



HAL
open science

Repositionnement de médicaments en oncologie : état des lieux, exemples du propranolol et du mebendazole, et perspectives

Jérémy Ariey-Bonnet

► **To cite this version:**

Jérémy Ariey-Bonnet. Repositionnement de médicaments en oncologie : état des lieux, exemples du propranolol et du mebendazole, et perspectives. Sciences pharmaceutiques. 2020. dumas-02883819

HAL Id: dumas-02883819

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02883819>

Submitted on 29 Jun 2020

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

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

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPECIALISÉES
D' INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE

Soutenu le 25/06/2020

Par M. Jérémie ARIEY-BONNET
Né(e) le 04/05/1992

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 04 octobre 1988
tenant lieu de

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

----oOo----

**TITRE : Repositionnement de médicaments en oncologie: état des lieux, exemples
du propranolol et du mebendazole, et perspectives**

----oOo----

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Jean-Paul BORG

Membres : Madame le Docteur Ségolène DURAN

Monsieur le Docteur Eddy PASQUIER

Monsieur le Professeur Etienne CHATELUT

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Jean-Pierre REYNIER, M. Henri PORTUGAL
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT
M. Hervé KOVACIC

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE

M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI
Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
M. François DEVRED
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

A.H.U.

THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

PROFESSEURS

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET M. Michel DE MEO Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	M. Maxime LOYENS
----------------------------	------------------

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Philippe GALLICE
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	Mme Evelyne OLLIVIER

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

A.H.U.

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

ATER

CHIMIE ANALYTIQUE	M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Fanny MATHIAS

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	Mme Diane BRAGUER M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Bruno LACARELLE
TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT	Mme Frédérique GRIMALDI

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Joseph CICCOLINI Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD
PHARMACOCINETIQUE	Mme Nadège NEANT

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 22 février 2018

REMERCIEMENTS

- ***A mon jury de thèse :***

Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de lire mon manuscrit de thèse et d'y apporter votre regard critique.

Je remercie le Pr Jean-Paul Borg de s'être intéressé à mon projet et d'avoir accepté de juger mes travaux en tant que président du jury. J'ai la chance d'avoir pu travailler dans un environnement de travail approprié au bon déroulement de ma thèse au sein d'un centre de recherche de haut niveau scientifique et très solidaire. Travailler au sein du CRCM sous votre direction aura été un réel plaisir et je tiens à vous en remercier.

Je remercie le Dr Duran d'avoir accepté de siéger dans ce jury et de prendre le temps de s'intéresser à mon travail pour me donner sa vision de praticienne hospitalière en tant qu'examinatrice.

Je remercie le Pr Chatelut d'avoir accepté de siéger dans ce jury et de me faire part de son expertise malgré les conditions particulières liées au COVID 19. Je vous remercie d'avoir organisé le GPCO auquel j'ai pu participer à Toulouse il y a 4 ans. Ceci restera une très bonne expérience ! Je m'excuse d'avoir mis autant de temps à vous envoyer un manuscrit complet après avoir sollicité votre participation à ce jury 2 ans auparavant.

Je remercie le Dr Eddy Pasquier de siéger en tant que directeur de cette thèse de pharmacie. Je tiens à te remercier particulièrement pour ton encadrement durant toutes ces années de mon internat en vue de la préparation de ma thèse de science. J'ai la chance d'avoir été encadré par une personne pleinement dévouée à son activité de recherche. Merci d'avoir fait de moi un futur scientifique, j'ai beaucoup appris au cours de ces années et je te le dois entièrement. Tu as toujours été bienveillant à mon égard et as fait le nécessaire pour que je découvre la recherche et ce même en dehors du laboratoire au travers de congrès. Tu es d'un enthousiasme sans limite à chaque résultat et cela a toujours été très stimulant pour ma thèse !

- ***A ma famille :***

Quand j'étais petit, les professeurs d'école primaire se demandaient ce qu'on allait faire de moi. En cinquième, maman s'inquiétait de savoir comment j'allais obtenir mon brevet. Au lycée, ma prof de maths se demandait s'il ne valait pas mieux m'orienter sur un bac technologique. Bref je n'ai jamais aimé l'école. J'ai tout de même réussi à obtenir mon brevet et bac avec mention bien, ainsi que mon concours de première année et d'internat de pharmacie sans écurie privée du premier coup. Tout cela je vous le dois car vous avez toujours cru en moi et la crainte de vous décevoir m'a toujours poussé à dépasser mes limites !

Vous avez fait des sacrifices pour financer les études de Sarah et moi et je vous en suis éternellement reconnaissant. J'espère que nous vous l'avons bien rendu. Merci à vous d'avoir été toujours d'un grand soutien pendant ces études, je ne serai certainement pas

arrivé à ce niveau sans votre aide. Maman, tu m'as toujours appris à ne jamais rien lâcher dans les moments stressants et ça a été une réelle force pour mes études. Papa, nos engueulades régulières au cours de nos ateliers de bricolage m'ont appris à réfléchir pour bricoler avec un moindre matériel et raisonner autrement. Et l'air de rien, cela me sert au quotidien dans le domaine de la recherche ! (Par contre, on attend toujours ton invention!)

Ça n'est pas tous les jours que des parents issus de classe ouvrière peuvent se vanter d'avoir un enfant médecin et un enfant pharmacien , bravo à vous!

Sarah et Jérôme : Merci d'avoir été là pendant mes études, vous avez toujours été d'un grand soutien. Sarah tu as ouvert la voie pour mes études dans le supérieur et je t'en remercie car tu as toujours été un modèle pour moi. Tu m'as beaucoup aidé pendant ma première année et ton support psychologique a largement contribué à ma réussite ! Jérôme je te remercie de m'avoir choisi comme témoin pour votre mariage. J'ai éprouvé un grand plaisir à organiser ton enterrement de vie de garçon haha. Je vous souhaite beaucoup de bonheur pour la suite.

- **Aux gapençais :**

A Paul, Aziz, Nelson, Raph, Jason, JC, Charles, Vincent :
RHERHERHERHERHERH.

Nous nous connaissons depuis le plus jeune âge, nous avons passé des énormes soirées ensemble. Nos premiers barathons, nos premières preuves d'idioties au lyon et au final resteront gravés à jamais. Elles ont fait de moi un garçon entraîné pour survivre aux années festives que j'ai pu passer en pharmacie et je vous en remercie (et ce, même si ce comportement m'a souvent conduit aux rattrapages ^^). Vivement le prochain 30 du lyon, j'attends déjà avec impatience le prochain teaser de polo.

Mes souvenirs les plus marquants avec vous :

Paul et Jason : Je pense que le week end avec les supporters du tour de France que nous avons rencontré dans un bar de beaufs est l'illustration même des soirées que nous avons passées ensemble : imprévisible ! Je regrette d'avoir dû aller travailler à la pharmacie à la fin du week end. J'aurais aimé vous accompagner à l'étape de l'Alpes d'Huez et me faire réveiller par les organisateurs du tour de France parce que vous aviez planté votre tente en plein milieu du champ destiné à l'atterrissage des hélicoptères.

Raphael : les soirées au QG ont rythmé nos années lycée et nos premières études dans le supérieur. Je te remercie d'avoir été là pour cette fameuse soirée où nous avons escorté johnny le herisson sur le capot d'une poubelle jusqu'à sa famille d'accueil après une session de trampoline.

Aziz : la vidange de pus à la bibliothèque restera à jamais un record inégalé dans l'équipe des rats et je tiens à te remercier de m'avoir fait partager ce moment.

Nelson et Vincent : Vos concours annuels de descente de chartreuse ne cessent de nous divertir (même si on sait que Nelson perd toujours). Je me rappelle particulièrement de cette soirée où dans un grand élan de sobriété Nelson avait fait une magnifique galipette en marchant et s'était retrouvé nez à nez avec le parechoc arrière de la navette du final.

JC : On se connaît depuis la maternelle et tu dois faire partie de mes plus vieux amis ! Merci à toi pour tous ces moments passés dans le quartier à jouer au foot. Je pense que les propriétaires du garage dont nous avons cassé à maintes fois les carreaux en jouant au foot ne nous remercient pas !

Charles : tu as été le premier d'entre nous à obtenir ton permis. Comme tu le sais : un grand pouvoir implique de grandes responsabilités. Merci à toi d'avoir été le pilote des soirées commando que nous avons l'habitude d'organiser durant notre adolescence. La soirée où nous avons dû fuir à travers la forêt des scooters que nous avons flashé en excès de vitesse reste un très bon souvenir.

- ***A mes amis de pharmacie :***

Ella, Alix, Pierre, Yohan, Marc, 206 hdi: merci d'être vous. Ne nous mentons pas, on se retrouve rarement dans une salle de musculation à faire du cross fit. On sait que yoyo est particulièrement impliqué dans la prise de masse sèche mais nous avons peur de rivaliser. On est plus branché bières, pizzas, tacos, tartiflette ou grosse raclette des familles. Je dois reconnaître que c'est sans trop de peine que je me plie à ce type de rencontres

Marc et Alix je vous souhaite beaucoup de bonheur dans votre petit couple, vous êtes trop choupinou.

Yohan : Je tiens à te dire que je t'aime beaucoup tel que tu es. Ne te précipite pas à l'Apple store quand ils commercialiseront le premier bras bionique connecté à l'iCloud en 2043. La perte de ta 206 hdi au cours d'un incendie dans ton garage nous a profondément bouleversé. Je dois reconnaître que l'installation de ce rétroviseur accompagné de ses caméras de recul sur une voiture âgée de 15 ans nous avait subjugué. Le contrat d'entretien que tu avais souscrit chez midas est à l'image des relations que tu entretiens en amitié : perreine et sûre. On attend impatiemment les améliorations sur ta nouvelle polo (je pense qu'installer un home cinema google représenterait le minimum syndical si tu souhaites nous faire oublier cette 206 hdi bleu azur.)

Pierre : sous tes bouclettes à la Julien Doré, et ton vespa d'homme fragile, se cache un instagrameur au grand cœur. Merci à toi pour ta lourdeur, j'ai rarement rencontré des personnes en mesure de rivaliser. Nous avons passé d'excellentes soirées ensemble à troller tout le monde. Ta capacité à raconter n'importe quoi est inégalable et je pense que c'est aussi ce qui fait que l'on s'entend si bien. Les vacances qu'on a pu passer ensemble en corse resteront de très bons souvenirs ! Tous tes proches sont très fiers de toi depuis que tu es devenu flexitarien. Je vous souhaite beaucoup de bonheur avec Fanny.

Ella : ta quête assoiffée de hipsterisme nous régale. On attend que tu retapes un vieux vélo rouillé pour aller à la pharmacie de saint loup. Je dois t'avouer que je trouve tes chats très bizarres. Pense à faire diagnostiquer Doug tout de même : ce n'est pas normal qu'un chat passe ses journées à lécher les peintures : on frôle le saturnisme.

Marc : on aura passé des bonnes années en pharma. Les lutins sont rentrés dans la légende dès le premier week end d'intégration. Difficile de passer à côté de deux p2 avec une descente si efficace en même temps... Nos soirées pharma étaient plus que

compétitives et j'en garde de très bons souvenirs. Je vous souhaite beaucoup de bonheur avec Alix, Doug, Nestou et Frida ! Un grand merci à ton papa qui m'a aidé pour les travaux de mon appartement !

Pinte : Ton nom de famille est particulièrement adapté aux soirées qu'on a passé ensemble. Merci d'avoir été mon voisin pendant ces années pharma, on s'est bien marré à chaque week end d'intégration et aux soirées qu'on a pu passer ensemble. Je vous souhaite beaucoup de bonheur avec ta (petite) Daisy.

Mahé : Tu es sûrement le plus fourbe des hauts alpins que j'ai eu l'honneur de rencontrer. Merci à toi d'avoir été un montagnard à la hauteur de notre réputation pendant toutes ces années. Ce fût un vrai plaisir de participer à ton mariage. Je vous souhaite beaucoup de bonheur avec Marie !

Manon : Merci à toi d'avoir été une hippie pendant toutes ces années. Ton emménagement rue sainte Cécile a largement contribué à rendre notre bâtiment plus compétitif que jamais ! J'espère que ta nouvelle vie à Orléans te satisfera comme tu le souhaites !

Thomas : Merci à toi pour ces bons souvenirs. On a passé de très bons moments ensemble à Merlette et durant toutes nos années de pharmacie. J'espère que ta prise de poste à la Réunion se déroule comme tu le souhaites !

JB : Je te remercie pour toutes ces soirées post exam que tu as organisées chez toi. La meilleure restera sans doute celle où tu avais ramené un caddie afin de le transformer en siège confortable !

Mylène, Daisy, Clément, Najah, Pauline, Myriam: Merci à vous pour tous ces bons moments passés durant ces années de pharma. Je garde d'excellents souvenirs de vous partant à la pêche aux informations pendant toutes ces séances de TP ainsi que des vacances que nous avons passé ensemble à Merlette.

Farès, Rayan, Sacha, Julien, Balotti, Padiou, Hamza: Merci à vous pour ces soirées passées à la coloc! Les parties de bière pong resteront gravées à jamais !

Zapitelli, JDG, Théo : Merci d'avoir été là durant la préparation du concours de l'internat. On n'était pas les plus travailleurs mais nous avions au moins le mérite d'être un groupe soudé ! Je vous souhaite le meilleur pour la suite !

- ***Aux collègues du CRCM :***

Equipe iSCB : Merci à vous d'avoir été là durant ma thèse de science. Cela a été un grand plaisir de travailler à vos côtés et de partager ces pauses avec vous au relay H. J'espère que toute cette bonne ambiance perdurera après mon départ ! Vous êtes une équipe au top et réaliser ma thèse au sein de votre équipe m'aura permis de devenir un meilleur scientifique. Je vous remercie pour tout le savoir que vous m'avez transmis !

Marion : Bienvenue dans l'équipe ! Merci à toi d'avoir relu ma thèse de pharmacie et de m'avoir donné tous ces conseils précieux dans le but de l'améliorer. J'espère que ton arrivée au CRCM se déroulera dans les meilleures conditions pour la préparation de tes concours !

Guillaume : Ton odeur de louve durant notre voyage en Corse m'a quelque peu dérangé mais c'était l'occasion de faire ta connaissance et je dois reconnaître que ça valait le coup ! Félicitations pour ton concours de PH, je te souhaite une bonne fin de thèse et un avenir professionnel et personnel épanouissant !

Anne : Ce fut un grand plaisir de participer à ta thèse et je t'en remercie. Félicitations pour ton achat immobilier. Je vous souhaite beaucoup de bonheur à toi et Tim pour la suite, ainsi qu'une pleine réussite de tes concours de MCU !

Geoffrey : Merci à toi pour tes vanes de gros lourd ! Je me régale toujours autant à troller Eddy à tes côtés ! Je te souhaite un beau plan de travail en quartz pour ta cuisine et une réussite de tes concours !

Mathieu, Laetitia, Alexandra, Sara, Seb, Julie, Lise, Violaine, Mary-Loup, Julien W, les animaliers: Enfiiiiin des gens au CRCM qui savent faire la fête. J'ai longtemps attendu votre venue et je dois reconnaître que vous rencontrer a nettement amélioré mes afterwork. Merci à vous pour tous ces happy hour, et ces soirées au blackstone !

Equipe Sodexo : Merci à vous de nous cuisiner tous les jours des repas de qualité ! J'affectionne tout particulièrement vos travers de porc, votre magret de canard, votre tartiflette et votre couscous !

- ***A la team fortnite :***

Kendall : Merci d'accepter de jouer encore à mes côtés malgré les multiples réanimations. Je te souhaite beaucoup de bonheur avec Anaïs !

Aurélien : Merci à toi d'être un french monster. Nos game et tes vanes de gros lourd ne cessent de me régaler ! Je suis très content d'avoir participé à ton mariage. Je vous souhaite beaucoup de bonheur pour votre nouvelle vie dans le Sud avec ta femme exceptionnelle Johanna et votre petit Louis !

- ***A ma petite Violette :***

Le meilleur pour la fin ! Merci d'avoir été là pendant cette année et de m'écouter râler pendant la rédaction et les corrections de mon manuscrit. J'ai beaucoup de chance de t'avoir à mes côtés et je tiens à te remercier d'être là au quotidien. J'espère qu'on pourra continuer de profiter ensemble malgré la fin de ma thèse qui approche à grand pas !

L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

SOMMAIRE

SOMMAIRE..... 1

I) Contexte scientifique :	5
A) Bilan de la recherche et du développement pharmaceutique depuis 1950:	5
1) Causes primaires responsables du déclin de la R&D :	6
a) Le problème lié au besoin d'une innovation constante :	6
b) Les restrictions liées au principe de précaution :	6
c) La tendance au surinvestissement dans des secteurs privilégiés de la R&D :	7
d) Les biais de la recherche fondamentale et de la force brute :	8
e) Le paradigme des thérapies ciblées :	9
2) Impact sur le déroulement des essais cliniques :	12
a) La vision restreinte des essais cliniques :	12
b) L'effectif croissant des patients inclus dans les essais cliniques :	12
c) La multiplicité des essais cliniques :	13
d) Le problème lié à la durée des périodes d'essai clinique :	14
B) Le repositionnement de médicaments :	15
1) Définitions :	15
2) Avantages liés au repositionnement de médicaments :	18
3) Contexte économique :	20
4) Identification des opportunités pour repositionner des médicaments :	23
a) Exploitation des bases de données :	23
b) Approches de prédiction <i>in silico</i> :	28
c) Approches <i>in vitro</i> :	28
d) Expérimentations animales :	29
e) Observations des traitements vétérinaires :	29
f) Observations cliniques :	29
g) Analyses épidémiologiques et études rétrospectives :	30
h) Séquençage génomique :	33
i) Mise à profit des effets indésirables des médicaments :	35
II) Exemples d'agents pharmacologiques repositionnables dans le domaine de l'oncologie :	39
A) Le propranolol :	39
1) Posologie :	39
2) Toxicité :	40
3) Pharmacocinétique :	40
4) Données anti cancéreuses précliniques (in vitro et in vivo) :	41
a) Leucémie :	41

b)	Cancer du sein :	42
c)	Mélanome :	44
d)	Cancer ovarien :	46
e)	Angiosarcome :	46
f)	Neuroblastome :	47
g)	Cancer de la prostate :	48
h)	Cancer pancréatique :	49
i)	Cancer colorectal :	49
j)	Cancers de la tête et du cou :	50
k)	Autres :	51
5)	Données humaines dans le traitement du cancer :	53
a)	Cancer du sein :	54
b)	Angiosarcome :	55
c)	Autres :	56
6)	Essais cliniques :	58
a)	Phase 1 :	58
b)	Phase 2 :	59
c)	Phase 3 :	60
d)	Phase non référencée :	60
7)	Mécanisme d'action anti-cancéreux :	61
a)	Effets sur la prolifération :	61
b)	Effets sur la migration et l'invasion :	61
c)	Effets sur l'apoptose :	64
d)	Effets sur l'angiogenèse :	65
e)	Effet sensibilisateur au traitement :	66
f)	Effets sur le système immunitaire :	67
g)	Autres mécanismes d'action proposés :	71
8)	Résumé des preuves in vitro, in vivo, et cliniques justifiant le repositionnement du propranolol :	
	74	
B)	Le mebendazole :	77
1)	Posologie :	77
2)	Toxicité :	78
3)	Pharmacocinétique :	78
4)	Données anti cancéreuses précliniques (in vitro et in vivo) :	79
5)	Données humaines dans le traitement du cancer :	82
6)	Essais cliniques :	83
7)	Mécanisme d'action :	84

8) Résumé des preuves in vitro, in vivo, et cliniques justifiant le repositionnement du mebendazole :.....	86
III) Le repositionnement de médicaments de nouvelle génération :	89
A) Intérêt général et scientifique:	89
1) Le glioblastome :	89
2) Le repositionnement de médicaments :	89
B) Objectifs du projet de recherche :.....	90
C) Résumé du projet et présentation des résultats déjà obtenus :	94
1) Orientation de la recherche du mécanisme d'action du MBZ par des outils de modélisation in silico :.....	98
2) Identification du mécanisme d'action du MBZ par une approche de click protéomique :.....	103
IV) Cadre réglementaire du repositionnement de médicaments :.....	117
A) Obtention de nouvelles indications pour un médicament repositionnable :.....	117
1) Cadre réglementaire européen pour une demande d'AMM :.....	117
2) Incitations réglementaires à l'obtention d'AMM :	120
3) Prix, remboursement et utilisation clinique :	124
4) Défis dans l'apport de nouvelles indications pour des médicaments repositionnables :	125
B) La prescription de nouvelles utilisations hors AMM :	127
1) Cadres législatifs nationaux pour une utilisation hors AMM :.....	127
2) Risques liés à la prescription de nouvelles utilisations hors AMM :	127
V) Discussion :.....	129
A) Barrières rencontrées dans le domaine du repositionnement de médicament :	130
1) Considération de la propriété intellectuelle:	131
2) Considérations réglementaires :.....	132
3) Obstacles organisationnels dans l'industrie :.....	133
4) Modèles de collaboration pour le repositionnement de médicaments :	134
B) Recommandations pour le repositionnement de médicaments :	137
VI) Conclusion :	139
<i>BIBLIOGRAPHIE.....</i>	<i>141</i>

I) Contexte scientifique :

A) Bilan de la recherche et du développement pharmaceutique depuis 1950:

Depuis 60 ans, des avancées considérables ont été faites dans les domaines scientifiques et technologiques de la recherche et développement (R&D) du médicament. L'émergence de la chimie combinatoire (forme nouvelle de chimie produisant des banques de molécules potentiellement actives) dans les années 80-90 a permis d'augmenter le nombre de molécules synthétisables par un chimiste en une année par un facteur 800¹. Dans le domaine de la génomique, le séquençage de l'ADN est devenu une technique de routine facilitant ainsi l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques^{2,3}. Les avancées en biochimie structurale permettent aujourd'hui de résoudre des structures protéiques en cristallographie (*via* Rayons X) beaucoup plus rapidement que 50 ans auparavant⁴. Les banques de données de structures protéiques sont ainsi aujourd'hui 300 fois plus enrichies qu'il y a 25 ans ce qui facilite le développement de composés inhibiteurs *via* des approches de docking moléculaire⁵. L'arrivée des technologies de criblage haut débit dans le milieu des années 90 a permis de réduire par 10 le temps nécessaire pour tester des banques de composés⁶. Durant cette même période, les biotechnologies ont connu un essor et l'arrivée de modèles transgéniques de souris a permis une meilleure compréhension des mécanismes gouvernant les cellules cancéreuses ainsi que l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques et biomarqueurs.

En parallèle, des efforts ont été fournis afin de comprendre et améliorer le management des processus commerciaux de R&D. Toutes ces innovations ainsi que l'expérience accumulée sur les facteurs qui peuvent influencer la réussite ou non d'un projet⁷, les retours sur investissement⁸⁻¹¹, la sous-traitance de tâches, ainsi que les critères d'éligibilité auprès des instances de santé n'ont cependant pas permis de réduire les coûts et la durée de recherche liés au développement d'un médicament. Ainsi, il est estimé à ce jour que le coût de développement d'un nouveau médicament anticancéreux est compris entre 500 millions et 2 milliards d'euro et que les étapes préalables à sa commercialisation durent entre 12 et 15 ans en moyenne¹². En effet, selon une étude menée en 2012 par *Scanell et al*¹³, le nombre de nouveaux médicaments commercialisés par les entreprises pharmaceutiques et de biotechnologies rapporté aux sommes de dollars dépensées a été divisé par 2 tous les 9 ans depuis 1950 (**Figure 1**).

1) Causes primaires responsables du déclin de la R&D :

5 causes primaires permettant d'expliquer la stagnation voire le déclin de l'efficacité de la R&D pharmaceutique pourraient justifier ce phénomène:

a) Le problème lié au besoin d'une innovation constante :

La difficulté d'innover après les découvertes réalisées au cours des 60 dernières années pourrait être une première cause majeure. En effet, les industriels pharmaceutiques cherchant à développer des processus pour la découverte d'un nouveau médicament doivent aujourd'hui faire face à un catalogue de médicaments déjà approuvés. Les preuves à fournir pour obtenir l'autorisation de mise sur le marché, son remboursement et son adoption dans la pratique clinique deviennent ainsi de plus en plus complexes.

b) Les restrictions liées au principe de précaution :

Les restrictions liées au principe de précaution sont attribuables majoritairement aux instances de santé. L'augmentation progressive de la vigilance de ces instances de santé pour accorder l'autorisation aux industriels de lancer un candidat médicament en essai clinique tend à diminuer l'introduction de nouveaux médicaments sur le marché et à augmenter les coûts associés à la R&D¹⁴. Un fort niveau de preuves est désormais exigé afin de lancer un essai clinique. Ce phénomène est visible sur la *Figure 1* où une nette diminution du nombre de médicaments approuvés par milliard de dollars dépensé est observée après l'introduction de la thalidomide sur le marché responsable de graves cas de phocomélie. A partir de cet événement, les médicaments furent soumis à des évaluations rigoureuses de la sécurité et de l'efficacité avant de pouvoir être testés chez l'homme pour la première fois. A l'inverse, une augmentation de médicaments approuvés est constatée dans le milieu des années 90, période durant laquelle les instances de santé étaient moins exigeantes sur les critères de sécurité et d'efficacité nécessaires pour lancer des essais cliniques pour le traitement du virus de l'immunodéficience humaine. Mais cette augmentation est largement due à la création de la PDFA (Prescription Drug Fee Act) qui autorise la FDA (Food and Drug Administration) à puiser des fonds dans les industries pour accélérer le processus de validation de nouvelles applications médicales pour des candidats médicaments. Cependant la priorité restera toujours la santé du patient et la sécurité d'emploi du médicament même si cela doit affecter les coûts liés à la R&D.

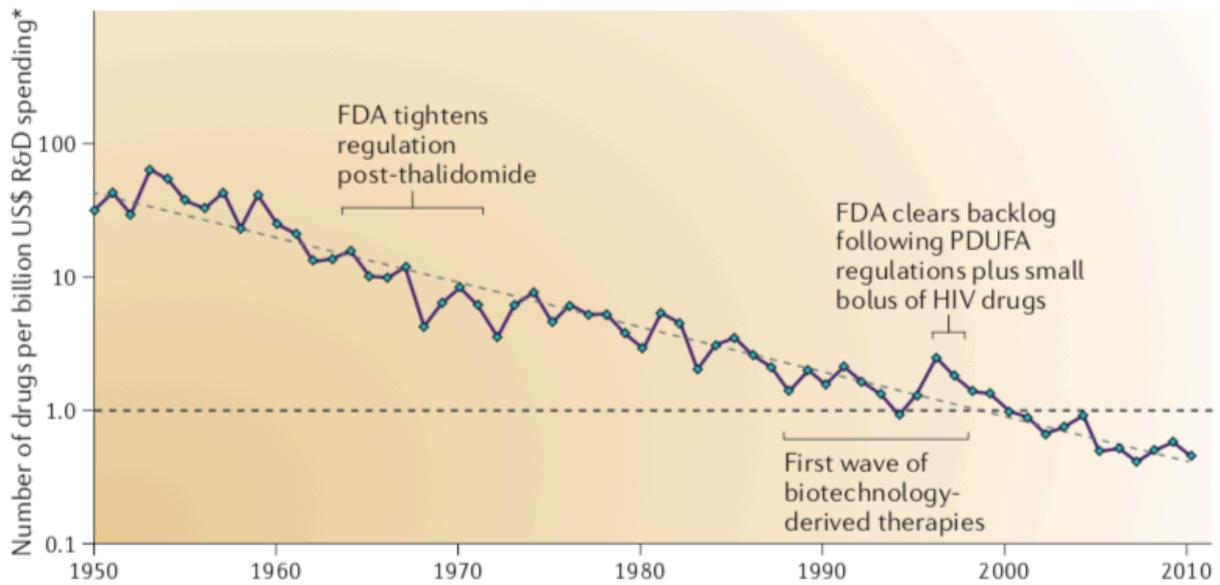


Figure 1 : Tendence globale de l'efficacité du secteur recherche et développement R&D pharmaceutique.

Nature reviews drug discovery. Diagnosing the decline in pharmaceutical R&D efficiency. Scannel et al. 2012.

c) La tendance au surinvestissement dans des secteurs privilégiés de la R&D :

Cette tendance consiste à ajouter des ressources humaines et d'autres ressources à la R&D. Elle a entraîné ces dernières années, une augmentation des dépenses de R&D dans les grandes entreprises et pour l'ensemble du secteur.

Cela est probablement dû à plusieurs facteurs, notamment le bon retour sur investissement de la R&D au cours des 60 dernières années, qui a permis aux entreprises d'obtenir une longue période de rentabilité. En outre, la concurrence acharnée entre les médicaments commercialisés pousse les entreprises à investir des ressources supplémentaires pour être le premier à se positionner sur un nouveau marché de médicaments. Il se peut également que les grandes entreprises aient un parti pris pour assimiler la réussite professionnelle à la taille de leur budget. Les investisseurs et de nombreux cadres supérieurs pensent que beaucoup de ces coûts pourraient être réduits en diminuant l'effectif des ressources humaines dans le secteur de la R&D, sans pour autant affecter considérablement la production. Ces suppositions restent néanmoins à démontrer.

d) Les biais de la recherche fondamentale et de la force brute :

Le premier biais est une tendance à surestimer les avancées faites en recherche fondamentale tandis que le deuxième est une tendance à penser que le développement de la technologie dans les étapes précliniques est corrélé au développement d'un médicament sûr et efficace en essai clinique. Cette dernière tendance a permis de dynamiser les étapes précoces de R&D d'un médicament^{15,16,17}. La **Figure 2** représente le modèle de développement d'un médicament.

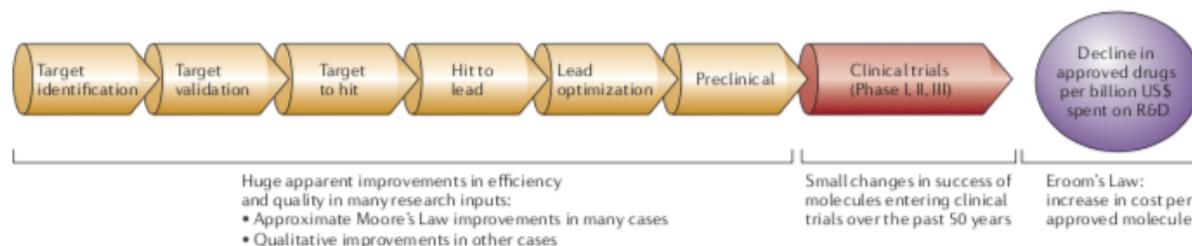


Figure 2 : Etapes de développement du médicament

Nature reviews drug discovery. Diagnosing the decline in pharmaceutical R&D efficiency. Scannel et al. 2012.

Les innovations technologiques et scientifiques réalisées au cours des 50 dernières années ont permis de diminuer considérablement le temps nécessaire à l'identification de cibles thérapeutiques et molécules efficaces (technologies de criblage haut débit de plus en plus abordables *versus* études animales longues et onéreuses). L'émergence de techniques telles que les analyses de voies de signalisation ou l'utilisation de modèles transgéniques de souris a permis d'accélérer la validation de cibles thérapeutiques ou de candidats médicaments durant les étapes précliniques. Ceci devrait augmenter les chances de succès d'un candidat médicament en essai clinique et diminuer le coût associé à la R&D car le prix du médicament est lié au budget investi dans les autres projets de R&D n'ayant pas abouti à de nouveaux médicaments¹⁸. Cependant la probabilité de réussite d'un candidat médicament en essai clinique a décliné au cours ces 50 dernières années¹⁹. Deux raisons peuvent être attribuables à cette diminution. Premièrement, le dogme de la R&D industrielle pharmaceutique est désormais centré sur l'hypothèse qu'un candidat médicament doit être capable de se lier avec une grande affinité à sa cible thérapeutique sans avoir d'effet hors cible dénommé effet "off-target"²⁰. Cependant si le lien causal entre la cible thérapeutique et la maladie n'est pas aussi relevant que celui qui était espéré, ou que le candidat médicament développé n'agit pas que sur cette cible, il est

facilement compréhensible que ce dernier ne démontre pas l'effet espéré. Les petites molécules permettent d'interagir étroitement avec la cible thérapeutique pour laquelle elles ont été développées. Cependant les systèmes biologiques présentent une grande redondance ce qui augmente considérablement la probabilité d'effets off-target de petites molécules et donc la survenue d'effets indésirables en phase préclinique ou clinique. Deuxièmement, on peut noter un changement considérable dans les approches de découverte de candidat médicament avec le passage d'une approche de chimie médicinale couplée à des expérimentations (avant les années 90) à des technologies de criblage haut débit nécessitant de filtrer les candidats au fur et à mesure du développement. Une combinaison de ces 2 approches pourrait être une technique plus longue mais plus efficace pour l'identification de candidats médicaments.

Il y a de nombreuses raisons permettant d'expliquer pourquoi la recherche fondamentale et l'innovation technologique sont le moteur de la R&D aujourd'hui. Au début des années 80, la communauté scientifique s'accordait à dire que le ralentissement de l'innovation pharmaceutique se faisait ressentir avec le développement de molécules apportant des bénéfices de plus en plus modestes durant les essais cliniques. La minimisation de la prise de risques par les instances de santé était déjà limitante pour les industriels et ces derniers se détachaient de plus en plus des études animales au profit des technologies de criblage haut débit. Et enfin, la recherche fondamentale en elle-même semblait ne plus être suffisante pour l'innovation pharmaceutique. Ce qui était communément appelé le « réductionnisme moléculaire » auparavant est aujourd'hui devenu un dogme car toutes les recherches biomédicales semblent conduire à la compréhension du génome. Ainsi le recours à des techniques de haut débit permettant l'analyse de nombreuses variables dites techniques "omiques" paraissent aujourd'hui beaucoup plus pertinentes que les anciennes approches empiriques.

e) [Le paradigme des thérapies ciblées :](#)

Les thérapies ciblées visent à inhiber une particularité de la cellule cancéreuse et à bloquer son activité, qui la plupart du temps est impliquée dans la chaîne d'informations responsable de la prolifération des cellules.

Suite au développement de la recherche fondamentale et des outils technologiques, le développement de médicaments a de plus en plus été gouverné par le paradigme des thérapies ciblées. À ce jour, les études portant sur des thérapies ciblées inhibant les voies EGFR ou VEGF qui ont été intégrées à la clinique, ont obtenus des résultats décevants. L'impact sur la survie globale a souvent été modeste, les tumeurs solides présentent une résistance innée ou acquise, les effets secondaires de ces thérapies peuvent être graves et les coûts par patient élevés^{21,22}.

Une meilleure stratification des patients permettrait d'améliorer les réponses au traitement observées chez les patients inclus en essai clinique. Une des limitations principales de ce type de thérapies est que les tumeurs sont des systèmes adaptatifs, présentant un degré élevé d'hétérogénéité intra-tumorale^{23,24} incluant la génétique, l'épigénétique ou encore le métabolisme cellulaire. Ainsi les traitements proposés agissent comme des pressions sélectives²⁵. L'évolution clonale garantit la survie et la prospérité des clones résistants, contrairement aux cellules répondant au traitement. Dans ce scénario, les thérapies ciblées peuvent être très spécifiques et efficaces quant aux populations clonales qu'elles attaquent, mais la résistance est plus susceptible de se développer car le profil mutationnel à acquérir pour que les cellules deviennent résistantes au traitement est moindre. Pour cette raison, un certain nombre de chercheurs ont suggéré qu'en fin de compte, les traitements ciblés par un agent unique ne produiraient pas de réponses durables pour la grande majorité des tumeurs^{26,27}.

L'utilisation de combinaisons de thérapies ciblées, ou l'administration de thérapies ciblées à un stade plus précoce de la maladie pourraient représenter des façons de contourner les problèmes de résistance acquise aux agents ciblés. Ces approches sont maintenant un domaine de recherche clinique très actif. Initialement, l'adoption des thérapies ciblées dans l'ère de la médecine personnalisée a suscité beaucoup d'espoir. Aujourd'hui c'est l'utilisation combinée d'agents ciblés qui représente un espoir afin de cibler les différentes voies de signalisation incriminées dans l'activité des cellules cancéreuses. Pour atteindre cet objectif, il faudra non seulement une vaste gamme de médicaments ciblés, à faible toxicité, mais aussi à un coût rendant ces combinaisons réalisables. Nous devons également être en mesure d'identifier des groupes spécifiques de patients qui bénéficieront de ces associations et être capable de mener les essais cliniques nécessaires pour prouver l'efficacité des protocoles de traitement. En outre, de telles combinaisons peuvent impliquer des médicaments développés par différentes sociétés, avec les problèmes logistiques et commerciaux concomitants impliqués dans le regroupement de ces produits dans un seul essai. Ces considérations ne sont pas évidentes à prendre en compte, et le tout premier essai portant sur une approche entièrement personnalisée du cancer du sein métastatique a rapporté des résultats cliniques décevants, même si l'efficacité n'était pas son objectif principal²⁸. La médecine personnalisée est peut-être envisageable, mais sa faisabilité et son efficacité restent à prouver dans la pratique pour la grande majorité des tumeurs, et son application dans la clinique standard ne devrait être possible qu'avant quelques années.

De manière plus immédiate, il y a eu une utilisation accrue de thérapies ciblées avec des agents de chimiothérapie dits traditionnels²⁹. Les avantages de cette approche en terme d'amélioration de la survie globale ne sont pas encore clairs^{21,30}, mais cela suggère qu'il reste un rôle important à jouer pour les médicaments non ciblés traditionnels. Cependant, les thérapies ciblées et les chimiothérapies conventionnelles souffrent de problèmes de toxicité qui ont un impact négatif sur la qualité de vie des patients et nécessitent souvent une réduction de la dose ou l'interruption du traitement par les patients. En outre, à quelques exceptions notables, telles que l'imatinib (Gleevec) dans la leucémie myéloïde chronique (LMC), le bénéfice de nombreux traitements ciblés approuvés reste modeste, et des événements indésirables graves ont été rapportés chez certains patients^{21,31,32,33,34}

Bien que l'approche des thérapies ciblées soit devenue dominante dans de nombreuses parties de l'industrie pharmaceutique, nous devons veiller à ne laisser aucune opportunité raisonnable de développement de médicaments anticancéreux inexploitées. Il reste donc nécessaire d'étudier d'autres sources d'agents anticancéreux, y compris l'arsenal thérapeutique existant.

Contrairement au paradigme des agents ciblés, de nombreux agents anticancéreux classiques peuvent être considérés comme des médicaments au profil non sélectif, dans la mesure où ils ont plusieurs cibles, qui dans de nombreux cas n'ont pas encore été élucidées. Dans la grande majorité des cas, les traitements anti-cancéreux pionniers ont été mis au point et sont passés à l'utilisation clinique avant que leur mécanisme d'action ne soit élucidé. Par exemple, Sidney Farber et ses collègues ont adopté et utilisé le méthotrexate dans le traitement de la leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) pendant plus de dix ans avant que Michael Osborn et Frank Huennekens ne démontrent son inhibition spécifique de la dihydrofolate réductase (DHFR)³⁵. Ainsi, de nos jours, nombre de ces chimiothérapies de première et de deuxième génération restent le pilier des traitements de nombreux cancers et font l'objet de nouvelles études comprenant de nouvelles associations (y compris avec des agents ciblés), de nouvelles indications, de nouvelles formes galéniques (par exemple, liposomales) ou de nouveaux protocoles (notamment métronomiques) sans que leur mécanisme d'action anti-cancéreux ait été complètement déchiffré.

2) Impact sur le déroulement des essais cliniques :

a) La vision restreinte des essais cliniques :

Ces 5 grandes causes de la stagnation de la R&D ont des répercussions sur le développement clinique. Dans les années 1950 et 1960 les criblages de molécules étaient réalisés sur les animaux et intervenaient à un stade précoce du développement préclinique. Les découvertes impliquaient la capacité minutieuse des médecins à identifier des améliorations symptomatiques après traitement notamment dans les domaines où ceux-ci peuvent être décelés aisément tels que la psychiatrie. Si cette technique peut paraître laborieuse, il faut noter que de nouvelles utilisations thérapeutiques ont été récemment suggérées *via* cette méthode par des cliniciens observant des patients dans leur quotidien³⁶. Certaines petites et moyennes entreprises reconnaissent cette opportunité et sont des repositionneurs actifs de médicaments déjà existants. Cependant, les problèmes précédemment soulevés à savoir celui du principe de précaution et celui du biais exercé par la recherche fondamentale sur la R&D conduisent aujourd'hui à des essais cliniques limités sur l'étude de l'indication pour laquelle la molécule a été commercialisée. Si le candidat médicament présente un effet qui semble lié à un effet off target qui n'avait pas été anticipé par les promoteurs de l'essai clinique alors ce dernier est arrêté et considéré comme un échec. De plus, la tendance globale à opter pour des études multicentriques réduit la probabilité de constater des effets hors cibles car le nombre de patients par centre lors d'essai clinique est compris entre cinq et dix³⁷.

b) L'effectif croissant des patients inclus dans les essais cliniques :

Le premier essai clinique randomisé contrôlé a été publié en 1948. Ce dernier recrutait 109 patients et 107 d'entre eux avaient été randomisés³⁸. Entre 1993 et 2006 le nombre moyen de patients pour un essai évaluant l'efficacité d'un nouvel agent antidiabétique en phase 3 était compris entre 900 et 4000. Le premier essai pivot pour Merck publié en 1994 recrutait 4400 patients³⁹. Actuellement, un autres essai de ce type dirigé par Merck évaluant l'anacetrapib (un candidat médicament modulant le taux de cholestérol) prévoit de recruter 30 000 patients.

Cette augmentation du nombre de patients est la conséquence de plusieurs facteurs. Le besoin constant de démontrer une innovation augmente la taille des essais cliniques. Tout confondu, la taille de l'effectif des patients inclus dans un essai clinique doit être inversement proportionnelle au carré de l'amplitude de l'effet du candidat médicament. Ainsi, si l'effet du médicament diminue de moitié par rapport à un médicament concurrent, l'essai clinique devra recruter 4 fois plus de patients pour avoir un effet statistiquement significatif et comparable. De plus, les essais cliniques de phase 3 sont devenus un mélange de science, de régulation, de

relations publiques et de marketing. Aussi, la difficulté de répondre positivement à toutes ces contraintes est liée à une augmentation de la taille et du prix des essais cliniques. Le recours à des essais cliniques multicentriques paraît nécessaire compte tenu de la diversité des comportements des patients et du fonctionnement des cliniciens. Ils permettent d'exclure des biais tels que le type de population étudié ou encore les pratiques cliniques adoptées par le centre où se déroule l'essai. De plus, les essais cliniques de petite taille ne suffisent pas à convaincre sur l'efficacité et la sécurité d'utilisation d'un candidat médicament dans un monde où la médecine est basée désormais sur un fort niveau de preuves. Aussi, le recours à des essais multicentriques a entraîné une augmentation d'un facteur 2 du nombre d'investigateurs d'essais cliniques ces dix dernières années, ainsi qu'une hétérogénéité et une augmentation du coût associé aux essais cliniques³⁷.

c) La multiplicité des essais cliniques :

Le besoin constant de démontrer une innovation augmente la complexité de la pratique médicale. Dans certains secteurs de la santé où auparavant une ou deux options possibles étaient proposées aux patients, les médecins disposent aujourd'hui d'un catalogue fourni de nouvelles options thérapeutiques. Par exemple, le traitement des patients atteints de diabète de type 2 était autrefois l'insuline, un régime strict ou encore de l'exercice alors que maintenant il existe 10 classes différentes de médicaments pour cette pathologie. Le traitement des patients atteints de cancer du côlon était autrefois la résection du côlon ou les soins palliatifs. Désormais les connaissances scientifiques portant sur le cancer du côlon a entraîné la rédaction de 100 pages de recommandations pour le traitement de ce cancer. Ainsi la prise en charge des patients peut nettement être améliorée avec des taux de survie passant de 20 à 70% .

Par ailleurs, les instances de santé sont moins enclines à accepter que la sécurité et l'efficacité soient évaluées sur des populations hétérogènes et fragmentées. Ceci implique une augmentation du nombre des essais cliniques ainsi que l'aboutissement à des indications plus restreintes. A titre d'exemple, la galargine, un analogue de l'insuline à durée de vie longue a été approuvée par la FDA en 1999 après avoir été évaluée dans 3 essais cliniques de phase 3. En comparaison, le degludec, un nouvel analogue de l'insuline à durée de vie longue a été approuvé par la FDA en 2011 après 12 essais cliniques.

On estime que des médicaments candidatant à des Autorisations de mise sur le marché (AMM) (dans des domaines bénéficiant déjà d'alternatives thérapeutiques) exigent la réalisation d'environ une douzaine d'essais cliniques de phase 3.

d) Le problème lié à la durée des périodes d'essai clinique :

Dans les années 50-60, la durée des phases d'essai cliniques et précliniques était relativement courte. Les instances de santé prenaient moins de précaution et l'efficacité des médicaments était testée directement dans des modèles animaux. Cela a permis d'accélérer l'innovation.

Le premier antidépresseur (l'imipramine) a été synthétisé en 1951, testé dans le rat quasi immédiatement, et évalué personnellement par des employés de la compagnie Geigy à des fins neuroleptiques et sédatives⁴⁰. De 1952 à 1955, il a ensuite été testé dans d'autres pathologies où des effets ont été notés chez des patients psychotiques, avant d'être identifié comme agent antidépresseur en 1956. Le développement préclinique ainsi que les périodes d'essai chez l'homme ont été réalisés en 5 à 6 ans dans les années 50 alors que cette période d'essai était évaluée à 9 ans en 2006⁴¹.

Suite aux difficultés décrites précédemment, il est facilement concevable que le bilan des 50 dernières années en R&D ne soit pas à la hauteur de ce qui était espéré. L'innovation technologique ainsi que les avancées en recherche fondamentale n'ont pas permis d'augmenter le nombre de médicaments arrivant sur le marché malgré les ressources humaines et matérielles investies dans les domaines tels que l'oncologie. Ces propos sont à tempérer pour le domaine de l'oncologie où on constate une augmentation du nombre de nouvelles molécules depuis ces 4-5 dernières années. Dans ce contexte, le recours à des techniques telles que le repositionnement de médicament pourrait représenter une alternative.

B) Le repositionnement de médicaments :

1) Définitions :

A ce jour il n'existe pas de définition consensuelle du repositionnement de médicaments. Il est décrit comme une stratégie qui consiste à identifier de nouvelles indications thérapeutiques pour des molécules déjà disponibles sur le marché et dont le profil de toxicité est connu (effets indésirables, contre-indications et profil pharmacocinétique).

Une étude menée par *Langedick et al*⁴² en 2015 s'est intéressée aux terminologies et définitions utilisées dans la littérature. Les auteurs ont établi, qu'en anglais, il existait différents termes pour désigner cette stratégie de recherche dont les plus couramment utilisés étaient « drug repositioning », « drug repurposing », « drug reprofiling », « drug rediscovery » ou encore « drug redirecting ». Parmi ces articles, certains proposaient des définitions plus ou moins spécifiques pour cette stratégie de recherche (*Figure 3*).

