-Verdugo JM, Gil-Perotin S. et al.— PDGFR alpha-positive B cells are neural stem cells in the adult SVZ that form glioma like growths in response to increased PDGF signalling. *Neuron*, 2006, **51**, 187-199.
27. Quinones-Hinojosa A, Chaichana K.— The human subventricular zone: a source of new cells and a potential source of brain tumors. *Exp Neurol*, 2007, **205**, 313-324.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Pr. B. Rogister, Service de Neurologie, CHU Sart Tilman, Liège, Belgique.