Definition ^a	Refs
Drug repositioning is giving new usages for old drugs	[17]
Drug repositioning is a concept to reuse existing drugs for new targets	[39]
Drug repositioning and drug repurposing are finding a new use for an existing drug	[40]
Drug repositioning and drug repurposing refer to the use of an old drug for a new indication	[41]
Drug repositioning, drug repurposing, drug redirecting and drug reprofiling are the process of finding new uses outside the scope of the original medical indication for existing drugs	[1]
Drug repositioning and drug repurposing are taking an approved drug that has already been optimised for safety and efficacy in a particular indication and obtaining regulatory approval for novel therapeutic applications	[3]
Drug repositioning refers to the utilization of a known compound in a novel indication underscoring a new mode of action that predicts innovative therapeutic options	[18]
Drug repositioning is a strategy for pharmaceutical R&D in which an established active pharmaceutical ingredient is applied in a new way – for example, for a new indication – and often combined with an alternative method of presentation, such as a novel delivery route	[23]
Drug repositioning and drug repurposing are a strategy to find new uses for previously approved drugs and 'parked' or 'off the shelf' molecules that reached the clinic without any safety concerns but did not show sufficient efficacy against their intended primary disease target	[42]
Drug repositioning involves: finding new indications for existing drugs or potential drug candidates, including those in clinical development where mechanism-of-action is relevant to multiple diseases; drugs that have failed to demonstrate efficacy for a particular indication during Phase II or III trials but have no major safety concerns; drugs that have been discontinued for commercial reasons; marketed drugs for which patents are close to expiry; and drug candidates from academic institutions and public sector laboratories not yet fully pursued	[4]

^aThe definitions were extracted from the context of the articles and sentences were rephrased if necessary for grammatical reasons.

Figure 3 : Définitions recensées du repositionnement de médicament après analyse de 217 articles

Drug discovery today. Drug repositioning and repurposing: terminology and definitions in literature. Langedijk et al. 2015.

Si certaines nuances peuvent être relevées après lecture de ces définitions, les auteurs ont pu identifier que les chercheurs publiant des articles en rapport avec le repositionnement de médicaments utilisaient cinq caractéristiques pour définir cette stratégie : l'utilisation, le produit, l'action, le concept, et le type d'indications thérapeutiques justifiant le repositionnement du médicament (*Figure 4*).

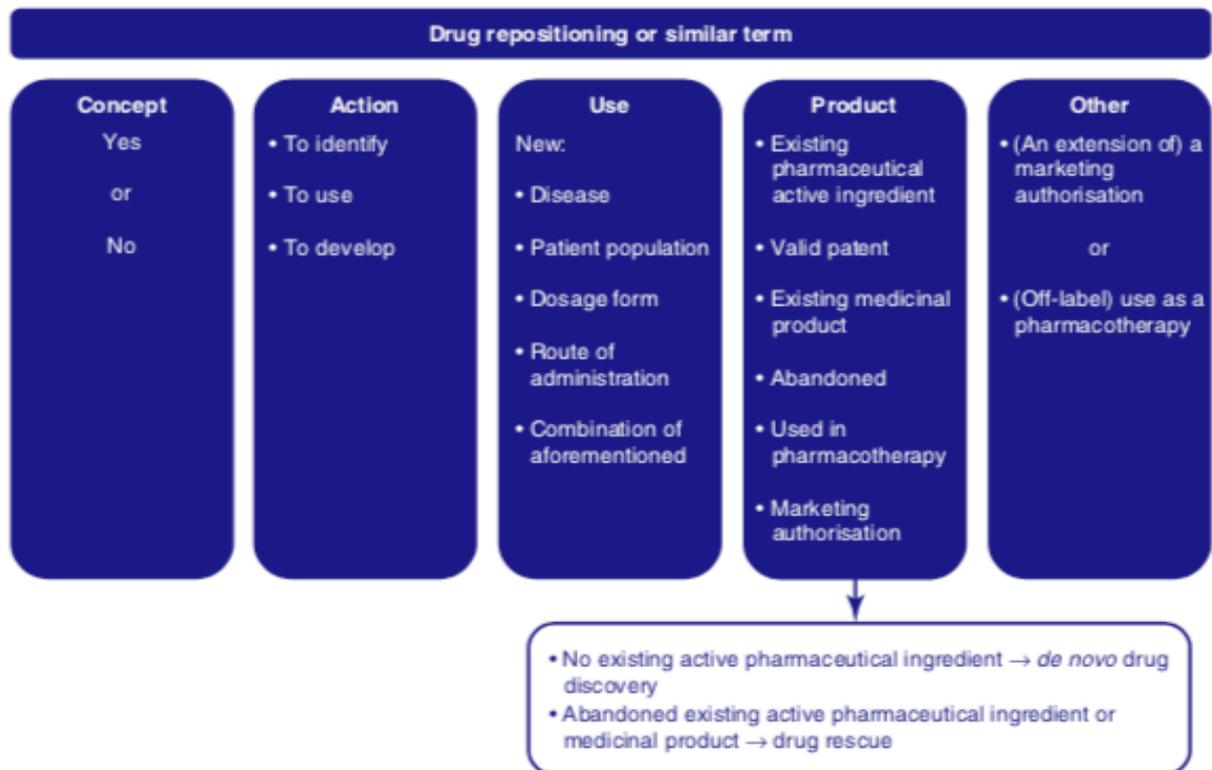


Figure 4 : Caractéristiques permettant de définir le repositionnement de médicaments

Drug discovery today. Drug repositioning and repurposing: terminology and definitions in literature. Langedijk et al. 2015.

L'utilisation fait référence à des « nouvelles utilisations », « pratiques », « utilisations cliniques », « applications thérapeutiques », « thérapies » ou encore « indications thérapeutiques ». Quelques soient les termes employés, les auteurs font référence à la même finalité à savoir le traitement d'une pathologie. Le développement d'un médicament pour de nouvelles maladies peut impliquer de nouvelles populations, nouvelles posologies ou formes galéniques. Cependant des termes tels que « nouvelle application » n'englobent pas forcément le traitement d'une nouvelle maladie. Cela peut comprendre le développement d'un médicament pour une nouvelle population de patients, pour une nouvelle forme galénique ou pour une autre ligne de traitement. Par exemple le fentanyl qui a été approuvé en 1980 était

initialement commercialisé sous forme de solution pour infusion et est désormais disponible sous forme de spray nasal, patch transdermique, tablettes buccales, ou encore de pastille pour utilisation oromucosale. Ainsi, des termes tel que « nouvelles applications » sont ambigus et ne définissent pas parfaitement le repositionnement de médicaments puisqu'ils peuvent faire allusion uniquement à de nouveaux dosages ou formes galéniques ce qui n'est pas la première intention des auteurs lorsqu'ils utilisent ces termes. De plus, la définition de nouveau devrait être claire. Devons-nous considérer une utilisation comme nouvelle si elle était mentionnée dans la littérature mais pas utilisée en pratique clinique ? Ou devons-nous considérer comme innovant le fait de proposer une indication en dehors de l'autorisation accordée par les instances de santé qui ont autorisé l'arrivée sur le marché du médicament ? Si c'est le cas, alors il faudrait considérer les médicaments utilisés hors AMM tels que la pregabaline, un anti-épileptique utilisé dans le traitement des insomnies résistantes, comme des exemples de repositionnement de médicaments.

Le produit est, lui aussi, source de débat. Dans les publications étudiées par *Langedick et al.*⁴², différents termes sont employés pour le définir. Certains auteurs font référence à une molécule active tandis que d'autres font référence directement à un médicament pour lequel on dispose déjà d'une forme galénique, d'un dosage, et prêt à être utilisé. De plus, les auteurs font allusion à différents stades du cycle du médicament quand ils définissent une molécule repositionnable : certains parlent de candidats médicaments, de médicaments abandonnés, de médicaments disponibles sur le marché et d'autres de vieux médicaments. Ces dernières appellations peuvent elles-mêmes laisser place à différentes interprétations ; par exemple un candidat médicament peut faire référence à une molécule toujours en développement pour sa première intention et qui serait efficace pour le traitement d'une autre pathologie comme c'est le cas du sildenafil testé en essai clinique comme antihypertenseur pulmonaire et repositionné dans le traitement des dysfonctions érectiles. Les vieux médicaments impliquent des médicaments dont l'exclusivité sur le marché a expiré pouvant ainsi être génériques. Les médicaments abandonnés font référence à des médicaments dont le développement a été arrêté car elles n'ont pas prouvé d'efficacité dans l'intention pour laquelle elles avaient été développées. Le vocabulaire utilisé pour définir le produit est important puisqu'il fixe les limites du repositionnement de médicaments. A ce jour, les définitions qui font référence à « de nouvelles utilisations pour des vieux médicaments » excluent les nouvelles utilisations pour les candidats médicaments, les médicaments abandonnés et les médicaments récemment approuvés. De plus le recours à des termes tels que « médicaments existants » est discutable

puisque'il peut faire allusion à des médicaments disponibles sur le marché et/ou candidats médicaments. L'utilisation de termes plus spécifiques tel que « sauvetage de médicaments » devrait être considérée pour le développement de nouvelles utilisations pour les médicaments abandonnés. Enfin les médicaments retirés du marché ne sont jamais mentionnés comme candidats médicaments malgré le fait que la thalidomide (initialement utilisée comme anti-émétique chez la femme enceinte, elle est désormais reconnue comme tératogène et indiquée dans le traitement de certaines pathologies cancéreuses comme les myélomes multiples) soit l'exemple le plus connu de repositionnement de médicaments.

L'objectif principal du repositionnement de médicaments peut être résumé par différentes actions : l'identification de nouvelles applications (*via* le screening de molécules actives dans le but de découvrir ou suggérer de nouveaux usages), l'utilisation de médicaments dans de nouvelles applications (utilisation du médicament hors autorisation de mise sur le marché dans le traitement d'un patient) ou le développement de nouvelles applications (développement dans le but d'obtention d'une autorisation de mise sur le marché).

Le concept de repositionnement de médicaments est quant à lui plus souvent défini comme une stratégie, un processus ou encore une approche.

Enfin, le type d'indication peut varier selon le type de repositionnement: il peut correspondre à une extension de l'indication originale ou alors à une utilisation dans un cadre hors AMM.

2) Avantages liés au repositionnement de médicaments :

Contrairement au développement *de novo* de nouvelles molécules, le repositionnement de médicaments commence par des agents pharmaceutiques connus ayant déjà été testés dans des études cliniques. Il existe donc une multitude de données accessibles au clinicien et au chercheur, notamment des données publiées sur la pharmacocinétique, la biodisponibilité, les toxicités (courantes et peu communes), les protocoles établis et la posologie. Ces données dépassent de loin ce qui peut être obtenu des essais cliniques de phase I de nouveaux médicaments.

Cela ne veut pas dire qu'il est systématiquement possible d'éviter les essais de phase I pour les médicaments repositionnés. Ces essais peuvent encore être nécessaires pour établir les doses maximales tolérées de médicaments repositionnés si la dose requise pour atteindre les niveaux pertinents dans sa nouvelle indication dépasse de loin les doses standard utilisées dans l'indication initiale du médicament. De même, des études de phase 1 peuvent être nécessaires

si le médicament repositionné doit être utilisé dans un traitement combinatoire, et pour laquelle il est nécessaire d'établir qu'il n'y a pas de toxicités nouvelles et/ou inacceptables. Cependant, même dans les cas où des essais de phase I sont nécessaires, il existe un ensemble de données humaines existantes qui permettent de guider la structure et les dosages utilisés au cours de l'essai.

Le repositionnement de médicaments pourrait permettre un gain de temps dans le processus de développement du médicament qui doit avoir lieu avant tout essai de phase I. On estime que le temps nécessaire au développement *de novo* de nouvelles molécules est de 10 à 17 ans contre 3 à 12 ans pour les médicaments repositionnés⁴³. Si la diminution de la durée de développement a des conséquences économiques directes en terme de réduction des coûts pour les entreprises pharmaceutiques, il existe également d'autres avantages potentiels en terme de réduction des risques. Le nombre de médicaments candidats qui sortent des chaînes de production et qui sont utilisés en clinique est inférieur à 10% pour l'oncologie¹³. Il est à espérer qu'en repositionnant des médicaments existants aux propriétés pharmacologiques connues, ce taux d'échec pourrait être considérablement réduit.

Un autre avantage du repositionnement de médicaments concerne les aspects économiques car il permet l'utilisation de médicaments à faible coût et / ou génériques. Étant donné les longues durées de développement, et les taux d'attrition élevés, le coût des nouveaux médicaments en oncologie, par patient, est très élevé, allant généralement de 5 000 à 10 000 dollars par mois. Par exemple, une récente lettre ouverte signée par de plus de 100 experts en leucémie myéloïde chronique (LMC) décrivait les coûts de trois thérapies ciblées récemment approuvées (ponatinib, omacétaxine et bosutinib), avec des montants s'établissant à 138 000 US\$ par an pour le ponatinib, 28 000 US\$ pour le traitement d'induction à l'ometoxacine et à 14 000 US\$ pour le traitement de maintenance, et enfin environ 118 000 dollars par an bosutinib⁴⁴. Ce coût élevé pèse lourdement sur les systèmes de santé publique des économies avancées et est tout simplement inabordable pour le grand nombre de patients des pays pauvres et à revenus intermédiaires.

En revanche, bon nombre de médicaments faisant l'objet d'une étude de repositionnement en oncologie sont disponibles sous forme de médicaments génériques ou à faible coût. Même lorsque ces médicaments sont utilisés en association avec des thérapies standard existantes, les coûts supplémentaires sont probablement faibles.

Bien que le coût ne soit pas à lui seul le paramètre qui devrait déterminer les traitements appropriés pour les soins des patients, il s'agit d'un facteur important pour les systèmes de santé

et les assureurs, ainsi que d'un facteur clé dans l'élaboration d'une politique de santé. Dans tout calcul de coût-bénéfice, les interventions avec des médicaments repositionnés ayant une efficacité prouvée auront un score plus élevé que celles avec des traitements ciblés plus coûteux. Il est donc impératif que des essais cliniques randomisés portant sur des médicaments repositionnés soient menés pour prouver leur efficacité et contribuer ainsi à réduire le fardeau financier des systèmes de santé en difficulté, en particulier dans les économies les plus pauvres.

Cela ne signifie pas qu'il n'y a pas d'inconvénients potentiels au repositionnement de médicaments. Il est possible que certains médicaments candidats présentent une bonne efficacité, mais seulement à un dosage bien supérieur à l'enregistrement initial du médicament, avec des problèmes de toxicité et des événements indésirables (nous allons revenir à la question des essais cliniques). Les principaux inconvénients sont liés aux droits de propriété intellectuelle et aux incitations économiques, en particulier pour les médicaments non brevetés et les médicaments génériques – ce qui, paradoxalement, constitue également un avantage clé potentiel du repositionnement.

3) Contexte économique :

La baisse constante du prix du séquençage génomique contribue aujourd'hui à la mise en place d'une médecine personnalisée. Les essais cliniques en oncologie recrutent désormais des patients sur la base du profil génomique de leur tumeur. L'utilisation combinée d'outils prédictifs et pronostiques suscite de nombreux espoirs et attentes chez les patients atteints de cancer¹.

Le domaine de l'oncologie doit toutefois faire face à de nombreux challenges. De manière générale, les services de santé nationaux deviennent de moins en moins capables d'absorber l'augmentation exponentielle du prix des nouveaux médicaments commercialisés en oncologie. Dans les années 90, on estimait le prix moyen d'un médicament anticancéreux à moins de 100 US\$ pour un traitement d'un mois et celui-ci s'élevait à 10 000 US\$ pour un mois de traitement en 2011. En 2013, les dépenses de santé pour les médicaments d'oncologie s'élevaient à 91 milliards de dollars ce qui est comparable au produit intérieur brut d'un pays européen comme la Hongrie (126 milliards de dollars)^{46,47,48}. Dans ce contexte, la diminution du coût associé au développement des nouveaux agents anti-cancéreux apparaît nécessaire. Cependant aucune mesure n'est à ce jour connue pour palier au problème à court et moyen terme. A cela s'ajoute la complexité de la compréhension des mécanismes favorisant l'émergence des cancers chez les patients. Dans les cellules considérées comme initiatrices des cancers, les mutations d'ADN identifiées appartiendraient à 12 machineries cellulaires

différentes^{49,50}. Le recrutement des patients dans les essais cliniques en oncologie est désormais basé sur le profil génomique de leur tumeur (**Figure 5**).

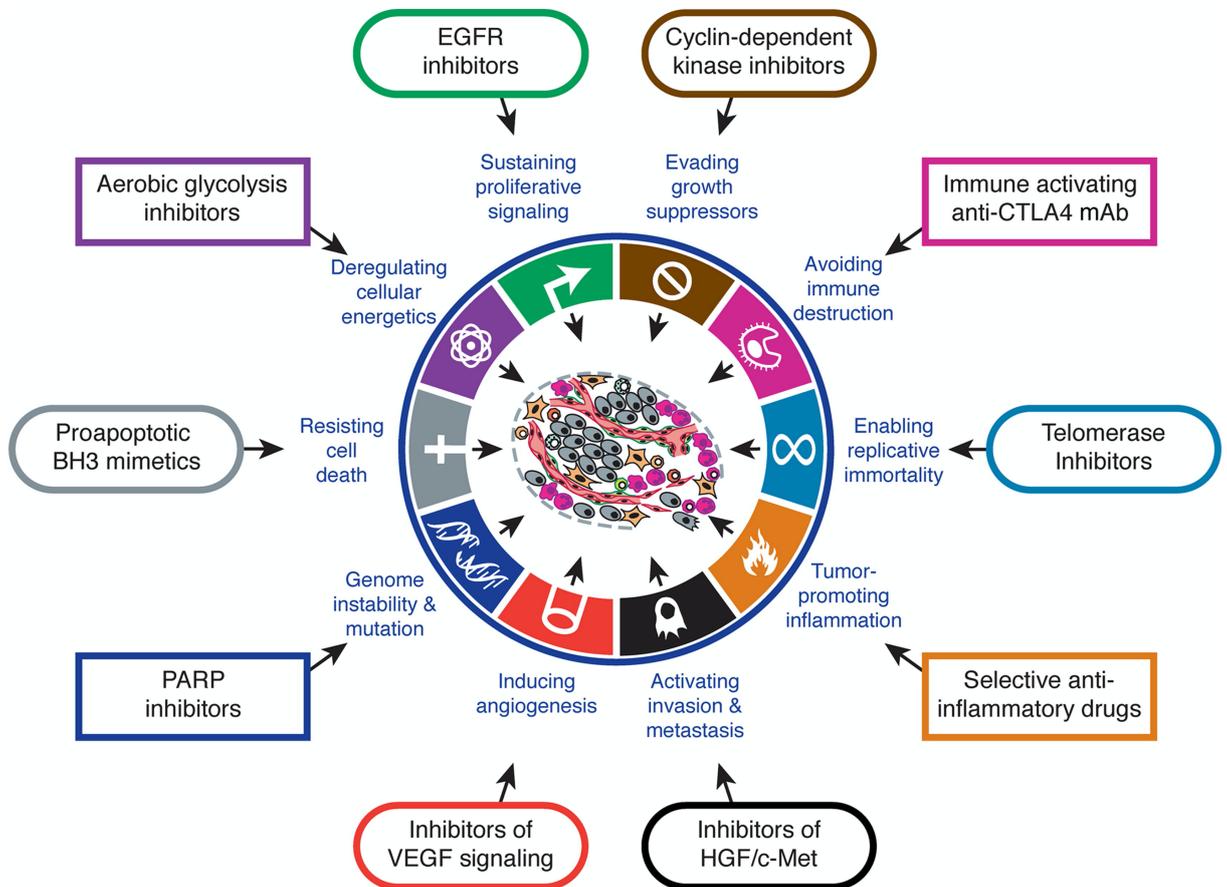


Figure 5 : Caractéristiques des cellules tumorales et thérapies associées:

Cell. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Hanahan et Weinberg. 2011.

Enfin la plupart des entreprises pharmaceutiques impliquées dans le développement de nouveaux médicaments anticancéreux conduisent à des essais cliniques visant à démontrer l'efficacité ou la supériorité de leurs produits utilisés en monothérapie plutôt qu'en combinaison dans le but d'obtenir des AMM. Cependant, dans la majorité des cas, le recours à des thérapies combinatoires agissant sur différentes cibles des cellules cancéreuses serait plus prometteur pour la majorité des patients⁵¹ (**Figure 6**). De plus, le développement pharmaceutique et les méthodes d'évaluation des candidats médicaments ne permettent pas de juger le potentiel de ce type de thérapies combinatoire excepté quelques rares cas tel que la combinaison du dabrafenib et du trametinib dans le traitement du mélanome⁵².

Dans ce contexte, repositionner le large éventail de médicaments n'appartenant pas au domaine de l'oncologie en première indication et pour lesquelles nous disposons déjà de données de sécurité précliniques et cliniques, représente une alternative attractive pour proposer des thérapies innovantes aux patients atteints de cancers (**Figure 6**).

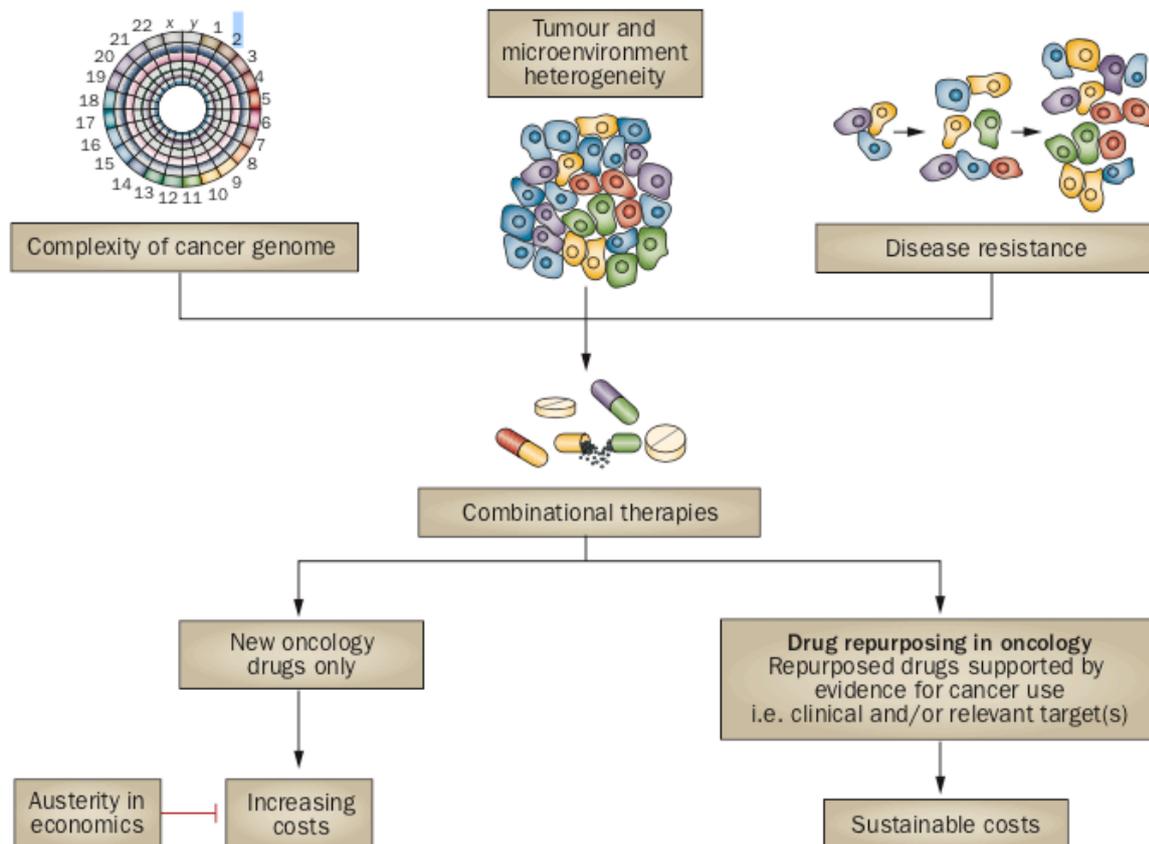


Figure 6 : Thérapies combinatoires et repositionnement de médicaments.

Nature reviews Clinical oncology. Drug repurposing in oncology. Bertolini et al. 2015.

Les caractéristiques des cellules tumorales sont variables, elles incluent l'indépendance des cellules face aux signaux de mort cellulaire et de régulation de la prolifération, la disparition du phénomène d'apoptose, une capacité anormale à susciter l'angiogenèse, l'acquisition d'un pouvoir invasif (transition épithélio mésenchymateuse, formation de métastases) et la capacité à déjouer le système immunitaire (**Figure 5**). Ces propriétés suggèrent ainsi le recours à des thérapies combinatoires pour identifier des traitements efficaces et au repositionnement de médicaments pour identifier des nouveaux traitements à prix raisonnables.

En théorie, le repositionnement de médicaments permet un développement plus rapide, et moins onéreux des traitements. De plus, la connaissance des profils de toxicité des médicaments permet de diminuer l'évaluation de la sécurité d'administration ce qui facilite le transfert en clinique vers d'autres pathologies / indications. A ce jour, les exemples de repositionnement de médicaments en oncologie restent néanmoins limités.

Le but de cette thèse sera de mettre en lumière les bénéfices que peuvent apporter le repositionnement de médicaments au système de santé ainsi qu'aux patients et de démontrer que cette stratégie indépendante de développement de médicaments impliquant les industriels pharmaceutiques, les chercheurs académiques, les gouvernements, ainsi que les associations de patients doit être sérieusement considérée par la communauté scientifique.

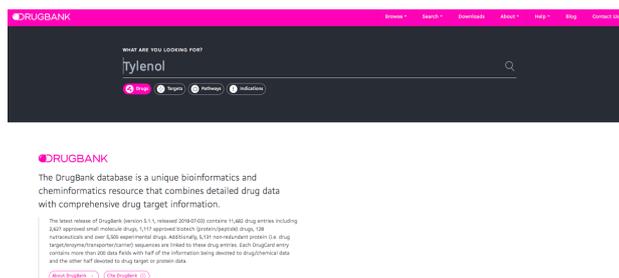
4) **Identification des opportunités pour repositionner des médicaments :**

a) **Exploitation des bases de données :**

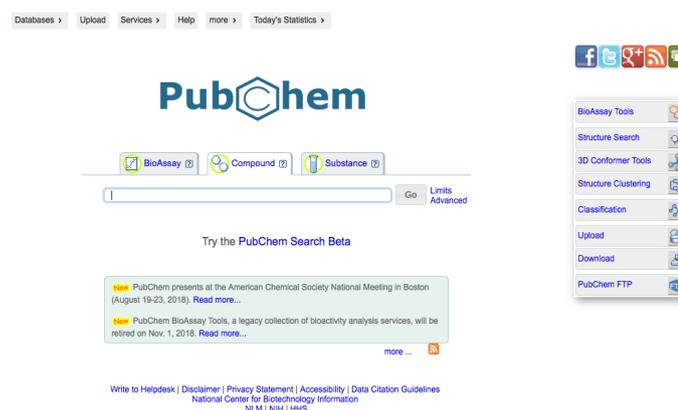
La grande majorité des médicaments utilisés en clinique a des effets hors cible qui pourraient contribuer à l'identification de nouvelles indications thérapeutiques⁵³. Ceci est possible *via* la consultation de bases de données existantes.

En effet, en consultant des bases de données libres d'accès, les chercheurs peuvent identifier toutes les cibles répertoriées des agents pharmacologiques disponibles sur le marché. Les bases de données pharmaceutiques les plus connues sont Drugbank, Drugsurv, ou encore Pubchem (*Figure 7*).

https://www.drugbank.ca



https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov



http://www.bioprofiling.de/GEO/DRUGSURV/index.html

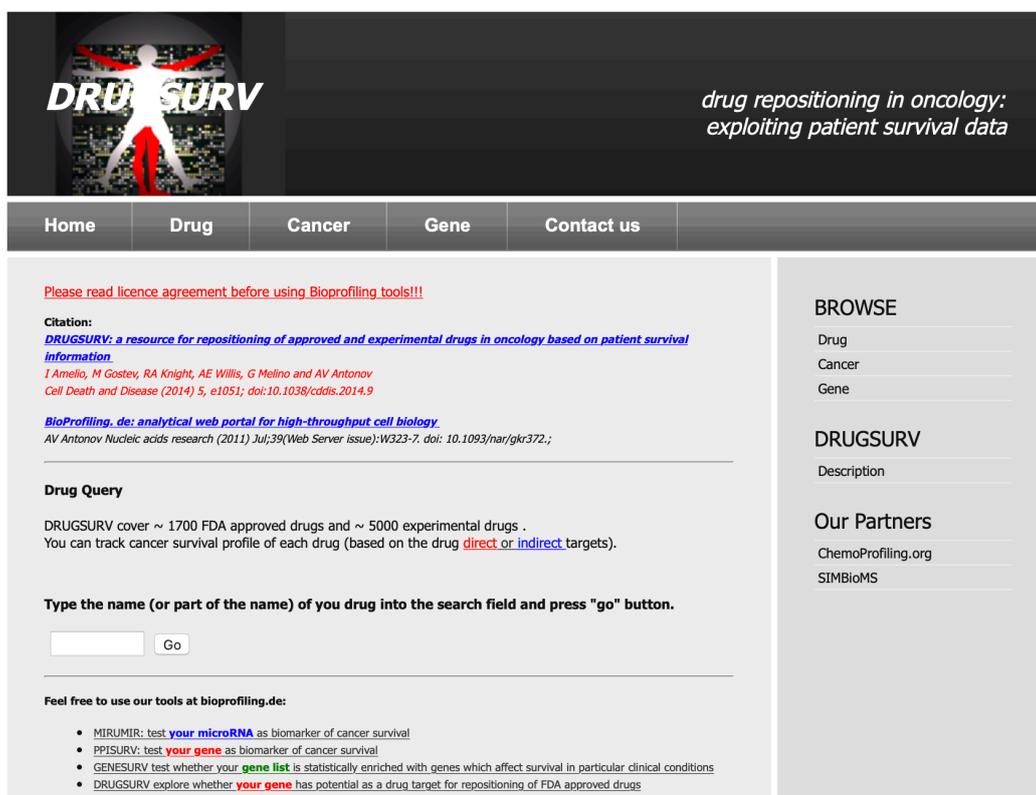
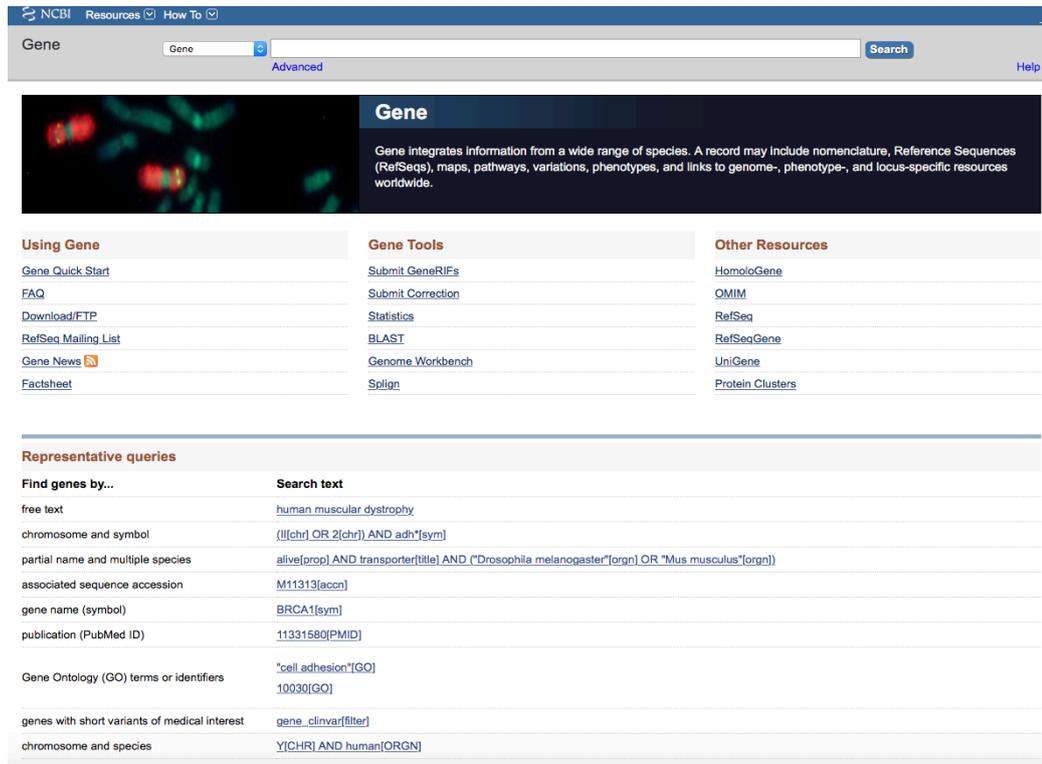
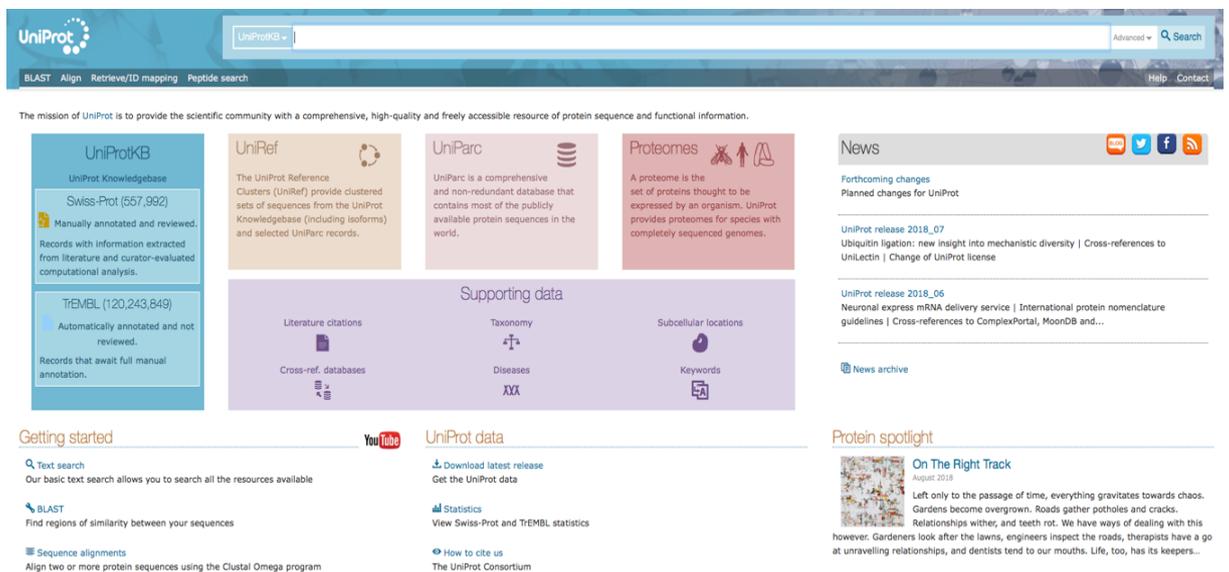


Figure 7 : Exemples de banques de données pharmacologiques

Il est ensuite possible d'analyser les cibles thérapeutiques *via* des bases de données protéomiques telles que UniProt ou génomiques telles que EntrezGene (**Figure 8**).



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>



<https://www.uniprot.org>

Figure 8 : Exemple de banques de données génomique (en haut) et protéomique (en bas) libres d'accès

Il existe également des outils dédiés uniquement au repositionnement de médicaments et permettant d'identifier aisément de nouvelles indications thérapeutiques pour des molécules déjà disponibles sur le marché et plus particulièrement pour celles ayant atteint les phases d'essai clinique mais n'ayant pas obtenu d'AMM. Récemment, *Corsello et al* ont participé à la création d'un réseau pour le repositionnement de médicaments. Les auteurs ont dans un premier temps recensé toutes les molécules ayant atteint les phases d'essai clinique en interrogeant toutes les bases de données existantes – qu'elles soient privées, publiques ou mises à disposition par les instances de santé. Puis, ils ont identifié toutes les molécules disposant d'une AMM en interrogeant les organismes de réglementation tels que la FDA (Food Drug Administration). Ils ont ensuite annoté les indications connues et le statut du développement clinique de chaque molécule. Ceci les a conduits à l'identification d'une librairie de molécules repositionnables comprenant 1988 médicaments commercialisés et 1348 molécules ayant atteint des essais cliniques allant de la phase 1 à la phase 3 (**Figure 9**).

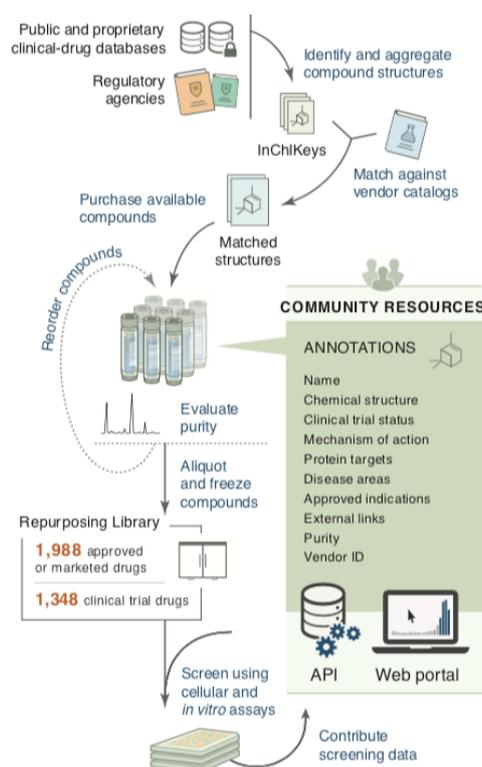


Figure 9 : Schéma résumant la création d'une librairie pour le repositionnement de médicaments

Nature medicine. The Drug Repurposing Hub: A Next-Generation Drug Library and Information Resource. Corsello et al. 2017.

Enfin, ces derniers ont contrôlé la pureté de tous les composés et annoté pour chaque molécule, le nom de la structure chimique, le stade de développement clinique, le mécanisme d'action, les cibles moléculaires connues, le domaine de la pharmacologie dans lequel elle est utilisée, les indications connues, les références associées, ainsi que des liens commerciaux permettant d'obtenir le composé (**Figure 10**).

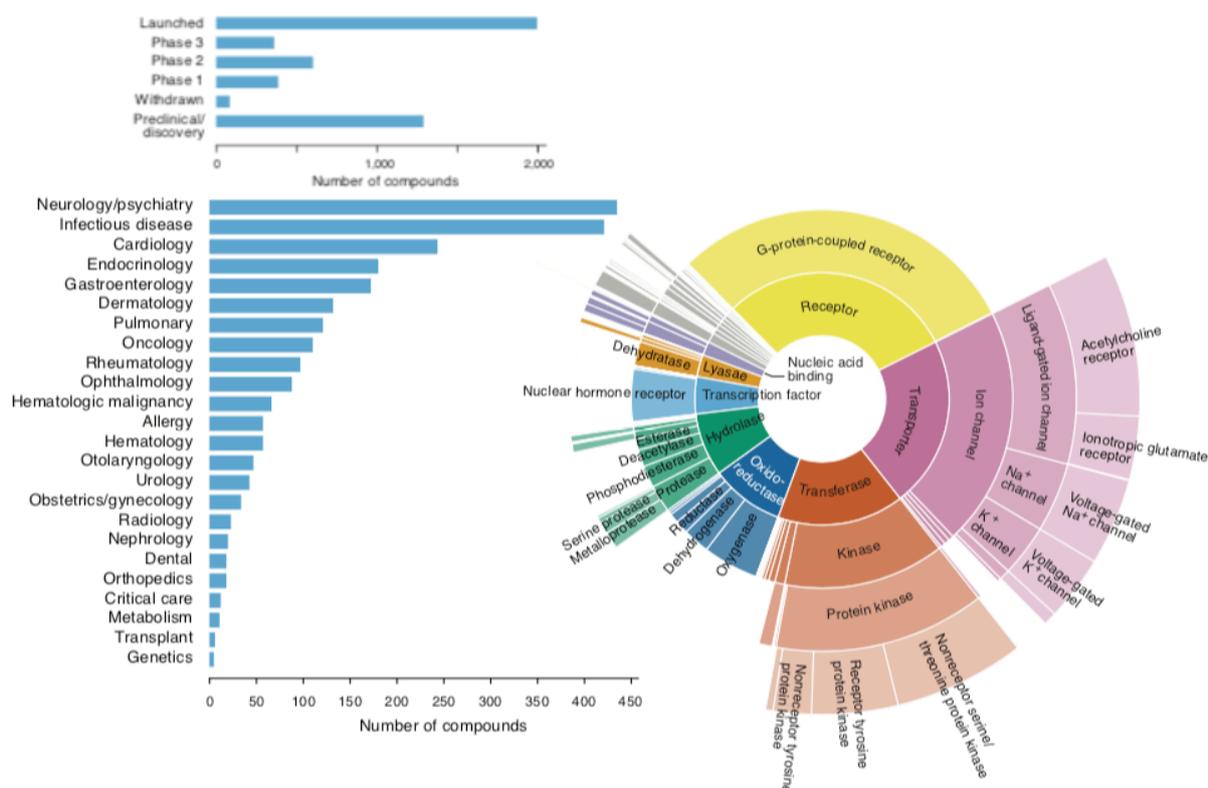


Figure 10 : Figure montrant le nombre de médicaments identifiés dans chaque phase d'essai clinique pour la librairie recensée (en haut), le nombre de molécules (en bas à gauche) et les domaines de la pharmacologie dans lesquels ils sont indiqués (en bas à droite)

Nature medicine. The Drug Repurposing Hub: A Next-Generation Drug Library and Information Resource. Corsello et al. 2017.

De nombreuses autres bases de données ou outils permettant l'identification de candidats pour le repositionnement de médicaments existent. Celles-ci fournissent des informations allant de la structure chimique des drogues au recensement d'oncogènes pouvant faciliter la mise en place de thérapies personnalisées dans certains sous types de cancers⁵⁴. A titre d'exemple, l'imipramine, un médicament appartenant à la classe pharmacologique des antidépresseurs tricycliques, a pu être identifiée par une approche bioinformatique comme un agent repositionnable dans le traitement du cancer du poumon à petites cellules⁵⁵. Des

approches similaires ont permis de révéler le potentiel thérapeutique de la pentamidine (anti-parasitaire) dans le traitement du carcinome rénal à petites cellules⁵⁶.

b) Approches de prédiction *in silico* :

Certaines approches *in silico* combinent le docking moléculaire aux bases de données existantes pour identifier de nouvelles interactions entre molécules et protéines. Ces méthodes reposent sur des algorithmes permettant de tester un grand nombre de molécules afin d'établir si oui ou non elles peuvent interagir avec les sites actifs de cibles protéiques. Une fois que des candidats ont été prédits pour exercer l'effet pharmacologique recherché, des étapes de validation *in vitro* et *in vivo* peuvent être réalisées. Si des découvertes *de novo* de nouveaux médicaments ont été répertoriées⁵⁷, la pertinence des approches *in silico* de repositionnement de médicament reste à évaluer⁵⁸. A ce jour, des criblage virtuels ont permis de découvrir que des médicaments utilisés dans des domaines autres que l'oncologie pouvaient interagir avec des cibles thérapeutiques relevantes dans le cancer telles que la primaquine qui interagirait avec l'indole-amine 2, 3 dioxygénase⁵⁹, et la simvastatine qui interagirait avec des récepteurs aux oestrogènes⁶⁰.

c) Approches *in vitro* :

Les technologies de criblage haut débit permettent l'identification de propriétés pharmacologiques anti-cancéreuses pour les médicaments déjà existants. Les essais de cytotoxicité ou les essais de criblage réalisés directement sur cibles thérapeutiques sont largement utilisés dans les processus de découvertes de nouvelles molécules actives⁶¹. L'utilisation d'un essai phénotypique testant l'effet de 2816 médicaments a permis par exemple l'identification de 16 composés actifs à des concentrations de l'ordre du nanomolaire sur des lignées cellulaires cancéreuses de la thyroïde. Deux de ces médicaments ont démontré un effet pharmacologique sur d'autres modèles de lignées cellulaires et de sphéroïdes de cancer de la thyroïde⁶².

Les expérimentations visant à tester un grand nombre de combinaisons différentes d'agents pharmacologiques dans le but d'identifier des associations synergiques paraissent également prometteuses. Cependant, l'utilisation de technologies de criblage haut débit permettant l'évaluation de ces associations reste limitée à ce jour^{63,64,65}. Dans des maladies poly-factorielles telles que le cancer, ce type d'approche est pertinent. Cependant la majorité des études entreprises utilisant des technologies de criblage haut débit font appel à des tests réalisés en monothérapies. Ce type d'approche ne permet donc pas l'identification de combinaisons

synergiques. A titre d'exemples, l'association d'un agent antipsychotique (la chlorpromazine) avec la pentamidine (un agent antiparasitaire actif sur les protozoaires) a pu être identifiée comme synergique dans le cancer du poumon⁶⁴. L'association du CGS-21680, un agoniste des récepteurs à l'adénosine, et du salmeterol, un agent agoniste du récepteur beta 2 adrénergique, à la dexaméthasone a pu également être démontrée comme bénéfique dans le traitement du myélome multiple en utilisant ce type de technologie. Dans ce dernier cas, le salmeterol et le CGS-21680 utilisés en monothérapies n'étaient pas capable d'exercer d'effet pharmacologique *in vitro*⁶³.

d) Expérimentations animales :

Le criblage *in vivo* à grande échelle sur les modèles animaux n'est pas possible pour des raisons éthiques. Cependant, tester une sélection de médicaments ayant démontré un potentiel thérapeutique *in vitro* afin de valider leur effet *in vivo* est une étape nécessaire si le médicament n'a jamais été testé dans la nouvelle indication identifiée. Ce type d'approche a été réalisé par *Roix et al* qui ont testé 182 médicaments dans un modèle de xénogreffe de glioblastome et validé l'effet thérapeutique de trois médicaments, le candesartan, le risedronate et la terbinafine, dans deux autres modèles animaux à des doses supérieures à celles atteignables chez l'homme. Les auteurs de cette étude ont conclu que le criblage haut débit animal d'agents repositionnables ne pourrait pas à lui seul représenter une alternative en raison du coût associé à ce type d'expérimentations⁶⁶.

e) Observations des traitements vétérinaires :

Les données issues du traitement des animaux de compagnie développant spontanément des tumeurs peuvent représenter des opportunités de repositionnement de médicaments mais celles-ci sont souvent négligées. Des essais cliniques sur les animaux pourraient permettre d'obtenir des informations précieuses pour l'évaluation du potentiel anticancéreux de tels agents. A titre d'exemple, l'utilisation de la desmopressine en situation peri-opérative dans le cancer mammaire canin ou la combinaison du piroxicam au cyclophosphamide dans les sarcomes des tissus mous non complètement réséqués a permis de révéler l'action anticancéreuse insoupçonnée de ces agents⁶⁷.

f) Observations cliniques :

Il existe d'autres approches complémentaires consistant à sélectionner des molécules sur la base de leur profil de toxicité avec le rationnel que des médicaments entraînant des effets indésirables similaires partagent une ou plusieurs cibles thérapeutiques⁶⁸, ou encore

l'exploitation de données épidémiologiques pour identifier des médicaments pouvant améliorer le pronostic de survie des patients⁶⁹.

La survenue d'effets indésirables dans des organes en particulier peut suggérer une action pharmacologique d'un médicament sur une cible particulièrement exprimée dans cet organe, ce qui peut suggérer des pistes pour le repositionnement de cet agent. La notification d'effets inattendus telle que l'érection dans le cadre d'un essai clinique visant à tester l'efficacité du sildenafil⁷⁰ dans l'hypertension artérielle pulmonaire représente des opportunités de repositionnement de médicaments.

D'autres exemples d'observations cliniques peuvent être cités comme l'utilisation de la clarithromicin chez les patients présentant une leucémie myéloïde chronique⁷¹ ou l'utilisation du propranolol en pédiatrie pour le traitement des hémangiomes sévères du nouveau-né⁷².

L'observation clinique liée à l'utilisation de médicaments dans un cadre hors AMM peut interpeller sur le potentiel thérapeutique d'un médicament à être repositionné, particulièrement en oncologie pédiatrique. La décision de traiter le premier patient atteint de leucémie promyélocytaire avec de l'acide 13 cis rétinolique était basée sur des résultats *in vitro* utilisant des cellules leucémiques de patients⁷³. Deux cas de patients rapportés sur l'utilisation du mebendazole dans le cancer colorectal⁷⁴ ainsi que l'utilisation du propranolol⁷⁵ dans l'angiosarcome à des stades avancés illustrent le potentiel du repositionnement de médicaments pour les patients ne répondant pas ou plus aux traitements standards.

g) Analyses épidémiologiques et études rétrospectives :

Le repositionnement de médicaments en oncologie peut aussi bénéficier de l'utilisation de données épidémiologiques. Des preuves peuvent provenir de constat tels que la réduction significative de l'incidence, la sévérité ou la mortalité dans certains types de cancers suite à l'utilisation d'un médicament à visée non anticancéreuse. Quand cela est possible, des analyses épidémiologiques plus poussées peuvent être réalisées pour déterminer quelles sous populations de patients tirent un bénéfice de l'utilisation de ces médicaments. Dans ce contexte, l'aspirine et la metformine constituent des exemples de succès de repositionnement de médicaments.

Des analyses d'une étude clinique cas témoins ont permis de mettre en évidence que des patients diabétiques traités par metformine présentaient un risque moindre de développer un cancer⁷⁶. La réalisation d'analyses rétrospectives d'essais cliniques randomisés pourrait représenter une source d'informations pour le repositionnement de médicaments comme cela a

pu être appliqué pour identifier le rôle préventif de l'aspirine sur l'apparition de métastases chez des patients atteints de cancer⁷⁷.

Une étude a tenté de quantifier le pourcentage de succès de repositionnement de médicaments qui pourraient être directement attribuable à ce type de sources. Les résultats de cette étude ont permis de démontrer que sur les 29 médicaments ayant obtenu une AMM en 1988 aux USA, 143 nouvelles applications ont pu être identifiées et parmi elles, 57% des innovations thérapeutiques étaient des découvertes faites par des cliniciens³⁶. Ces résultats soulignent ainsi l'importance des observations cliniques dans le repositionnement de médicaments.

Bien que ces études soient un élément initiateur pour orienter la recherche de nouvelles indications à des médicaments déjà existants, d'autres moyens tels que des études animales devraient être réalisés afin de renforcer le niveau de preuve de ces découvertes. A l'inverse, si la découverte est réalisée sur un modèle animal, celle-ci devrait être renforcée par des études cliniques retrospectives.

L'aspirine a été utilisée pendant des décennies pour la prévention de pathologies cardiovasculaires. Toutefois, son rôle prophylactique reste discutable à ce jour car la réduction d'évènement vasculaires de 12% est associée à une augmentation des hémorragies et aucune réduction de la mortalité associée à une cause vasculaire n'a pu être notée⁷⁸. Des données épidémiologiques publiées en 2011 indiquent que l'effet de l'aspirine sur la mortalité globale est essentiellement dû à une réduction de la mortalité liée au cancer. Les résultats d'études de modélisation économique suggèrent que l'aspirine pourrait être rentable même chez les individus sans facteurs de risque de maladie cardiovasculaire⁷⁹. L'analyse bénéfices- risques de l'utilisation de l'aspirine pour la prévention du cancer dans la population générale des pays développés indique un bénéfice net pour une utilisation minimale de 5 ans de prophylaxie à l'aspirine, débutant entre 50 et 65 ans, pour les hommes et les femmes, avec des avantages plus importants notés après au moins 10 ans d'utilisation. La prise continue d'aspirine pour des durées plus longues semble également être associée à un bénéfice thérapeutique^{78,79,80}. Les preuves de réductions de l'incidence du cancer colorectal (CCR), de l'œsophage et de l'estomac sont convaincantes et démontrées dans plusieurs études mais trop limitées à ce jour pour attester de réel bénéfice de l'utilisation de l'aspirine sur la survenue de cancers du sein, de la prostate et du poumon⁷⁸. Des études rétrospectives ont démontré que, chez les patients atteints de CCR, des mutations génétiques pouvaient influencer l'effet de l'aspirine sur la mortalité liée au cancer. Liao *et al.*⁸¹ ont ainsi montré que l'utilisation régulière d'aspirine après diagnostic chez

les patients atteints de CCR *PIK3CA* muté était associée à une survie spécifique et une survie globale supérieures ($p < 0,001$), alors que cet effet n'était pas constaté chez les patients *PIK3CA* sauvage. Ces résultats ont ensuite été confirmés dans une autre cohorte de patients⁸². Ces découvertes suggèrent que la mutation du gène *PIK3CA* pourrait servir de biomarqueur prédictif pour la réponse à l'aspirine en thérapie adjuvante pour les patients atteints de CCR. Dans une autre étude, l'utilisation de l'aspirine a été associée avec un risque plus faible de mortalité chez les patients atteints de CCR avec un statut *BRAF* sauvage mais pas chez les patients *BRAF* muté. Ainsi, ces résultats indiquent que les patients atteints d'un CCR *BRAF* muté pourraient être moins sensibles aux effets de l'aspirine⁸³. De plus, d'autres biomarqueurs prédictifs ont aussi été proposés^{84,85,86}, et le mécanisme sous-jacent de ces résultats implique la cyclooxygénase 2 (COX-2) que ça soit par sa surexpression⁸⁴, son interaction avec la voie PI3K⁸¹, l'enzyme MGST1, coexprimée et fonctionnellement couplée avec COX2⁸⁶, ou une voie antagonisant COX2⁸⁵. Cependant, la validation prospective de ces potentiels marqueurs devra être effectuée avant que le traitement par l'aspirine soit validé ou non sur la base des données moléculaires et génomiques des patients. Ces différentes études suggèrent ainsi que l'aspirine pourrait représenter un médicament sûr d'utilisation, abordable et repositionnable dans le domaine de l'oncologie.

Les données de nombreuses études épidémiologiques ont démontré que l'administration de la metformine, un médicament de la famille des biguanides utilisé dans le traitement du diabète de type 2, est associée à un risque réduit de l'incidence et de la mortalité liées au cancer⁸⁷. Des données publiées dans une méta-analyse provenant de 71 articles scientifiques ont démontré que l'incidence globale des cancers était réduite de 31% et la mortalité liée au cancer réduite de 34% chez les utilisateurs de metformine⁸⁸. Des données issues d'études précliniques montrent que la metformine peut cibler les cellules cancéreuses directement et que la phenformine, qui n'a pas pu être développée comme agent antidiabétique car trop toxique, exerce une activité préclinique dans des modèles de cancer du sein^{89,90,91,92}. Un essai clinique a été réalisé chez des patients atteints de cancer du pancréas. Ces derniers ont été randomisés pour recevoir de la chimiothérapie et de la metformine ou de la chimiothérapie seule. Dans cet essai, l'association de la metformine au traitement de référence n'a pas démontré d'efficacité⁹³. Cependant des données récentes suggèrent que cet agent pourrait être plus actif dans certains types de cancer et particulièrement ceux avec présence de tissu adipeux blancs tels que les cancers du sein, du colon, de l'ovaire et de la prostate^{87,94}. Deux populations de progéniteurs du tissu adipeux blanc ont été identifiées comme participant à l'angiogenèse tumorale et la

progression locale et métastatique du cancer du sein⁹⁵. Dans des modèles murins orthotopiques, les progéniteurs des cellules stromales mésenchymateuses du tissu adipeux blanc perdaient leur capacité de migration mais participaient à la croissance tumorale locale de la tumeur mammaire. De plus, les progéniteurs des cellules endothéliales de ce même tissu étaient capables de migrer *via* les ganglions lymphatiques ainsi que le sang et, étaient capables de promouvoir la migration, l'invasion et la croissance métastatique des cellules cancéreuses du sein⁹⁵. Dans des études précliniques, la metformine et la phenformine ciblaient les cellules endothéliales progénitrices et dans une moindre mesure les cellules adipeuses stromales. Ces propriétés pharmacologiques de la metformine pourraient être à l'origine de ses effets anti-tumoraux⁹⁵.

Les lignées cellulaires cancéreuses sensibles à la privation en glucose ont démontré une difficulté à compenser ce changement de métabolisme par une augmentation de la phosphorylation oxydative⁹⁶. Une diminution de la phosphorylation oxydative associée à des mutations de l'ADN a été prédite comme marqueur prédictif de la réponse aux biguanides⁹⁶. Ces données suggèrent que les mutations de l'ADN mitochondrial au niveau de gènes codant pour le complexe I de la chaîne respiratoire mitochondriale et une utilisation défaillante du glucose pourraient servir de biomarqueur pronostic ou prédictif pour l'identification de tumeurs sensibles au traitement et donc à la sélection de patients pour une utilisation en thérapie de maintenance après chirurgie, chimiothérapie ou radiothérapie.

Des recherches supplémentaires restent à fournir pour élucider les effets directs et indirects des biguanides⁹⁷. Des recherches récentes suggèrent que la metformine pourrait préférentiellement cibler les cellules souches tumorales^{91,98}. Les effets indirects de la metformine pourraient être médiés par son effet sur le microenvironnement tumoral, et spécifiquement les cellules endothéliales⁹² et CD8⁹⁹.

Très récemment, des données cliniques et précliniques ont démontré que les glitazones, des agonistes du récepteur PPAR γ utilisés comme agents antidiabétiques ont aussi été évalués en essai dans de nombreux types tumoraux pour cibler les cellules tumorales et du microenvironnement tumoral^{100,101}.

h) Séquencage génomique :

Un exemple de ce type d'approche par séquençage génomique a été réalisé par *Robert et al.* Le séquençage intégral du génome leur a permis d'identifier des altérations pouvant être ciblées par des agents pharmacologiques repositionnables¹⁰². L'étude a été réalisée sur 1700 enfants, adolescents et jeunes adultes atteints de leucémie aigüe lymphoïde (LAL) à précurseurs

B. Dans cette population, 154 patients présentaient une altération « *BCR-ABL1-like* », plus connue sous le nom de LAL à « chromosome de Philadelphie like (Ph-like) ». Les patients présentant cette altération n'expriment pas le transcrite de fusion *BCR-ABL1* issu de la translocation du locus 34 du bras long du chromosome 9 et du locus 11.2 du transcrite du bras long du chromosome 22. Cependant, leurs cellules leucémiques présentaient un profil d'expression génique très semblable à ceux présentant une LAL *BCR-ABL1*. Après analyse des données de séquençage de cette sous-population de patients, les auteurs ont identifié des altérations génétiques potentiellement sensibles aux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) tels que le dasatinib ou le ruxolitinib déjà approuvés pour des utilisations cliniques dans d'autres types de cancer tels que la LMC ou les syndrome myéloprolifératifs..

Les données produites dans cette étude constituent donc un rationnel fort pour l'évaluation de nouvelles thérapies pour les patients atteints de LAL Ph-like en repositionnant des ITK déjà approuvés pour d'autres types de cancer. L'étendue des mutations identifiées dans cette étude suggère que les essais cliniques devraient procéder dans un premier temps à la recherche de mutations pouvant guider la mise en place d'un traitement par ITK en association à la chimiothérapie de référence¹⁰³. Néanmoins ce type de thérapies doit encore démontrer son efficacité au travers d'essais cliniques car la présence d'une altération génomique n'est pas suffisante pour prédire si ce type de thérapies sera efficace

Il faut cependant noter que les résultats positifs enregistrés dans ce type d'études reposent sur la base des résultats d'analyses rétrospectives non randomisées et qu'ils sont relativement modestes^{104,105,106}. Le rapport récent d'un essai contrôlé randomisé sur les avantages thérapeutiques d'une approche « panier d'essai » donne à réfléchir¹⁰⁷. L'essai de type panier concerne l'évaluation thérapeutique d'une molécule dans plusieurs maladies. Ces maladies peuvent être traitées par la même approche car elles présentent le même défaut moléculaire ou génétique. Il s'agit alors d'un biomarqueur.

A titre d'exemple, l'essai SHIVA était un essai clinique prospectif, randomisé et contrôlé de phase 2 réalisé dans 8 centres universitaires français. 741 échantillons de patients atteints de tumeurs solides avancées ont été soumis à un dépistage d'altérations génétiques. Parmi ces tumeurs, 40% portaient des altérations géniques impliquées dans une voie qui pourrait être ciblée par un agent pharmacologique. Les patients atteints de telles tumeurs ont été randomisés et ont reçu soit un agent de thérapie ciblée selon les tests génétiques (groupe expérimental), soit un traitement au choix du médecin dont la sélection n'était pas guidée par des tests génétiques (groupe témoin). Le critère de jugement principal était la survie sans

progression, qui ne différait pas de manière significative entre les groupes témoin et expérimental (2,0 contre 2,3 mois ; $P = 0,41$). L'étude présentait des limites, telles que la gestion de mutations simultanées susceptibles de rendre la monothérapie inefficace et l'utilisation de certains agents ciblés qui pourrait ne pas être actuellement considérée comme optimale¹⁰⁸. Les auteurs ont néanmoins conclu que « l'utilisation d'agents à ciblage moléculaire en dehors de leurs indications n'améliore pas la survie sans progression par rapport au traitement choisi par le médecin chez les patients cancéreux fortement prétraités. » Les auteurs ont tout de même suggéré raisonnablement que la poursuite des inscriptions aux essais cliniques pour tester la prédiction des biomarqueurs était importante. Il est cependant impératif que ces résultats tempèrent les attentes des approches de la médecine de précision génomique dans le cancer.

Il existe ainsi des avantages et des lacunes aux approches purement génomiques de la médecine personnalisée appliquée aux traitements du cancer. Une grande abondance d'informations peut être obtenue mais pour une grande partie, celle-ci n'aide pas toujours à identifier de bons traitements pour les patients. En effet, de nombreuses attentes existent à l'égard de ces technologies cependant les outils utilisés à ce jour mais les données obtenues jusqu'à présent ne sont pas favorables à la mise en place d'une « routine de séquençage » pour la prise en charge des patients atteints de cancer. Néanmoins ces outils sont particulièrement utiles pour la recherche fondamentale. Ils permettent d'aider à l'élucidation des mécanismes de tumorigénèse, en documentant l'hétérogénéité intra-tumorale et en détectant l'évolution clonale des cellules cancéreuses sous l'effet de la thérapie. Des approches fonctionnelles supplémentaires restent, de ce fait, absolument nécessaires afin d'identifier les altérations génomiques pertinentes à cibler et définir quelles thérapies sera la plus à même d'être indiquée.

i) Mise à profit des effets indésirables des médicaments :

La thalidomide est un médicament qui était initialement utilisé pour ses propriétés sédatives et le traitement des nausées chez la femme enceinte dans les années 1950. Il a ensuite été retiré du marché dans les années 1960 car celui-ci était responsable d'effets indésirables tératogènes. Cette molécule est un parfait exemple de la réussite du repositionnement d'un médicament dans le domaine de l'oncologie¹⁰⁹. Après avoir été retirée du marché dans les années 60, elle n'était utilisée en clinique qu'en cas de traitement compassionnel pour traiter des pathologies telles que l'érythème noueux, le syndrome de Behçet (une vascularite chronique multi systémique), les ulcères oraux associés aux infections VIH et les rejets de greffe après transplantation de moelle osseuse. Durant les années 90, des études portant sur l'angiogenèse tumorale dans de nombreux types de cancer (incluant les hématologies malignes) ainsi que la

découverte des effets anti-angiogéniques de la thalidomide, ont initié le premier essai clinique dans lequel la thalidomide était administrée à des patients atteints de myélomes réfractaires au traitement ou en rechute¹¹⁰. L'obtention d'un taux de réponse de près de 25% de l'effectif total de patients pour qui aucune autre option thérapeutique n'était disponible, a suscité un vif intérêt pour le traitement des myélomes multiples. L'activité pharmacologique de la thalidomide fût confirmée au travers d'essais cliniques avec des taux de réponse avoisinant les 25 à 35% et une durée médiane de réponse au traitement d'un an¹¹¹. Son utilisation a ensuite été étudiée en combinaison avec d'autres agents actifs dans les myélomes¹¹². Lorsque la thalidomide était associée à un stéroïde le taux de réponse avoisinait les 50 %¹¹³. Lorsqu'un agent alkylant tel que le cyclophosphamide ou le melphalan était utilisé en association à la thalidomide et un stéroïde, le taux de réponse était d'approximativement 70%¹¹⁴.

La découverte des propriétés anti cancéreuses de la thalidomide a ensuite donné lieu à la synthèse de multiples analogues dans le but d'améliorer le profil de toxicité de cette molécule. Le lenalidomide, un agent correspondant à une version amino substituée de la thalidomide a été le premier dérivé à démontrer un bénéfice thérapeutique supérieur chez le patient dans plusieurs essais cliniques¹¹⁵, ce qui a conduit à l'obtention d'une AMM dans le traitement des myélomes multiples¹¹⁶. D'autres études cliniques ont permis de mettre en évidence que le lenalidomide pouvait exercer un effet thérapeutique dans des hématologies malignes de type B telles que le lymphome à cellules B indolent, le lymphome diffus à grandes cellules B, et la leucémie lymphoïde chronique¹¹⁷.

Le développement de médicaments immuno-modulateurs tels que la thalidomide, le lenalidomide, et le pomalidomide a été réalisé en parallèle de recherches précliniques visant à identifier les cibles moléculaires de ses agents et les biomarqueurs permettant de prédire quelle sous population de patients serait la plus à même de répondre à ce type de thérapies. Le complexe Cul4-bx1-DDB1-Cereblon E3 ubiquitine ligase a été identifié comme une des cibles moléculaires de cette classe thérapeutique¹¹⁸. Ces agents pharmacologiques sont en effet capables de se lier à Cereblon et de promouvoir le recrutement de la protéine de liaison à l'ADN Ikaros et la protéine à doigts de zinc Aiolos au complexe E3 ubiquitine ligase, conduisant ainsi à l'ubiquitination du substrat et sa dégradation. La réalisation d'expériences de mutagenèse dirigée dans des modèles de myélomes transfectés par lentivirus a permis de démontrer que des résidus clefs de l'interaction entre ces médicaments et ce complexe sont à l'origine de l'effet anti prolifératif. Ainsi la recherche de biomarqueurs prédictifs et ou pronostiques est relevante car le complexe Cul4-bx1-DDB1-Cereblon E3 ubiquitine ligase est dérégulé dans d'autres

types de cancers et des réponses cliniques à la thalidomide ont été reportées chez des patients atteints de tumeurs solides telles que le sarcome de Kaposi ou des tumeurs cérébrales¹¹⁹.

Dans cette première partie nous avons pu aborder les enjeux et les différentes stratégies de repositionnement de médicaments. Parmi elles, nous pouvons distinguer deux grands types d'approches : les approches dites supervisées et non supervisées. Certaines d'entre elles sont des approches bioinformatiques tandis que d'autres sont des approches expérimentales dont les principales sont résumées dans la *Figure 11*.

Les approches supervisées ont la plupart du temps pour point de départ, l'identification d'une molécule repositionnable dans le domaine de l'oncologie. Elles se consacrent par la suite à la compréhension du mécanisme d'action *via* l'exploitation de bases de données existantes. Elles visent à identifier de nouvelles cibles moléculaires en ayant recours à des données issues de molécules apparentées ou de la littérature.

D'un autre côté, nous pouvons distinguer des approches non supervisées. Celles-ci sont généralement employées pour identifier un facteur corrélant avec la survie des patients ou leur réponse au traitement, ou la découverte d'une nouvelle molécule active (par des technologies de criblage haut débit). Elles ont pour but d'identifier des anomalies jusqu'ici jamais décrites pour une pathologie et/ou de proposer par la suite une thérapeutique adaptée si cela est possible.

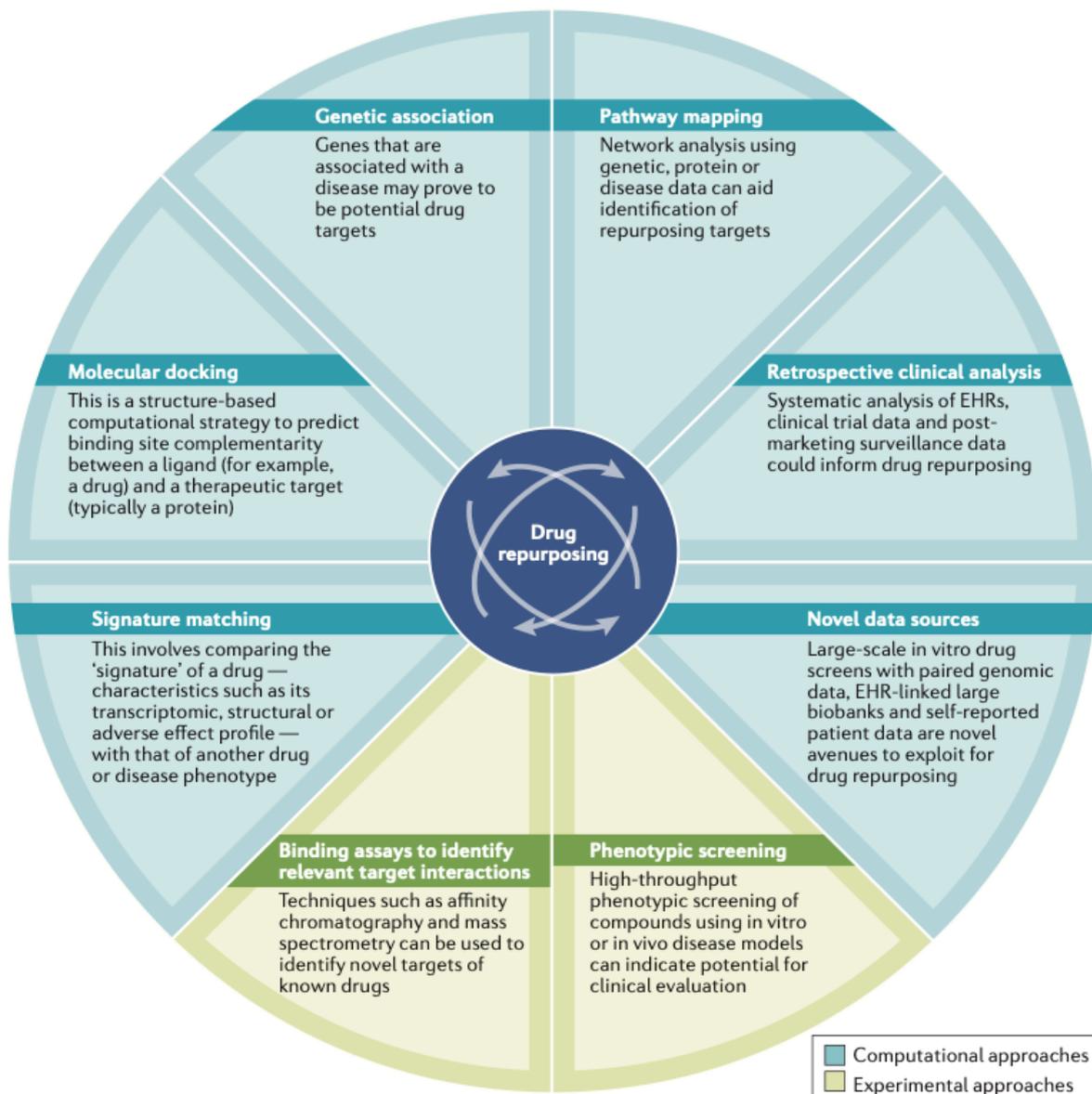


Figure 11 : Figure résumant les différentes approches de repositionnement de médicaments

Nature reviews drug discovery . Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. Pushpakom et al.

II) Exemples d'agents pharmacologiques repositionnables dans le domaine de l'oncologie :

Dans cette section nous allons aborder 2 cas concrets d'agents pharmacologiques repositionnables dans le domaine de l'oncologie : le propranolol et le mebendazole. Pour chacun de ces agents, la posologie à laquelle sont utilisés ces agents, la pharmacocinétique ainsi que la toxicité auxquelles les patients sont exposés après administration seront décrites dans un premier temps. Nous nous focaliserons par la suite sur les données anti cancéreuses connues de ces 2 agents *in vitro*, *in vivo* ainsi que leur utilisation dans le cadre d'essais cliniques pour des indications en oncologie. Enfin nous détaillerons les différents mécanismes d'action anti cancéreuse proposés pour ces deux agents pharmacologiques.

A) Le propranolol :

Le propranolol est un médicament couramment utilisé comme antagoniste des récepteurs bêta-adrénergiques dans le traitement de l'hypertension, l'angor, l'anxiété, les arythmies cardiaques, l'hyperthyroïdie, les tremblements essentiels, le traitement prophylactique de la migraine, le saignement des varices et les infarctus du myocarde. Il a été développé dans les années 1960, et existe maintenant sous forme générique et fait partie de la liste des médicaments essentiels publiée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Le médicament est disponible sous forme de comprimé standard, de comprimé à libération prolongée, sous forme de solution orale et d'injection intraveineuse. Les différentes formes commerciales existantes sont plus connues sous le nom d'Inderal[®], Angilol[®], Syprol[®], Ciplar[®], Avlocardyl[®]. Une formulation orale spécifique (Hemangioliol[®]) a été autorisée par l'agence médicale européenne (EMA) et la Food and Drug Administration (FDA) pour le traitement de l'hémangiome infantile. Il existe également des données concernant l'utilisation du propranolol dans de nombreuses indications telles que les hémorragies, le sepsis et les syndromes hyper métaboliques associés à des brûlures sévères¹²⁰, l'akathisie associée aux psychoses ou à la maladie d'Alzheimer¹²¹, ainsi que le comportement violent associé à des maladies organiques ou des lésions mécaniques du cerveau¹²².

De plus il existe aujourd'hui de nombreuses données *in vitro* et *in vivo* démontrant que ce médicament peut également exercer des effets anti cancéreux.

1) Posologie :

La dose de propranolol varie selon les indications. La dose anti hypertensive est comprise entre 160 et 320 mg/jour, débutant à 80 mg et augmentant au besoin jusqu'à une dose d'entretien généralement comprise entre 160 mg et 240 mg par jour, en doses fractionnées ou

sous forme d'une dose unique de comprimés à libération prolongée. Pour l'angine de poitrine, la dose est de 120 à 240 mg/jour. Le traitement prophylactique de la migraine fait appel à des doses comprises elles entre 80 et 240 mg/jour. La dose dans l'hémangiome infantile est de 1 mg/kg/jour pendant 1 semaine, puis de 2 mg/ kg/jour pendant 1 semaine et de 3 mg/kg/jour à titre d'entretien pendant 6 mois.

2) Toxicité :

Les effets secondaires courants incluent l'insomnie, la fatigue, des extrémités froides et le syndrome de Raynaud. Les effets secondaires moins courants comprennent les nausées, les vomissements et la diarrhée. Plus rarement, le propranolol est associé à une insuffisance cardiaque, un blocage cardiaque, une hypotension, une aggravation des symptômes du psoriasis, de l'asthme et de la psychose. En général, l'initiation d'un traitement au propranolol peut entraîner des effets indésirables initiaux légers qui disparaissent lors de l'adaptation de la dose. Une interruption soudaine du traitement n'est pas conseillée, en particulier chez les patients souffrant d'une cardiopathie ischémique. Dans de tels cas, la dose devrait être réduite progressivement plutôt que d'être arrêtée brusquement. Cependant, en général, le propranolol a un bon profil toxicologique et peut être utilisé pour des traitements à long terme de plusieurs années¹²³.

Le propranolol est contre-indiqué chez les patients souffrant d'hypotension, d'asthme, d'insuffisance cardiaque incontrôlée, de maladie artérielle périphérique sévère, d'acidose métabolique et de choc cardiogénique. Il n'est pas recommandé pendant la grossesse et l'allaitement.

3) Pharmacocinétique :

Le propranolol est hautement lipophile et subit une absorption rapide dans le tractus gastro-intestinal et plus de 90% est lié aux protéines plasmatiques. L'excrétion est principalement rénale, bien que 1 à 4% d'une dose du médicament par voie orale ou intraveineuse apparaissent dans les fèces sous forme inchangée de médicament et de métabolites. Il présente une large distribution tissulaire, en particulier aux poumons, au foie, aux reins et au cœur. La biodisponibilité après administration orale est comprise entre 25 et 35% en raison d'un effet de premier passage hépatique important, bien que la variabilité inter-patients soit considérable¹²⁴. La biodisponibilité peut être augmentée par la prise concomitante de nourriture. Une augmentation moyenne d'environ 50% a été rapportée après un repas contenant des protéines, mais les autres paramètres (délai d'obtention de la concentration maximale, demi-vie, etc.) sont inchangés¹²⁵. Les concentrations plasmatiques maximales sont

atteintes 1,5 à 3 heures après l'administration orale ; la demi-vie plasmatique étant d'environ 4 heures après l'administration d'une dose unique ou d'environ 10 heures pour les comprimés à libération prolongée. La concentration plasmatique maximale moyenne après administration d'une dose orale unique de 40 mg, à jeun, est de 38 ng/ml (0,12 μ M)¹²⁶. Une dose orale unique de 160 mg entraîne un pic compris entre 200 et 245 ng/ml (0,77 – 0,96 μ M), tandis que l'administration de comprimés à libération prolongée produit un pic compris entre 18 et 50 ng/ml (0,07 – 0,19 μ M)¹²⁷. Le propranolol traverse la barrière hémato-encéphalique¹²⁸. Certaines données suggèrent que les effets du propranolol dépendent des concentrations plasmatiques atteintes, notamment dans le traitement des tumeurs bénignes rares chez l'enfant¹²⁹. Le métabolisme hépatique du propranolol implique de multiples voies dans le système du cytochrome P450 (CYP2D6, 1A2 et 2C19), de sorte que des interactions médicamenteuses sont possible. Par exemple, la cimétidine a augmenté l'aire sous la courbe et doublé les concentrations plasmatiques maximales du propranolol lors d'une administration concomitante¹³⁰. Il est recommandé de faire preuve de vigilance lorsque le propranolol est associé à des médicaments bloquant les canaux calciques, en particulier le vérapamil par voie intraveineuse, chez les patients présentant une cardiomyopathie grave, une insuffisance cardiaque congestive ou un infarctus du myocarde récent en raison de l'action inotrope et chronotrope négative de ces médicaments¹³¹.

4) Données anti cancéreuses précliniques (in vitro et in vivo) :

L'étude des propriétés anti cancéreuses potentielles du propranolol a commencé à la fin des années 1970 grâce à la caractérisation du rôle des catécholamines dans la cancérogenèse et dans l'identification des récepteurs bêta-adrénergiques dans différents tissus tumoraux^{132,133,134}.

a) Leucémie :

Ramu *et al.* ont publié en 1984 un des premiers articles rapportant les effets du propranolol dans le traitement du cancer. Ce premier rapport examinait l'activité d'une gamme de médicaments visant à inverser la résistance aux médicaments *in vitro* dans la lignée cellulaire de leucémie murine P388/ADR¹³⁵. Il a été démontré que le propranolol avait des effets modérés sur la restauration de la sensibilité à la doxorubicine dans les cellules P388/ADR, mais n'a montré aucun signe d'effets supplémentaires dans la lignée cellulaire P388 parentale. De même, Tsuruo *et al.* ont montré que 10 μ M de propranolol augmentaient significativement la cytotoxicité de la vincristine et de la doxorubicine respectivement dans les lignées cellulaires P388/VCR et P388/ADR résistantes¹³⁶. D'autres chercheurs ont également signalé des effets similaires sur l'inversion de la résistance dans les lignées cellulaires humaines de carcinome

épidermoïde KB multirésistante¹³⁷. Hajighasemia et Mirshafiey ont étudié l'activité anti cancéreuse du propranolol et mis en évidence une cytotoxicité dose et temps dépendante du propranolol sur des lignées de leucémie humaine Molt-4, Jurkat et la lignée de cellules monocytaires U937¹³⁸. Ils ont montré que la viabilité des trois lignées cellulaires était réduite à des concentrations supérieures à 200 μM . Une étude menée par Lamkin *et al.* dans un modèle murin de leucémie lymphoblastique aiguë (LAL) a montré que le stress chronique favorisait la croissance et la dissémination de la tumeur et que l'effet pouvait être inhibé par le propranolol¹³⁹. Il a également été démontré que le propranolol inhibait l'expression de la métalloprotéinase 2 de matrice de remodelage tissulaire (MMP-2) et du facteur de croissance endothélial vasculaire pro-angiogénique (VEGF) dans les lignées cellulaires de leucémie humaine à la concentration de 30 μM ¹⁴⁰.

b) Cancer du sein :

Les premières données concernant le propranolol dans le cancer du sein proviennent d'études sur l'impact de la signalisation adrénergique sur les cellules de l'immunité innée. Shakhar et Ben-Eliyahu ont décrit l'influence des agonistes et antagonistes bêta-adrénergiques sur le nombre et l'activité des cellules NK (Natural Killer) chez des rats F344 inoculés avec des cellules syngéniques et hautement métastatiques d'adénocarcinome mammaire (MADB106)¹⁴¹. L'injection de métoprotérénol, un agoniste bêta-adrénergique, a entraîné une augmentation transitoire du nombre de cellules NK, qui est revenue à la valeur de référence en l'espace d'une heure ; cependant, il y a eu une diminution concomitante de l'activité des cellules NK au cours de la même période. Les antagonistes bêta-adrénergiques nadolol et propranolol ont pu supprimer ces effets. En outre, le traitement par métoprotérénol était associé à une augmentation d'un facteur 10 du nombre de cellules tumorales retenues dans les poumons un jour après l'inoculation et à une augmentation correspondante des lésions métastatiques pulmonaires trois semaines après l'inoculation. Ces effets étaient liés à la dose et étaient réversibles par un traitement concomitant par le bêta-bloquant non sélectif nadolol.

De leur côté, Benish *et al.* ont étudié l'effet de l'inhibition de la cyclo-oxygénase-2 (COX-2) et du blocage des récepteurs bêta-adrénergiques sur la fonction immunitaire post-chirurgicale et la croissance tumorale métastatique¹⁴². Des rats F344 ont été traités avec des inhibiteurs de la COX-1 (SC560), des inhibiteurs de la COX-2 (indométhacine, étodolac ou célécoxib), un bêta-bloquant (propranolol) ou une combinaison d'un inhibiteur de la COX-2 et d'un bêta-bloquant (étodolac et propranolol). Les rats ont subi une laparotomie et ont été inoculés par voie intraveineuse avec des cellules tumorales syngéniques MADB106 afin

d'évaluer la rétention tumorale pulmonaire (LTR). L'impact de ces schémas thérapeutiques sur la cytotoxicité post-opératoire des NK a été étudié dans le sang périphérique et sur la population de leucocytes pulmonaires. La chirurgie a augmenté la LTR des cellules MADB106. L'inhibition de la COX-2, mais pas l'inhibition de la COX-1, a réduit la LTR post-opératoire. L'étodolac et le propranolol ont atténué l'impact délétère de la chirurgie en monothérapie et leur utilisation combinée l'a aboli. La chirurgie a diminué la cytotoxicité des cellules NK dans les deux compartiments immunitaires étudiés, et seule la combinaison d'étodolac et de propranolol a considérablement atténué ces effets. Enfin, l'initiation d'un traitement médicamenteux trois jours avant la chirurgie a produit les mêmes effets bénéfiques qu'une administration pré-opératoire unique. D'autres expériences associant l'étodolac et le propranolol (administrés une heure avant l'incision) ont montré une fois de plus que la rétention des cellules tumorales dans les poumons était réduite par le traitement, seul ou en association, et que les traitements chroniques et aigus avaient des résultats similaires.

Dans une étude publiée par Thaker *et al.* Il a été montré que le stress comportemental chronique entraîne des niveaux plus élevés de catécholamines tissulaires, une plus grande charge tumorale et une croissance plus invasive des cellules de carcinome ovarien dans un modèle de souris orthotopique. Ces effets sont médiés principalement par l'activation de la voie de signalisation de la protéine kinase A (PKA) de l'AMP cyclique (AMPC) des cellules tumorales via le récepteur adrénergique bêta (2) (ADRB2). Les tumeurs chez les animaux stressés ont montré une vascularisation nettement accrue et une expression accrue de VEGF, MMP2 et MMP9, et il a été constaté que les processus angiogéniques médiaient les effets du stress sur la croissance tumorale *in vivo*. Ces données identifient l'activation bêta-adrénergique de la voie de signalisation cAMP-PKA comme un mécanisme majeur par lequel le stress comportemental peut améliorer l'angiogenèse tumorale *in vivo* et ainsi favoriser la croissance des cellules malignes. Ces données suggèrent également que le blocage de l'angiogenèse médiée par ADRB2 pourrait avoir des implications thérapeutiques pour la gestion du cancer de l'ovaire.¹⁴³

L'effet de la signalisation du système nerveux sympathique a également été étudié dans un modèle de cancer du sein murin par Sloan *et al.*¹⁴⁴. Les souris BALB/c ont été soumises à une contrainte de stress de deux heures par jour (induit par les catécholamines), ou des conditions de contrôle pendant cinq jours avant l'injection de cellules de carcinome mammaire syngénique 66cl4. Les animaux stressés présentaient un poids réduit et une multiplication par 38 du taux de métastases, avec une augmentation du nombre et de la taille des métastases par

rapport aux témoins non stressés. Cependant, l'augmentation du stress n'était pas associée à des changements significatifs dans la croissance de la tumeur primaire. Le traitement par propranolol n'a eu aucun effet sur la croissance métastatique chez les animaux témoins mais a complètement inhibé l'augmentation des métastases chez les animaux stressés. D'autres auteurs ont également étudié le rôle de la norépinéphrine dans le processus métastatique et ont rapporté une activité anti-métastatique similaire au propranolol dans des modèles murins de cancer du sein^{145,146}.

Notre équipe a démontré que de faibles concentrations de propranolol augmentaient les effets anti prolifératifs et anti angiogéniques du 5-Fluoro-Uracile (5-FU) et du paclitaxel dans un panel de lignées cellulaires cancéreuses et non cancéreuses. Puis ces derniers ont étudié les effets *in vivo* de l'association chez des souris NMRI nues ayant reçu une injection orthotopique de cellules de cancer du sein humain triple négatif MDA-MB-231¹⁴⁷. Le propranolol, à la dose de 10 mg/kg, a augmenté l'efficacité du paclitaxel de 79% par rapport au paclitaxel seul et l'efficacité du 5-FU de 19% par rapport au traitement en monothérapie.

Dans le cancer du sein HER2 amplifié, Liu *et al.* ont étudié le rôle des catécholamines et du propranolol sur la résistance au trastuzumab¹⁴⁸. Après avoir montré une forte association entre la résistance au trastuzumab et la signalisation bêta-2-adrénergique dans des échantillons de tissus de patients, ils ont montré que les catécholamines épinéphrine et l'isoprotérénol antagonisaient l'effet anti prolifératif du trastuzumab, tant *in vitro* qu'*in vivo*. En outre, ils ont montré que le propranolol pouvait inhiber cet effet antagoniste et re-sensibiliser des cellules résistantes, à la fois *in vitro* et dans un modèle de xénogreffe (à la dose de 2 mg/kg).

Le rôle de la signalisation bêta-adrénergique dans les métastases osseuses du cancer du sein a été étudié par Campbell *et al.*¹⁴⁹. Des expériences *in vitro* ont montré que la signalisation bêta-adrénergique augmentait l'expression de RANKL dans les ostéoblastes et que cela augmentait la migration cellulaire du carcinome mammaire humain MDA-MB-231VU. Un modèle *in vivo*, utilisant la même lignée cellulaire chez des souris athymiques, a montré que le stress exogène ou l'isoprotérénol, un agoniste bêta-adrénergique, augmentait à la fois le nombre et la taille des lésions ostéolytiques comparé au groupe contrôle et que le propranolol, administré aux souris *via* l'eau des cages (0,5 g/l), pouvait bloquer cette augmentation.

c) Mélanome :

Hasegawa et Saiki ont étudié l'impact du stress psychosocial sur la croissance tumorale dans deux modèles murins de cancers¹⁵⁰. Des groupes de souris ont été hébergés dans

différentes conditions pour simuler les effets de l'entassement social sur la croissance des tumeurs syngéniques (mélanome B16 chez la souris C57BL/6 et fibrosarcome Meth A chez la souris BALB/c). Trois conditions de logement ont été utilisées – isolées, groupées et surpeuplées – et l'effet sur la croissance tumorale a été évalué. La condition surpeuplée présentait le plus grand taux de croissance, suivi de la condition isolée. En outre, une autre cohorte surpeuplée a reçu du propranolol, à une dose de 30 mg/l des jours -21 à +21 après l'implantation de la tumeur. Cette cohorte a présenté une dynamique de croissance tumorale réduite, avec un taux de croissance initial inférieur à celui de la cohorte groupée (non stressée) et était significativement inférieure à celle des groupes stressés. Le poids des organes a également été évalué et une corrélation négative a été détectée entre la masse thymique et la masse tumorale. Des expériences répétées ont comparé les effets du surpeuplement par rapport à l'isolement dans des cohortes supplémentaires de souris C57BL/6 porteuses de mélanome et chez des souris BALB/c porteuses de sarcomes. Il a été démontré que le surpeuplement était associé, plus fortement que l'isolement, à la croissance accrue de la tumeur et à l'atrophie thymique.

Dal Monte *et al.* ont étudié le rôle des récepteurs adrénergiques bêta-3 dans la croissance et la vascularisation du mélanome¹⁵¹. Le propranolol a été associé *in vitro* à deux antagonistes sélectifs des récepteurs adrénergiques bêta-3, SR59230A et L-748,337. Le propranolol, à une concentration de 10 μM , avec et sans noradrénaline exogène, a significativement réduit la prolifération et augmenté l'apoptose des cellules B16F10 de mélanome par rapport aux témoins. Wrobel et Le Gal ont également montré que le propranolol avait des effets significatifs sur la prolifération et l'apoptose *in vitro* sur un panel de lignées cellulaires de mélanome à une concentration élevée de 100 μM ¹⁵². Des expériences *in vivo* utilisant des tumeurs primitives et métastatiques de mélanome humain transplantées chez des souris immuno-déficientes (Nod SCID Gamma) ont montré que, à une dose moyenne de 1,7 mg/jour, le volume des tumeurs était significativement plus faible que chez les témoins non traités.

Glasner *et al.* ont étudié les effets d'une intervention chirurgicale sur la survie dans deux modèles de souris syngéniques et sur l'impact du propranolol et de l'étodolac sur la survie lorsqu'ils étaient administrés en pré-opératoires¹⁵³. Des souris porteuses du mélanome B16 ont été réparties en différents groupes selon l'administration de propranolol, d'étodolac, de l'association propranolol + étodolac ou de placebo 30 minutes avant amputation et/ou laparotomie. Le traitement avec l'un ou l'autre des médicaments ne présentait aucune différence statistiquement significative avec le véhicule en terme de survie pour chacune des options

chirurgicales, alors que l'association propranolol + étodolac améliorait significativement les taux de survie.

d) Cancer ovarien :

Lutgendorf *et al.* ont noté que les patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire souffrant de niveaux plus élevés d'isolement social et de détresse présentaient des taux plus élevés de VEGF sérique, associés à une augmentation de l'angiogenèse, contrairement aux patientes présentant des niveaux d'isolement social plus faibles¹⁵⁴. Des études *in vitro* ultérieures utilisant les lignées cellulaires de carcinome ovarien SKOV3 et EG ont montré que la norépinéphrine, l'épinéphrine, l'isoprotérénol (un agoniste non spécifique bêta-adrénergique) et le cortisol augmentaient la production de VEGF dans les deux lignées cellulaires. Un traitement préalable avec du propranolol, à la concentration de 1 μM , a supprimé cette augmentation du VEGF¹⁵⁵. D'autres travaux ont montré que, dans un modèle murin de SKOV3, le propranolol était capable de réduire la croissance tumorale induite par l'isoprotérénol¹⁵⁶.

Une autre étude a montré que le stress chirurgical provoqué par une plaie éloignée de la tumeur implantée était associé à une augmentation du taux de croissance de la tumeur primaire et à la multiplicité des métastases dans deux modèles murins de cancer de l'ovaire (HeyA8 et SKOV3ip1), mais pas chez les souris RMG-II (souris n'exprimant pas de récepteurs bêta-adrénergiques)¹⁵⁷. Le traitement par propranolol *via* une pompe micro-osmotique commençant sept jours avant l'intervention chirurgicale a inhibé l'augmentation post-chirurgicale du taux de croissance tumorale et réduit le nombre de nodules métastatiques.

e) Angiosarcome :

À l'image de l'expérience clinique positive obtenue avec l'utilisation du propranolol dans le traitement de l'hémangiome infantile, confirmée récemment par un grand essai contrôlé randomisé multicentrique⁷², et de la preuve de l'expression du récepteur bêta-adrénergique dans une gamme de tumeurs vasculaires¹⁵⁸, un certain nombre d'investigateurs ont exploré les avantages potentiels du propranolol. Stiles *et al.* ont utilisé des modèles *in vitro* et *in vivo* d'hémangioendothéliome et d'angiosarcome pour étudier l'impact du bêta-blocage avec du propranolol sur la prolifération cellulaire, la migration et l'apoptose¹⁵⁹. En utilisant un panel d'angiosarcomes canins et murins ainsi que des lignées cellulaires d'hémangioendothéliomes murins, il a été montré que 25 μM de propranolol inhibait la prolifération dans toutes les lignées par rapport aux témoins non traités. À une concentration plus élevée de 100 μM , le propranolol induit l'apoptose dans toutes les lignées cellulaires et présente une action synergique avec des

agents de chimiothérapie conventionnelle (cisplatine, busulfan, vincristine) sur les cellules testées, à l'exception de la lignée cellulaire murine d'hémangioendothéliome. Enfin, le propranolol a été testé à une dose de 20 mg/kg tous les 2 jours, dans un modèle murin de l'angiosarcome. Une réduction significative de la croissance tumorale a été constatée par rapport aux témoins.

Notre équipe a montré que des cellules endothéliales immortalisées et transformées par l'acquisition de l'oncogène NRAS étaient sensibles aux effets anti prolifératifs du propranolol¹⁶⁰. En outre, il a été démontré que le propranolol avait des effets antagonistes ou additifs lorsqu'il était associé à des médicaments couramment utilisés pour traiter l'angiosarcome tels que la doxorubicine ou le paclitaxel, mais que cet effet était synergique en association avec la vinblastine. Utilisés seuls, le propranolol à 10 µM et la vinblastine 1 nM ralentissaient significativement mais modestement la croissance des sphéroïdes tumoraux, ce qui entraînait une diminution du volume de 19 à 20% après 5 jours de traitement par rapport aux sphéroïdes non traités. La combinaison de propranolol et de vinblastine conduisait elle à une suppression complète de la croissance des sphéroïdes tumoraux, entraînant une diminution de volume de 59 % après 5 jours par rapport aux sphéroïdes témoins.

f) Neuroblastome :

Notre équipe a testé *in vitro* un groupe de 7 antagonistes bêta-adrénergiques seuls sur un panel de lignées cellulaires de neuroblastome, une tumeur pédiatrique difficile à traiter et responsable de 15% des décès liés au cancer chez l'enfant de moins de 5 ans. Parmi ces sept agents, le carvedilol, le nébivolol et le propranolol étaient les agents anti prolifératifs et anti angiogéniques les plus puissants. Ces derniers ont été testés seuls ou en association avec 7 agents de chimiothérapie communément utilisés dans le traitement du neuroblastome, sur des lignées cellulaires de neuroblastome BE(2)-C, SK-N-SH, SHEP, la lignée murine NH02A+ et des fibroblastes¹⁶¹. Bien que ces trois agents n'aient pas eu d'impact significatif sur les effets anticancéreux de la majorité des agents de chimiothérapie testés, ils ont montré une forte synergie avec un *vinca*-alcaloïde : la vincristine. Des résultats similaires ont été obtenus avec la vinblastine et le paclitaxel, suggérant que l'effet était lié à la perturbation des microtubules. Des résultats *in vivo*, utilisant un modèle transgénique TH-MYCN de souris atteinte de neuroblastome, ont montré que le propranolol, à une dose de 50 mg/kg (en injection intrapéritonéale), augmentait le taux de régression tumorale induit par le traitement à la vincristine. Enfin, l'association du propranolol ou du carvedilol avec la vincristine multipliait par 4 la survie médiane par rapport aux souris traitées avec la vincristine seule. A noter que le carvedilol

associé à la vincristine a semblé être la combinaison la plus efficace et a entraîné une rémission complète et prolongée chez un animal (sur dix), qui est demeurée exempte de tumeur jusqu'à la fin de l'étude (jour 60).

Un modèle de xénogreffe de neuroblastome, basé sur la lignée cellulaire BE(2)-C, a été utilisé par Xu *et al.*¹⁶². Les animaux présentant des tumeurs établies ont été traités avec différentes doses de propranolol : 2, 5 ou 10 mg/kg – pendant neuf jours et comparés aux témoins non traités. Les animaux ont été sacrifiés au jour 9 et le poids de la tumeur dans les groupes de 2 mg/kg et 5 mg/kg était inférieur de 37 et 34% comparé à celui du groupe témoin. Des analyses supplémentaires ont montré que la densité des micro-vaisseaux était plus faible dans les groupes traités que dans les groupes témoins et que les taux de VEGF, MMP-2 et MMP-9 étaient significativement plus bas dans les groupes traités à 5 mg/kg et 10 mg/kg.

Wolter *et al.* ont testé le propranolol sur un panel de 15 lignées cellulaires de neuroblastome représentant une variété de profils génétiques¹⁶³. Le propranolol a inhibé la croissance cellulaire, en réduisant la prolifération et la viabilité cellulaire, dans toutes les lignées à des valeurs d'IC₅₀ comprises entre 114 µM et 218 µM. Il faut préciser que ces doses ne sont pas pertinentes d'un point de vue clinique car les concentrations plasmatiques atteignables chez l'homme sont de l'ordre du micromolaire. Il a également été démontré *in vitro* que le propranolol interagissait de manière synergique avec le SN-38, le métabolite actif de l'irinotécan, avec une viabilité considérablement réduite par rapport au traitement en monothérapie. En utilisant des cellules SK-N-AS dans des modèles de xénogreffe, le traitement avec du propranolol seul injecté par voie sous-cutanée à 2 mg/kg/jour a produit un volume tumoral inférieur au jour 14 par rapport aux témoins et était associé à une survie médiane plus longue. Cependant, la combinaison entre l'irinotécan et le propranolol n'a pas été testée *in vivo* dans cette étude.

g) Cancer de la prostate :

Les travaux de Masur *et al.* ont montré que la norépinéphrine, à une concentration de 10 µM, augmentait l'activité migratoire des cellules de carcinome de la prostate humaines PC3 *in vitro*, et que le propranolol à la même dose inhibait significativement cette augmentation¹⁶⁴. De plus, les souris athymiques BALB/c auxquelles ont été injectées des cellules cancéreuses PC3 ont été traitées avec de la norépinéphrine, du propranolol ou une combinaison administrée *via* des pompes micro-osmotiques, et le taux de croissance tumorale primaire et métastatique a été évalué. Alors qu'aucun des deux traitements n'avait d'effet significatif sur la croissance tumorale primaire, la norépinéphrine était associée à une augmentation significative de la

croissance tumorale métastatique par rapport aux témoins et le traitement par propranolol réduisait la croissance tumorale métastatique en dessous de celle des groupes témoins.

h) Cancer pancréatique :

Guo *et al.* ont montré que le propranolol, à la dose de 1 μ M diminuait l'expression de la MMP-2, la MMP-9 et le VEGF dans les lignées cellulaires du cancer du pancréas¹⁶⁵. Zhang *et al.* ont également indiqué que le propranolol était capable d'induire une apoptose dans la lignée cellulaire du cancer du pancréas humain PC-2 à des concentrations de 100 μ M¹⁶⁶ et de réduire le caractère invasif des lignées cellulaires MIA PaCa-2 et BxPC-3 à la même concentration¹⁶⁷.

Kim-Fuchs *et al.* ont utilisé des cellules de cancer du pancréas humain Panc-1 pour établir des tumeurs orthotopiques chez des souris athymiques nude BALB / c-Foxn1nu¹⁶⁸. Les souris ont été soumises à des contraintes ou à des conditions visant à imiter le stress ou à un environnement contrôlé. Le stress, vérifié par les variations du poids corporel et des taux de catécholamine dans les tissus, était associé à une augmentation du taux de croissance de la tumeur pancréatique de 11% par jour par rapport aux souris témoins et à une multiplication par cinq de la masse tumorale (7,5 mg vs 41 mg). De plus, le stress chronique était associé à la propagation métastatique chez 50% des souris, contre 0% chez les témoins. Le traitement par propranolol, *via* une pompe osmotique délivrant 10 mg/kg/jour, a bloqué l'effet du stress sur la croissance tumorale primaire (41 mg vs 21 mg), bien qu'il n'y ait pas eu de changement du taux métastatique constaté dans le cadre de l'expérimentation.

Partecke *et al.* ont également étudié l'impact du stress chronique sur la croissance du cancer du pancréas chez des souris C57BL/6 porteuses de tumeurs orthotopiques 6606PDA syngéniques¹⁶⁹. Il a été démontré que le stress était associé à une immunosuppression et à une augmentation de l'angiogenèse tumorale ainsi qu'à l'invasion des cellules cancéreuses. La survie médiane chez les souris stressées était significativement réduite par rapport aux souris témoins non stressées (52 jours vs 66 jours). Le traitement avec propranolol (administré par voie orale dans de l'eau avec une concentration de 0,5 g/l d'eau potable visant à atteindre 30 à 60 mg/kg/jour) a entraîné une réduction du taux de croissance tumorale et une augmentation de la survie par rapport aux témoins non traités (59 jours vs 52 jours pour la population contrôle).

i) Cancer colorectal :

Masur *et al.* ont étudié l'effet de la norépinéphrine et du propranolol sur l'activité migratoire *in vitro* de cellules de carcinome du colon SW 480¹⁷⁰. La norépinéphrine a entraîné une augmentation dose-dépendante du nombre de cellules migratrices au-dessus des niveaux

basaux, et le traitement avec du propranolol aux mêmes concentrations (1 μM , 10 μM et 100 μM) a supprimé cette augmentation. En revanche, un traitement avec l'aténolol, un antagoniste sélectif des récepteurs bêta-1, n'a pas interféré avec l'augmentation du nombre de cellules migratrices induite par la noradrénaline. De même, Coelho *et al.* ont exploré l'impact d'un certain nombre d'agonistes et d'antagonistes des récepteurs bêta-adrénergiques sur la prolifération de cellules d'adénocarcinome du colon HT-29¹⁷¹ et ont rapporté une IC_{50} de 65 μM pour le propranolol. Chin *et al.* ont également étudié l'effet d'antagonistes sélectifs des récepteurs bêta-2-adrénergiques, ainsi que le propranolol, dans un panel de lignées cellulaires de cancer colorectal¹⁷². Ils ont montré que le propranolol inhibait de manière significative la viabilité des cellules SW620, Colo205 et HT29 (avec des IC_{50} de 120, 86 et 69 μM , respectivement). Le propranolol a notamment induit l'arrêt en phase G1 du cycle cellulaire et l'apoptose dans les lignées cellulaires traitées. Enfin, Lin *et al.* ont montré que le stress induit par une contention chronique favorisait la croissance tumorale dans les modèles de xélogreffe du cancer colorectal et que cet effet pouvait être bloqué, *in vivo*, en utilisant du propranolol à une dose de 2 mg/kg¹⁷³.

j) Cancers de la tête et du cou :

Yang *et al.* ont étudié les effets de la norépinéphrine sur des lignées cellulaires de carcinomes du nasopharynx (HONE-1, HNE-1 et CNE-1)¹⁷⁴. Le traitement des cellules HONE-1 avec de la norepinephrine a entraîné l'augmentation des niveaux de métalloprotéinases (en particulier MMP-2 et MMP-9), de VEGF et une invasion accrue des cellules. Le traitement par propranolol inhibait cette augmentation de MMP-2, MMP-9 et VEGF. L'inhibition par le propranolol de la sécrétion de MMP-9 a également été confirmée dans les cellules endothéliales microvasculaires du cerveau humain¹⁷⁵.

Bernabé *et al.* ont évalué l'influence de la noradrénaline et du cortisol sur les lignées cellulaires de carcinome épidermoïde oral (OSCC)¹⁷⁶. Ils ont montré que la norépinéphrine et le cortisol, à des niveaux physiologiquement pertinents, induisaient la production d'IL-6 dans les cellules SCC9, SCC15 et SCC25 et que des observations similaires étaient faites pour l'isoprotérénol dans les cellules SCC9 et SCC25. Ces effets ont été associés à une augmentation de la prolifération cellulaire et le propranolol bloquait cette augmentation à une concentration de 1 μM . Wolter *et al.* ont également démontré que le propranolol réduisait la viabilité des lignées cellulaires SCC9, SCC17a, SCC25 et FaDu et qu'il agissait en synergie avec le cisplatine et la radiothérapie dans le traitement des cellules SCC17a¹⁷⁷.

k) Autres :

Grzanna *et al.* ont montré, *in vivo*, que l'administration de propranolol retarde la croissance des tumeurs du plasmocytome LPC-1 chez des souris BALB/c femelles¹⁷⁸. Les souris ont été traitées avec des doses de 0,6, 6 et 60 mg/kg/jour, administrés *via* des pompes osmotiques, et comparées aux souris non traitées ayant reçu une injection sous-cutanée de cellules LPC-1. Toutes les souris traitées ont présenté une croissance tumorale retardée par rapport aux témoins non traités, de manière dose-dépendante. Il y avait également une diminution dose-dépendante des valeurs plasmatiques d'IgG, confirmant l'effet observé sur la taille de la tumeur. Cependant, alors que le traitement augmentait le temps de latence de la croissance tumorale, il n'y avait aucune différence dans les taux de croissance une fois que les tumeurs étaient établies. Ces résultats suggèrent que le propranolol agit sur les étapes précoces du développement tumoral mais pas sur la croissance des tumeurs établies.

Bomber *et al.* ont étudié l'effet du propranolol sur la perfusion tumorale dans le cadre d'une petite étude de 1986 axée sur l'absorption de Ga-67 afin d'améliorer l'imagerie de petites tumeurs¹⁷⁹. Le propranolol a été administré à la dose de 10 mg/kg 10 minutes avant l'administration de citrate d'allium radiomarqué. L'analyse a montré que le propranolol doublait la perfusion de la tumeur et diminuait l'absorption de Ga-67 dans les tissus non tumoraux, augmentant ainsi l'absorption relative dans le compartiment tumoral. Par la suite, Burton et Gray ont rapporté qu'une association de norépinéphrine et de propranolol augmentait l'apport sanguin relatif aux tumeurs hépatiques chez le lapin et doublait le taux d'embolisation des microsphères dans le compartiment tumoral par rapport à la norépinéphrine ou au propranolol seul¹⁸⁰.

L'effet du propranolol a également été étudié dans deux lignées cellulaires de carcinome gastrique humain (SGC-7901 et BGC-823) par Liao *et al.*¹⁸¹. Des concentrations *in vitro* de 200 µM ont induit un arrêt du cycle cellulaire à la transition G0/G1 ou G2/M du cycle cellulaire et une apoptose dans les deux lignées cellulaires. L'effet du propranolol sur la radiosensibilité des mêmes lignées cellulaires de carcinomes gastriques a également été étudié¹⁸². Après pré-traitement pendant 24 heures avec du propranolol à une concentration de 50 µM, les deux lignées cellulaires présentaient une augmentation significative de la radiosensibilité et au déclenchement de l'apoptose. Le propranolol était associé à une diminution du taux de NF-κB et à une régulation négative de l'expression du VEGF, de la COX-2 et de l'EGFR.

Dans le cancer du poumon non à petites cellules, Al-Wadei *et al.* ont étudié les effets de l'exposition chronique à la nicotine sur la prolifération des cellules cancéreuses¹⁸³. Les résultats

ont montré que les cellules d'adénocarcinome pulmonaire traitées à la nicotine (NCI-H322, NCI-H441 et NCI-H1299) libéraient de la norépinéphrine et augmentaient leur prolifération. Les cellules traitées avec du propranolol à une concentration de 1 μ M pendant 10 minutes avant une exposition aiguë ou chronique à la nicotine présentaient une réduction significative du nombre de cellules viables par rapport à la nicotine seule. Fait intéressant, l'exposition au propranolol a réduit également la viabilité par rapport aux cellules non traitées à la nicotine. Les mêmes auteurs ont ensuite étendu cette étude et montré une boucle autocrine de catécholamine induite par la nicotine dans un modèle d'adénocarcinome pancréatique¹⁸⁴.

Kozanoglu *et al.* ont étudié l'effet *in vitro* du propranolol sur la lignée cellulaire de myélome multiple humain U266¹⁸⁵. Ils ont montré un effet dépendant de la dose et du temps sur la prolifération cellulaire et l'apoptose, avec des valeurs d'IC₅₀ de 141, 100 et 75 μ M après une exposition au propranolol de 24, 48 et 72 h, respectivement.

Abdi *et al.* ont utilisé deux doses de propranolol, à savoir 5 mg/kg et 10 mg/kg, chez des souris porteuses de tumeurs solides du carcinome d'Ehrlich¹⁸⁶. Alors que les deux doses étaient associées à des réductions des taux de croissance et des volumes tumoraux par rapport aux témoins non traités, seul le groupe recevant la dose la plus élevée était associé à une survie améliorée. Les deux niveaux de dosage étaient associés à des réductions statistiquement significatives des niveaux d'IL-10, HSP70 et iNOS.

Wei *et al.* ont exploré l'utilisation de propranolol dans un panel de lignées cellulaires de cancer de la thyroïde humaine¹⁸⁷. Il a été démontré que le propranolol inhibait la croissance des lignées cellulaires 8505C et K1, avec des valeurs d'IC₅₀ de 200 μ M et 280 μ M, respectivement. L'inhibition de la croissance tumorale a ensuite été analysée dans la lignée 8505C et a été associée à une augmentation des niveaux d'apoptose. Des données *in vivo* provenant d'un modèle murin de xénogreffe utilisant des cellules 8505C et traitées avec du propranolol à une dose de 10 mg/kg ont montré une réduction du volume tumoral par rapport aux témoins, et une réduction du marquage immuno-histochimique Ki67 des cellules tumorales.

La maladie de von Hippel-Lindau (VHL), ou syndrome de von Hippel-Lindau, est une maladie génétique rare causée par une mutation de la lignée germinale du gène suppresseur de tumeur de von Hippel-Lindau. Elle se caractérise par le développement de toute une gamme de types de tumeurs, notamment les hémangioblastomes de la rétine et du système nerveux central. Albiñana *et al.* ont exploré l'effet du propranolol sur les cellules d'hémangioblastome de patients VHL et ont rapporté une diminution de la viabilité et une augmentation de l'apoptose

liées à la dose¹⁸⁸. Cet effet était accru dans les conditions hypoxiques et était associé à une diminution de l'expression des gènes cibles d'HIF, y compris le *VEGF*.

5) Données humaines dans le traitement du cancer :

Les premières données humaines suggérant un effet bénéfique du propranolol sur le cancer proviennent d'études épidémiologiques comparant l'incidence du cancer chez des patients hypertendus et non hypertendus. Par exemple, Perron *et al.* ont rapporté l'incidence du cancer de la prostate chez des hommes canadiens traités avec divers médicaments antihypertenseurs et ont découvert que le traitement par bêta-bloquants avait un effet protecteur avec un odds ratio (OR) ajusté de 0,86 (IC à 95% = 0,77 à 0,96)¹⁸⁹. Chez les patients atteints de cirrhose associée à l'hépatite C, Nkontchou *et al.* ont rapporté que l'utilisation du propranolol était associée à un risque réduit de développer un carcinome hépatocellulaire (HCC, avec un ratio de risque (HR) = 0,25 ; (IC à 95 = 0,09 – 0,65)¹⁹⁰. Chang *et al.* ont publié une vaste étude de cohorte en 2015 portant sur 24,238 patients, avec un groupe traité au propranolol (utilisation > 6 mois, n = 12119) comparé à un groupe d'utilisation témoin (n = 12119) sur une période de 12 ans¹⁹¹. Globalement, le risque de cancer était plus faible dans le groupe traité par propranolol (HR = 0,75 ; IC à 95% = 0,67–0,85 ; p <0,001). Une analyse spécifique au site a montré une diminution du risque dans les cancers de la tête et du cou (HR = 0,58 ; IC à 95% = 0,35–0,95), de l'œsophage (HR = 0,35 ; IC à 95% = 0,13 à 0,96), de l'estomac (HR = 0,54 ; IC à 95% = 0,30 à 0,98), du colon (HR = 0,68 ; IC à 95% = 0,49 – 0,93) et des cancers de la prostate (HR = 0,52 ; IC 95% = 0,33 – 0,83).

Zhong *et al.* ont réalisé une revue systématique et une méta-analyse d'études observationnelles sur l'utilisation de bêta-bloquants et la mortalité par cancer¹⁹². Ils ont identifié 24 études pertinentes ayant rapporté des résultats en mai 2015 et portant sur 76538 patients. Les résultats globaux ont montré que les patients qui utilisaient des bêtabloquants après le diagnostic avaient un HR de 0,89 (IC à 95% 0,81-0,98) pour la mortalité toutes causes confondues par rapport aux non-utilisateurs. Ceux qui ont utilisé des bêtabloquants après le diagnostic (par rapport aux non-utilisateurs) avaient un HR de 0,89 (IC à 95% 0,79-0,99) pour la mortalité spécifique au cancer. L'utilisation pré-diagnostique de bêtabloquants n'a montré aucun effet bénéfique sur la mortalité toutes causes ou la mortalité spécifique au cancer. Après stratification par type de cancer, seuls les patients atteints de cancer du sein qui ont utilisé des bêtabloquants après le diagnostic ont montré une survie globale prolongée. Une tendance linéaire mais non significative a été observée entre l'utilisation de bêtabloquants post-diagnostic et la mortalité des patients cancéreux. En conclusion, l'effet moyen de l'utilisation des

bêtabloquants après le diagnostic mais pas avant le diagnostic est bénéfique pour la survie des patients cancéreux.

a) Cancer du sein :

Une étude publiée par Powe *et al.* en 2010 a permis d'identifier le bénéfice thérapeutique du propranolol chez des patientes atteintes de cancer du sein et traitées pour leur hypertension. Les auteurs ont émis l'hypothèse que les patientes atteintes d'un cancer du sein recevant des bêta-bloquants pour hypertension présenteraient une réduction des métastases et une amélioration des résultats cliniques. Trois sous-groupes de patientes ont été identifiés à partir des dossiers médicaux de 466 patientes consécutives (âge médian 57, extrêmes 28-71) avec cancer du sein opérable et suivi (> 10 ans). Deux sous-groupes comprenaient 43 et 49 patients hypertendus traités respectivement avec des bêta-bloquants ou d'autres antihypertenseurs, avant le diagnostic du cancer. 374 patientes ont formé un groupe témoin non hypertendu. Le développement des métastases, l'intervalle sans maladie, la récurrence tumorale et le risque de risques ont été comparés statistiquement entre les groupes. Les patientes traitées par bêta-bloquant ont montré une réduction significative du développement des métastases, une récurrence tumorale et un intervalle sans maladie plus long. De plus, le risque de métastases a été réduit de 57% (Hazards ratio = 0,430; IC à 95% = 0,200-0,926), et une réduction de 71% de la mortalité par cancer du sein après 10 ans (Hazards ratio = 0,291; IC à 95 % = 0,119-0,715). Cette étude de preuve de principe a montré que le traitement par bêta-bloquant réduit considérablement les métastases à distance, la récurrence du cancer et la mortalité spécifique au cancer chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, laissant ainsi suggérer un nouveau rôle pour le traitement par bêta-bloquant.

Les résultats publiés par Barron *et al.* dans une population plus large de patientes atteintes d'un cancer du sein ont montré des effets protecteurs associés à l'utilisation du propranolol¹⁹³. Les femmes irlandaises traitées avec du propranolol (n = 70) ou de l'aténolol (n = 525) l'année précédant le diagnostic de cancer du sein ont été appariées avec des femmes ne recevant pas de traitement par un bêta-bloquant (n = 4738). L'évaluation du bénéfice clinique du traitement par bêta-bloquant s'est faite selon la classification TNM (classification internationale qui permet de se rendre compte du stade d'un cancer. La lettre T est l'initiale de tumeur et correspond à la taille de la tumeur (numérotée de 0 à 4), la lettre N est l'initiale de « node » qui signifie ganglion en anglais et indique si des ganglions lymphatiques ont été ou non envahis (allant de Nx à N2) ; la lettre M est l'initiale de métastase et signale la présence ou l'absence de métastases (numérotée de M0 à M1)). L'utilisation de propranolol était associée à

un risque plus faible de présenter un diagnostic de T4 (OR = 0,24, IC à 95% = 0,07 – 0,85) ou N2/N3/M1 (OR = 0,20 ; 95% IC = 0,04-0,88) par rapport aux patientes non traitées par propranolol. La probabilité cumulée de mortalité par cancer du sein était également significativement plus basse pour les utilisatrices de propranolol que pour les non utilisatrices appariées (HR = 0,19 ; IC à 95% = 0,06 à 0,60). Il n’y avait aucune différence dans les résultats entre les utilisateurs d’aténolol et les non-utilisateurs appariés. Ceci laissait ainsi suggérer que les bêta-bloquants non-sélectifs comme le propranolol étaient plus efficaces dans le cancer que les bêta-bloquants cardiosélectifs.

Une revue systématique et une méta-analyse de l’utilisation de bêta-bloquants dans le cancer du sein réalisée par Childers *et al.* ont mis en évidence une réduction non significative de la récurrence du cancer du sein (HR = 0,67 ; IC à 95% = 0,39 – 1,13), une réduction significative du risque de mortalité par cancer du sein (HR = 0,50 ; IC 95% = 0,32 – 0,80) et aucun impact sur la mortalité toutes causes confondues (HR = 1,02 ; IC 95% = 0,75 – 1,37)¹⁹⁴.

b) Angiosarcome :

Banavali *et al.* ont publié un case report rapportant le cas d'une femme de 69 ans atteinte d'un angiosarcome métastatique récidivant traité avec une combinaison de chimiothérapie métronomique et de propranolol. Une réponse complète a été rapidement obtenue et a duré 20 mois. Le même groupe a publié une étude de plus grande ampleur sur une série de 7 patients atteints d'angiosarcome métastatique non opérable. Banavali and colleagues ont réalisé une étude sur une série de sept cas d'angiosarcome avancé traités par une association de propranolol quotidien (40 mg deux fois par jour), de vinblastine (*i.v.* à raison de 6 mg/m² jusqu'à un maximum de 10 mg) et de méthotrexate (35 mg/m² maximum 50 mg) hebdomadaires pendant 12 mois au maximum, suivis d'un traitement de maintenance comprenant du propranolol (40 mg deux fois par jour), de l'étoposide oral (50 mg/jour) et du cyclophosphamide oral (50 mg / jour) pendant 20 jours consécutifs, par cycles de 30 jours¹⁶⁰. Le traitement a été bien toléré et a montré un taux de réponse de 100%, incluant une réponse complète et trois très bonnes réponses partielles. Chez des patients atteints d'angiosarcome métastatique non opérable la médiane de PFS (Progression Free Survival) est de 4-5 mois, et de 9 mois pour l'OS (Overall Survival) . Dans cette étude, la médiane de PFS (Progression Free Survival) était de 11 mois (intervalle de 5 à 24 mois) et l'OS (Overall Survival) de 16 mois (intervalle de 10 à 30 mois).

Une étude publiée par Galvan¹⁹⁵ a rapporté le cas d'une femme de 61 ans diagnostiquée avec un angiosarcome cardiaque primaire et des métastases hépatiques et pulmonaires. Le propranolol a été prescrit en monothérapie suite au refus du traitement conventionnel. Après 12

mois, la masse médiastinale s'est considérablement affaiblie et a diminué de taille, et les nodules métastatiques se sont stabilisés ou résolus sans aucun signe d'activité hyper-métabolique sur PET-Scan. Il s'agit des premières données publiées montrant une efficacité à long terme du bêta-bloquant propranolol en tant que traitement en monothérapie contre l'angiosarcome. Au sein du même groupe, Chow *et al.* ont également publié un rapport de cas d'angiosarcome traité par propranolol¹⁹⁶. La patiente présentait un angiosarcome cutané T2 au stade multifocal non métastatique largement disséminé ayant un taux de survie à 2 ans de 0%. Le traitement par propranolol à une dose de 40 mg deux fois par jour a été initié, et a permis une amélioration clinique en une semaine. Par la suite le propranolol a été augmenté à 40 mg trois fois par jour. Le marquage du Ki67 a montré que le propranolol était associé à une réduction de 34% du taux de prolifération. Les traitements ultérieurs, administrés en même temps que le propranolol, ont inclus 10 semaines de paclitaxel poliglumex (une formulation de paclitaxel conçue pour augmenter l'indice thérapeutique du médicament) et une radiothérapie. Après l'arrêt du paclitaxel et la radiothérapie, le patient a continué de prendre du propranolol à une dose de 40 mg trois fois par jour, avec des signes évidents de régression de la maladie et aucun signe de maladie métastatique.

Un case report publié par Deguze *et al.*¹⁹⁷ a été publié en octobre 2015. Un patient de 73 ans atteint d'angiosarcome du cuir chevelu a présenté des métastases médiastinales, hépatiques, surrénales et cutanées. Le patient a été traité par du cyclophosphamide métronomique oral à une dose de 100 mg deux fois par jour, 1 semaine sur 2, avec du propranolol (120 mg/jour) pendant 3 mois. Lors de la dernière évaluation disponible, une réponse partielle des atteintes métastatiques a été confirmée, avec une régression de 44% pour les métastases viscérales et aucune rechute des lésions cutanées n'a été constatée. La même équipe a publié un case report d'un patient de 49 ans atteint d'un angiosarcome du nez non opérable¹⁹⁸. Ce patient a été traité selon les mêmes conditions, en association au propranolol pendant 2 mois. A l'issue du traitement, le patient a connu une rémission clinique complète (CR).

c) [Autres :](#)

Bhattacharyya *et al.* ont rapporté l'utilisation de l'association du témozolomide métronomique (mTMZ), de l'étodolac, inhibiteur de la COX-2, et du propranolol dans le traitement du glioblastome récidivant à l'ASCO 2014¹⁹⁹. Une série de 32 patients a été randomisée dans mTMZ ou mTMZ avec VT-122 (l'association du propranolol 20 mg deux fois par jour et d'étodolac 400 mg deux fois par jour). La durée nécessaire pour constater une progression tumorale était de 5,2 mois dans le bras mTMZ et de 8,8 mois dans le bras mTMZ

+ VT-122. La survie à 6 mois était de 40% et 63%, et l'OS à 1 an était de 12% contre 22%, respectivement. Une mise à jour en 2015, également rapportée à l'ASCO, avec 41 patients inclus, montrait une OS médiane de 9,2 mois contre 17,6 mois et un taux de réponse de 35% contre 57%, respectivement²⁰⁰. Le même groupe a également signalé une étude ouverte (n = 37) sur un seul centre évaluant la gemcitabine en association avec le nab-paclitxel (GemNab) avec et sans VT-122 chez des patients atteints d'un cancer du pancréas localement avancé ou métastatique²⁰¹. Les patients du bras GemNab + VT-122 (n = 20) ont été traités avec VT-122 pendant une semaine avant le début du traitement par GemNab, puis de manière continue avec GemNab. La PFS était de 7,2 contre 11,8 mois, et l'OS de 10,5 mois contre 15,9 mois pour les bras GemNab et GemNab + VT-122, respectivement. De plus, les patients du bras GemNab + VT-122 ont présenté une douleur et une neuropathie réduites et un gain de poids accru par rapport aux patients du GemNab. Le VT-122 a également été utilisé dans le cadre d'un essai contrôlé randomisé multicentrique (n = 20) en association avec le sorafénib dans le carcinome hépatocellulaire²⁰². La survie médiane globale était de 9,6 mois contre 17,2 mois dans les groupes sorafénib et sorafénib + VT-122, respectivement.

Le rôle du propranolol dans le traitement de la cachexie liée au cancer, une cause importante de morbidité et de mortalité chez les patients cancéreux au stade avancé de la maladie, a également suscité un certain intérêt²⁰³. Hyltander *et al.* ont exploré les influences sur la dépense d'énergie au repos chez les patients cancéreux perdant du poids prenant du propranolol (80 mg deux fois par jour), l'inhibiteur non sélectif de la COX indométacine, la morphine ou un placebo²⁰⁴. Les patients du groupe propranolol ont présenté une baisse de la dépense d'énergie au repos d'environ 10% par rapport à la ligne de base 5 jours après le début du traitement, alors qu'il n'y avait pas de changement significatif dans les autres groupes de traitement ou les contrôles. Une étude ultérieure du même groupe a comparé le propranolol (80 mg/jour) et l'aténolol (50 mg/jour) chez 10 patients atteints de tumeur solide perdant du poids²⁰⁵. Alors que les deux médicaments réduisaient significativement la dépense d'énergie au repos, le traitement par propranolol, entraînant une diminution de la fréquence cardiaque, avait un effet significativement plus prononcé que celui de l'aténolol.

Les effets psychologiques du propranolol chez les patients cancéreux ont également suscité un certain intérêt, par exemple en réduisant le niveau de détresse émotionnelle, mesuré en termes de nombre et de taux de pensées intrusives associées à un diagnostic de cancer²⁰⁶.

6) Essais cliniques :

Plusieurs essais cliniques sont actuellement en cours dans une grande variété de cancers humains et de contextes thérapeutiques.

a) Phase 1 :

NCT01504126 – Un essai ouvert à un seul bras (n = 25), vise à évaluer le propranolol, à la dose de 20 mg deux fois par jour, avec chirurgie et chimiothérapie standard à base de platine ou de taxane dans le cancer de l’ovaire. Il s’agit d’une étude de faisabilité, dont le critère principal est la proportion de patients terminant le traitement. Le traitement commence 48 à 72 heures avant la résection chirurgicale et se poursuit pendant six cycles de chimiothérapie post-chirurgicale. L’essai clinique est terminé mais les résultats n’ont pas encore été communiqués.

NCT02013492 – C’est une étude de faisabilité de l’administration du propranolol par voie orale chez des patients atteints de tumeurs solides récurrentes ou métastatiques non résecables. Les patients participant à cette étude ouverte sont traités par propranolol deux fois par jour (dose non spécifiée) pendant quatre mois sous réserve d’absence de progression de la maladie ou de toxicité inacceptable. Les principaux critères d’évaluation sont l’incidence de la toxicité, la modification des taux de VEGF, la mesure des impacts sur la réponse immunitaire et le microenvironnement tumoral. Les mesures de résultats secondaires incluent la survie sans progression et la survie globale à un an.

NCT02897986 (PROVIN) – Cet essai planifié de phase I/II consiste en l’administration de doses croissantes de vinorelbine orale trois fois par semaine (10, 20 et 30 mg/m²) plus l’administration de propranolol en quotidien à la dose de 1,5 mg/kg/jour administré en deux fois après le premier cycle de chimiothérapie. Une analyse pharmacocinétique de la vinorelbine et du propranolol sera effectuée. Une fois que la dose recommandée de la combinaison aura été établie, quatre cohortes d’extension sur 9 patients seront constituées (neuroblastome, rhabdomyosarcome, sarcome d’Ewing et tumeurs diverses). Des biomarqueurs potentiels (expression tumorale des récepteurs bêta-adrénergiques et isotopes de la bêta-tubuline) seront également évalués.

NCT02732678 – C’est un essai de phase I/II qui vise à déterminer la dose de propranolol à utiliser en association avec du cyclophosphamide oral métronomique fixe chez des patients présentant un angiosarcome localement avancé ou métastatique . 3 doses seront testées : 80,120 et 160 mg/jour et la toxicité en association au cyclophosphamide sera évaluée 1 mois après traitement.

NCT01847001 – C'est une étude ouverte de phase I/II portant sur des patientes nouvellement diagnostiquées avec un cancer du sein et recevant une chimiothérapie néo-adjuvante. La dose initiale de propranolol est de 20 mg deux fois par jour, mais est augmentée à 40 mg puis à 80 mg deux fois par jour. Les résultats principaux sont l'observance du protocole instauré pour le propranolol pendant la chimiothérapie, les modifications de l'angiogenèse (évaluées à l'aide de la tomographie optique diffuse) et des modifications du niveau de stress psychologique. Les résultats secondaires comprennent les taux d'événements indésirables et les modifications de la prolifération tumorale (coloration au Ki67).

b) [Phase 2 :](#)

NCT01988831 – C'est un essai de phase II, contrôlé par placebo, randomisé, portant sur des patients atteints de mélanome primitif à haut risque. Les patients présentant un haut risque de récurrence de la maladie recevront du propranolol à une dose évaluée par un cardiologue, jusqu'à un maximum de 160 mg/jour. Le résultat principal est la survie sans progression sur cinq ans. Le recrutement de cet essai est actuellement suspendu pour des raisons financières.

NCT01857817 – C'est un essai de phase II randomisé, contrôlé placebo et constitué d'un groupe traité par propranolol et étodolac dans le cancer de la prostate. La combinaison de médicaments, à une dose spécifique de 22 mg de propranolol et de 340 mg d'étodolac deux fois par jour, est appelée VT-122 par le promoteur de l'essai, Vicus Therapeutics. Le critère principal d'évaluation est le changement de PSA (Prostate-Specific Antigen) à 12 semaines. Les critères secondaires comprennent le temps de doublement du PSA, la progression du PSA et le délai avant la progression des symptômes. L'essai est terminé mais les résultats n'ont pas encore été communiqués.

NCT02641314 – C'est un essai de phase II randomisé évaluant la chimiothérapie métronomique et le propranolol chez des enfants et des adolescents atteints de neuroblastome à haut risque récurrent ou progressif (METRO-NB2012). Le traitement consiste en huit cycles alternés de 28 jours de propranolol, célécoxib, cyclophosphamide oral, vinblastine en *injection i.v.* bimensuelle, étoposide par voie orale (PCCVE) et de propranolol, célécoxib, cyclophosphamide par voie orale, vinblastine en *injection i.v.* bimensuelle (PCCV) suivi de cinq cycles de PCCV pour un total de 13 cycles (traitement de 364 jours). La dose quotidienne de propranolol est de 0,5 mg/kg/jour, jusqu'à un maximum de 120 mg/jour, en deux doses fractionnées. Le principal objectif est de démontrer la non-infériorité de la survie sans événement (EFS) par rapport à un groupe témoin historique. Les résultats secondaires incluent le taux de contrôle de la maladie à 6 mois et la survie globale à 12 mois.

ACTRN12615000889550 – C'est une étude randomisée de phase II visant à évaluer l'effet du propranolol en péri-opératoire par rapport au placebo sur le profil d'expression génique de cellules issues de cancer du sein récemment diagnostiqué. Le groupe de traitement recevra 7 jours de propranolol en pré-opératoire (40 mg 2 fois par jour du jour 1 à 3, et 80 mg 2 fois par jour du jour 4 à 8). L'administration se fera une semaine avant la chirurgie, le jour de l'opération constituera la dernière administration. Le propranolol sera ensuite titré pendant les 2 jours suivant la dernière administration. Une investigation sera menée sur les cellules tumorales isolées le jour de la résection chirurgicale afin d'évaluer l'impact du traitement par propranolol sur l'expression de 20 000 gènes.

ACTRN12612000852853 – C'est un essai contrôlé randomisé de phase II portant sur l'utilisation du propranolol et de l'étodolac en péri-opératoires chez des patients atteints d'un cancer colorectal subissant une excision chirurgicale de la tumeur primitive. Le critère principal d'évaluation est une réduction du taux de récurrence à deux ans et des métastases à distance.

c) [Phase 3 :](#)

NCT00888797 – Il s'agit d'un essai de phase III randomisé et contrôlé par placebo portant sur l'administration de propranolol par voie orale et d'étodolac en péri-opératoire chez des patients atteints d'un cancer colorectal et ayant subi une résection. Les patients sous traitement reçoivent 800 mg d'étodolac par voie orale deux fois par jour pendant toute la durée de l'intervention, du propranolol 20 mg par jour durant les 5 jours pré-opératoires, 80 mg deux fois par jour le jour de l'opération, puis 40 mg deux fois par jour pendant la première semaine post-opératoire, et enfin 20 mg deux fois par jour pour la deuxième semaine post-opératoire. Le critère d'évaluation clinique principal est le taux de récurrence locale et à distance à trois ans.

EudraCT 2014-003671-30 – Cet essai ouvert de phase III chez des patients atteints du syndrome de Von Hippel-Lindau évaluera l'efficacité du propranolol, à la dose de 2 mg/kg, dans le contrôle de la croissance des hémangioblastomes rétiens papillaires et juxta-papillaires. Le critère d'évaluation principal est une réduction du nombre et de la taille des hémangioblastomes rétiens à 12 mois.

d) [Phase non référencée :](#)

NCT00502684 – C'est un essai randomisé, contrôlé par placebo, évaluant l'administration de propranolol et d'étodolac en péri-opératoires chez des femmes subissant une opération pour un cancer du sein. Les femmes du groupe de traitement recevront 40 mg de propranolol et 800 mg d'étodolac deux jours avant la chirurgie et jusqu'à trois jours après la

chirurgie. L'essai comporte un certain nombre de critères de jugement principaux biochimiques, notamment des biomarqueurs immunitaires et liés à l'angiogenèse (nombre et activité cytotoxique des cellules NK, taux de cellules T NK, lymphocytes, monocytes et granulocytes ; taux de cortisol et de VEGF). Le principal critère d'évaluation clinique est le taux de récurrence après cinq ans.

7) **Mécanisme d'action anti-cancéreux :**

a) **Effets sur la prolifération :**

L'investigation de l'influence de la signalisation des récepteurs bêta adrénergiques sur la prolifération cellulaire remonte à plus de 50 ans. En 1961, il a été reporté que des rats traités chroniquement avec l'isoproterenol, un agoniste bêta adrénergique, présentaient une croissance excessive des glandes salivaires due à une augmentation du taux mitotique²⁰⁷. Barka *et al.* ont confirmé que l'isoproterenol était capable d'augmenter le taux mitotique et de stimuler la synthèse d'ADN²⁰⁸. Une réduction de la prolifération a été constatée par une autre équipe après blocage de la voie bêta adrénergique par le propranolol sur un modèle de protozoaire cilié²⁰⁹. Il a maintenant été démontré que le propranolol est capable de diminuer l'augmentation de la prolifération des cellules cancéreuses associée aux catécholamines dans de nombreux types de cancer^{171,210,211,212}.

Dans une étude, l'efficacité du propranolol a été comparée à celle de l'atenolol, un antagoniste sélectif du récepteur β -1-adrénergique et à l'ICI118-551 un antagoniste sélectif du récepteurs β -2-adrénergique. Iseri *et al.* ont démontré que le propranolol et ICI118-551 étaient moins efficace en terme d'inhibition de la prolifération, de la migration et de l'invasion de cellules cancéreuses de sein (MCF7), de colon (HT29), et de foie (HepG2) que l'atenolol²¹³.

Barnabé *et al.* ont démontré que la prolifération de lignées cellulaires de carcinome squameux oral en réponse à une activation de la voie de signalisation β -2-adrénergique était médiée par une augmentation de l'IL-6. La neutralisation de l'IL-6 par un anticorps a conduit à une diminution du taux de prolifération. Le propranolol a été démontré comme étant un agent permettant de diminuer l'IL-6¹⁷⁶. Une diminution du taux d'IL-6 et de la croissance métastatique a également pu être démontrée dans un modèle murin de mélanome après traitement par propranolol²¹⁴.

b) **Effets sur la migration et l'invasion :**

Strell *et al.* ont montré que le propranolol est capable de diminuer l'activité migratoire induite par la norépinéphrine dans une large variété de lignées cellulaires de cancer du

sein^{145,146}. La dégradation de la matrice extracellulaire est un facteur clef de la progression tumorale et de la cascade métastatique avec des matrices métallo protéinases (MMP) jouant un rôle dans le processus du remodelage tissulaire^{215,216}. Sood *et al.* ont montré que MMP-2 et MMP-9 (marqueurs des propriétés d'invasion du cancer) étaient fortement exprimés sous traitement par norepinephrine, *in vitro*, dans des cellules de cancer ovarien (EG, SKOV3) sous traitement par norepinephrine. Ils ont par la suite démontré que le propranolol pouvait réduire le taux de croissance tumorale et l'infiltration dans un modèle de cancer ovarien *in vivo*¹⁵⁶. Une inhibition de l'augmentation de MMP-2 et MMP-9 par le propranolol a également été constatée dans le carcinome nasopharyngé¹⁷⁴, le cancer pancréatique^{217,166,167,168}, l'adénocarcinome gastrique¹⁸¹, le mélanome²¹⁸, le cancer de la prostate²¹⁹ et de MMP-9 dans le médulloblastome²²⁰ et l'hémangiome infantile^{221,222}.

Pon *et al.* ont décrit que le récepteur β -2-adrénergique pouvait activer une boucle de rétrocontrôle régulant le caractère invasif de la lignée de cancer du sein MDA-MB-231-HM connue pour son caractère hautement métastatique. Une variété d'agonistes des récepteurs β -2-adrénergique était à l'origine d'une augmentation dose dépendante de la signalisation dépendante d'AMPc et de Ca^{2+} ainsi que d'une diminution de la phosphorylation d'ERK. Cet effet était compétitivement inhibé par le propranolol ou un antagoniste du récepteur β -2-adrénergique ICI-118551. L'augmentation du caractère invasif de la lignée MDA-MB-231-HM impliquait un rétrocontrôle positif entre la concentration d'AMPc et de Ca^{2+} mais semblait être indépendante de l'effet sur la phosphorylation d'ERK et donc de l'inhibition de la voie des MAP kinases²²³.

Le remodelage tissulaire est une des étapes clefs dans le processus de transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) impliqué dans l'essaimage métastatique²²⁴. Shan *et al.* ont montré que, sous l'effet d'une signalisation β -2-adrénergique, les lignées cellulaires de cancer gastrique humain BGC-823 et SGC-7901 étaient soumises à des modifications morphologiques typiques de la TEM et un caractère invasif amplifié après traitement par norépinéphrine²²⁵. Zhang *et al.* ont démontré une association entre l'augmentation de la signalisation adrénergique et l'initiation de la TEM dans la lignée cellulaires de cancer colorectal HT-29 et de cancer du poumon A549²²⁶. De plus, ils ont pu identifier TGF- β 1 comme un médiateur de la TEM induite par la norepinephrine et que le propranolol inhibait l'augmentation de TGF- β 1 à une concentration de 10 μ M, ce qui avait pour effet de diminuer partiellement la migration et le caractère invasif des cellules traitées par norépinéphrine.

La formation d'invadopodes, des structures d'actine formées à la surface des cellules cancéreuses suspectées d'être actives sous l'effet de la sécrétion des MMP, participent à la dégradation de la matrice extra cellulaire et au processus de TEM²²⁷. Creed *et al.* ont pu démontrer que l'activation de la signalisation β 2-adrénergique par des agonistes adrénergiques augmentait le formation d'invadopodes dans des lignées cellulaires de cancers de sein humains et murins et que le propranolol pouvait reverser ce phénotype²²⁸.

L'adhésion cellule-cellule, un processus également impliqué dans le processus métastatique, fait intervenir la voie de signalisation adrénergique. Rap1B est une petite GTPase participant à ce processus. Il y a des preuves suggérant que la perte de Rap1B à la membrane plasmique diminue l'adhésion cellule-cellule et peut promouvoir un phénotype métastatique^{229,230}. La lignée MDA-MB-231 a montré une diminution de l'adhésion cellule-cellule en réponse au traitement par isoproterenol et une augmentation de la migration cellulaire et le propranolol était responsable d'un effet inverse²³⁰.

Le processus d'essaimage métastatique est également dépendant de la formation de « niche métastatique »^{231,232}. Campbell *et al.* ont montré dans un modèle de souris que la colonisation du compartiment stromal de la moelle osseuse par des cellules cancéreuses du sein MDA-MB-231 pouvait être induite par le stress ou le traitement exogène à base d'isoproterenol *via* la voie adrénergique. Cet effet passe par une augmentation de RANKL. Cette protéine joue le rôle médiateur physiologique essentiel de la différenciation et de la fonction des ostéoclastes, associé à une augmentation du nombre de lésions ostéolytiques en réponse à la signalisation adrénergique. Cet effet peut être inhibé par le propranolol ou un inhibiteur de RANKL à savoir le denosumab¹⁴⁹.

Le rôle du système lymphatique dans les métastases a suscité un large intérêt ces dernières années²³³. Le *et al.* ont montré que le stress chronique induisait un remodelage de la vasculature lymphatique, incluant une augmentation de la densité des vaisseaux et leur dilatation conduisant à une augmentation du drainage lymphatique²³⁴. Ces effets étaient médiés par la voie bêta adrénergique et pouvaient être bloqués par le traitement à l'isoproterenol ou au propranolol chez des souris BALB/c injectées avec des cellules cancéreuses de sein MDA-MB-231. Le remodelage induit par le stress était médié par la production de VEGF-C qui était induit par COX-2/PGE₂. Ses effets sur le système lymphatique ont conduit à l'étude du repositionnement du propranolol dans le traitement du lymphangiome congénital²³⁵. L'étude a été menée sur 6 patients. Parmi eux, 2 patients ont répondu et présentaient une amélioration

symptomatique évidente avec un rétrécissement supérieur à 10% et inférieur à 50% de leur volume tumoral.

c) Effets sur l'apoptose :

Zhang *et al.* ont montré que le propranolol utilisé à une concentration de 100 μM pouvait limiter l'expansion de lignées cancéreuses pancréatiques PC-2 *via* une induction de l'apoptose¹⁶⁶. L'action pro-apoptotique du propranolol semblerait liée au blocage du récepteur β_2 -adrénergique plutôt qu'au blocage du récepteur β_1 si l'on s'en tient à l'augmentation du taux de cellules apoptotiques détectées en présence d'un antagoniste des récepteurs β_2 (butoxamine) ou β_1 (metoprolol).

Chin *et al.* ont également reporté que le propranolol pouvait entraîner un arrêt du cycle cellulaire en phase G1 et le déclenchement de l'apoptose dans des lignées cellulaires de cancer colorectal¹⁷².

Liao *et al.* ont mis en évidence qu'une concentration de 200 μM de propranolol induit un arrêt du cycle cellulaire et l'activation de l'apoptose dans les lignées cellulaires de carcinome gastrique. L'apoptose était associée avec une diminution des niveaux d'expression de NF- κB , VEGF, COX-2, MMP-2 et MMP-9¹⁸¹.

L'activité pro-apoptotique du propranolol a été étudiée par Wolter *et al.* sur des modèles de lignées cellulaires de cancer de la tête et du cou présentant des statuts p53 différents¹⁷⁷. Le traitement par propranolol a été démontré comme inducteur de l'apoptose quel que soit le statut de p53 et a entraîné la diminution de l'activité de p63 et p73 (des protéines de la famille p53), du niveau d'expression de ΔNp63a (un facteur anti-apoptotique), et une induction du facteur pro-apoptotique (Tap73b) dans les lignées cellulaires SCC9 et SCC17a. Les auteurs de cette étude ont également étudié l'effet pro-apoptotique du propranolol sur des lignées cellulaires de neuroblastome et ont décrit l'augmentation de l'expression de p53 et p73¹⁶³.

Les résultats de ces différentes études ont démontré une activité apoptotique du propranolol dans des concentrations égales ou supérieures à 100 μM . Aussi il apparaît peu probable que le mécanisme d'action régissant l'activité anti cancéreuse du propranolol *in vivo* soit dépendant des voies apoptotiques car ces concentrations ne sont pas atteignables chez l'homme.

d) Effets sur l'angiogenèse :

La relation entre la signalisation adrénérgique et l'angiogenèse a été établie dans les années 90. Il a pu être démontré que la signalisation adrénérgique induite par la norépinephrine augmente le niveau d'expression du VEGF dans le tissu adipeux brun^{236,237}.

Lugtendorf *et al.* ont mis en évidence que les agonistes β -adrénérgiques augmentaient la production du VEGF dans deux lignées cellulaires de cancer ovarien (EC et SKOV3) et que le propranolol bloque cette augmentation dès la concentration de 1 μ M¹⁵⁵. Ces données suggèrent un lien entre le stress et une croissance tumorale accrue *via* une augmentation de l'angiogenèse. Le travail réalisé *in vivo* sur un modèle murin de cancer de l'ovaire a montré que le stress chronique était associé à une augmentation de la croissance tumorale, de la vascularisation et une expression augmentée de VEGF, MMP-2 et MMP-9 au sein de la tumeur. L'activation bêta adrénérgique de la voie de signalisation PKA-AMPC a été identifiée comme le mécanisme majoritaire par lequel le stress chronique augmentait l'angiogenèse tumorale¹⁴³. Dans un travail complémentaire, les auteurs ont montré que le stress chirurgical induit une augmentation de la signalisation adrénérgique dans un modèle murin de cancer ovarien et que ceci était associé avec une augmentation de la croissance et de l'angiogenèse tumorale. Le propranolol a été montré comme capable d'inhiber l'augmentation de l'expression du VEGF induite par le stress chirurgical et par conséquent de diminuer l'angiogenèse et la croissance tumorale²³⁸.

Un effet anti-angiogénique du propranolol passant par une diminution du VEGF a été reporté dans une variété de lignées cellulaires de cancers incluant le carcinome nasopharyngé¹⁷⁴, le mélanome²³⁹, le cancer du pancréas²¹⁷, la leucémie¹⁴⁰, le carcinome de la tête et du cou²⁴⁰ et les hémangiomes infantiles^{241,242}. Notre équipe de recherche a par ailleurs montré que la combinaison des bêta-bloquants, incluant le propranolol, avec la vincristine était associée à une augmentation de la survie et une inhibition de l'angiogenèse tumorale dans un modèle murin de neuroblastome¹⁶¹.

D'autres mécanismes pourraient également jouer un rôle dans les effets anti-angiogéniques du propranolol. Annabi *et al.* ont étudié l'activité du propranolol dans des échantillons de patients atteints de glioblastome²⁴³. Il a pu être reporté que le propranolol diminuait l'expression de MMP-9 ainsi que la formation d'un réseau tubulaire par les cellules endothéliales microvasculaires de cerveaux humains et qu'il pouvait donc potentiellement réduire l'angiogenèse tumorale.

Park *et al.* ont montré que l'expression du facteur 1α inductible par l'hypoxie (HIF- 1α) était augmentée par la norepinephrine, *via* la voie AMPc/PKA/Akt/p70S6 et que cela pouvait jouer un rôle clef dans le processus angiogénique²⁴⁴. Dans cette étude, l'extinction génique de HIF- 1α a inhibé l'expression du VEGF induite par la norepinephrine et la formation de tubes capillaires. Un pré-traitement par le propranolol était capable d'abroger l'effet de la signalisation adrénergique sur HIF- 1α , le VEGF et l'angiogenèse. Des résultats similaires utilisant un antagoniste β 2-adrénergique (ICI118551) ont été obtenus *in vivo* dans un modèle murin de cancer du pancréas²⁴⁵.

De leur côté, Liao *et al.* ont montré que le propranolol était capable de diminuer le niveau d'expression de COX-2. La COX2 est une enzyme appartenant à la voie COX-2/prostaglandine E2 (PGE₂) connue pour être impliquée dans l'angiogenèse associée au cancer^{245,246}. Ces effets sont en partie dus à l'activation de la voie NF- κ B¹⁸¹. Ces résultats apparaissent d'autant plus intéressants à la lumière des études cliniques associant le propranolol et l'etodolac, un inhibiteur de COX-2, dans le contexte peri-operatif.

Cicarelli *et al.* ont montré que la délétion des récepteurs β 2-adrénergiques rendait l'angiogenèse non fonctionnelle dans un modèle murin, et que l'isoproterenol induisait une dégradation d'I κ B α et augmentait l'activité transcriptionnelle de NF- κ B de façon temps dépendante²⁴⁷.

e) Effet sensibilisateur au traitement :

Il a été démontré que le propranolol a le potentiel de rendre sensibles des lignées cellulaires devenues résistantes à des agents de chimiothérapie, incluant la lignée murine de leucémie qui est normalement résistante à la doxorubicine¹³⁵ et la lignée leucémique CEM qui est multirésistante²⁴⁸. Ces résultats semblent cependant lignée cellulaire dépendant et médicaments spécifiques, avec par exemple, un petit impact du propranolol sur la sensibilité au cisplatine de lignées de cancer du poumon non à petite cellules²⁴⁹.

Liao *et al.* ont montré qu'un pré-traitement de 24h à 50 μ M des lignées d'adénocarcinomes gastriques (BGC-823 et SGC-7901) par propranolol augmentait les effets de la radiothérapie sur la viabilité cellulaire *in vitro*¹⁸². De manière similaire, Wolter *et al.* ont évalué l'impact du propranolol sur des lignées de cancer du poumon non à petite cellules et ont montré qu'il augmentait l'efficacité des radiations en plus d'augmenter l'efficacité du cisplatine par un effet synergique¹⁷⁷. Le propranolol a également été testé en association à la

chimiothérapie et la radiothérapie dans deux études ayant évalué son utilisation dans l'angiosarcome^{196,250}.

Le mécanisme permettant d'expliquer cet effet radio-sensibilisateur pourrait être lié à la voie NF- κ B/COX2/PGE₂ que plusieurs investigateurs ont proposé^{153,167,182}. Des données publiées suggèrent que l'activation de COX-2 pourrait augmenter la résistance aux radiations dans des lignées cellulaires de cancer^{251,252,253}. Ainsi le propranolol pourrait exercer son effet radio-sensibilisateur de par son action sur COX-2.

Notre équipe de recherche a étudié la synergie existante entre le propranolol et le paclitaxel ou le 5-FU *in vitro* et *in vivo*¹⁴⁷. L'interaction entre ces drogues pouvait être synergique, additive ou antagoniste selon l'association testée, la dose et la lignée cellulaire *in vitro*. De plus, l'association du paclitaxel et du 5-FU au propranolol améliorait la médiane de survie dans un modèle murin orthotopique de cancer du sein. La médiane de survie était de 125 jours pour l'association propranolol-paclitaxel contre 70 pour le paclitaxel seul et 56 jours pour la combinaison propranolol-5-FU contre 47 pour le 5-FU seul. Cette efficacité semblait être imputable à une augmentation de l'effet anti-angiogénique des chimiothérapies par l'administration de propranolol. Les mêmes auteurs ont publié des résultats montrant une synergie entre le propranolol et la vincristine dans un modèle murin de neuroblastome¹⁶¹ et le propranolol et la vinblastine dans un modèle d'angiosarcome¹⁶⁰. Dans ces deux modèles, le propranolol interagissait de manière synergique spécifiquement avec les *vinca* alcaloïdes.

Il existe d'autres exemples de ce type de sensibilisation par le propranolol tels que l'augmentation de l'effet de la rapamycine sur les cellules de cancer de la prostate humaine²⁵⁴, le rétablissement de la sensibilité au trastuzumab dans le cancer du sein HER2 résistant¹⁴⁸, l'augmentation de l'effet du vemurafenib des cellules cancéreuses de thyroïde¹⁸⁷, ou encore la restauration de l'activité du sunitinib dans des modèles *in vitro* et *in vivo* de cancer colorectal devenus résistants à cause du stress chronique²⁵⁵.

f) Effets sur le système immunitaire :

Un certain nombre de mécanismes d'action liés au système immunitaire a également été décrit comme participant aux effets anticancéreux du propranolol. Ces effets sont principalement liés à l'impact de la signalisation du système nerveux sympathique (SNS) sur différentes populations de cellules immunitaires, le microenvironnement tumoral et, dans certains cas, directement les cellules cancéreuses. Un aspect important de cette relation complexe est le lien entre le stress psychologique et la réponse immunitaire, une préoccupation

majeure dans le domaine de la psycho-neuro-immunologie et de plus en plus important dans le contexte du cancer²⁵⁶.

Teshima *et al.* ont montré que dans les souris C3H/H et AKR, le propranolol à la dose de 5 mg/kg était capable de promouvoir l'activité phagocytaire. Ils ont pu notamment mettre en évidence que le propranolol permettait de diminuer l'activité inhibitrice exercée par le stress sur la phagocytose²⁵⁷.

Shakhar, Ben-Eliyahu *et al.* ont relevé que l'agoniste bêta adrénergique metaproterenol induisait une augmentation transitoire et dose dépendante du nombre de cellules NK dans les 10 minutes suivant l'administration chez des rats F344¹⁴¹. L'activité des cellules NK était diminuée par le metaproterenol mais ce phénomène pouvait être inhibé par l'administration de propranolol (à une dose comprise entre 0,1 et 0,5 mg/kg) ou de nadolol. D'autres expérimentations ont permis d'identifier que le nadolol et le propranolol, réduisaient le nombre de cellules cancéreuses de cancer du sein MADB106 sensibles aux cellules NK retenues dans les poumons et le nombre de métastases pulmonaires.

Benish *et al.* ont par la suite montré qu'une intervention chirurgicale (laparotomie) avant l'inoculation avec des cellules MADB106 chez des rats F344 était significativement, associée à une augmentation de la prise de greffe de cellules tumorales dans le poumon¹⁴². Cette augmentation de la prise de greffe de cellules tumorales a été atténuée par un traitement pré-chirurgical par des inhibiteurs de la COX-2 (indométhacine, étodolac et célécoxib). Le propranolol en administration pré-opératoire, à une dose de 1,5 mg/kg et de 4,5 mg/kg, a également réduit de manière significative le taux de rétention de cellules tumorales dans le poumon par rapport aux témoins non traités. Le traitement combiné d'étodolac (12,5 mg/kg) et de propranolol (1,5 mg/kg) s'est avéré plus efficace qu'un seul traitement et a complètement inhibé l'effet de la chirurgie. Notamment, le traitement combiné a inversé la réduction du nombre de cellules NK et de la cytotoxicité par cellule induite par la chirurgie. Ces effets néfastes sur les cellules NK se sont révélés plus tard associés à une réduction de l'expression de FasL et de CD11a après la chirurgie et au fait que le traitement combiné étodolac-propranolol contrecarrait ces effets¹⁵³.

Kalinichenko *et al.* ont étudié l'effet de la noradrénaline sur les lymphocytes T cytotoxiques en utilisant un modèle de plasmocytome MOPC-315 chez des souris BALB/c²⁵⁸. Les résultats ont montré que la noradrénaline inhibait la génération de lymphocytes T cytotoxiques *via* une réduction de l'expression de TNF- α dans les lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ et les macrophages activés F4/80⁺. L'utilisation *ex vivo* de propranolol, à une concentration de

1 μ M, a complètement inversé les effets de la noradrénaline sur le TNF- α et la génération de lymphocytes T cytotoxiques. Sloan *et al.* ont également identifié les macrophages CD11b⁺ F4/80⁺ sensibles au stress comme étant impliqués dans le processus métastatique dans le même modèle murin¹⁴⁴.

Wu *et al.* ont montré que le stress induit par l'isolement social chez des souris BALB/c injectées avec des cellules de carcinome du colon 26-L5 augmentait le taux de métastases hépatiques par rapport aux témoins non stressés²⁵⁹. Ceci était associé à une réduction du poids du thymus, à du nombre de thymocytes et à une réduction de l'activité cytolytique des cellules NK. Des recherches ultérieures ont permis de reproduire ces résultats dans d'autres modèles de souris et ont également montré qu'une surpopulation des cages induisait une atrophie thymique similaire à celle liée au stress¹⁵⁰. Il a été démontré par la suite que l'administration de propranolol à la dose de 30 mg/kg, ralentissait le taux de croissance tumorale du groupe surpeuplé et le rendait même inférieur à celui des témoins non stressés.

Les études sur les effets du stress sur le système immunitaire ont permis de révéler les propriétés immuno-modulatrices du propranolol. Ainsi, des études sur des modèles not tumoraux ont pu être menées.

Kanemi *et al.* ont montré que le stress induit par la contrainte physique chez les souris C57BL/6 entraînait une augmentation significative des taux d'épinéphrine, qui revenaient aux valeurs de base en moins d'une heure²⁶⁰. Le nombre de lymphocytes dans le sang et les poumons ont été réduits ($p < 0,001$) par la contrainte physique, mais ils sont revenus à la ligne de base dans les quatre heures suivant l'arrêt de la contrainte physique. Le nombre de cellules NK dans les poumons a également été réduit par le stress induit par la contrainte physique, de même que tous les autres sous-ensembles de lymphocytes évalués (CD8⁺, CD4⁺, cellules B et NKT). Il a été démontré que le propranolol, à une dose de 20 mg/kg, administrée avant la contrainte physique, inversait la réduction du nombre de cellules NK par rapport aux témoins non traités, mais n'avait aucun effet sur les autres sous-ensembles de lymphocytes dans les poumons.

Tarr *et al.* ont quant à eux montré que la répétition du stress de perturbation sociale (induit par l'introduction répétée de souris agressives dans des cages de souris non agressives), augmentait le nombre de cellules NK spléniques, l'activité cytotoxique des NK et l'expression de marqueurs d'activation, à la fois immédiatement et 14 h après induction du stress²⁶¹. L'administration de propranolol (10 mg/kg) a réduit l'augmentation de ces cellules NK à 14 h. Les auteurs proposent pour ces résultats, que l'augmentation de ces cellules à 14 h a lieu afin de préparer l'hôte à une agression pathogène lors d'épisodes stressants de «combat ou fuite».

Cependant la complexité des multiples compartiments immunitaires, ainsi que la diversité des lignées de cellules NK *in vivo* rendent difficile l'interprétation de ces résultats²⁶².

Les catécholamines sont également connues pour avoir un impact sur la réponse immunitaire en entraînant la baisse de la production d'interféron gamma (IFN- γ)²⁶³. Khalili *et al.* ont montré que le propranolol et un vaccin constitué de lysat tumoral riche en HSP-70 agissaient en synergie pour augmenter la production d'IFN- γ dans un modèle murin de fibrosarcome²⁶⁴. Les animaux traités présentaient des taux de croissance tumorale plus faibles et un niveau d'activité de lymphocytes T cytotoxiques plus élevé. Les lymphocytes sont également connus pour sécréter des catécholamines, avec des conséquences potentielles en aval sur l'immunité. Huang *et al.* ont par exemple étudié l'effet des catécholamines dérivées de lymphocytes sur la différenciation et la fonction des cellules T auxiliaires (Th) et suggéré qu'elles déplaçaient la balance Th1/Th2 dans le sens d'une différenciation accrue vers la population Th2^{265,266}. Ces données sont en accord avec une étude antérieure de Panina-Bordignon *et al.* qui avaient déjà suggéré que la signalisation β 2-adrénergique inhibait la production d'IL-12, favorisant ainsi la différenciation Th2 et inhibant le développement Th1 associé à l'immunité antitumorale²⁶⁷. Il serait donc pertinent d'étudier l'effet du propranolol sur l'immunité antitumorale car celui-ci pourrait, théoriquement, restaurer une réponse anti tumorale de type Th1.

Les cellules suppressives dérivées des cellules myéloïdes (MDSC) sont impliquées dans l'inhibition de la réponse immunitaire anticancéreuse et sont considérées comme un marqueur pronostique négatif dans certains cancers^{268,269}. Jin *et al.* ont utilisé des souris BALB/c pour montrer que le stress chronique induisait un état immunosuppresseur associé à une accumulation de MSDC dans la moelle osseuse²⁷⁰. Conformément à des études antérieures publiées par d'autres groupes²⁷¹, l'axe COX-2/PGE₂ jouerait un rôle central dans cette accumulation. En outre, il a été démontré que des catécholamines liées au stress étaient également impliquées et que le propranolol (10 mg/kg) inversait partiellement l'accumulation de MDSC.

Enfin, les cellules T régulatrices (T-reg) constituent une autre population de cellules immunitaires associée à un dysfonctionnement de la réponse immunitaire anticancéreuse. Zhou *et al.* ont étudié l'impact du propranolol et du parécoxib, un inhibiteur de la COX-2, sur le nombre de T-reg chez des patientes atteintes d'un cancer du sein subissant une mastectomie radicale²⁷². Les patients ont été assignés aux groupes contrôle, propranolol, parécoxib et propranolol + parécoxib. Les résultats ont montré que la chirurgie était associée à une

augmentation des taux d'épinéphrine, de norépinéphrine, de PGE2 et de T-reg. Le traitement avec propranolol ou propranolol + parécoxib atténuait l'augmentation du nombre de T-reg bien qu'il n'y ait pas d'effet additif ou synergique du parécoxib par rapport au propranolol seul. L'analyse *ex vivo* a montré que le propranolol réduisait également l'effet immunosuppresseur des cellules T-reg par rapport aux témoins. Les effets pléiotropiques des catecholamines sur le système immunitaire pourraient expliquer en partie les propriétés anti-cancéreuses de bêta-bloquants en général, et du propranolol en particulier.

g) Autres mécanismes d'action proposés :

Plusieurs autres mécanismes moléculaires et cellulaires pourraient jouer un rôle dans l'activité anti-tumorale du propranolol. Ceux-ci impliquent des récepteurs à facteur de croissance comme l'EGFR, les médiateurs de l'inflammation comme la PGE₂, le métabolisme cellulaire ou encore les cellules plaquettaires.

La signalisation par le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) joue un rôle central dans de nombreux types de cancer et constitue une cible thérapeutique majeure²⁷³. La perturbation du trafic endocytaire est impliquée dans le processus par lequel les tumeurs acquièrent une autosuffisance en signaux de croissance en retardant l'inactivation de plusieurs récepteurs de facteurs de croissance, dont l'EGFR^{274,275}. Shaughnessy *et al.* ont suggéré qu'une stratégie d'inhibition de l'activité de l'EGFR pourrait être d'interférer directement avec le processus endocytaire plutôt que de cibler directement la liaison récepteur-ligand ou l'activité tyrosine kinase²⁷⁶. Il a été démontré que l'inhibition de la phosphatidase de l'acide phosphatidique (PAP) provoquait un trafic réversible d'EGFR inactif de la surface cellulaire aux endosomes, limitant ainsi la disponibilité des récepteurs pour les ligands²⁷⁷. Le propranolol est un inhibiteur connu de la PAP²⁷⁸ et il a été démontré que cela réduisait la viabilité cellulaire des lignées de cellules cancéreuses dépendantes de l'EGFR²⁷⁶.

Kang *et al.* ont étudié l'impact du propranolol sur l'absorption du glucose dans les lignées cellulaires du cancer du sein (4T1, MDA-MB-231 et MCF-7)²⁷⁹. Une analyse *in vitro* a montré que si l'expression du transporteur de glucose-1 (GLUT-1) n'était pas affectée significativement dans toutes les lignées cellulaires par le propranolol, l'expression de l'hexokinase-2 (HK-2) était diminuée après traitement par le propranolol à une concentration de 50 µM. Des résultats *in vivo* utilisant la lignée de cancer du sein de souris 4T1 ont montré que les tumeurs étaient également sensibles au propranolol à une dose de 10 mg/kg, ce qui était associé à une réduction de l'expression de HK-2. Le propranolol pourrait donc avoir un impact métabolique sur la croissance tumorale.

La PGE₂ est une molécule inflammatoire clé ayant de multiples effets sur le cancer, notamment des effets sur l'immunité, l'angiogenèse, la prolifération et l'apoptose²⁸⁰. Ces divers effets sont également impliqués dans certains des mécanismes d'action du propranolol. Nagaraja *et al.* ont cherché à étudier plus en détails la relation entre la signalisation bêta-adrénergique et la PGE₂ à l'aide de cellules de cancer primitif de l'ovaire provenant de patientes²⁸¹. Les échantillons de tumeurs de patients déprimés ont montré des niveaux significativement plus élevés de PGE₂ et de PGF₂ α , et les échantillons de tumeurs de souris greffées avec des cellules de tumeurs ovariennes Skov3-ip1 ont également montré des niveaux élevés de PGE₂. L'analyse des lignées cellulaires Skov3-ip1 et HeyA8 a montré que le traitement par noradrénaline augmentait la sécrétion de PGE₂ à partir de cellules tumorales. En outre, il a également été démontré que le propranolol inhibait la sécrétion de PGE₂ induite par la noradrénaline dans les cellules de cancer ovarien Skov3 et HeyA8 *in vitro*.

Les plaquettes jouent un rôle complexe dans la progression tumorale et les métastases *via* la libération de facteurs pro-angiogéniques, une implication dans la défaillance de l'immunité anti-tumorale en masquant les cellules cancéreuses des cellules NK et, un rôle dans la niche métastatique²⁸². Les effets anticancéreux de l'aspirine pourraient être liés à ses effets anti-plaquettaire *via* l'inhibition irréversible de COX-1²⁸³. Il existe également des preuves que d'autres agents antiplaquettaire, tels que les héparines de bas poids moléculaire et le dipyridamole, pourraient avoir une activité anticancéreuse ou antimétastatique^{284,285,286}. Les antagonistes des récepteurs bêta-adrénergiques ont également des effets sur l'agrégation plaquettaire. Une méta-analyse publiée en 2014 a montré qu'ils réduisaient l'agrégation plaquettaire de 13%²⁸⁷. En particulier, les bêta-bloquants lipophiles non sélectifs (y compris le propranolol) diminuent l'agrégation plaquettaire d'avantage que les bêta-bloquants sélectifs non lipophiles. Un essai croisé randomisé sur l'hypertension essentielle modérée comparant le propranolol (40 mg trois fois par jour) à l'aténolol (100 mg / jour) a confirmé que le nombre d'agrégats de plaquettes en circulation diminuait significativement avec le propranolol par rapport à l'aténolol et la ligne de base²⁸⁸.

Enfin, il est important de retenir que la signalisation bêta-adrénergique se situe à l'intersection des états psychologiques et de la physiologie. Comme mentionné précédemment, il a été démontré que le stress résultant d'interactions sociales pouvait avoir des effets négatifs sur la prolifération, l'invasion, les métastases et l'immunité anticancéreuse. Cependant, il convient de noter que toutes les formes de stress social ne sont pas nécessairement négatives. La psychologie clinique distingue le stress positif du stress négatif avec des corrélats

physiologiques différents²⁸⁹. Cao *et al.* ont montré qu'un modèle murin de stress positif (ex : vie dans un environnement enrichi), était associé à une réduction du taux de croissance du mélanome B16 par rapport à la vie dans un environnement témoin²⁹⁰. Cette réduction du taux de croissance tumorale était associée à une régulation négative du facteur neurotrophique dérivé du cerveau hypothalamique et à une production accrue de leptine dans les adipocytes *via* une signalisation bêta-adrénergique. L'administration de propranolol, à une dose de 0,5 g/l dans de l'eau de boisson, inhibait l'effet protecteur de l'environnement enrichi.

8) Résumé des preuves in vitro, in vivo, et cliniques justifiant le repositionnement du propranolol :

Type de cancer	In vitro	In vivo	Cas / essai clinique
Angiosarcome	Stiles JM et al (2013)	Stiles JM et al (2013)	Pasquier E et al (2016) Banavali S, Pasquier E and Andre N (2015) Chow W et al (2015) NCT02732678
Sein		Shakhar G and Ben-Eliyahu S (1998) Benish M et al (2008) Goldfarb Y et al (2011) Sloan EK et al (2010) Lang K et al (2004) Strell C et al (2012) Pasquier E et al (2011) Campbell JP et al (2012)	Barron TI et al (2011) NCT01847001 NCT02596867 NCT00502684 ACTRN12615000889550
Colorectal	Masur K et al (2001) Coelho M et al (2015) Chin C-C et al (2016)	Lin Q et al (2013)	NCT00888797 ACTRN12612000852853
Gastrique	Liao X et al (2010) Liao X et al (2010)		
Glioblastome			Bhattacharyya GS et al (2014) Shahid T et al (2015)
Hépatocarcinome cellulaire			de la Torre AN et al (2015) NCT01265576
Leucémie	Hajjighasemi F and Mirshaftey A (2009) Annabi B et al (2009)	Lamkin DM et al (2012)	
Melanome	Dal Monte M et al (2013) Wrobel LJ and Le Gal FA (2014)	Hasegawa H and Saiki I (2002) Glasner A et al (2010)	NCT01988831
Myélorome multiple	Kozanoglu I et al (2013)		
Nasopharyngé	Yang EV et al (2006)		

Neuroblastome	Pasquier E et al(2013) Wolter JK et al (2014)	Xu T et al (2013) Wolter JK et al (2014)	NCT02641314 NCT02897986
Cancer du poumon non à petites cellules	Al-Wadei HA, Al-Wadei MH and Schuller HM (2012)		
Carcinome cellulaire squameux oral	Bernabé DG et al (2011) Wolter NE et al (2012) Lutgendorf SK et al (2003)	Sood AK et al (2006) Lee J et al (2009)	NCT01504126
Ovarien			
Pancréatique	Guo K et al (2009) Zhang D et al (2009) Zhang D et al (2010)	Kim-Fuchs C et al (2014) Partecke LI et al (2016)	Bhattacharyya GS et al (2015)
Prostate	Palm D et al (2006)		NCT01857817

Un grand nombre de données provenant d'études *in vitro*, chez l'animal et chez l'homme, indiquent qu'il existe de nombreux effets anticancéreux cliniquement pertinents associés au propranolol. Ces données ont été résumées et présentées pour démontrer que le propranolol est un très bon candidat pour sa réutilisation en tant qu'agent anticancéreux. En particulier, le potentiel d'interactions synergiques avec d'autres médicaments a été souligné, notamment les inhibiteurs de COX-2 / PGE2 réutilisés et une gamme de produits de chimiothérapie à la fois aux doses métronomique et standard. Les propriétés anti-métastatiques du propranolol peuvent être particulièrement intéressantes à exploiter lors d'une intervention chirurgicale.

B) Le mebendazole :

Le mebendazole est un médicament anti-helminthique bien connu et largement utilisé en clinique. Il possède des propriétés anticancéreuses qui ont été élucidées dans le cadre d'un ensemble d'études précliniques et cliniques portant sur différents types de cancer. Des théories suggèrent que le mebendazole pourrait agir en synergie avec une gamme d'autres médicaments, y compris les produits de chimiothérapie conventionnelle, et qu'il soit justifié d'explorer son potentiel en tant que traitement anticancéreux.

Le mébendazole (MBZ) est un benzimidazole à large spectre, un antihelminthique du même groupe que l'albendazole, le flubendazole, l'oxfendazole. Il est généralement prescrit pour traiter une gamme d'infections parasitaires dues aux némathelminthes tels que l'oxyure, les ténias, les vers ronds et d'autres infections à nématodes et à trématodes contractées chez l'homme et les animaux domestiques. Le MBZ est disponible sous forme de médicament générique. Les formes commerciales de ce médicament sont plus connues sous le nom de Vermox (laboratoire Janssen Pharmaceutica) et Ovex (laboratoire McNeil Products Ltd) en Europe et aux États-Unis. Il est généralement disponible en vente libre dans les pays européens, mais le dernier fabricant américain, Teva Pharmaceuticals, a cessé sa production à la fin de 2011, bien que le médicament reste approuvé par la US Food and Drug Administration (FDA). Il est disponible aux États-Unis dans les pharmacies de préparation de médicaments, par exemple, Pavillion Compounding Pharmacy à Atlanta.

1) Posologie :

Chez l'homme, la formulation la plus courante de MBZ est constituée de comprimé à croquer de 100 mg. La posologie varie en fonction du type d'infection helminthique à traiter. Les oxyures sont traités avec un traitement unique de 100 mg, tandis que les ascaris ou les ankylostomes sont traités avec 100 mg deux fois par jour pendant trois jours. Le MBZ et l'albendazole, sont également utilisés à long terme pour le traitement de l'échinococcose humaine kystique et alvéolaire (également appelée kyste hydatique). Selon les directives publiées par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), un traitement à long terme de l'échinococcose cystique par MBZ se réalise à une dose de 40 à 50 mg/kg/jour pendant 3 à 6 mois. Pour l'échinococcose alvéolaire, la dose est de 40 à 50 mg/kg/jour, avec un traitement durant au moins deux ans et éventuellement plus longtemps chez les patients présentant une maladie inopérable. Il existe enfin des cas documentés de périodes de traitement de dix ans ou plus pour le traitement de l'échinococcose^{291,292}.

2) Toxicité :

Le MBZ a une faible toxicité, bien que les patients puissent souffrir de symptômes transitoires, tels que douleurs abdominales et diarrhée en cas d'infection massive et d'excrétion de parasites. Des réactions d'hypersensibilité, telles que des éruptions cutanées, un urticaire ou un œdème de Quincke, ont été observées à de rares occasions. Le MBZ est contre-indiqué pendant la grossesse. La prudence est également recommandée chez les nourrissons de moins de 2 ans, principalement en raison du manque de données dans de tels cas.

Dans le cas de l'administration à long terme de MBZ pour l'échinococcose, il est évident que le médicament est généralement bien toléré, mais que le traitement spécifique de certains patients doit être interrompu. Par exemple, dans une étude d'observation ouverte, les patients traités par MBZ pour l'échinococcose alvéolaire (en moyenne pour une durée de 24 mois) ont présenté peu d'effets indésirables et chez seulement trois patients (sur 17), le traitement a été substitué par l'administration d'albendazole en raison de ses effets indésirables (alopécie réversible, troubles psychologiques et baisse de la performance)²⁹³.

3) Pharmacocinétique :

Après administration, le MBZ subit un métabolisme de premier passage qui est responsable d'une biodisponibilité de 20% pour la forme orale. La concentration plasmatique maximale est atteinte 2 à 4 heures après l'administration. La prise d'un repas riche en graisses augmente modérément la biodisponibilité²⁹⁴. L'administration chronique de MBZ augmente la concentration plasmatique d'un facteur deux à trois par rapport à une dose unique²⁹⁵. Dans une série de patients traités par MBZ chronique à une dose de 40 mg/kg/jour pour le traitement d'un kyste hydatique, la concentration plasmatique maximale moyenne était de 137,4 ng/ml (0,47 µM) après une dose unique de 10 mg/kg. Cependant, la variabilité inter patients était élevée (99,4 à 500 ng/ml soit 0,34 à 1,69 µM). Pour les patients qui n'étaient pas sous traitement chronique, un traitement initial de MBZ à la même dose a produit une concentration plasmatique maximale moyenne de 69,5 ng/ml (0,24 µM), (17,5 à 116,2 ng/ml soit 0,06 à 0,39 µM)²⁹⁵.

La faible biodisponibilité est reconnue depuis longtemps et des stratégies visant à l'améliorer restent activement recherchées. Elles incluent des formulations alternatives à base d'huiles végétales^{296,297,298}, une modification de la structure cristalline de MBZ et des recherches sur la PEGylation²⁹⁹. L'albendazole et le MBZ interagissent avec la cimétidine, qui inhibe le métabolisme et augmente les taux plasmatiques de MBZ (concentrations sériques maximales augmentées de $55,7 \pm 30,2$ ng/ml ($0,19 \pm 0,10$ µM) à $82,3 \pm 41,8$ ng/ml ($0,28 \pm 0,14$

μM)), sur l'administration d'une dose de 1,5 g de MBZ après administration chronique de cimétidine à 400 mg trois fois par jour pendant 30 jours)³⁰⁰. Il peut s'agir d'une interaction importante et pertinente cliniquement car elle suggère une stratégie permettant d'augmenter la biodisponibilité si cela était nécessaire pour maximiser l'effet anti-tumoral. Étant donné que la cimétidine peut également avoir une certaine activité anticancéreuse³⁰¹, cela suggère qu'une synergie soit possible avec MBZ au-delà de l'effet sur la biodisponibilité et serait ainsi une piste intéressante à explorer.

Le mébendazole se lie aux protéines plasmatiques à un taux de 90 à 95 %. Le volume de distribution est de 1 à 2 litres/kg, ce qui indique que le mébendazole pénètre les régions extérieures à l'espace intravasculaire. Il est notamment capable de franchir la barrière hémato-encéphalique³⁰².

Une variabilité intra- et inter-patient élevée peut être un facteur important dans l'évaluation de la réponse à MBZ en tant que potentiel traitement anticancéreux. Cependant, il est clair que les taux plasmatiques atteints par les schémas posologiques chroniques et à fortes doses se situent dans la plage nécessaire à l'activité clinique.

4) Données anti cancéreuses précliniques (in vitro et in vivo) :

En 2002, Mukhopadhyay *et al.* ont montré que le MBZ induisait une réponse apoptotique dépendante de la dose et du temps dans diverses lignées de cellules de cancer du poumon^{303,304}, avec une IC_{50} d'environ 160 nM. Les cellules étaient arrêtées en phase G2-M du cycle cellulaire avant d'entrer en apoptose. De manière tout aussi importante, le MBZ n'a eu aucun effet sur les cellules endothéliales normales (HUVEC) ou les fibroblastes WI38, même à une concentration de 1 μM . Les résultats *in vitro* ont montré que le MBZ inhibait la croissance des cellules cancéreuses du poumon de 80% avec une IC_{50} de 160 nM. En outre, les auteurs ont confirmé les effets inhibiteurs du MBZ sur la croissance de cellules de carcinomes du sein, des ovaires, du côlon et de l'ostéosarcome, avec des IC_{50} variant de 100 à 800 nM.

Afin de tester la réponse *in vivo* au traitement par MBZ, des souris nude ont été inoculées avec des injections sous-cutanées de cellules de cancer du poumon non à petites cellules H460³⁰³. Les animaux présentant des tumeurs établies (diamètre ~ 3 mm) ont été traités avec 1 mg par voie orale de MBZ tous les deux jours. Les animaux traités présentaient un arrêt de la croissance tumorale. L'expérience a également été répétée avec des souris C3H et la lignée cellulaire de souris K1735, et le MBZ a également inhibé la croissance tumorale dans ce modèle de souris syngénique. Les souris traitées avec MBZ n'ont montré aucun effet secondaire. Enfin, les chercheurs ont également évalué si le MBZ pourrait inhiber la formation de métastases

pulmonaires en injectant des cellules A549 dans la veine de la queue de souris. Chez les témoins non traités, environ 300 colonies métastatiques sont apparues dans les poumons au bout de 21 jours. Les souris traitées avec 1 mg de MBZ tous les deux jours présentaient un nombre de colonies moyen inférieur de 80% à celui des témoins. Le traitement avec le paclitaxel, un agent anti-microtubules bien établi, n'a montré aucune réduction de la formation de colonies.

Des preuves précliniques supplémentaires de l'activité anticancéreuse du MBZ ont été mises en évidence *in vitro* et *in vivo* dans le carcinome adrénocortical³⁰⁵. Les lignées cellulaires H295R, SW-13 et WI-38 (fibroblastes normaux) ont été traitées avec différentes concentrations de MBZ *in vitro*, et les deux lignées de cellules cancéreuses ont présenté un arrêt de croissance lié à la dose, avec une IC₅₀ de 230 nM pour les cellules H295R et 270 nM pour les cellules SW-13 sans présenter d'effet sur les cellules de fibroblastes normales. L'inhibition de la croissance de sphéroïde a été testée à une concentration de 1 µM de MBZ, et tous les sphéroïdes tumoraux ont été complètement désagrégés et les cellules cancéreuses ont été tuées en 20 jours environ. *In vivo*, le traitement de modèles murins athymiques de cancer corticosurrénalien a montré que le traitement avec 1 et 2 mg de MBZ inhibait de manière significative la croissance tumorale dans les deux lignées de cancers corticosurrénaux implantées. Bien qu'il y ait eu peu de différence entre la réponse des tumeurs primaires aux doses de 1 et de 2 mg, cette dernière dose a diminué la formation de métastases de 50% à 75% dans le groupe traité. Aucun effet secondaire n'a été noté chez les animaux traités.

En 2008, un criblage de 2000 petites molécules contre des lignées de cellules de mélanome a identifié dix composés qui avaient une action inhibitrice sur les lignées de cellules de mélanome chimiorésistantes M-14 et SK-Mel-19, mais étaient non toxiques pour les mélanocytes normaux³⁰⁶. Parmi ces dix composés, quatre étaient des benzimidazoles – le mébendazole, l'albendazole, le fenbendazole et l'oxybendazole – et parmi ces quatre composés, le MBZ a été sélectionné pour une analyse plus détaillée en raison de la supériorité de son effet inhibiteur de la prolifération, son manque relatif de toxicité et de sa pharmacocinétique bien caractérisée. Il a été démontré que le MBZ induisait l'apoptose de manière dose-dépendant dans les deux lignées cellulaires avec une IC₅₀ moyenne de 320 nM, tandis que la concentration équivalente pour obtenir une IC₅₀ sur la lignée cellulaire de mélanocytes non cancéreuses était de 1,9 µM. Par la suite, il a été démontré que le MBZ inhibait la croissance de xénogreffe de mélanome humain chez des souris nude athymiques recevant 50 mg/kg ou 100 mg/kg de MBZ par voie orale tous les deux jours³⁰⁷. La croissance tumorale a été réduite de 83% pour la dose de 1 mg et de 77% pour la dose de 2 mg par rapport aux témoins. Ceci était comparable à

l'activité inhibitrice de croissance tumorale obtenue après administration de 100 mg/kg de temozolomide (TMZ) par une injection intra-péritoneale pendant 5 jours. Le TMZ était utilisé comme contrôle positif car il représente une option bien caractérisée pour le traitement du mélanome. Ces résultats ont montré que l'administration orale de MBZ produisait des réponses équivalentes au TMZ à forte dose, mais sans aucun effet secondaire observé.

L'activité du MBZ dans le glioblastome (GBM) a été découverte par hasard en 2011 par des chercheurs qui ont observé l'échec de xénogreffes de GBM après que des modèles de souris aient été nourris à l'albendazole pour lutter contre une série d'oxyurose³⁰⁸. Des investigations complémentaires ont montré que l'apoptose était induite par l'albendazole et par le MBZ dans deux lignées de cellules GBM *in vitro* et *in vivo*. L'IC₅₀ obtenue *in vitro* avec le MBZ était de 240 nM dans la lignée de gliome de souris GL261 et de 100 nM dans le GBM humain 060919. Les résultats *in vivo* ont montré que le traitement par MBZ par voie orale augmentait significativement la survie moyenne jusqu'à 63% dans les modèles de gliome de souris syngéniques et xénogreffés.

En 2003, le criblage d'activité de composés sur des lignées de cellules cancéreuses du côlon a également identifié le MBZ comme molécule candidate dans les travaux de Nygren *et al*³⁰⁹. Les auteurs ont criblé 1600 médicaments existants afin de déterminer leur activité dans deux lignées cellulaires de cancer du côlon établies (HCT 116 et RKO) et ont trouvé 64 médicaments candidats, incluant le groupe des benzimidazolés (albendazole, mebendazole, oxybendazole et fenbendazole). Parmi ceux-ci, une analyse plus poussée a été réalisée sur le MBZ et l'albendazole. Les données issues du traitement d'un panel de lignées cellulaires (NCI 60) ont été comparées pour ces deux molécules. Ces résultats n'ont révélé qu'une faible corrélation entre MBZ et albendazole, indiquant des différences dans leur mécanisme d'action. Cela a été confirmé par la comparaison des signatures d'expression génique issues de la base de données CMap. La carte de connectivité (CMap) du Broad Institute est une bibliothèque de signatures cellulaires à l'échelle du génome qui répertorie les réponses transcriptionnelles aux perturbations chimiques, génétiques et pathologiques. En outre, le MBZ, mais pas l'albendazole, s'est révélé interagir de manière significative avec plusieurs protéines kinases, dont BCR-ABL et BRAF. L'analyse de l'activité spécifique du MBZ a montré une activité dans 80% des lignées cellulaires de cancer du côlon issues du panel NCI 60. Trois lignées cellulaires de cancer du côlon supplémentaires et trois modèles cellulaires normaux de cellule de côlons ont ensuite été testés et ont confirmé l'activité sélective du MBZ dans le cancer du côlon.

Certains travaux portant sur l'efficacité *in vitro* ont été réalisés par Coyne *et al.* en 2013 sur une lignée cellulaire de cancer du sein chimiorésistante (SKBr-3)³¹⁰. Une gamme de benzimidazolés, a été testée. Les effets observés comprenaient un arrêt de la croissance tumorale et l'induction de l'apoptose de façon significative. Le flubendazole et le MBZ présentaient le plus haut niveau d'activité cytotoxique. L'IC₅₀ obtenue dans cette étude était de l'ordre de 500 nM.

5) Données humaines dans le traitement du cancer :

Aucun essai clinique évaluant le MBZ dans une indication en oncologie n'a été achevé à ce jour. Cependant, il existe deux rapports de cas bien documentés dans la littérature en faveur du repositionnement du MBZ en tant que traitement anticancéreux.

En 2011, un cas de contrôle tumoral à long terme chez un patient atteint d'un cancer adrénocortical métastatique a été publié³¹¹. Le cancer corticosurrénal est une tumeur maligne relativement rare avec peu d'options de traitement en cas de maladie non résecable. Le patient avait présenté une progression de la maladie malgré plusieurs protocoles de chimiothérapie et plusieurs cycles de chirurgie. Après avoir épuisé toutes les autres options de traitement, le patient a découvert *via* Pubmed la preuve préclinique de l'action de MBZ contre le traitement du cancer corticosurrénalien. La monothérapie a débuté à une dose anti-helminthique typique de 100 mg deux fois par jour. Le patient a présenté une régression des lésions métastatiques et, globalement, la maladie est restée stable pendant 19 mois sous traitement par MBZ en monothérapie. Le traitement était toléré sans effets secondaires et la qualité de vie est revenue à son niveau de base avant la chirurgie initiale. Cependant, 24 mois après le début du traitement par MBZ par voie orale, un scanner a montré une progression de la maladie et l'évérolimus a été ajouté en combinaison mais n'a pas permis d'obtenir de bénéfice supplémentaire.

Un cas de cancer du colon métastatique traité avec MBZ a été décrit par Peter Nygren et Rolf Larsson en 2013⁷⁴. Un patient âgé de 74 ans, atteint d'un cancer du colon métastatique progressif, avait d'abord été traité par la capécitabine, l'oxaliplatine et le bevacizumab, puis par la capécitabine et l'irinotécan pour faire face à la progression de la maladie. A cette dernière ligne de traitement s'ajoutait une dose orale de MBZ de 100 mg deux fois par jour. Le MBZ a été sélectionné sur la base des travaux précliniques réalisés par l'auteur³⁰⁹. Après six semaines de monothérapie, l'évaluation radiologique a montré une rémission presque complète des lésions métastatiques dans les poumons et les ganglions lymphatiques et une bonne rémission partielle dans le foie. Cependant, le patient a présenté une élévation des enzymes hépatiques (ASAT et ALAT). Le MBZ a donc été temporairement arrêté puis repris à la moitié de la dose.

Le patient n'a signalé aucun effet indésirable. Les enzymes hépatiques se sont normalisées et une série de tomodensitogramme a confirmé la réponse initiale de la maladie. Trois mois après arrêt du traitement, le patient a développé des métastases cérébrales et des atteintes ganglionnaires ont pu être notées ce qui a instauré la mise en place d'un traitement par radiothérapie. Le traitement par MBZ n'a pas été repris à la suite de la découverte des métastases cérébrales ou de la progression de la maladie.

6) Essais cliniques :

Il existe actuellement quatre essais cliniques en cours évaluant le MBZ dans le traitement du cancer, dont deux portant sur des tumeurs cérébrales.

NCT01729260 : C'est un essai clinique consistant en une étude ouverte de phase I, mené à l'hôpital John Hopkins, qui évalue le MBZ chez des patients atteints d'un gliome de haut grade nouvellement diagnostiqué et traité au temozolomide. Les patients recrutés pour l'essai sont traités selon un cycle de 28 jours de comprimés de 500 mg de MBZ trois fois par jour. Le but consiste à déterminer la dose maximale tolérée de MBZ administrable en association au témozolomide. L'objectif secondaire est de déterminer si le MBZ couplé avec le traitement standard actuel peut ralentir la progression de la tumeur.

NCT02644291 : C'est un essai clinique de phase I mené dans le même hôpital, qui évalue le MBZ dans une population pédiatrique atteinte de tumeurs cérébrales. L'objectif principal de cette étude est de réaliser une escalade de dose afin de déterminer la MTD chez des patients en rechute ou présentant des tumeurs pédiatriques en progression. Les objectifs secondaires sont de déterminer la sécurité d'administration, la tolérance, la toxicité, et la concentration plasmatique de MBZ dans la population traitée. L'efficacité préliminaire sera évaluée par détermination de la survie sans progression et la survie globale dans une cohorte de patients présentant des tumeurs pédiatriques réfractaires.

NCT01837862 : Un autre essai clinique a lieu au Cohen Children's Center de New York sur des patients pédiatriques atteints de gliomes de bas grade Il s'agit d'une étude pilote de phase I/II évaluant le MBZ en association avec la vincristine, le carboplatine et le temozolomide. Le plan de l'étude est non randomisé et ouvert, avec une comparaison entre le traitement standard et les bras comprenant l'administration du MBZ. La dose de MBZ est de 100 mg deux fois par jour pendant 70 semaines de traitement. L'objectif principal de la phase I de l'essai est de déterminer si la dose standard de 100 mg deux fois par jour de MBZ est bien tolérée lorsqu'il est utilisé en association avec le schéma thérapeutique actuel à trois médicaments. À la fin de la phase I, les sujets potentiels se verront offrir la possibilité de

recevoir le schéma à trois médicaments + MBZ pendant 70 semaines, ou à s'inscrire au sein du groupe témoin recevant le schéma à trois médicaments seuls. Pour la phase II de l'étude, les critères d'évaluation de l'efficacité sont l'absence de progression et la survie globale.

NCT03925662 : Enfin, un essai clinique de phase 3 est mené en Egypte. Ce dernier vise à évaluer l'efficacité du MBZ en tant que traitement adjuvant pour le cancer du colon chez des patients traités par Folfox® et Avastin®.

7) Mécanisme d'action :

L'action anti-parasitaire du MBZ est due à son action déstabilisatrice des microtubules qui empêche la polymérisation de la tubuline dans les intestins des helminthes, provoquant la mort des parasites³¹². La tubuline est essentielle à la division cellulaire et constitue donc une cible anticancéreuse pour plusieurs médicaments de chimiothérapie largement utilisés, notamment le paclitaxel, la colchicine et la vincristine. Le MBZ, comme les autres benzimidazolés, se lie au domaine de liaison de la colchicine à la tubuline (un agent initialement étudié dans le traitement du cancer mais utilisé aujourd'hui uniquement en traitement symptomatique de la goutte car jugé trop toxique)³¹³. L'inhibition de la polymérisation de la tubuline par le MBZ a été confirmée *in vitro* dans un modèle de glioblastome³⁰⁸ et dans un modèle de mélanome³⁰⁶. Ce dernier travail a suggéré que la réponse apoptotique à la dépolymérisation des microtubules est associée à la phosphorylation de Bcl-2, une protéine pro-apoptotique. Des travaux ultérieurs sur le mélanome ont confirmé ce résultat et ont également montré que le MBZ diminuait les niveaux d'expression protéique d'inhibiteur de l'apoptose lié à l'X (XIAP)³⁰⁷, mais cela n'a pas été confirmé à ce jour dans des lignées cellulaires autres que le mélanome.

Bien que de rares cas d'alopécie réversible, d'urticaire, d'éruptions cutanées, de troubles gastro-intestinaux, de leucopénie et de neutropénie aient été rapportés chez des patients traités avec une dose élevée de MBZ durant un traitement prolongé, tous les effets indésirables associés à d'autres agents ciblant les microtubules n'ont pas été rapportés. La neuropathie périphérique, généralement considérée comme un effet indésirable classique des agents anti-microtubules, tels que les taxanes et les *vinca*-alcaloïdes n'a pas été rapportée après utilisation de MBZ³¹⁴. Bien que cela puisse suggérer que l'action du MBZ est indépendante de la perturbation des microtubules, cela peut également être lié au fait que MBZ agit *via* le domaine de liaison à la colchicine et que, comme pour la colchicine, il y a peu d'effet en termes de douleur neuropathique³¹⁵. Il est également possible que l'activité anticancéreuse du MBZ soit médiée par des cibles moléculaires supplémentaires à élucider.

Le MBZ semble être efficace *via* des voies dépendantes et indépendantes de p53. Par exemple, dans les lignées cellulaires de cancer du poumon, il a été constaté que le traitement par MBZ entraînait une stabilisation post-traductionnelle de p53 et l'expression en aval de p21 et de MDM2³⁰³. Dans les cellules de cancer du poumon présentant un allèle p53 non fonctionnel, l'exposition au MBZ a provoqué une accumulation de cytochrome c, l'activation des caspases 3, 8 et 9 et le clivage de la PARP (poly(ADP-ribose) polymérase) entraînant ainsi le déclenchement de l'apoptose. Cette indépendance du statut p53 a également été constatée dans des cellules de mélanome, où les lignées cellulaires p53 de type sauvage et mutantes présentaient une sensibilité comparable au MBZ³⁰⁶.

Concernant la néovascularisation tumorale, les preuves d'un mécanisme anti angiogénique sont contradictoires selon les études. Certains rapports indiquent qu'il existe un effet anti angiogénique et d'autres n'en trouvant aucun. Dans les premiers travaux portant sur l'activité anticancéreuse de MBZ, Mukhopadhyay *et al.* ont signalé un effet anti angiogénique, mis en évidence par une baisse de la densité microvasculaire, sur des modèles de xélogreffe du cancer du poumon humain³⁰³. Cependant, l'analyse *in vivo* des modèles de cancer corticosurrénalien n'a pas permis de détecter d'activité anti angiogénique par rapport aux contrôles³⁰⁵. Ces résultats pourraient suggérer que le MBZ exerce une activité anti angiogénique selon le type de pathologies tumorales. Une étude *in silico*, indique que le MBZ serait capable de se lier et d'inhiber l'action du VEGFR-2. Cette étude a notamment validé *in vitro* l'existence d'une action anti angiogénique à l'aide d'une mesure fonctionnel de l'angiogenèse basé sur les cellules endothéliales de la veine ombilicale (HUVEC)³¹⁶. Pour finir, l'albendazole, un médicament apparenté au MBZ, a montré des propriétés anti angiogéniques dans un modèle de cancer de l'ovaire et dans des lignées cellulaires chimiorésistantes^{317,318}, ce qui laisse suggérer une action anti angiogénique commune à plusieurs benzimidazolés. Parmi les agents de chimiothérapie, les agents anti microtubules sont des agents reportés pour exercer les plus grandes propriétés anti angiogéniques³¹⁹, ce qui pourrait expliquer l'effet anti angiogénique du MBZ.

8) Résumé des preuves in vitro, in vivo, et cliniques justifiant le repositionnement du mebendazole :

Type de cancer	In vitro	In vivo	Cas / essai clinique
Adrénocortical	Martarelli D et al (2008)	Martarelli D et al (2008)	Dobrosotskaya IY et al (2011)
Sein	Mukhopadhyay T et al (2002) Coyne CP, Jones Tand Bear R(2013) Nygren Pet al (2013)		
Colon	Mukhopadhyay T et al (2002) Nygren P et al (2013)	Mukhopadhyay T et al (2002)	Nygren P and Larsson R (2013)
Gliome			NCT01729260, NCT01837862
Leucémie	Nygren P et al(2013)		
Poumon	Sasaki J et al (2002)	Sasaki J et al (2002)	
Mélanome	Doudican N et al (2008) Nygren P et al(2013)	Doudican NA et al (2013)	
Ostéosarcome	Mukhopadhyay T et al(2002) Schmit JM (2013)		
Ovaire	Mukhopadhyay T et al(2002) Nygren P et al(2013)		

Les preuves d'un effet anticancéreux du traitement par le MBZ proviennent de données *in vitro*, *in vivo*, *in silico* et humaines. Avec une pharmacocinétique bien établie et un excellent profil de toxicité, cet agent peu coûteux est un excellent candidat pour le repositionnement de médicaments en tant que traitement anticancéreux, à la fois en combinaison avec les traitements standard existants et avec d'autres agents issus du repositionnement de médicaments dans un plusieurs types de cancer spécifiques.

Le propranolol et le mebendazole constituent ainsi deux exemples de candidats au repositionnement de médicaments. Cependant dans les deux cas, les circonstances de découvertes de l'effet anticancéreux de ces molécules étaient fortuites ou étaient issues d'analyses épidémiologiques rétrospectives découlant d'années d'utilisation de ces deux médicaments. Le repositionnement de médicaments doit permettre d'identifier rapidement de nouvelles indications pour des médicaments déjà existants. De plus, cette approche présente l'avantage d'un risque moindre pour les patients car les profils de toxicité et de pharmacocinétique des médicaments sont déjà connus avant même d'être testés pour leur activité anticancéreuse. Aussi, le développement de nouvelles techniques permettant d'identifier rapidement et de manière non fortuite de nouvelles indications médicales pour des molécules déjà approuvées sur le marché pourrait susciter un vif intérêt. Dans ce contexte, j'ai pu participer à un projet de recherche visant à l'identification de médicaments repositionnables dans le traitement du glioblastome et au développement de différentes approches visant à élucider leur mécanisme d'action anticancéreux.

III) Le repositionnement de médicaments de nouvelle génération :

Le but de mon projet est de participer à la validation de nouvelles cibles thérapeutiques dans le glioblastome par une approche de pharmacologie fonctionnelle à haut débit.

A) Intérêt général et scientifique:

1) Le glioblastome :

Le glioblastome (GBM) représente la tumeur primaire du système nerveux central (SNC) la plus fréquente et la plus agressive chez l'adulte. Sa prise en charge repose sur une chirurgie suivie d'un protocole faisant appel à des cures concomitantes de radiothérapie et chimiothérapie, aussi appelé protocole de Stupp³²⁰. En dépit de ces traitements, le bénéfice clinique reste modeste et le GBM est toujours incurable ; c'est pourquoi des approches innovantes sont nécessaires afin d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques permettant la conception rapide de nouveaux traitements et ainsi d'améliorer le pronostic vital des patients atteints de GBM.

2) Le repositionnement de médicaments :

Comme nous avons pu le voir dans les sections précédentes, le coût de développement d'un nouveau médicament anticancéreux est compris entre 500 millions et 2 milliards d'euro et les étapes préalables à sa commercialisation durent entre 12 et 15 ans en moyenne¹². Pour pallier à ces contraintes, une nouvelle stratégie est nécessaire afin d'accélérer la découverte de traitements efficaces et diminuer les coûts de recherche qui y sont associés. Le drug repurposing ou repositionnement de médicaments s'inscrit dans cette démarche : il consiste à identifier de nouvelles indications thérapeutiques pour des molécules déjà disponibles sur le marché et dont le profil de toxicité est connu (effets indésirables, contre-indications et profil pharmacocinétique). Les méthodes computationnelles de prédiction d'interaction des drogues avec les cibles thérapeutiques ont récemment mis en évidence qu'un médicament serait en moyenne capable d'interagir avec au moins 11 cibles moléculaires différentes³²¹. Ce haut degré de polypharmacologie ouvre de nombreuses perspectives thérapeutiques pour les médicaments déjà existants. Des travaux réalisés par notre équipe de recherche, précédemment cités, ont notamment permis d'aboutir à la découverte d'un effet anticancéreux du propranolol, un médicament antihypertenseur, dans le traitement de cancers réfractaires comme le cancer du sein triple-négatif, le neuroblastome et l'angiosarcome^{147,161,160}. Cette découverte a été récemment reconnue par l'agence médicale européenne qui a donné l'appellation de drogue

orpheline au propranolol pour le traitement des sarcomes des tissus mous, moins de 5 ans après le début de notre projet de recherche et pour un coût total inférieur à 1 million d'euros.

L'utilisation combinée de techniques de criblage haut débit avec les principes du repositionnement de médicaments représente ainsi une alternative prometteuse pour développer de nouvelles approches thérapeutiques.

B) Objectifs du projet de recherche :

L'objectif de mon projet de recherche est de démontrer que la combinaison d'un criblage haut débit de bibliothèques de drogues et de siRNA permet de développer de nouveaux traitements associés à des biomarqueurs validés dans le GBM. Les small interfering RNA sont de petits ARN pouvant se lier spécifiquement à une séquence d'ARN messagers et ainsi empêcher l'expression de gènes en induisant la dégradation de cet ARN.

Dans le but d'identifier des cibles thérapeutiques associées à des molécules pharmacologiquement actives, notre équipe de recherche a entrepris un double criblage haut débit de drogue et de siRNA sur des lignées cellulaires de GBM. Un criblage primaire a été réalisé sur la lignée U87. Plus de 3700 drogues (utilisées en essai clinique ou déjà approuvées) ont ainsi été testées pour leur effet antiprolifératif à une concentration fixe de 5 μM , seules et en association avec le TMZ (10 μM) ou l'Erlotinib (5 μM). En tout, nous avons pu identifier 201 agents capables d'inhiber la prolifération des cellules de GBM en monothérapie, 91 molécules susceptibles d'augmenter l'efficacité du TMZ ainsi que 187 molécules capables d'augmenter l'efficacité de l'erlotinib d'au moins 20% (**Figure 12**).

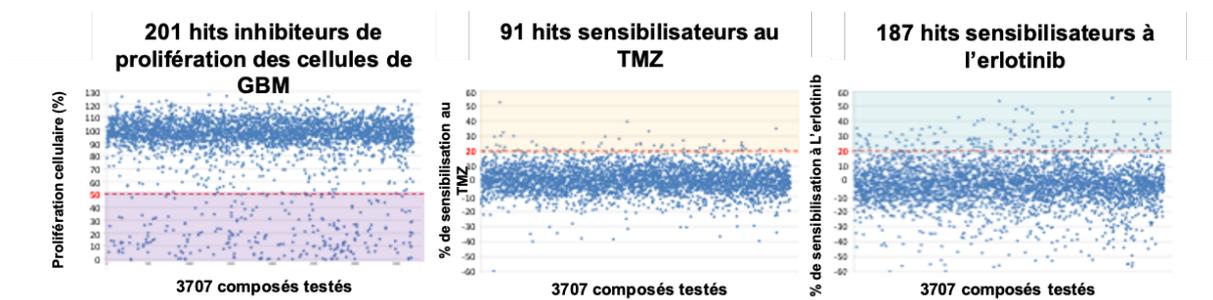


Figure 12: Criblage primaire haut débit de molécules dans la lignée U87 de GBM:

3700 molécules ont été testées pour leur effet antiprolifératif à une concentration fixe de 5 μM , seules et pour leur effet sensibilisateur en association avec le TMZ (10 μM) ou l'Erlotinib (5 μM) sur la lignée cellulaire de GBM U87. Alamar blue (72h d'incubation)

Un criblage secondaire a été réalisé dans les mêmes conditions sur 3 lignées cellulaires de GBM (U87, U87vIII, T98G) et a permis de valider 83 hits capables d'inhiber la prolifération, 4 hits capables d'augmenter la sensibilité au TMZ et 23 hits capables d'augmenter l'efficacité de l'erlotinib (*Figure 13,14*).

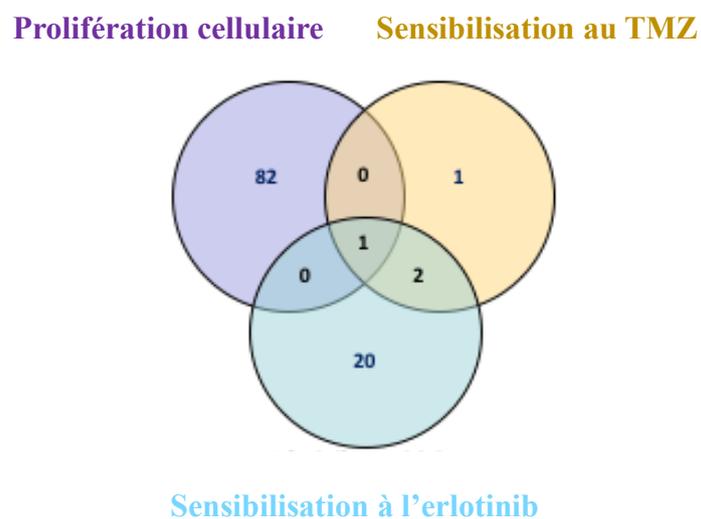


Figure 13: Diagramme de Venn recensant les hits identifiés selon leur propriétés après le criblage secondaire

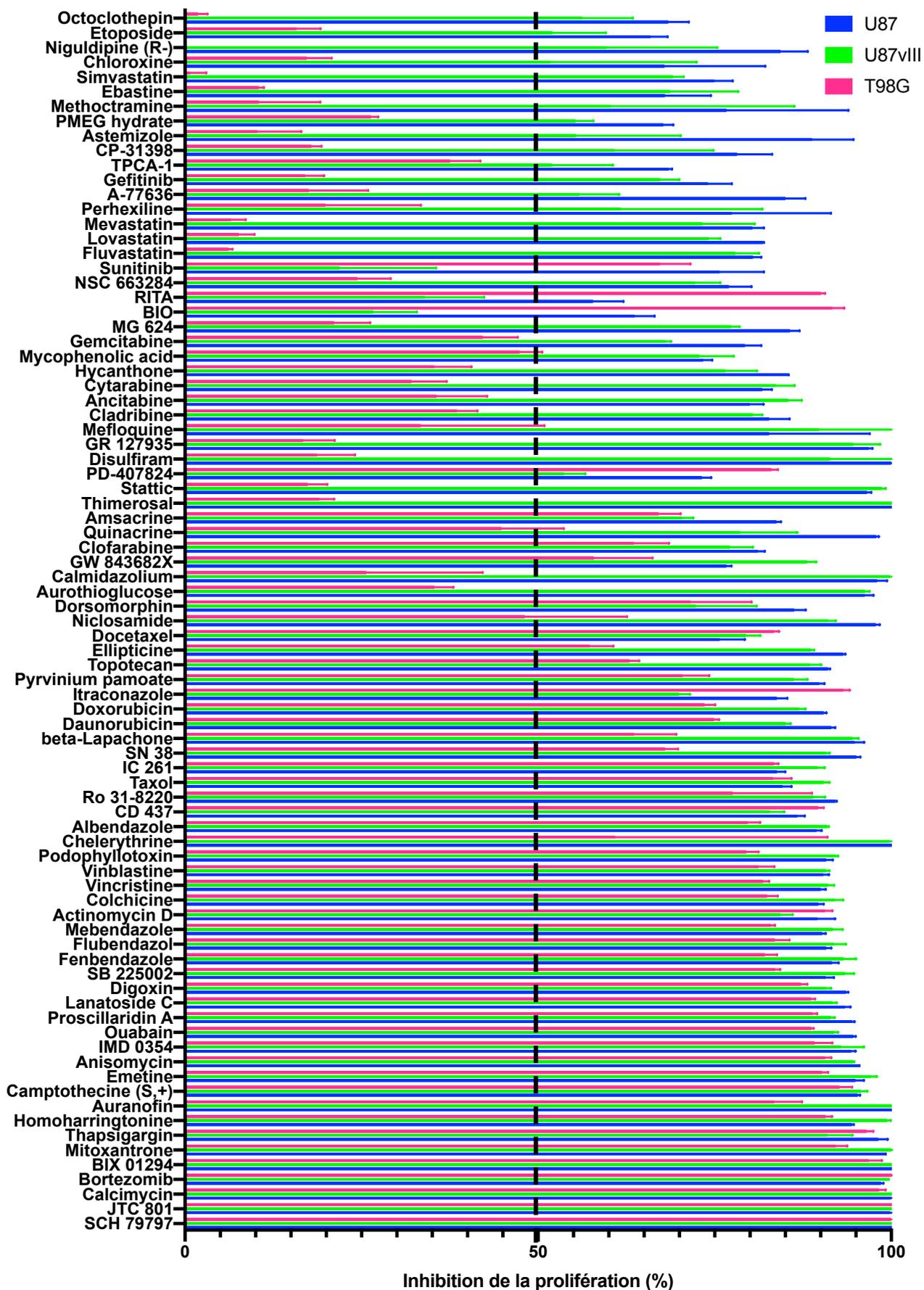


Figure 14: 83 Hits identifiés comme inhibiteurs de la prolifération après criblage secondaire

Afin d'éclaircir le mécanisme d'action cytotoxique ou synergique avec le TMZ ou l'erlotinib, une analyse bioinformatique de ces hits a été menée. Pour chaque molécule, l'ensemble des cibles moléculaires connues a été recensé en utilisant 3 bases de données complémentaires (Drugbank, Drugsurv et Gostar). Cette analyse a permis d'identifier 1257 cibles moléculaires différentes. Le nombre de cibles générées par cette approche étant élevé, et compte tenu des coûts de criblage, une sélection des cibles les plus attractives s'imposait. Il a alors été décidé de retenir uniquement les gènes ciblés par au moins 3 agents pharmacologiques différentes car ceux-ci présentaient une plus forte probabilité d'être impliqués dans la prolifération et/ou la résistance des lignées GBM. Cette analyse a permis de réduire le nombre de cibles moléculaires à 412. Une librairie de plus de 1200 sequences siRNA permettant de cibler l'ensemble des 412 top cibles moléculaires avec 3 sequences différentes de siRNA par cible a été utilisée pour le criblage siRNA. Le Criblage a été réalisé par high-content imaging par marquage nucléaire au Hoechst 33342. Ce criblage nous a permis d'identifier un réseau de **158 genes**, impliqués soit dans la prolifération des cellules de GBM soit dans la sensibilité au TMZ et/ou à l'erlotinib, a pu être caractérisé par le biais de ce criblage (*Figure 15*).

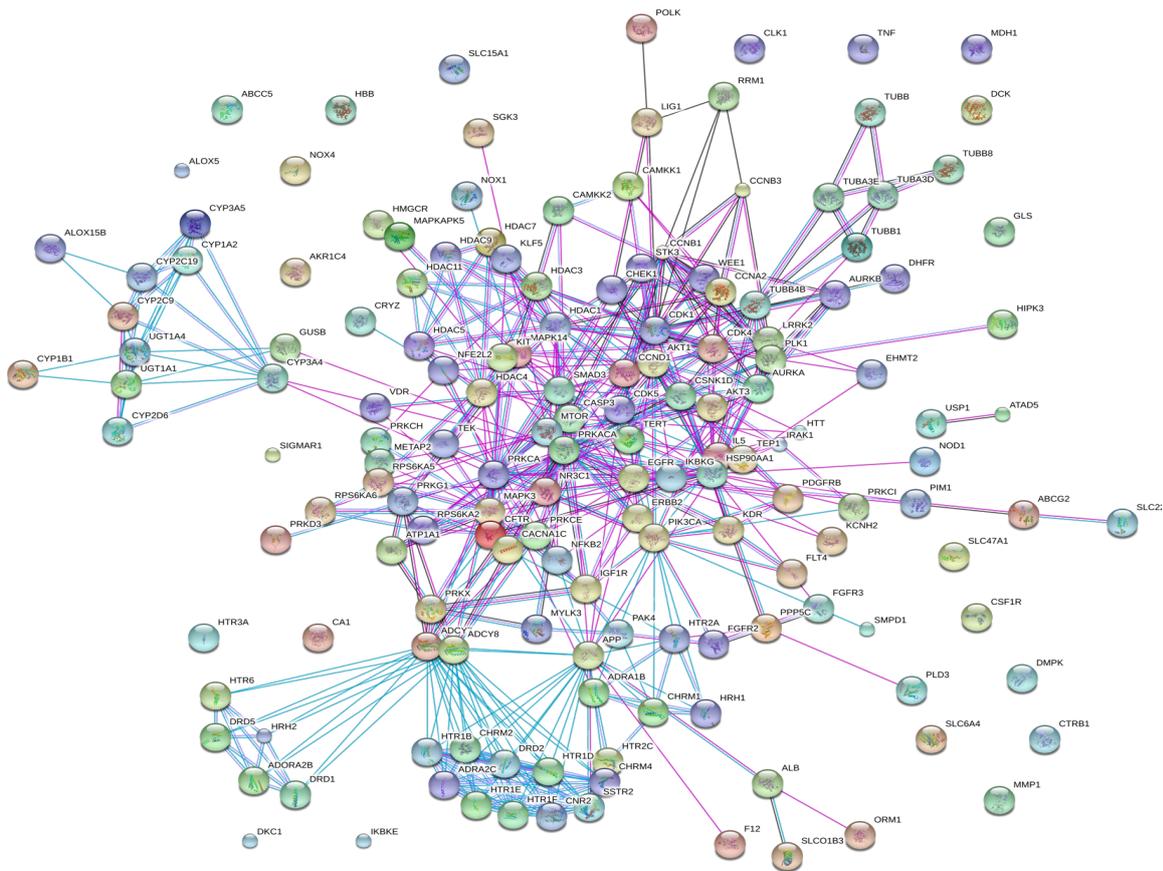


Figure 15: Hits moléculaires impliqués dans la prolifération, la sensibilisation au TMZ ou à l'erlotinib et identifiés après criblage siRNA

Aussi, les différents objectifs de mon projet de recherche sont de :

- 1) Prioriser, grâce aux données issues du criblage siRNA, les agents pharmacologiques (également appelées hits) identifiés au cours du criblage haut débit de drogues afin d'évaluer leur efficacité *in vitro* sur différents modèles cellulaires de GBM et *in vivo* dans des modèles murins de GBM.
- 2) Caractériser le mécanisme d'action des molécules actives identifiées par des approches complémentaires :
 - Une approche de modélisation *in silico* permettant la prédiction de cibles thérapeutiques potentielles
 - Une approche de chimie click couplée à la spectrométrie de masse permettant l'identification des cibles thérapeutiques des agents pharmacologiques
- 3) Valider les cibles thérapeutiques identifiées par des techniques de biologie cellulaire, de biochimie, de biologie structurale et de génomique fonctionnelle
- 4) Évaluer le rôle pronostic des cibles thérapeutiques identifiées en menant des analyses immuno-histochimiques sur échantillons de patients.

C) Résumé du projet et présentation des résultats déjà obtenus :

Les résultats de ce criblage siRNA ont été utilisés pour prioriser les hits pharmacologiques. Nous avons ainsi sélectionné 16 agents thérapeutiques qui devaient *(i)* avoir démontré une efficacité antiproliférative ou sensibilisatrice à l'action du TMZ lors du criblage pharmacologique, *(ii)* être capables d'inhiber au moins une protéine codée par le réseau de gènes identifié par le criblage siRNA, *(iii)* être capables de franchir la barrière hémato-encéphalique, *(iv)* avoir déjà été testés en clinique. Parmi les 16 agents ainsi sélectionnés, 15 présentaient une activité cytotoxique sur 4 lignées de GBM et l'agent le plus efficace *in vitro* était le mebendazole (MBZ) ($IC_{50} = 220$ à 330 nM selon la lignée étudiée) (**Figure 16**).

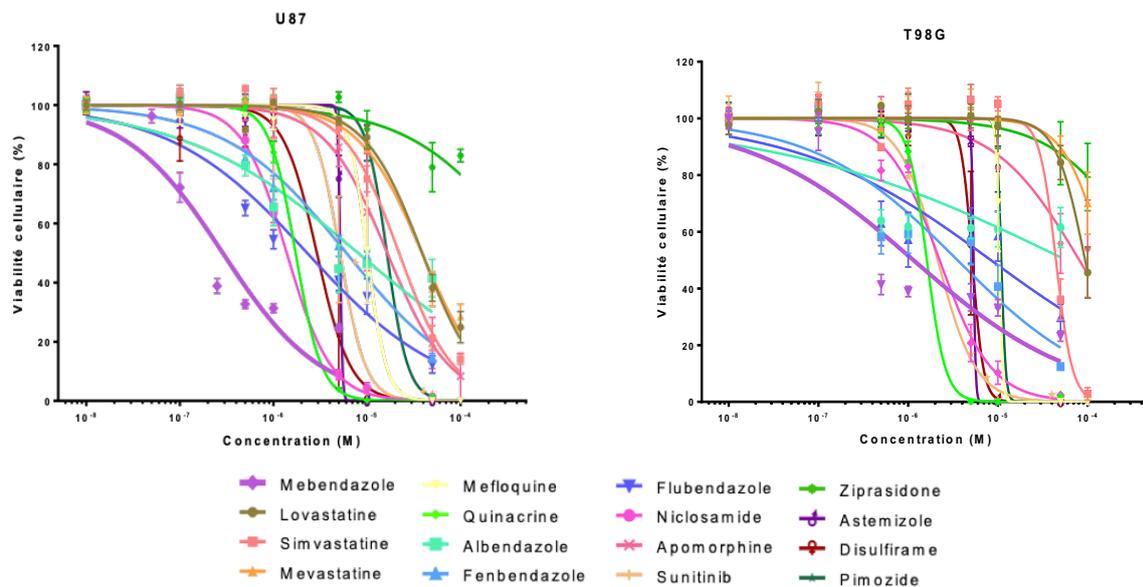


Figure 16: Étude de l'effet antiprolifératif de 16 hits pharmacologiques identifiés par criblage haut débit sur la lignée U87 et la lignée T98G, en utilisant le bleu d'Alamar après 72 h d'incubation. % de viabilité cellulaire par rapport aux cellules témoins non traitées. *Barre d'erreur, Ecart type à la moyenne (n= 4)*

Le MBZ est un médicament de la classe pharmaco-chimique des benzimidazolés utilisé en clinique dans le cadre d'infections helminthiques²⁹². Par la suite, nous avons réalisé une étude *in vivo* sur un modèle de xénogreffe orthotopique (**Figure 17**) qui nous a permis de montrer que le MBZ pouvait augmenter de manière significative la survie médiane des souris porteuses de GBM ($p < 0,0001$) et l'efficacité anti-tumorale du TMZ ($p = 0.04$) (**Figure 18**).

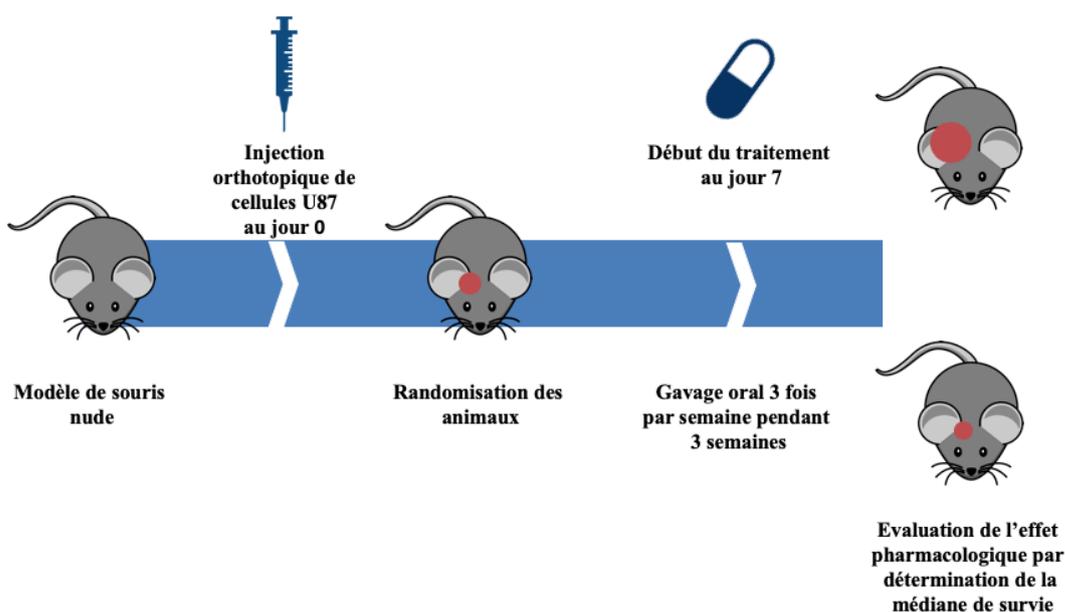


Figure 17 : Modèle murin utilisé pour déterminer l'efficacité des traitements *in vivo*

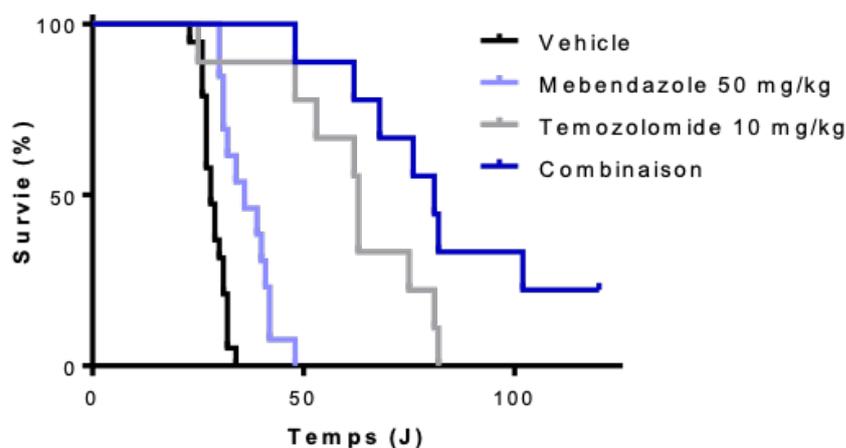


Figure 18 : Analyse de survie de souris atteintes de GBM par Kaplan Meier. $3 - 4,5 \times 10^5$ cellules U87 ont été injectées par le biais d'un cadre stéréotaxique à des souris nude femelle dans la zone sous-ventriculaire de l'hémisphère droit. Une semaine plus tard, les souris ont été randomisées et traitées par gavage oral d'une solution contenant du contrôle (ratio DMSO/Huile de maïs = 1/8, noir), du mebendazole (50mg/kg, bleu clair), du temozolomide (10mg/kg, gris) ou la combinaison des 2 (bleu foncé) 3 fois par semaine pendant 3 semaines.

A ce jour, le MBZ a déjà été suggéré pour son utilisation chez les patients atteints de GBM suite à une découverte fortuite³⁰⁸ mais également dans d'autres cancers³²². Son mécanisme d'action anticancéreux pourrait être lié à un effet antimicrotubule comme c'est le cas pour son action antihelminthique³²³. Cependant, les patients traités par MBZ ne présentent pas les effets secondaires caractéristiques des agents antimicrotubules tels que les neuropathies périphériques²⁹². De plus le MBZ possède une affinité très élevée pour la tubuline d'helminthes cependant celle-ci reste faible pour la tubuline de mammifère comme nous avons pu le démontrer au travers d'une expérimentation de nano scanning differential fluorimetry (**Figure 19**). Cette technique permet de mesurer la température de dénaturation d'une protéine (T_m) en présence ou absence d'agents pharmacologiques. La détermination de la T_m se fait par mesure de la fluorescence émise par les résidus tyrosine et tryptophane de la de la protéine. Si l'agent pharmacologique est capable de se fixer à la protéine, alors la stabilité de la protéine sera augmentée, et sa température de dénaturation sera plus élevée.

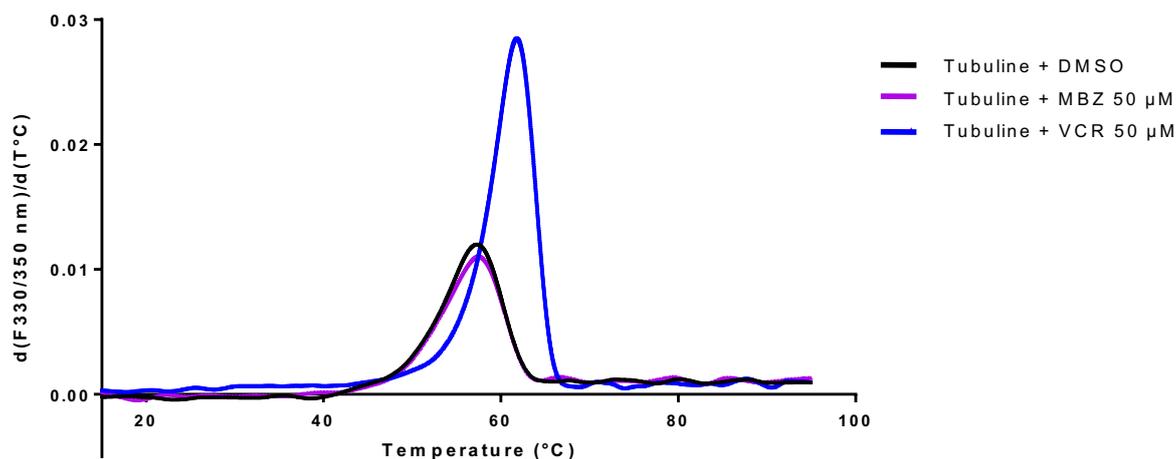


Figure 19 : Détermination de la température de dénaturation de la tubuline par nanoDSF en présence de MBZ à 50 µM. La vincristine (VCR) à 50 µM a été utilisée comme contrôle positif.

Ceci implique donc que les cibles moléculaires à l'origine du mécanisme d'action anticancéreux du MBZ n'ont donc pas encore été identifiées. Il apparaît ainsi nécessaire d'identifier les partenaires protéiques avec lesquels le MBZ est capable d'interagir dans la cellule cancéreuse et qui seraient à l'origine de son effet antiprolifératif et chimiosensibilisateur. **Mon travail actuel vise à mettre en place une approche permettant d'élucider rapidement le mécanisme d'action du MBZ de façon non biaisée dans le contexte du cancer selon 2 méthodologies.**

1) Orientation de la recherche du mécanisme d'action du MBZ par des outils de modélisation in silico :

Une liste de 22 cibles thérapeutiques potentielles du MBZ a été générée par le biais d'un algorithme prédictif sur la base de la structure chimique de la molécule (**Figure 20**).

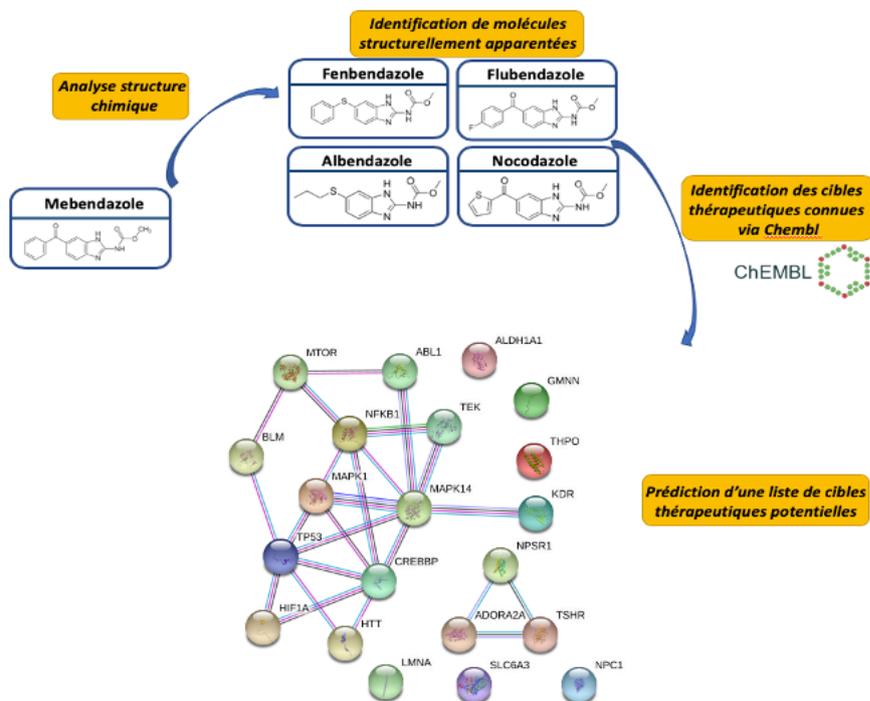
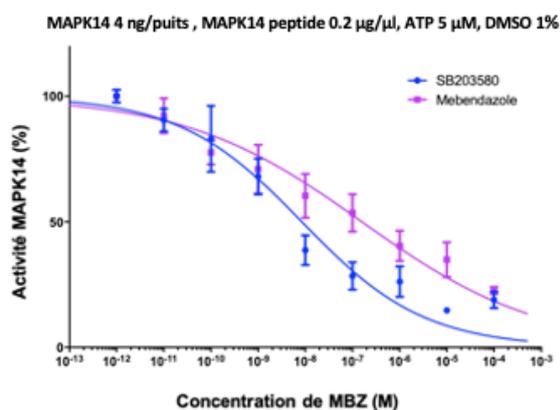
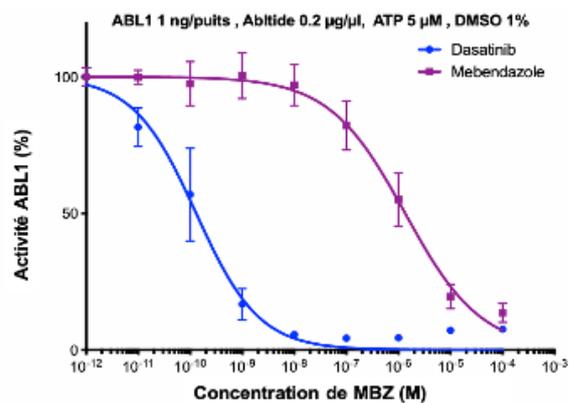


Figure 20

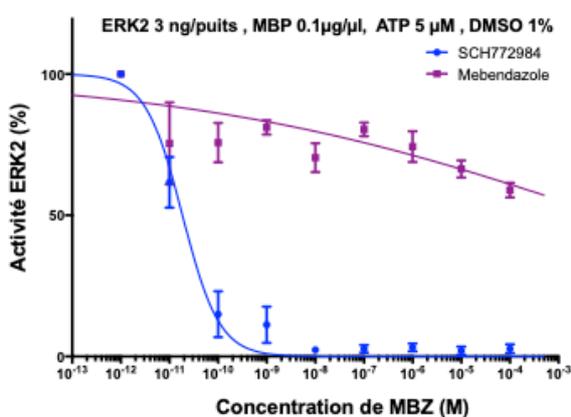
Des tests biochimiques (kinase assay) visant à évaluer l'activité du MBZ sur plusieurs d'entre elles (MAPK14, ABL1 et ERK2) ont été réalisés. Cette expérimentation permet de mesurer l'ADP formé par une kinase en présence ou en absence d'inhibiteurs pharmacologiques. L'ADP formé après réaction est converti en ATP. Ce dernier permet de catalyser une réaction luciférase. La mesure de la luminescence émise est ainsi corrélée à l'activité de la kinase. Concernant ERK2, les expérimentations réalisées n'ont pas permis de mettre en évidence d'activité inhibitrice. Au cours de ces expérimentations, j'ai pu mettre en évidence pour la première fois un effet dose dépendant du MBZ sur ABL1 dès la concentration de 10 nM ($IC_{50} = 1.36 \mu M$). De plus, j'ai pu démontrer que le MBZ exerçait un effet dose-dépendant sur l'activité de MAPK14 de façon très similaire à un inhibiteur connu (le SB203580), et ce dès la concentration de 1 nM ($IC_{50} = 159 \text{ nM}$). (**Figure 21**).



	SB203580	Mebendazole
IC ₅₀ (M)	8,451 X 10 ⁻⁰⁹	1,582 X 10 ⁻⁰⁷



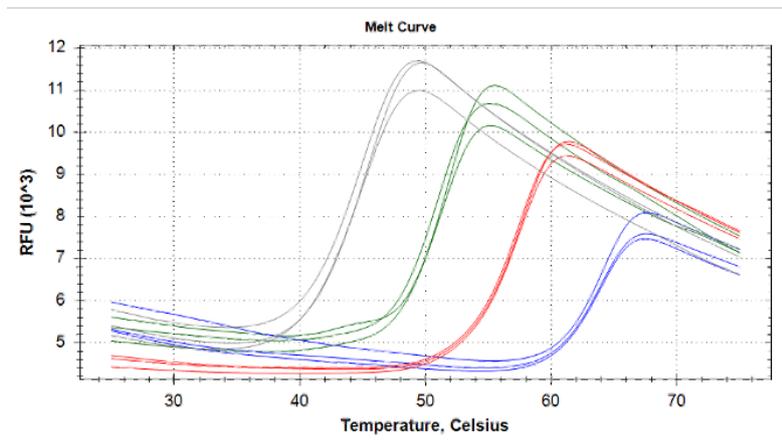
	Dasatinib	Mebendazole
IC ₅₀ (M)	1,59 X 10 ⁻¹⁰	1,358 X 10 ⁻⁰⁶



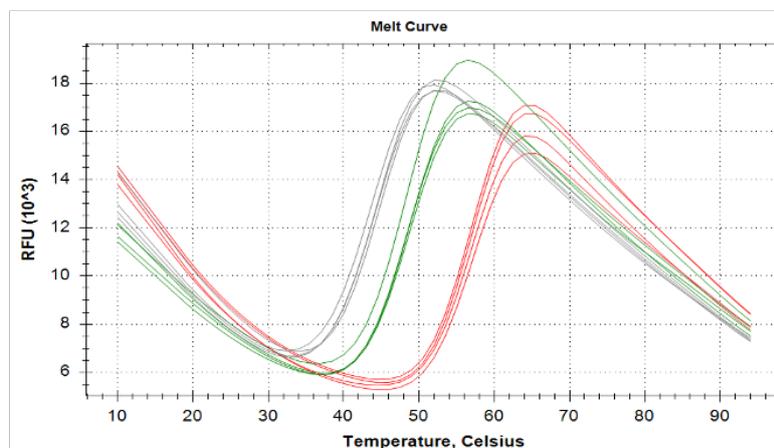
	SCH772984	Mebendazole
IC ₅₀ (M)	1,849 x 10 ⁻¹¹	8,723 x 10 ⁻⁰³

Figure 21: Validation de l'effet du MBZ par kinase assay après 1h de réaction, 40 min de lyse de l'ATP, et une heure d'incubation en présence de luciférase pour la génération du signal bioluminescent. Barre d'erreur, Ecart type à la moyenne (n= 4)

La liaison du MBZ à ABL1 et MAPK14 a également été évaluée en thermal shift assay. Cette technique permet de mesurer la température de dénaturation d'une protéine (T_m) en présence ou absence d'agents pharmacologiques. Si l'agent pharmacologique est capable de se fixer à la protéine, alors la stabilité de la protéine est augmentée, et sa température de dénaturation plus élevée. J'ai pu confirmer la liaison du MBZ à ABL1 et MAPK14 car en présence de ce dernier les températures de dénaturation de ces protéines étaient respectivement augmentées de 6,3°C et 3,75°C (**Figure 22**).



ABL1	Tm (°C)	Δ Tm (°C)
Forme libre	45.2	
Mebendazole	51.5	+ 6,3
Imatinib	57.5	+ 12,3
Dasatinib	64	+ 18,8



MAPK14	Tm (°C)	Δ Tm (°C)
Forme libre	44,25	
Mebendazole	48	+ 3,75
SB203580	57	+ 12,75

Figure 22 :

Caractérisation de la liaison du MBZ à ABL1 par Thermal Shift Assay. 4 μM de protéines ont été incubées en présence de 200 μM d'inhibiteurs (Imatinib, Dasatinib, Mebendazole) dans un tampon contenant 25mM d'HEPES 7.5, 150mM de NaCl, 1mM DTT, 1% glycerol et 0.2mM EDTA

Caractérisation de la liaison du MBZ à MAPK14 par Thermal Shift Assay. 5 μM de protéines ont été incubées en présence de 50 μM d'inhibiteurs (SB203580, Mebendazole) dans un tampon contenant 100 mM d'HEPES 7.5, 150mM de NaCl

La constante de dissociation (K_D) du MBZ a pu être caractérisée par titration calorimétrique isothermale. Un titrage calorimétrique isotherme est une méthode de titrage par calorimétrie isotherme durant laquelle on mesure la chaleur de réaction d'une solution en fonction du volume du réactif titrant ajouté dans le but de déterminer la concentration d'une espèce chimique dans cette solution. Cette technique nous a permis d'identifier un K_D de $1,27 \mu\text{M}$. (*Figure 23*)

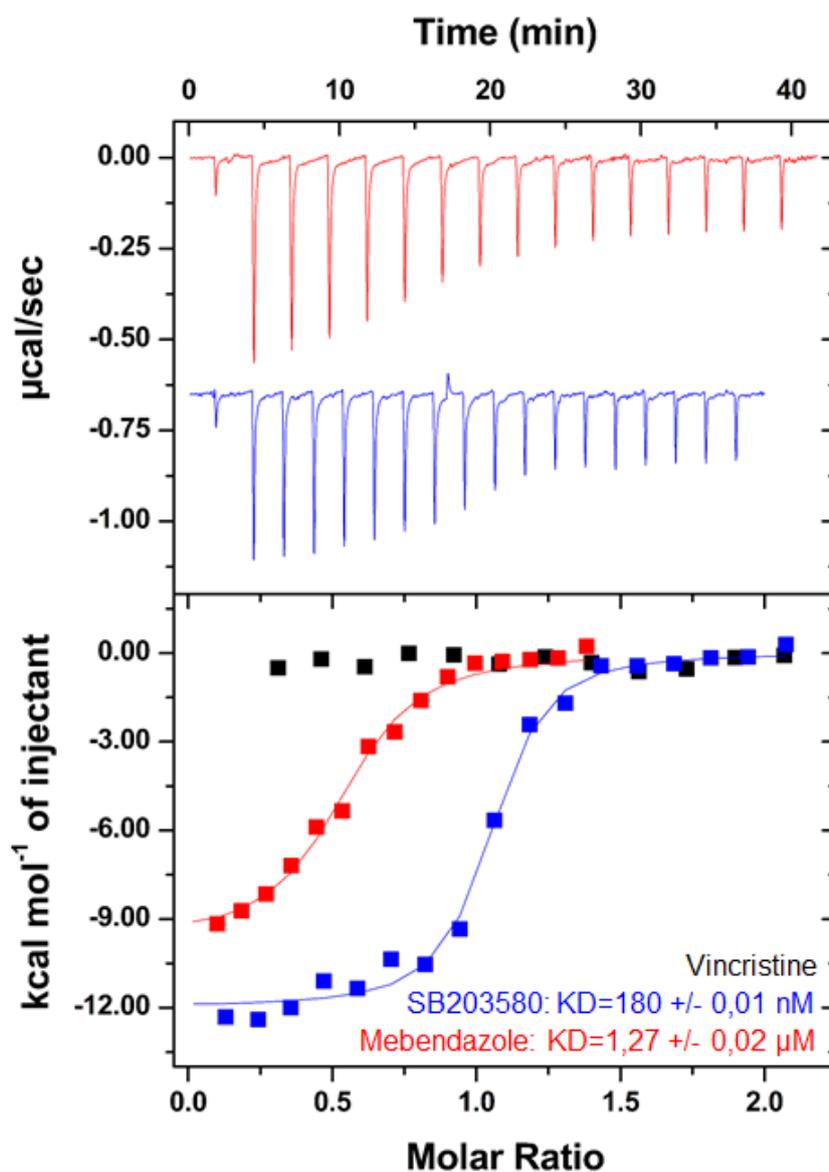


Figure 23 : Caractérisation de la constante de dissociation du MBZ à MAPK14 par ITC

Afin d'évaluer l'activité inhibitrice du MBZ sur MAPK14, un essai nanoBRET a été mis au point. Cette expérimentation a été réalisée dans le but de quantifier l'effet inhibiteur du MBZ sur l'activité de MAPK14 *in cellulo*. Une version modifiée de la protéine contenant un tag Nano-Luc a été produite par la transfection d'un plasmide dans la lignée cellulaire U87. Les cellules ont ensuite été mises en présence durant 1h d'un traceur fluorescent se fixant dans la poche catalytique de la protéine d'intérêt. Puis, les cellules ont été incubées durant 2 h avec ou sans MBZ. Un BRET (Bioluminescence Resonance Energy Transfer) ratio résultant du transfert de bioluminescence du traceur fluorescent vers le tag NanoLuc de MAPK14 a pu être mesuré. J'ai pu ainsi constater une baisse de ce ratio en présence de MBZ laissant suggérer un déplacement du traceur fluorescent selon un mécanisme compétitif. L' IC_{50} observée était de 4,65 μ M (**Figure 24**). Ainsi, ces résultats suggèrent que MAPK14 pourrait représenter une cible pharmacologique du MBZ.

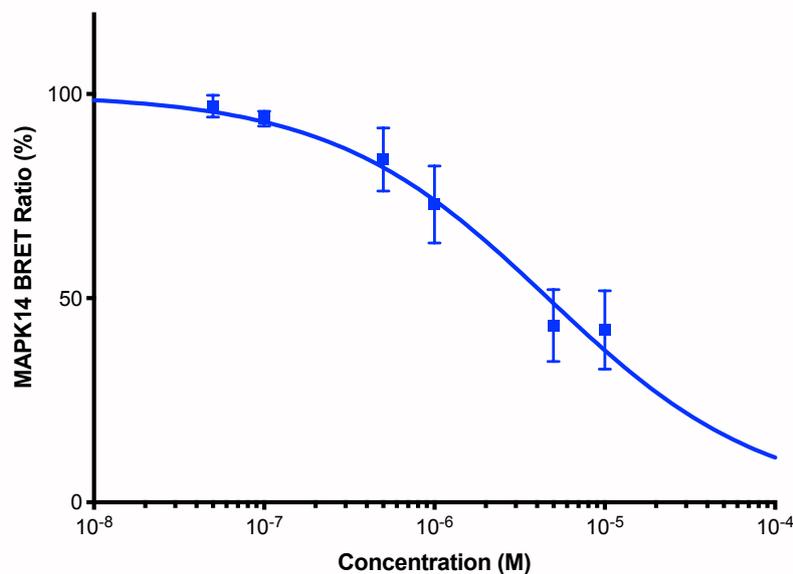


Figure 24: Validation de l'activité inhibitrice de MAPK14 in cellulo par nanoBRET assay

Le BRET ratio a été déterminé par la formule suivante : $BRET = \frac{\text{signal de fluorescence de l'accepteur à } 600 \text{ nm}}{\text{signal de fluorescence du donneur à } 460 \text{ nm}}$.

2) Identification du mécanisme d'action du MBZ par une approche de click protéomique :

Dans le but d'identifier de manière non biaisée de nouvelles indications thérapeutiques pour des médicaments déjà existant ainsi que leur mécanisme d'action nous avons développé une approche basée sur la chimie click couplée à la spectrométrie de masse (*Figure 25*).

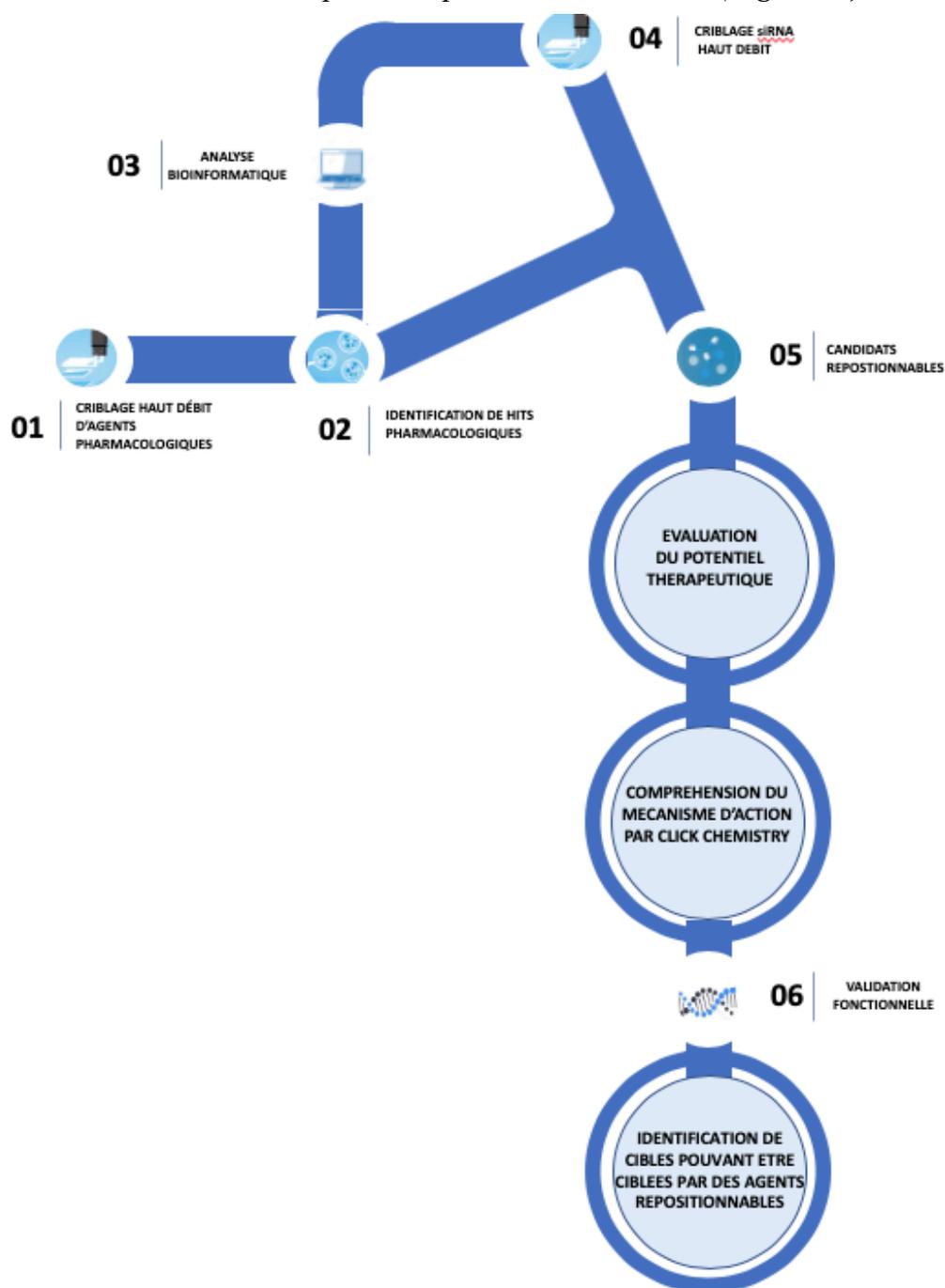


Figure 25 : Méthodologie employée pour l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques par click chemistry

La chimie click est une classe de réactions chimiques biocompatibles utilisée pour combiner à un substrat choisi une molécule spécifique. Ses applications au domaine de la biologie en général et à la cancérologie en particulier sont très récentes³²⁴. Cette approche repose sur l'ajout d'une petite modification chimique à un agent pharmacologique d'intérêt, le rendant ainsi compatible avec les réactions de click. Cette technologie permet de réaliser un grand nombre d'expérimentations comme la détermination de la localisation subcellulaire et tissulaire ou l'identification de l'interactome d'un agent pharmacologique. La réaction sur laquelle nous nous appuyons consiste à faire réagir une fonction alcyne avec une fonction azide en présence de cuivre pour former une liaison triazole irréversible. L'introduction d'une fonction alcyne ne perturbe pas l'activité biologique du composé si elle n'est pas ajoutée sur une région de la molécule déterminant son interaction avec sa cible thérapeutique.

Dans le but d'explorer le mécanisme d'action du MBZ, nous avons synthétisé des dérivés de celui-ci compatibles avec les réactions de click chemistry (*Figure 26*).

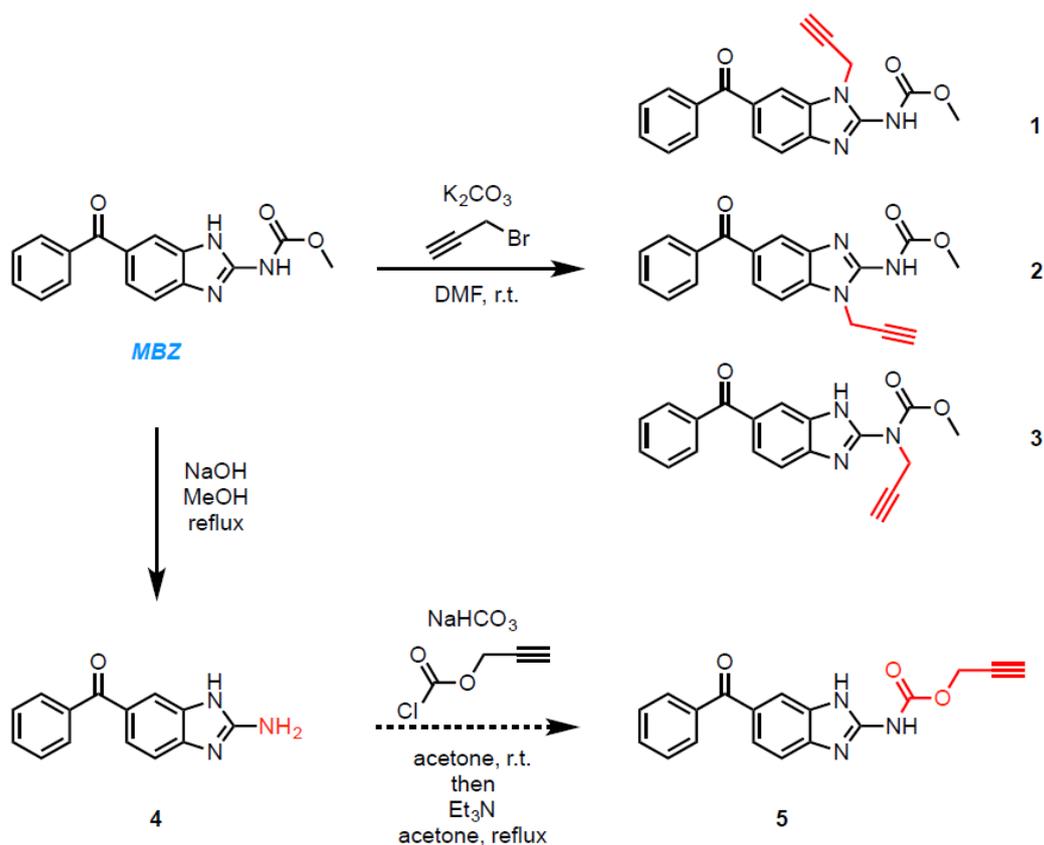


Figure 26 : Voies de synthèse des dérivés clickables du mebendazole

Afin de s'assurer que l'effet antiprolifératif observé était propre au MBZ et non à l'un de ses métabolites, ces derniers ont également été synthétisés et leur cytotoxicité a été évaluée sur des lignées cellulaires de GBM (**Figure 27**).

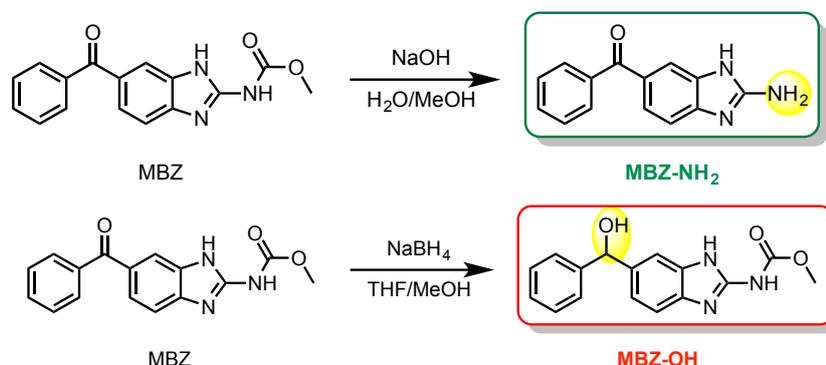


Figure 27 : Voies de synthèse des métabolites du MBZ

Selon ces tests de cytotoxicité, le dérivé clickable 5 (MBZ5) possède les mêmes propriétés antiprolifératives que la molécule parentale et les métabolites du MBZ n'exercent aucun effet antiprolifératif propre (**Figure 28**).

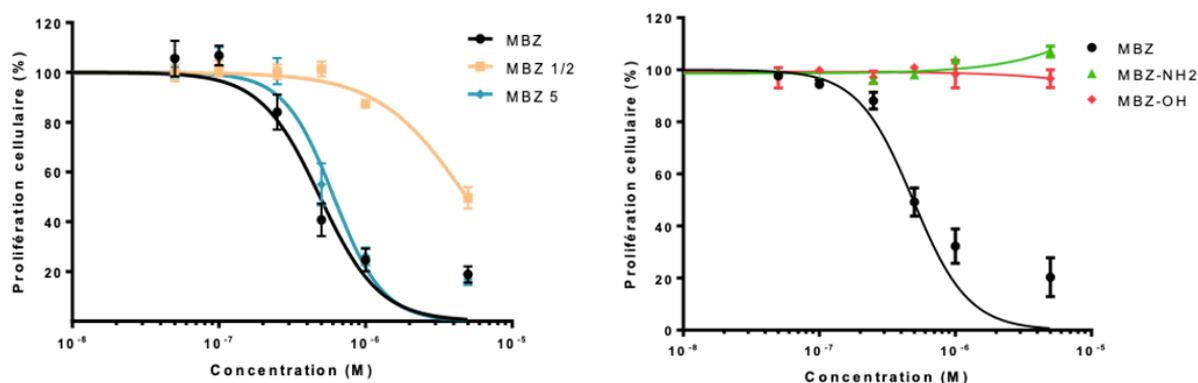


Figure 28 : Evaluation de l'activité cytotoxique du MBZ, de ses dérivés clickables et de ses métabolites

Étude de l'effet antiprolifératif du mebendazole, de ses analogues clickables et ses métabolites sur la lignée U87, en utilisant le bleu d'Alamar après 72h d'incubation avec la drogue étudiée. % de viabilité cellulaire par rapport aux cellules témoins non traitées.

Barre d'erreur, Sem (n= 4)

Des analyses transcriptomiques ont été entreprises afin de comparer les profils de cellules traitées par MBZ et MBZ5 et n'ont pas relevé de différence statistiquement significative entre le composé parental et son analogue clickable (**Figure 29**). Ces résultats démontrent que le MBZ5 représente une sonde moléculaire idéale pour élucider le mécanisme d'action anticancéreux du MBZ.

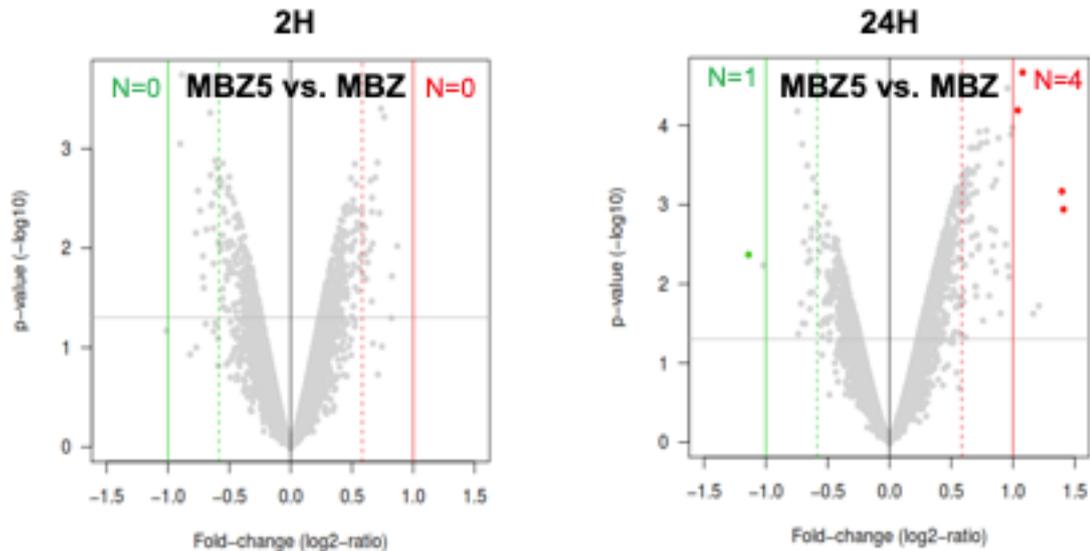


Figure 29 : Comparaison des profils transcriptomiques de cellules de GBM traitées par MBZ et son analogue clickable (MBZ5)

Analyse transcriptomique comparative du niveau d'expression de 13 044 gènes sur la lignée U87 après traitement par MBZ et MBZ5 à la dose de 500 nM.

Conditions statistiques employées : seuil de $p = 5\%$, seuil de $q = 30\%$ et $|FC| > 2x$.

Nous avons ensuite testé si le groupement propargyl greffé était compatible avec les réactions de click chemistry. Le dérivé clickable contenant la fonction alcyne (MBZ5) a été mis en présence d'Alexa Fluor 555 contenant une fonction azide selon une réaction catalysée par le cuivre (*Figure 30*).

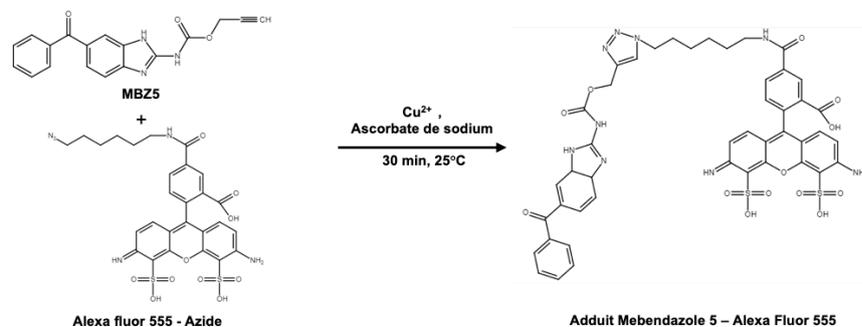
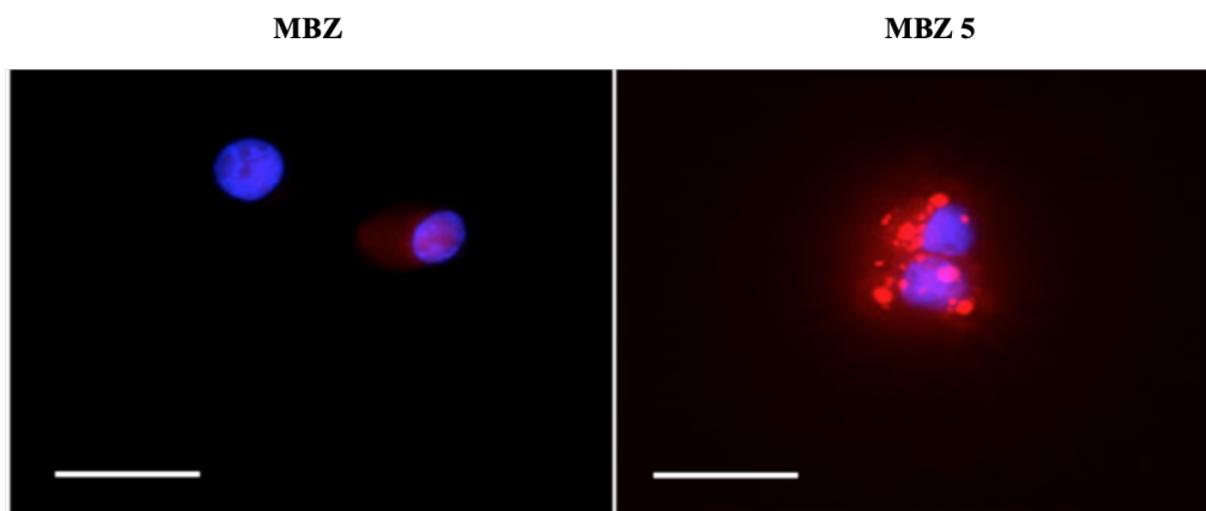


Figure 30 : Réaction de click chemistry utilisée pour la visualisation du MBZ5 en microscopie

Nous avons ainsi pu visualiser pour la première fois un dérivé clickable du MBZ dans des cellules cancéreuses (*Figure 31*).



Dans le but de déterminer le mécanisme d'action du MBZ dans les cellules tumorales, des expériences de pull-down ont été réalisées afin d'isoler et de caractériser les partenaires protéiques du MBZ5 par spectrométrie de masse. Le principe de cette approche originale est résumé dans la **Figure 32**.

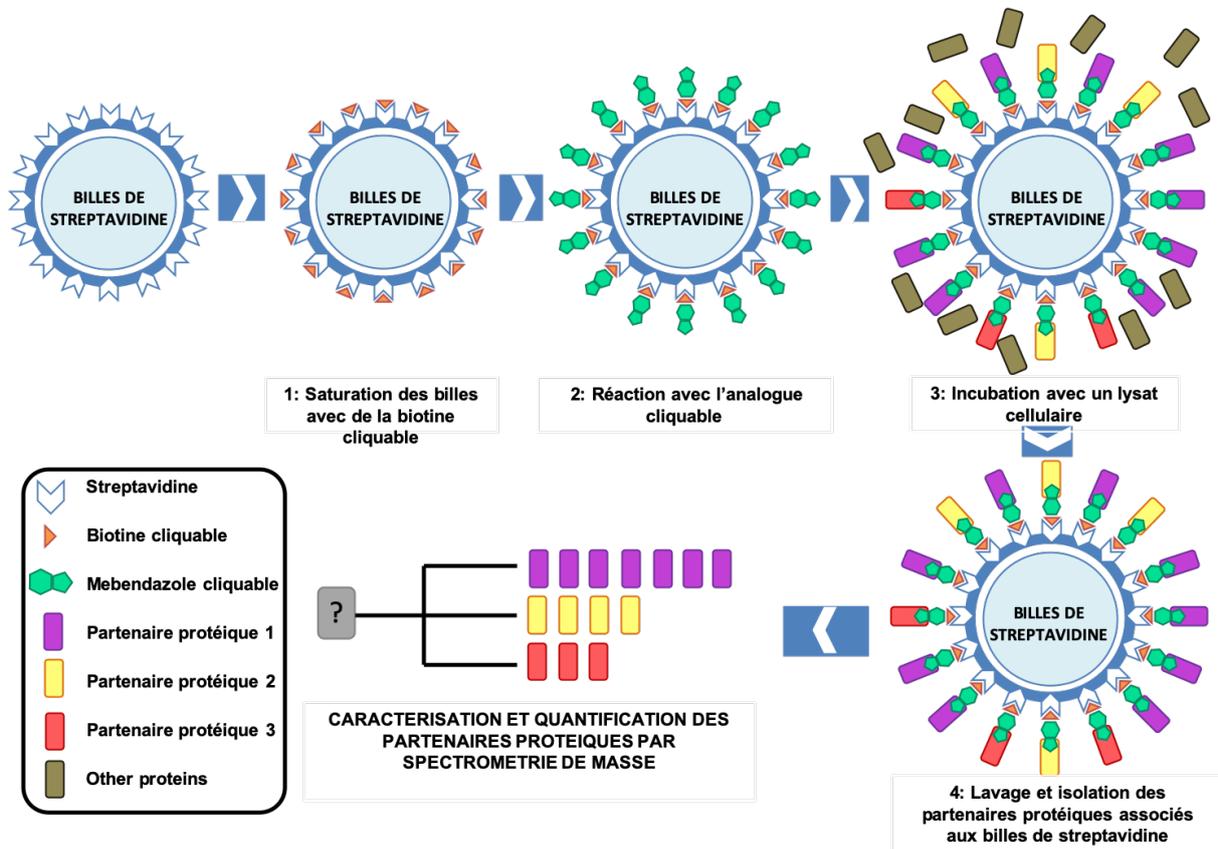


Figure 32 : Principe de l'expérimentation de pull-down

Des billes magnétiques de streptavidine ont été couplées à des biotines clickables. Ces dernières ont ensuite été soumises à réagir avec le MBZ5 en présence de cuivre et d'ascorbate de sodium (**Figure 33**).

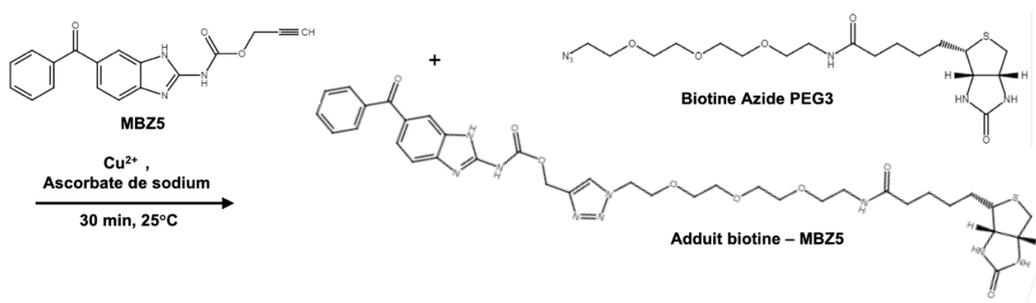


Figure 33 : Réaction de click chemistry utilisée pour greffer du MBZ5 à des biotines clickables ayant réagi avec les sites streptavidine de billes magnétiques.

Un pull down a ensuite été réalisé en incubant les billes clickées avec des protéines issues lysats cellulaires de 5×10^6 cellules de GBM. Les protéines isolées par cette technique ont été caractérisées par spectrométrie de masse. (*Figure 34*).

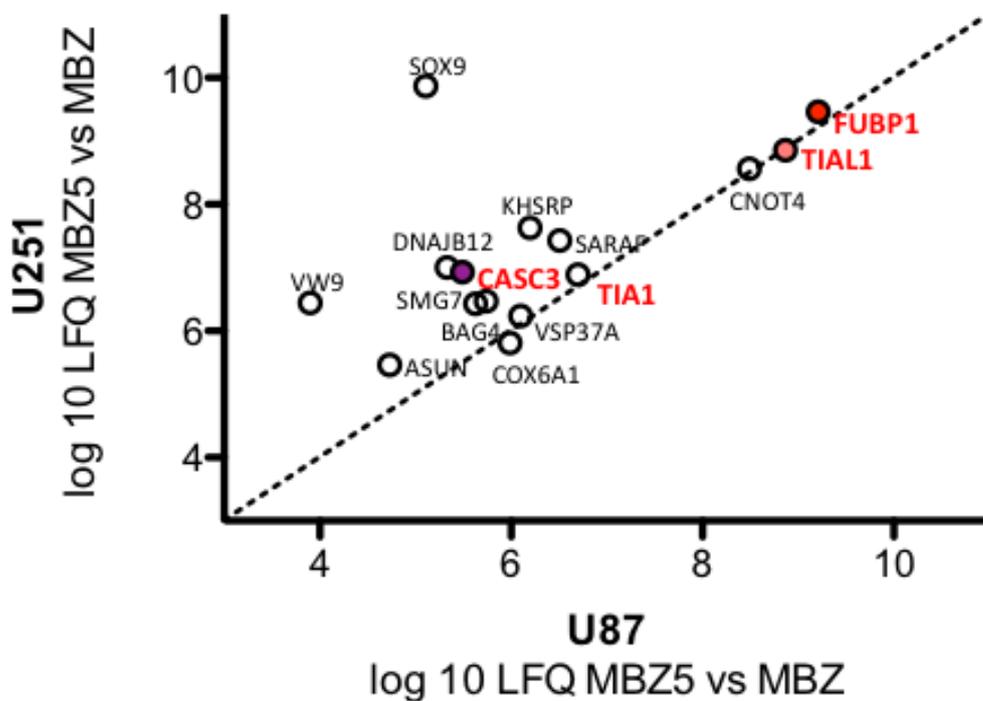


Figure 34 : Quantification des partenaires protéiques isolés après expérimentation de pull down.

Ces expérimentations de pull-down ont été réalisées sur 2 lignées cellulaires de GBM (U87 et U251) et ont permis d'identifier 23 partenaires protéiques pouvant représenter des cibles thérapeutiques potentielles à l'origine du mécanisme d'action anticancéreux du MBZ. Ces derniers ont pu être quantifiés en spectrométrie de masse (*Figure 34*). Les 15 protéines recensées majoritaires à la surface des billes ont été sélectionnées pour des études de validation fonctionnelle. L'extinction des gènes codant pour les 15 protéines identifiées a été réalisée sur des modèles sphéroïdes tumoraux par le biais de siRNA. Ces études ont permis de démontrer qu'après extinction de *CASC3*, *TIAL1*, et *FUBP1* les sphéroïdes présentaient un phénotype similaire à celui obtenu avec un traitement par MBZ avec une prolifération nettement diminuée (*Figure 35*).

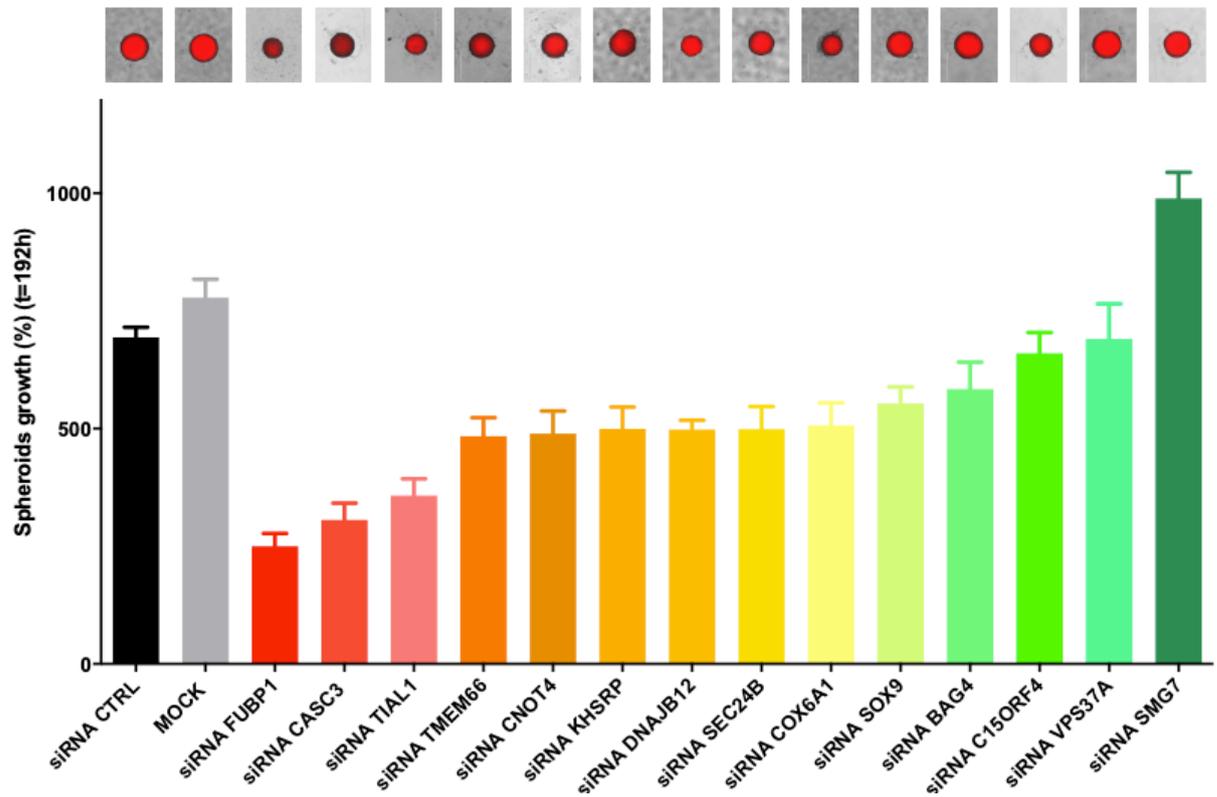


Figure 35: Évaluation de l'impact de la transfection sur la prolifération cellulaire par suivi du volume des sphéroïdes au cours du temps en mesurant le ratio de fluorescence (575 nm/620 nm) émis par les cellules U87 exprimant le marqueur fluorescent dsRed Barre d'erreur : Sem (n = 4)

L'analyse menée sur le réseau de cibles protéiques identifiées a permis de faire ressortir une voie de signalisation impliquée dans la formation des granules de stress (**Figure 36**).

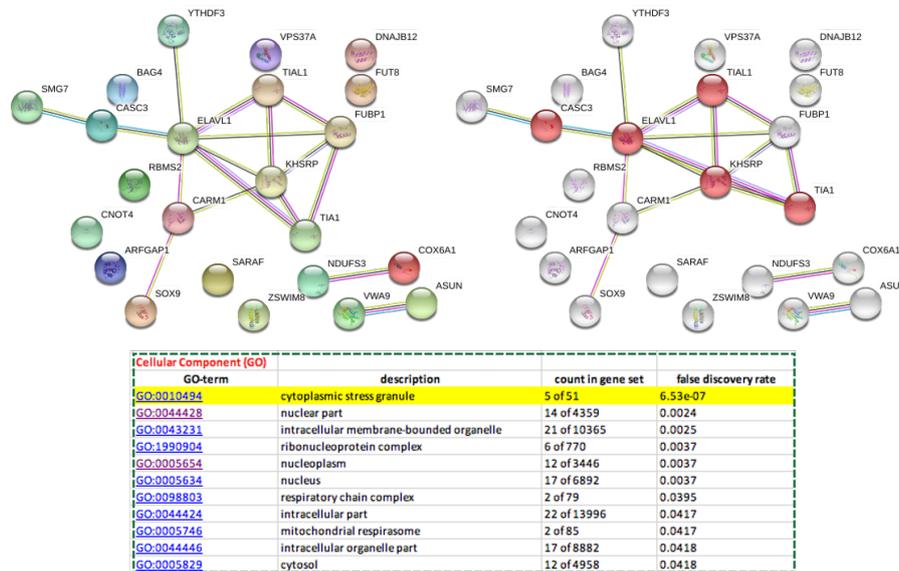


Figure 36: Analyses des voies de signalisation protéiques sur les 23 cibles protéiques identifiées par spectrométrie de masse

Les granules de stress constituent un mécanisme de protection de la cellule. Dans le cytoplasme, l'ARN messager (ARNm) oscille entre un état dit « polysomal », dans lequel il est prêt à être traduit en protéines, et un état non-polysomal, dans lequel les ARNm sont réprimés et peuvent former des granules. Ces granules d'ARNm assurent deux fonctions importantes dans la cellule : 1) le transport des ARNm pour leur traduction à distance du noyau, comme c'est le cas par exemple dans l'axone (fibre nerveuse) et 2) la régulation de l'expression de gènes en réponse à un stress, en stockant des ARNm dans des granules de taille de l'ordre de 0,2, à 0,3 μm . L'hypothèse majoritaire aujourd'hui considère que les ARNm des protéines non essentielles à la survie cellulaire seraient compris dans ces granules alors que ceux des protéines importantes pour la survie en seraient exclus³²⁵. La comparaison des protéines identifiées par click protéomique avec les protéines identifiées dans l'interactome des granules de stress a révélé de nombreuses similitudes. En effet, 43 protéines connues pour être impliquées dans la formation de granules de stress ont été identifiées parmi les intercteurs potentiels du MBZ (**Figure 37**).

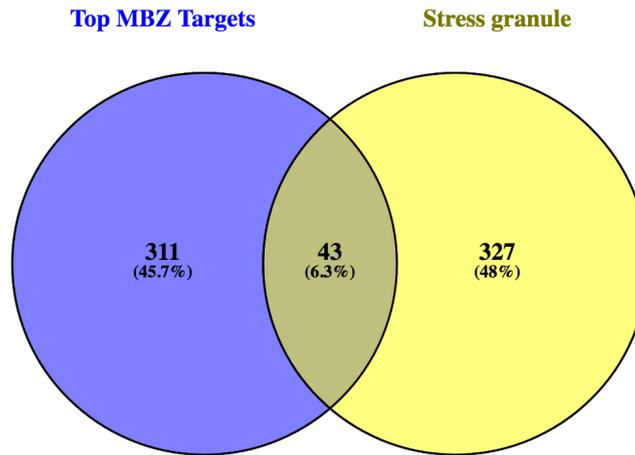


Figure 37: Diagramme de Venn montrant la proportion de cibles thérapeutiques du MBZ communes à l'interactome connu des granules de stress

De manière particulièrement intéressante, 6 des 12 protéines dont la suppression par interférence ARN inhibe la croissance de sphéroïdes tumoraux sont connues pour leur rôle dans les granules de stress :, CNOT4, CASC3, TIAL1, TIA1, FUBP1 et KHSRP .

Dans le but de valider les cibles protéiques du MBZ, les expériences de pull down ont été répétées. Celles-ci ont été réalisées selon le même protocole que décrit précédemment, en greffant du MBZ5 à la surface de billes (réactives par le biais d'une biotine clickable) mais cette fois-ci le pull down a été réalisé sur des lysats pré-traités avec différentes concentrations de MBZ. Le pré-traitement des cellules avec le composé non clickable permet au MBZ de saturer les sites de fixation de ses partenaires protéiques. Ainsi lorsqu'un pull down est réalisé sur des lysats pré-traités, nous observons une diminution du pull down des partenaires protéiques par le composé clickable (MBZ5). Ceci a été confirmé par La réalisation d'un gel au nitrate d'argent (**Figure 38**).

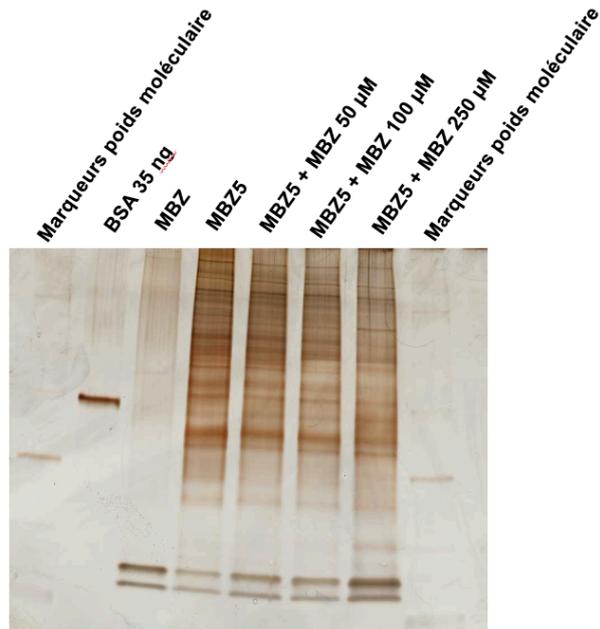


Figure 38: gel au nitrate d'argent obtenu après expérimentation de pull down en compétition

Après quantification de ces échantillons, nous avons pu constater une diminution significative de la quantité des protéines CASC3, TIAL1, TIA1, CNOT4 lorsque les cellules étaient pré-traitées par du MBZ à la concentration de 250 µM. En revanche aucune différence significative n'a pu être constatée pour FUBP1 et KHSRP. Ces résultats laissent ainsi suggérer qu'une de ces protéines pourrait représenter la cible thérapeutique du MBZ (**Figure 39**).

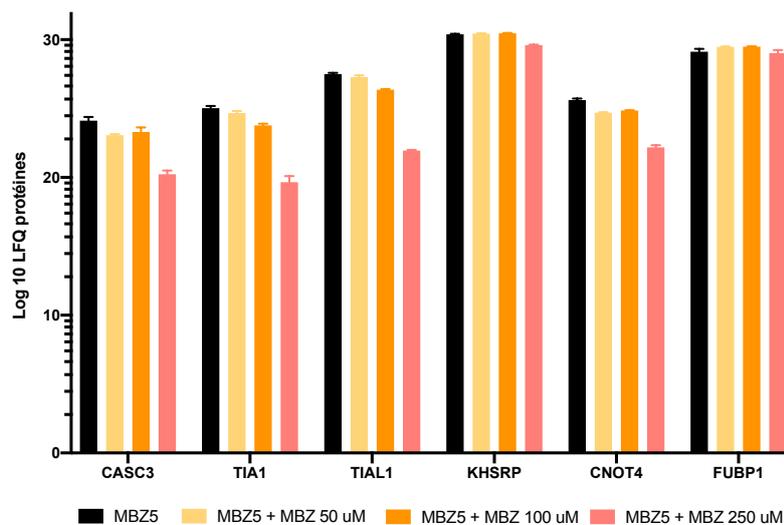


Figure 39: Quantification des partenaires protéiques isolés après expérimentation de pull down sur lysats prétraités par MBZ.

J'ai par la suite réalisé des expériences d'immunofluorescence afin d'étudier l'impact d'un traitement par MBZ sur la formation de granules de stress. La formation de granules de stress a été induite artificiellement par un traitement à l'Arsenic à 100 μ M durant 1h (contrôle positif), puis les cellules ont été traitées par MBZ à 0,1 μ M durant 2h. Nous avons pu constater une nette diminution de la formation de ces granules de stress (*Figure 40*).

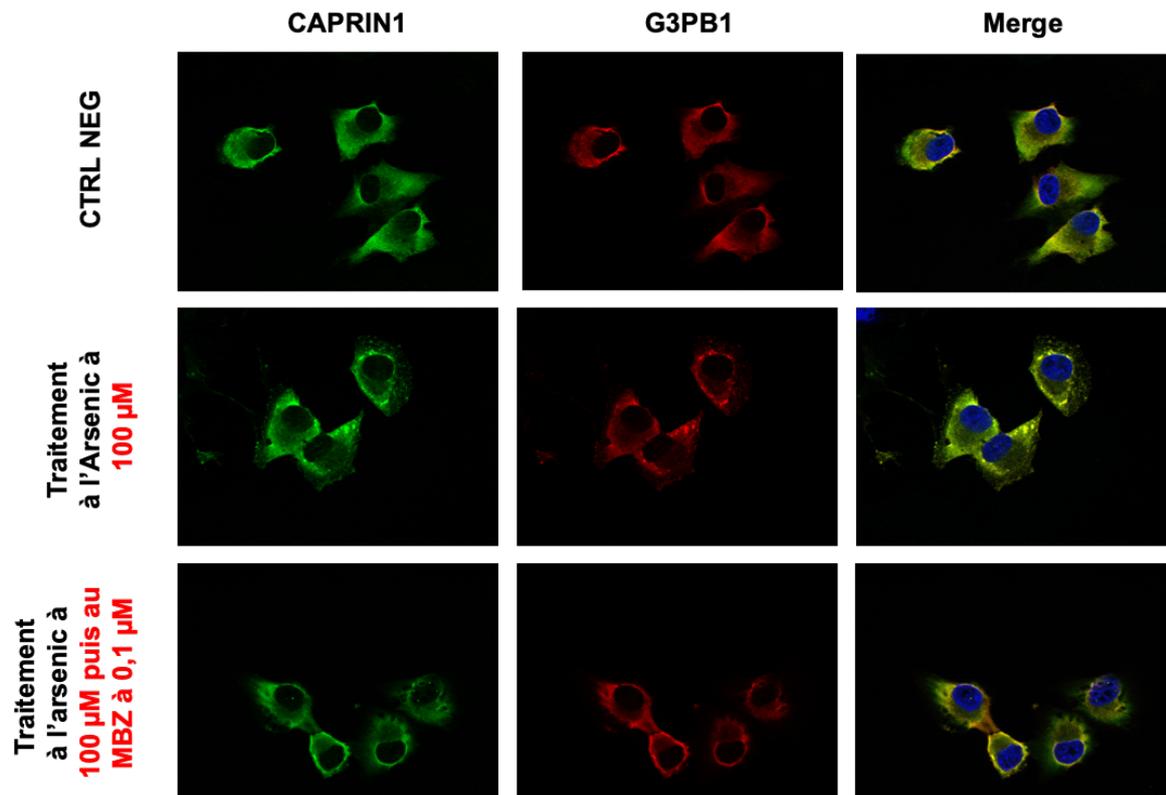


Figure 40: Immunofluorescences réalisées sur la lignée U87 avec ou sans induction du stress. Le stress a été induit par traitement à l'arsenic durant 1h et le traitement au MBZ a été réalisé durant 2H.

Dans une étude parue dans *Nucleic Acids Research*, grâce au couplage de méthodes originales comme la microscopie à force atomique (AFM) et la spectrométrie de masse d'ions secondaires (nanoSIMS), les auteurs ont révélé que les granules de stress résultent non pas de la présence de protéines issues du noyau et capables d'auto-agrégation (TIA-1 par exemple), comme admis jusqu'à présent, mais d'un excès soudain d'ARNm non-polysomal, que les protéines stabilisatrices ne parviennent pas à contrôler. La dissociation des granules d'ARNm serait alors orchestrée par le transport dans le cytoplasme de protéines nucléaires stabilisatrices, capables de désagréger les granules durant ou après le stress³²⁵. Ainsi, une régulation fine des niveaux

d'ARNm et de protéines stabilisatrices semble requise pour contrôler la formation de ces granules, et donc l'expression des gènes. Ce mécanisme protégerait les cellules en conditions de stress. Mais sa dérégulation, notamment dans les neurones, peut entraîner une formation incontrôlée de granules de stress, participant à des phénomènes neuro-pathologiques. En particulier, cette étude apporte un éclairage sur les mécanismes qui mènent à la formation d'inclusions cytoplasmiques de protéines associées à l'ARNm, observées dans des pathologies comme l'amyotrophie spinale et les dégénérescences fronto-temporales^{326,327,328,329}.

Des travaux complémentaires restent à réaliser afin de valider la cible primaire du MBZ parmi les cibles thérapeutiques identifiées par expérimentation de pull down. Des expériences d'immunofluorescence seront réalisées dans un premier temps afin d'étudier la localisation de CASC3, TIAL1, et TIA1 avant et après traitement par MBZ. Puis le MBZ5 sera clické par un fluorophore afin d'évaluer s'il est possible d'observer une co-localisation entre le MBZ5 et ces 3 protéines. Des expérimentations d'ARN interférence seront également réalisées sur ces 3 cibles afin d'étudier l'impact d'une diminution de leur expression protéique sur la formation ou la désagrégation des granules de stress. Enfin, des expérimentations de pull down seront réalisées sur des lysats où l'expression protéique de CASC3, TIAL1 et TIA1 aura été éteinte. Les conditions utilisées dans le pull down que j'ai pu mettre au point ne sont pas dénaturantes pour les interactions entre protéines. Ainsi, nous pouvons imaginer qu'au cours de ces expérimentations, le pull down réalisé permet d'isoler des complexes protéiques ou des protéines seuls. C'est pourquoi le pull down que je réaliserai sur des lysats de cellules transfectées par des siRNA ciblant l'une des trois cibles précédemment évoquées devrait me permettre de discriminer la cible protéique primaire du MBZ de ses interacteurs secondaires.

Le résumé des différentes étapes de cette approche pour le mebendazole est représenté sur la **Figure 41**.

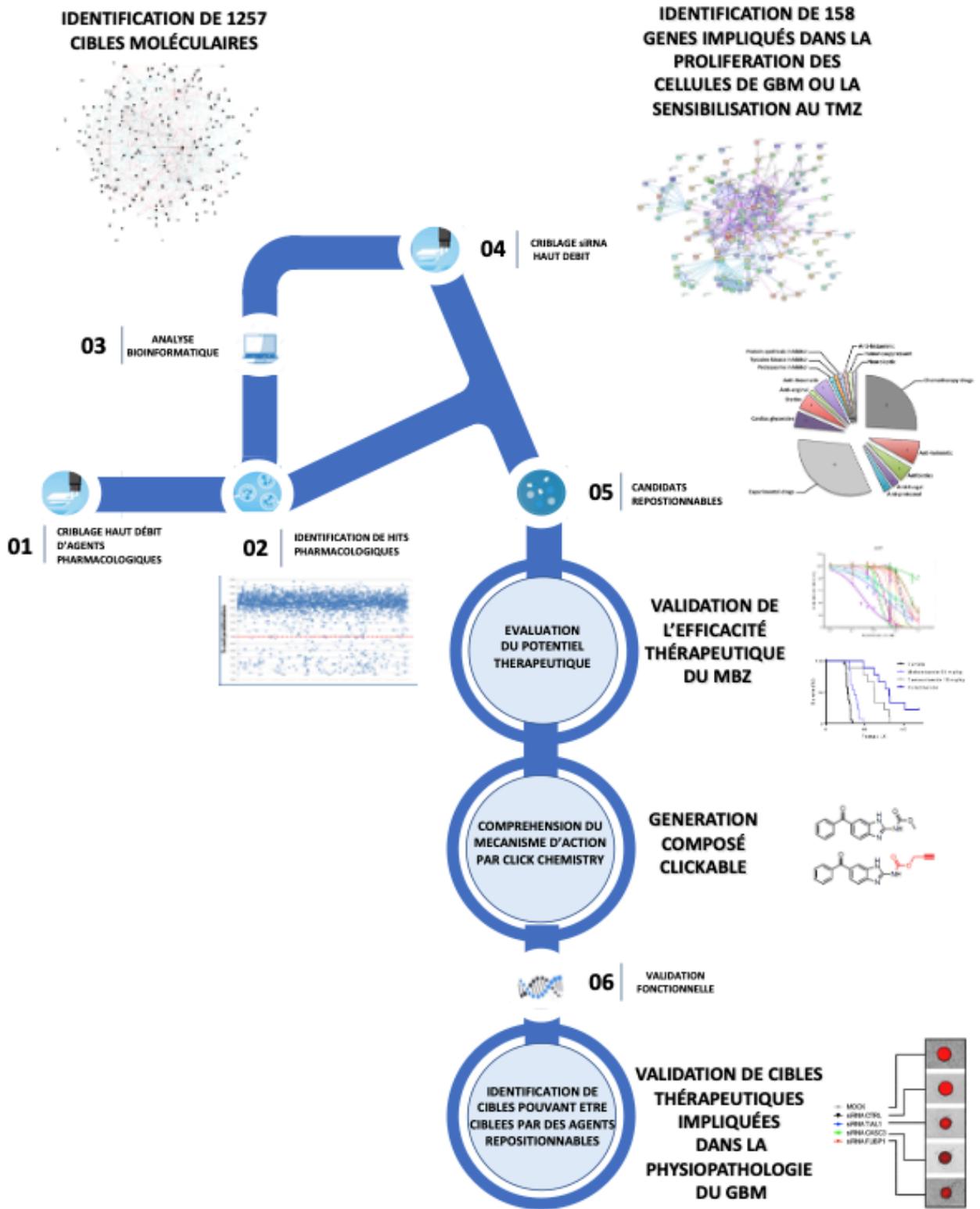


Figure 41 : Résumé de l'approche de click chemistry appliquée au mebendazole

IV) Cadre réglementaire du repositionnement de médicaments :

Lors du développement d'une nouvelle indication thérapeutique pour un médicament autorisé qui ne fait pas partie des brevets de base et de la protection réglementaire, une question clé est de savoir comment cette nouvelle utilisation sera traduite dans la pratique clinique. Ici, nous allons aborder deux options pertinentes pour accorder aux patients l'accès aux médicaments repositionnés. La première option est d'approuver la nouvelle indication et de la mettre sur l'étiquette *via* les procédures réglementaires établies dans la législation européenne et nationale. La deuxième option est de permettre la prescription de la nouvelle indication hors AMM sur la base des cadres nationaux.

A) Obtention de nouvelles indications pour un médicament repositionnable :

1) Cadre réglementaire européen pour une demande d'AMM :

La demande d'AMM pour une nouvelle indication entame une évaluation détaillée et indépendante de la qualité et du rapport bénéfice / risque d'un médicament dans cette indication spécifique, qui est résumée et publiée dans le rapport public d'évaluation et dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP). Une telle évaluation profite à la fois aux prescripteurs et aux patients car elle les rassure sur le fait que les données scientifiques à l'appui de la nouvelle indication thérapeutique sont solides. Aujourd'hui, la majorité des nouveaux médicaments innovants est évaluée par l'Agence européenne des médicaments (EMA) et autorisée *via* la procédure centralisée, résultant en une AMM unique valable dans tous les États membres de l'UE et les pays de l'Espace économique européen (EEE). Cependant, certains produits (en particulier de nombreux médicaments plus anciens) sont autorisés au niveau national *via* les procédures décentralisées de reconnaissance mutuelle, ce qui entraîne des autorisations nationales de mise sur le marché. Quel que soit le type de procédure utilisée, les exigences en matière de données et les normes AMM sont comparables dans toute l'UE.

Il n'existe pas de directive réglementaire européenne spécifique destinée au repositionnement des médicaments, mais diverses bases juridiques sont disponibles pour faire approuver de nouvelles indications thérapeutiques et les appliquer de manière officielle (*Figure 42*)^{330,331}.

New therapeutic indication					
On-label EU and national legislation				Off-label National frameworks	
Variation or extension of MA Reg (EC) No 1234/2008		New full or abridged MA Directive 2001/83/EC			Off-label prescription Country-specific tools
Type II variation (C.I.6.a scope) Annex II	MA extension (line extension) Annex I	Mixed MA Art 8(3) + Annex I, PII(7)	WEU MA Art 10(a) + Annex I, PII(1)	Hybrid MA Art 10(3)	Legal provisions, reimbursement measures, guidelines,...

Figure 42: Cadres réglementaires pour l'utilisation dans le cadre ou en dehors du cadre de l'AMM de nouvelles indications thérapeutiques en Europe. Autorisation de mise sur le marché (AMM), utilisation bien établie (UEO), règlement de la commission (Reg).

Frontiers in pharmacology. On-Label or Off-Label? Overcoming Regulatory and Financial Barriers to Bring Repurposed Medicines to Cancer Patients. *Verbaanderd et al. 2020.*

Tout d'abord, le titulaire d'une AMM peut demander une modification de type II de son produit autorisé, plus précisément une variation de périmètre C.I.6.a pour l'ajout d'une nouvelle indication thérapeutique ou la modification d'une indication approuvée, sous la même AMM. Les variations pour l'extension de l'indication sont assez courantes en oncologie et sont généralement gratifiantes pour une entreprise car cela augmente la population de patients susceptibles de se voir prescrire leur médicament. Par exemple, le paclitaxel, initialement indiqué pour le traitement du cancer du sein, a ensuite été autorisé pour le traitement du cancer du poumon non à petites cellules et de l'adénocarcinome du pancréas métastatique^{332,333}. Cependant, certains changements ne peuvent pas être accordés *via* une procédure de variation, par exemple lorsqu'un changement d'indication s'accompagne de changements dans la concentration, la forme pharmaceutique ou la voie d'administration du médicament^{331,334}. Dans ce cas, une extension de l'AMM (une extension de ligne) doit être soumise. Elle est évaluée selon la même procédure que pour l'AMM initiale à laquelle elle se rapporte. L'extension peut être accordée sous la forme d'une nouvelle AMM ou être incluse dans l'AMM initiale³³⁵. Dans le cas où le changement d'indication thérapeutique s'applique également aux présentations existantes, la demande doit être présentée sous la forme d'un regroupement d'une extension de ligne et d'une variation de portée C.I.6.a³³⁴. Toutes les nouvelles indications doivent être étayées par des preuves (pré-)cliniques suffisantes, fournies par le demandeur et peuvent être complétées par des références bibliographiques si elles sont disponibles³³⁵. En outre, tout

développeur de médicaments peut demander une nouvelle AMM pour une substance active existante avec une nouvelle indication thérapeutique. Cette voie permettrait à un développeur de commercialiser le produit avec l'indication de repositionnement sous un autre nom, spécifique à l'indication. Pour utiliser les données scientifiques publiées dans la littérature, une demande d'AMM complète peut être soumise. Il s'agit d'une application autonome dans laquelle des références bibliographiques peuvent être utilisées pour soutenir ou remplacer certaines des données (non) cliniques du dossier réglementaire. Alternativement, une demande d'utilisation bien établie ou de «documentation uniquement» peut être soumise pour une substance active bien connue si la sécurité et l'efficacité peuvent être démontrées par une utilisation extensive et continue de l'indication spécifique dans l'UE sur une période d'au moins 10 ans. Pour ce type d'application, tous les résultats des tests et des essais seront remplacés par une documentation scientifique appropriée (à l'exception des études à des fins de transition). Par exemple, le mitotane, un médicament bien établi utilisé dans le traitement du carcinome cortical surrénal en Europe depuis 1959, a été autorisé par cette voie en 2004 sur la base des résultats de 220 études publiées³³⁶.

Une autre voie qui est parfois mentionnée dans le contexte du repositionnement de médicaments est appelée voie d'application hybride, qui vise des médicaments qui diffèrent de leur molécule de référence par leur indication thérapeutique, leur concentration, leur forme pharmaceutique ou leur voie d'administration³³⁷. Cette procédure abrégée permet le recoupement avec les données existantes dans le dossier d'enregistrement du médicament de référence, mais nécessite également de nouvelles données d'essai pour étayer la nouvelle utilisation. Cependant, en pratique, cette voie est principalement utilisée pour les applications de médicaments génériques où il existe des différences «mineures» avec le médicament de référence, par exemple pour des changements mineurs dans les indications dans le même domaine thérapeutique³³⁰.

En résumé, la base juridique variera en fonction du type de demandeur (par exemple, seul le titulaire de l'AMM peut demander une procédure de modification ou d'extension) et de la quantité de données qui peuvent être extraites de la littérature publiée. Des avis scientifiques et réglementaires peuvent être demandés au niveau national ou européen pour mieux comprendre les différentes voies réglementaires et le niveau de preuve requis pour l'autorisation de mise sur le marché de la nouvelle indication^{338,339}. Un autre aspect important qui doit être pris en considération lors du choix de la voie réglementaire à suivre est les incitations disponibles décrites ci-dessous.

2) Incidations réglementaires à l'obtention d'AMM :

Chaque nouveau médicament actif obtient une période de 8 ans de protection des données suivie d'une période de 2 ans de protection de commercialisation à compter de la date d'autorisation initiale. Toute variation et extension sera considérée comme appartenant à la même AMM globale, notamment en ce qui concerne les données et les règles de protection du marketing. Cela signifie que la période d'exclusivité de 10 ans ne peut être accordée qu'une seule fois par substance active faisant l'objet d'une AMM détenue par le même titulaire. Afin de permettre aux entreprises de récupérer leurs investissements pour le développement de nouvelles indications pour les thérapies commercialisées, certaines exclusivités réglementaires supplémentaires ont été établies en Europe (**Figure 43**)^{340,341}.

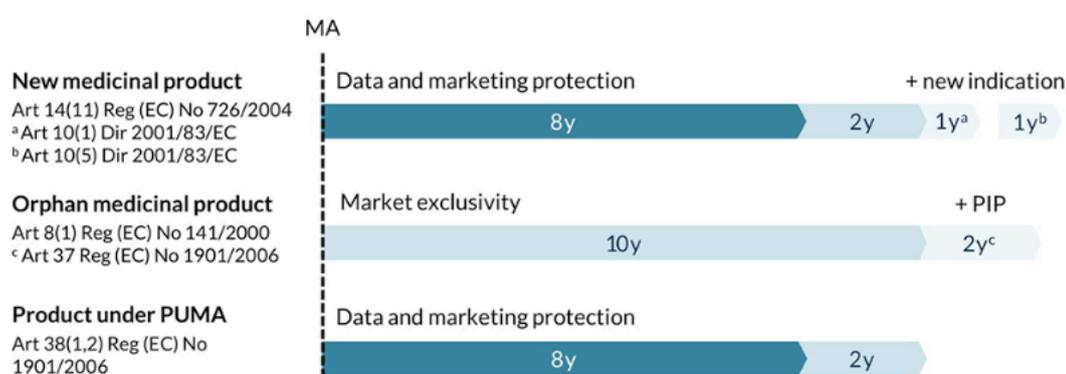


Figure 43 :Aperçu des exclusivités réglementaires pertinentes pour le développement de nouvelles utilisations en Europe.

Autorisation de mise sur le marché (AMM), plan d'investigation pédiatrique (PIP), AMM pédiatrique (PUMA), règlement (Reg), directive (Dir).

Frontiers in pharmacology. On-Label or Off-Label? Overcoming Regulatory and Financial Barriers to Bring Repurposed Medicines to Cancer Patients. Verbaanderd et al. 2020.

Premièrement, le titulaire de l'AMM peut bénéficier d'une année supplémentaire de protection de commercialisation pour une ou plusieurs nouvelles indications thérapeutiques, avec un bénéfice clinique significatif par rapport aux thérapies existantes, sollicitées au cours des 8 premières années³⁴². Deuxièmement, une période non cumulative de 1 an d'exclusivité des données peut être accordée pour une nouvelle indication pour une substance bien établie, si des études pré-cliniques ou cliniques significatives ont été réalisées en relation avec la nouvelle indication³⁴³. Cependant, un rapport de juin 2017 sur les incitations et récompenses

pharmaceutiques en Europe a montré que cette dernière incitation n'avait jamais été accordée pour une substance approuvée par la procédure centralisée³⁴⁴. Dans certains cas, les développeurs de médicaments peuvent choisir de reformuler, de protéger (par exemple, par le biais de deuxièmes brevets à usage médical) et de renommer un médicament établi pour créer une protection juridique et stratégique suffisante contre les concurrents génériques^{345,346,347}. Pour les développeurs autres que le titulaire de l'AMM d'origine, une nouvelle demande d'AMM complète peut même offrir une période de 10 ans de protection des données et de la commercialisation du produit repositionné³⁴⁸. Le repositionnement de médicaments existants peut être particulièrement utile dans les zones où les besoins sont insatisfaits, par exemple pour traiter les patients atteints de maladies rares^{348,349}. En réalité, des études ont montré qu'environ un médicament orphelin sur cinq est un médicament établi qui a été repositionné pour une nouvelle indication³⁵⁰. Les médicaments répondant aux critères de désignation orpheline (règlement orphelin (CE) n ° 141/2000) ont droit à une période d'exclusivité commerciale de 10 ans, éventuellement suivie de deux années supplémentaires si un plan d'investigation pédiatrique (PIP) est achevé (**Figure 44**).

Active substance	Original indication	EU OD indication (cancer)	Designation date	Sponsor
Brivudine	Viral infections	Pancreatic cancer	2010	RESprotect GmbH
Chloroquine	Malaria	Gloma	2014	DualTpharma B.V.
Efloornithine + Sulindac	African trypanosomiasis, hirsutism	Familial adenomatous polyposis	2010	Cancer Prevention Pharma Ltd
		Neuroblastoma	2011	Cancer Prevention Pharma Ltd
		Gloma	2016	Orbus Therapeutics Ltd
		Familial adenomatous polyposis	2013	Cancer Prevention Pharma Ltd
Flucytosine	Fungal infections	Gloma	2018	Richardson Associates Regulatory Affairs Ltd
Itraconazole	Fungal infections	Naevoid basal-cell carcinoma syndrome	2017	Mayne Pharma UK Ltd
Ketoconazole	Fungal infections	Granulosa cell tumors	2017	Grupo Español de Tumores Huérfanos e Infrecuentes (GETHI)
Miltefosine	Leishmaniasis	Cutaneous T-cell lymphoma	2008	ExparGen Drug Development GmbH
Naloxone	Opioid overdose	Cutaneous T-cell lymphoma	2012	Winston Laboratories Ltd
Propranolol	Hypertension	Soft tissue sarcoma	2016	The Anticancer Fund
Valproic acid + Carboplatin	Epilepsy	Diffuse large B-cell lymphoma	2016	Valcuria AB
	Multiple cancer types	Gloma	2018	Dr Ulrich Granzler
Zoledronic acid	Osteoporosis	Gloma	2016	Laboratorio Italiano Biochimico Farmaceutico Lisapharma S.p.A.

Orphan designation (OD), naloxone hydrochloride dehydrate, naloxone.
Source: Community Register of orphan medicinal products for human use, last update in August 2019.

Figure 44: Désignations orphelines européennes de médicaments non cancéreux dans les indications cancéreuses.

Frontiers in pharmacology. On-Label or Off-Label? Overcoming Regulatory and Financial Barriers to Bring Repurposed Medicines to Cancer Patients. Verbaanderd et al. 2020.

Pendant cette période d'exclusivité, aucune autre demande d'AMM ne peut être approuvée pour la même indication thérapeutique pour un médicament similaire, y compris les variations ou les extensions, à moins que le deuxième médicament ne soit plus sûr, plus efficace ou cliniquement supérieur. D'autres incitations pour les médicaments orphelins incluent

l'assistance au protocole, l'accès à la procédure centralisée et les réductions de frais pour les procédures réglementaires. La thalidomide, un médicament qui a été retiré du marché dans les années 1960 pour ses effets indésirables désastreux lors de son utilisation pendant la grossesse, est un exemple bien connu d'un médicament qui a été repositionné avec succès pour le traitement du myélome multiple *via* la voie des médicaments orphelins³⁵¹. Il convient de noter que 12 autres médicaments non cancéreux qui sont actuellement à l'étude pour leur nouvelle utilisation dans le cancer ont obtenu la désignation de médicament orphelin en Europe (**Figure 45**).

Country	Legal provision	Institution	Reimbursement	Legal basis
France	Temporary recommendations for use (RTU) scheme	National Agency for Medicines and Health Products Safety (ANSM)	Yes, even if authorized alternative medicinal products exist (for economic reasons)	Art L5121-12-1 and Art R5121-76-1 and following of the Public Health Code
Hungary	Individual authorization for off-label prescribing upon request of treating physician	National Institute for Quality and Organizational Development in Healthcare and Medicines (GYEMSZI)	Yes, but on an individual basis within the named patient-based reimbursement system	Section 25 of Act No. XCV of 2005 and Decree No. 44/2004 of the Ministry for Health Care, Social Affairs, and Family
Italy	Permissions for off-label use under certain conditions	Italian Medicines Agency (AIFA)	Yes, if included in AIFA "List 648." Even if authorized alternative medicines exist	Law no. 648/1996, Law no. 94/1998 Art 3(2), Law no. 79/2014
Greece	Permissions for off-label use under certain conditions	National Organization for the Provision of Health Services (EOPYY)	Yes, if included in therapeutic protocols and approved by National Healthcare Council (KESY) or upon individual request of healthcare practitioner	Ministerial Decision No. ΔΥΤ3 (α)/α.κ. ΤΥ/154 and Article 47 of Law 4316/2014
Germany	Recommendations for off-label prescribing by four "off-label expert panels"	Federal Joint Committee (G-BA)	Yes, if included in part A of Appendix VI of pharmaceutical directive	Article § 35c(1) of the SGB V

Figure 45: Cadres juridiques nationaux pour l'utilisation hors AMM dans certains pays de l'Union européenne (UE).

Frontiers in pharmacology. On-Label or Off-Label? Overcoming Regulatory and Financial Barriers to Bring Repurposed Medicines to Cancer Patients. Verbaanderd et al. 2020.

Des incitations similaires existent pour les médicaments développés exclusivement pour une utilisation dans la population pédiatrique. Le règlement pédiatrique de l'UE n°1901/2006 a introduit l'AMM à usage pédiatrique (PUMA) pour les médicaments qui ont été autorisés et ne peuvent plus être couverts par un certificat complémentaire de protection ou un brevet³⁵². Un PUMA offre des incitations telles que l'accès automatique à la procédure centralisée, une exemption partielle des frais et une période de 10 ans de protection des données et de la commercialisation (**Figure 44**). Le propranolol, un bêta-bloquant non sélectif, est un exemple d'un médicament bien connu qui a été reformulé pour une utilisation chez les enfants atteints d'hémangiomes proliférants, autorisé *via* la voie PUMA et renommé avec succès Hemangirol dans l'UE^{353,72}. Cependant, à ce jour, seuls six PUMA ont été accordés dans l'UE, même si la littérature scientifique propose plus de 100 opportunités de repositionnement en pédiatrie^{354,355}.

3) Prix, remboursement et utilisation clinique :

L'étape essentielle suivante pour apporter un traitement aux patients consiste à fixer le prix et à décider du remboursement du médicament, qui a lieu au niveau national dans l'UE et varie selon les pays^{356,357}. Lorsqu'une nouvelle indication est introduite, la tarification du médicament existant peut être réévaluée et renégociée dans certains pays, comme la France, l'Italie et l'Espagne³⁴¹. L'introduction d'une nouvelle indication pour un produit qui était déjà sur le marché peut entraîner des baisses de prix en raison d'une combinaison d'accords prix / volume, de prix de référence externes ou d'une analyse d'impact budgétaire³⁴¹. En revanche, une entreprise pourrait demander une augmentation de prix pour compenser les investissements réalisés pour développer la nouvelle indication, mais les payeurs sont généralement réticents à consentir à un tarif plus élevé pour une nouvelle indication d'un médicament existant^{358,359,360}. En outre, la démonstration de la rentabilité est un facteur important pour les décisions de remboursement et pour l'inclusion dans les formulaires nationaux ou régionaux. Le rapport coût-efficacité peut être difficile à établir lorsque le prix du médicament repositionné est nettement supérieur au prix du médicament d'origine, en particulier si des preuves d'efficacité sont disponibles dans la littérature publiée et qu'aucun test supplémentaire n'est requis^{361,362}. Par exemple, l'acide chénodésoxycholique (CDCA) était un médicament à faible coût développé à l'origine pour traiter les calculs biliaires dans les années 1970 et plus tard largement utilisé hors AMM pour traiter les patients atteints de la maladie métabolique héréditaire xanthomatose cérébrotendineuse (CTX). Depuis 2017, le CDCA est officiellement autorisé en Europe en tant que médicament orphelin pour le traitement du CTX et commercialisé par Leadiant Biosciences à un prix beaucoup plus élevé³⁶³. Cette hausse des prix a conduit au non-

remboursement du médicament dans plusieurs pays de l'UE³⁶⁴. Idéalement, la nouvelle indication serait également incluse dans les directives de traitement clinique disponibles au niveau européen (par exemple, les directives de pratique clinique de la Société européenne d'oncologie médicale (ESMO)) et / ou au niveau national pour soutenir l'adoption clinique.

4) Défis dans l'apport de nouvelles indications pour des médicaments repositionnables :

Même si le repositionnement de médicaments est considéré comme relativement bon marché par rapport au développement de médicaments *de novo*, l'approbation d'une nouvelle indication peut encore entraîner des coûts élevés^{360,365}. Ces coûts comprennent les frais de demandes d'autorisation, d'avis scientifiques et de pharmacovigilance pour les nouvelles indications. Par exemple, en 2019, les frais de l'EMA pour une demande d'AMM commençaient à 291 800 €, les frais d'extension de l'AMM s'élevaient à 87 600 € et les frais de conseil scientifique allaient de 43 700 à 87 600 €³⁶⁶. En outre, la demande d'AMM pour une nouvelle indication peut entraîner une charge administrative élevée. L'étiquette du produit et le système de pharmacovigilance doivent être mis à jour pour une nouvelle indication³⁶⁰ et, dans certains cas, un plan de gestion des risques et/ou un plan d'investigation pédiatrique (PIP) doivent être soumis³⁴¹.

Les sociétés pharmaceutiques choisissent souvent de ne pas investir dans de nouvelles indications thérapeutiques après l'expiration des brevets de base et des périodes de protection réglementaire de leurs produits approuvés^{340,341}. Les demandes de brevet pour des utilisations secondaires offrent souvent une protection plus faible que les brevets de produit de base principal, de sorte que le risque de parasitisme par les concurrents est élevé³⁶⁷. Le développement d'une nouvelle indication en dehors de l'orientation thérapeutique d'une entreprise est également à haut risque et coûteux^{346,368}. Au lieu de cela, les entreprises peuvent réellement bénéficier de la prescription hors AMM de leurs produits, car cela élargit la population de patients sans qu'elles aient à demander une modification ou une extension de l'autorisation de mise sur le marché^{367,360}. De plus, la recherche a montré que la base de données probantes à l'appui de nouvelles utilisations de médicaments non brevetés commercialisés dans le traitement anticancéreux est largement fondée sur la recherche universitaire ou indépendante³³⁸.

Une collaboration entre des chercheurs universitaires ou indépendants et l'industrie pharmaceutique pourrait potentiellement faciliter les essais pivots et les procédures d'AMM pour de nouvelles indications, mais convaincre les sociétés pharmaceutiques d'unir leurs forces

s'est révélé assez difficile^{369,370}. Les fondations de recherche ou les établissements universitaires ne sont généralement pas titulaires d'une AMM d'un médicament repositionné, ce qui signifie qu'ils ne peuvent pas demander de modification pour ajouter une nouvelle indication à une étiquette de produit existante³⁶⁰. Cependant, aucun obstacle juridique ne les empêche de demander une nouvelle AMM pour le médicament dans la nouvelle indication^{367,350,371}. Bien que cette approche puisse théoriquement déboucher sur des médicaments réutilisés plus abordables, plusieurs obstacles existent. Compte tenu des coûts élevés et de la charge administrative mentionnés ci-dessus, la plupart des chercheurs et des organisations non industriels ne disposent pas de l'infrastructure, de l'expertise et des ressources nécessaires pour satisfaire aux exigences afin d'obtenir et maintenir une AMM (y compris la préparation du dossier réglementaire, la surveillance de la sécurité, la fourniture d'informations médicales à jour dans le RCP et dépliant d'information pour les patients, etc.)^{372,350,360}. En outre, les chercheurs universitaires sont encouragés à diffuser leurs résultats par le biais de publications scientifiques, mais ils ne sont pas (systématiquement) récompensés pour avoir engagé des procédures d'AMM et d'accès au marché³⁷³. Les incitations réglementaires actuelles sont conçues pour promouvoir le développement des sociétés pharmaceutiques, tandis que les incitations pour soutenir le développement des secteurs sans but lucratif et universitaire font défaut.

B) La prescription de nouvelles utilisations hors AMM :

1) Cadres législatifs nationaux pour une utilisation hors AMM :

Étant donné que la plupart des médicaments repositionnés est déjà autorisée et commercialisée pour différentes indications, ces médicaments pourraient être prescrits hors AMM aux patients ayant des besoins médicaux non satisfaits dans certains pays^{374,375}. L'utilisation hors AMM peut être définie comme toute utilisation intentionnelle d'un produit autorisé non couvert par les termes de son AMM, par exemple pour une autre indication, un groupe de patients différent, une dose ou un intervalle de doses différent, ou encore une autre voie d'administration que celle indiquée dans le RCP^{376,375}. Contrairement au cadre juridique strict de l'AMM, l'utilisation effective des médicaments dans la pratique médicale n'est pas réglementée par la législation de l'UE. Les États membres gèrent cela de différentes manières car il n'y a pas de cadre européen pour l'utilisation hors AMM des médicaments. Selon une étude commandée par la Commission Européenne, seuls 10 des 21 États membres qui ont participé à cette étude disposent d'outils politiques spécifiques pour gérer l'utilisation hors AMM³⁷⁵. Par exemple, la France, la Hongrie, l'Italie, la Grèce et l'Allemagne ont des cadres juridiques pour l'utilisation hors AMM établis par leurs lois nationales (*Figure 41*). Ces cadres varient en portée et en rigueur, et se concentrent en grande partie sur les conditions dans lesquelles l'utilisation hors AMM est autorisée et potentiellement également remboursée. Les conditions concernent la base scientifique de l'utilisation hors AMM, la nécessité d'un consentement éclairé explicite des patients, la gravité de la maladie (menaçant le pronostic vital ou non), ou la disponibilité de traitements alternatifs autorisés^{376,375}. Dans certains pays, des lignes directrices et des politiques cliniques sont fournies pour guider l'utilisation hors AMM des médicaments et les options de traitement hors AMM pour lesquelles des preuves scientifiques solides existent. Celles-ci sont parfois incluses dans les lignes directrices et les formulaires de traitement clinique^{376,371}.

2) Risques liés à la prescription de nouvelles utilisations hors AMM :

Même si l'utilisation hors AMM pourrait offrir un accès rapide à de nouvelles options de traitement, elle comporte également des risques importants pour les patients, les médecins et la société en général. Premièrement, les prescripteurs sont confrontés à une incertitude importante quant aux preuves scientifiques à l'appui d'une utilisation hors AMM, car le rapport bénéfice / risque n'a pas été évalué par les autorités compétentes et des données cliniques solides peuvent faire défaut^{377,341}. Les incohérences dans les recommandations d'utilisation hors AMM entre les directives de traitement, les recueils de médicaments et les examens des preuves

compliquent encore les décisions de traitement^{378,379}, et jusqu'à présent, seuls quelques systèmes dédiés de collecte de données ont été mis en place. Cela pourrait aider à étayer la base de preuves avec des données réelles. Un autre obstacle majeur pour les médecins est le risque de responsabilité légale au cas où un patient subirait des événements indésirables en utilisant le produit en dehors du RCP approuvé^{380,377}. Il convient de noter que les effets indésirables résultant de l'utilisation du produit en dehors des conditions de l'AMM sont déjà saisis par le système de pharmacovigilance actuel. Du point de vue du patient, le manque de preuves scientifiques solides pour soutenir l'utilisation hors AMM, le manque d'informations dans la notice et le matériel du patient pour l'indication spécifique, le risque d'événements indésirables inconnus et l'absence d'un plan de gestion des risques sont les principaux obstacles^{377,381}. De plus, tous les pays ne soutiennent pas le remboursement de l'utilisation hors AMM, certains traitements hors AMM pourraient donc être inabordables pour les patients³⁴¹. Un autre défi est le risque de perdre soudainement un médicament qui est largement utilisé hors AMM pour une certaine indication, si le fabricant décide de le retirer du marché³⁸². Ainsi, même si la prescription hors AMM de médicaments réutilisés peut être très utile dans des cas individuels, d'importants défis éthiques et juridiques existent³⁸⁰.

V) Discussion :

Malgré les progrès technologiques et l'amélioration des connaissances sur les maladies humaines, la traduction de ces avantages en avancées thérapeutiques a été beaucoup plus lente que prévu^{43,13}. Les défis auxquels l'industrie pharmaceutique mondiale est confrontée sont multiples et comprennent des contraintes de plus en plus élevées^{383,384}. Ces contraintes sont ainsi associées à un délai plus long pour l'introduction de nouveaux médicaments sur le marché dans certains domaines thérapeutiques. A ceci s'ajoute des exigences réglementaires changeantes, qui peuvent toutes contribuer à des coûts plus élevés. Le coût croissant et la durée nécessaire au développement de nouveaux médicaments signifient que pour chaque dollar dépensé en R&D, nous estimons à moins d'un dollar de valeur retournée en moyenne, ce qui pourrait faire de l'industrie pharmaceutique un choix moins souhaitable pour les investisseurs.

Le repositionnement de médicaments est une stratégie permettant d'identifier de nouvelles utilisations à des médicaments déjà approuvés ou développés à des fins expérimentales qui n'entrent pas dans le cadre de l'indication médicale d'origine⁴³. Cette stratégie offre divers avantages par rapport au développement d'un médicament entièrement nouveau pour une indication donnée. Premièrement, le risque d'échec est moindre; dans la mesure où le médicament réutilisé s'est déjà avéré suffisamment sûr dans les modèles pré-cliniques et chez l'homme si les essais préliminaires ont été menés à bien. Il est donc moins susceptible d'échouer, du moins du point de vue de la sécurité, lors des essais d'efficacité ultérieurs. Deuxièmement, le délai de développement du médicament peut être réduit car la plupart des tests précliniques, l'évaluation de la sécurité et, dans certains cas, le développement de la formulation sont déjà terminés. Troisièmement, moins d'investissement est nécessaire, même si cela variera considérablement en fonction du stade et du processus de développement du candidat repositionné³⁶⁵. Les coûts réglementaires ainsi que ceux associés à la réalisation de phase III peuvent rester plus ou moins les mêmes pour un médicament repositionné que pour un nouveau médicament dans la même indication, mais des économies pourraient encore être réalisés au niveau des études précliniques et de phase I et II. Ensemble, ces avantages pourraient entraîner un retour sur investissement moins risqué et plus rapide dans le développement de médicaments repositionnés, avec des coûts associés moyens plus faibles une fois que les échecs ont été pris en compte. En effet, les dépenses associées à la commercialisation d'un médicament repositionné sont estimées à 300 millions de dollars américains, contre environ 2 à 3 milliards de dollars américains pour une nouvelle molécule chimique³⁸⁵. Enfin, les médicaments repositionnés peuvent révéler de nouvelles cibles et voies de signalisation pouvant être

exploitées pour le développement de nouvelles thérapies ou facilitant la compréhension de la biologie des cancers et de la résistance au traitement.

Historiquement, le repositionnement de médicaments a émergé suite à des découvertes opportunistes et fortuites. Une fois qu'un médicament s'est révélé avoir un effet ciblé nouvellement reconnu, il a été utilisé pour une exploitation commerciale. En effet, les exemples de succès de repositionnement de médicaments n'ont pas impliqué d'approche systématique. La réutilisation du citrate de sildénafil pour le traitement de la dysfonction érectile est basée sur l'expérience clinique rétrospective. Le sildénafil a été développé à l'origine en tant que médicament antihypertenseur, mais lorsqu'il a été réutilisé par Pfizer pour le traitement de la dysfonction érectile et commercialisé sous le nom de Viagra, il détenait 47% du marché, avec des ventes mondiales s'élevant à 2,05 milliards de dollars³⁸⁶. Le repositionnement du thalidomide pour le traitement de l'érythème nodosum leprosum (ENL) et le myélome multiple s'est fait sur la base de découvertes fortuites⁴³. La thalidomide, un sédatif commercialisé à l'origine dans certains pays en 1957, a été retirée au bout de 4 ans en raison de son lien tristement célèbre avec des anomalies congénitales sévères du squelette chez les enfants nés de mères qui l'avaient prise au cours du premier trimestre de leur grossesse⁴³. Cependant, il a été utilisé dans un premier temps pour le traitement de l'ENL (en 1964), puis des décennies plus tard dans le myélome multiple¹¹⁰ (en 1999). Depuis, il a connu un succès commercial considérable dans le myélome multiple et a également conduit au développement et à l'approbation de dérivés encore plus performants, tels que le lénalidomide, dont les ventes mondiales ont atteint 8,2 milliards de dollars³⁸⁷ en 2017.

Ces succès ont également encouragé le développement d'approches plus systématiques pour identifier les composés repositionnables. Ces approches ont d'ores et déjà abouti à la découverte de nombreux médicaments candidats prometteurs, dont certains sont à un stade avancé d'essais cliniques, et pouvant potentiellement être utilisés dans le traitement de maladies tant communes que rares. Cependant, d'importants défis techniques, réglementaires et organisationnels empêchent le repositionnement des médicaments de progresser.

A) Barrières rencontrées dans le domaine du repositionnement de médicament :

Comme souligné précédemment, le repositionnement de médicaments a déjà connu des succès notables. Néanmoins, il ne réussit pas toujours et rencontre principalement des échecs au stade des essais de phase III. Il faut évidemment s'attendre à certains échecs dans les phases d'évaluation tardives, comme dans le développement de nouveaux médicaments, bien que ces échecs soient moins susceptibles d'être dus à la toxicité, car les profils d'innocuité des candidats

ont été caractérisés auparavant. Cependant, nous pouvons également citer des obstacles spécifiques au repositionnement de médicaments pouvant aboutir à l'échec de sa nouvelle indication. Ces obstacles sont notamment le problème de la propriété intellectuelle, la réglementation ou encore les obstacles organisationnels.

1) Considération de la propriété intellectuelle:

Il existe un certain nombre d'obstacles juridiques et de propriété intellectuelle lié au repositionnement de médicaments^{43,365}. Les difficultés liées à la brevetabilité d'une nouvelle indication et à la mise en vigueur de droits de brevet sont les principaux obstacles au repositionnement d'un médicament, car elles ont un impact considérable sur le profit généré sur le médicament repositionné⁴³. Il est possible de protéger la nouvelle utilisation médicale d'une molécule connue dans la plupart des grands marchés pharmaceutiques, à condition que la nouvelle utilisation médicale soit nouvelle et inventive (c'est-à-dire non évidente). Cependant, bon nombre des opportunités de repositionnement de médicaments qui pourrait être breveté est déjà connu dans la littérature scientifique ou dans la pratique clinique. Même si un médicament potentiellement repositionnable n'a pas prouvé son efficacité au cours d'essais cliniques, le niveau de preuves scientifiques justifiant son utilisation dans une nouvelle indication peut limiter la possibilité d'obtention d'un brevet. Ceci est néanmoins possible si les revendications pour l'obtention d'un brevet sont innovantes (ex : nouvelle indications) et basées sur des preuves différentes de ce qui a pu être publié dans le domaine public.

Pour les médicaments non brevetés, un nouveau brevet de méthode d'utilisation peut être obtenu pour un nouvel usage repositionné d'un ancien médicament générique (si, comme indiqué ci-dessus, cet usage est nouveau et inventif et peut être appuyé par des données robustes pour rendre le nouvel usage crédible). Toutefois, si l'indication de repositionnement utilise les formulations et les formes posologiques disponibles du médicament générique³⁸⁸, un problème peut survenir. En effet, le médicament générique peut être largement disponible auprès d'autres fabricants et prescrit par des cliniciens pour d'autres indications non brevetées. Le fabricant de médicaments génériques est dans son droit d'étiqueter son produit uniquement pour les indications non brevetées et de ne mentionner qu'ils n'encouragent pas les indications brevetées. Dans ce cas de figure, il peut être difficile d'arrêter l'utilisation non conforme à l'étiquette pour l'indication visant au repositionnement du médicament, ce qui réduit alors la rentabilité du produit pour la nouvelle indication³⁸⁸.

Cependant, l'utilisation d'un générique pour une indication de repositionnement peut être limitée si la nouvelle indication nécessite une formulation unique et / ou un schéma

posologique qu'il est difficile d'obtenir avec les versions génériques disponibles du médicament. Compte tenu des défis décrits ci-dessus, il peut être important de déterminer comment et dans quelle mesure la propriété intellectuelle peut être respectée pour l'utilisation d'un agent repositionnable (existant sous forme générique) dans une nouvelle indication.

L'exclusivité commerciale des médicaments repositionnés a été reconnue comme un obstacle majeur. Le projet de loi sur les médicaments non brevetés présenté devant le Parlement Britannique en juin 2015 en est un exemple. Ce projet de loi visait à remédier à la situation dans laquelle un médicament, dont le brevet est expiré, s'avère être efficace dans une nouvelle indication mais qui n'entre pas dans le champ d'application de sa licence. Il était soutenu par un certain nombre d'associations médicales, mais n'a pas été adopté (projet de loi sur les médicaments brevetés par le Parlement britannique 2015-2016). Par la suite, l'Association of Medical Research Charities (AMRC), en collaboration avec un large éventail de parties prenantes, notamment le National Institute for Health and Care Excellence (NICE), la Medecine and Health care product Regulatory Agency (MHRA), les collèges royaux et des représentants de l'industrie, ont publié un rapport en novembre 2017, dans lequel ils formulaient des recommandations sur la manière de faciliter le repositionnement des médicaments au profit des patients britanniques. Le rapport énumère différentes manières dont les promoteurs peuvent travailler avec la MHRA pour la prolongation de brevets. Il recommande également de mettre au point des incitations financières qui encourageraient les fabricants de médicaments génériques à participer au repositionnement de médicaments et à mettre en place un mécanisme permettant de l'évaluer. Aux États-Unis, l'OPEN ACT (Orphan Product Extensions Now Accelerating Cures and Treatments) offre 6 mois supplémentaires d'exclusivité (extension d'exclusivité de produits orphelins) à la durée de vie d'un brevet d'un médicament commercialisé en cours de réutilisation pour une maladie rare (Fondation EveryLife pour les maladies rares). Il existe d'autres moyens de maximiser les chances de brevetabilité en développant de nouvelles formulations, formes posologiques ou dérivés plus récents ayant un effet thérapeutique similaire ou en obtenant une autorisation de mise sur le marché exclusive dans de nouvelles régions géographiques⁴³.

2) Considérations réglementaires :

Les considérations réglementaires sont des facteurs déterminants pour le développement de médicaments recyclés. Une étude de Murteira *et al.* évaluant la voie réglementaire associée aux médicaments repositionnés et reformulés a montré que dans l'Union Européenne (au Royaume-Uni, en France et en Allemagne), la procédure centralisée était le moyen le plus

utilisé pour soumettre des médicaments repositionnés à des obtentions d'AMM. Aux États-Unis, selon la classification de Murteira et ses collaborateurs³⁴⁸, les nouvelles entités moléculaires, nouvelles indications, ou indications complémentaires étaient les principaux arguments avancés pour soumettre un médicament à approbation pour un repositionnement tandis que l'utilisation d'une nouvelle forme galénique ou d'une nouvelle combinaison étaient utilisées à la fois pour les demandes de repositionnement et de reformulation d'un médicament. L'étude a également révélé qu'à la fois dans l'UE (France : 83,3%; Allemagne: 88,9% et Royaume-Uni: 93,8%) et aux États-Unis (69,6%), la majorité des cas de repositionnement a été approuvée avant même l'expiration du brevet du produit original. Cette tendance est probablement liée au fait que les industries pharmaceutiques cherchent à rentabiliser au maximum le développement d'une nouvelle molécule.

Pour les médicaments réutilisés avec une indication orpheline désignée, l'exclusivité commerciale offerte dans l'UE / EEA est de 10 ans de protection contre la concurrence sur le marché et d'une période supplémentaire de 2 ans s'ils se sont conformés à un plan d'investigation pédiatrique approuvé. Toutes les demandes de médicaments orphelins doivent être soumises *via* la procédure centralisée. Pour les médicaments repositionnés sans désignation orpheline, 10 ans d'exclusivité des données sont disponibles pour les demandes au titre de l'article 8, paragraphe 3. Les demandes de nouvelles indications pour des substances bien établies soumises en vertu de l'article 10, paragraphe 5, peuvent bénéficier d'une année d'exclusivité. Toutefois, les dispositions d'exclusivité des données ne s'appliquent pas aux modifications des AMM existantes.

Aux États-Unis, la FDA offre une période d'exclusivité des données de trois ans pour un nouvel usage d'un médicament précédemment commercialisé. Cependant, trois ans est une période trop courte pour récupérer l'argent qu'une entreprise a investi dans le repositionnement d'un médicament particulier. En outre, comme indiqué dans la section ci-dessus sur les considérations relatives aux brevets, l'utilisation non conforme d'un médicament générique repositionné peut aussi diminuer les profits associés à l'obtention d'une autorisation de repositionnement.

3) Obstacles organisationnels dans l'industrie :

Les sociétés pharmaceutiques réalisent le potentiel du repositionnement de médicaments en dehors de leur domaine d'activité principal et établissent des collaborations avec de plus petites entreprises de biotechnologie et des milieux universitaires. La plate-forme d'innovation ouverte AstraZeneca est un exemple de ce type visant à promouvoir des collaborations externes

afin de mettre en synergie la recherche sur le repositionnement de médicaments avec des composés bien caractérisés pouvant être réutilisés par le biais d'expériences précliniques translationnelles et d'études cliniques de phase II. Parmi les autres exemples notables, citons le Centre d'excellence pour la découverte de médicaments externe de GlaxoSmithKline, les Centres d'innovation thérapeutique de Pfizer et l'initiative Grant4Indications de Bayer.

Toutefois, le repositionnement dans l'industrie pharmaceutique peut se heurter à certains obstacles organisationnels, en particulier si l'indication repositionnée ne se situe pas dans le domaine pour lequel le composé a été commercialisé et a été arrêté en développement. Ainsi, il n'y a plus de personnel compétent dans le secteur R&D correspondant pouvant reprendre en main le projet pour la nouvelle indication⁴³. Cela impliquerait par conséquent un manque de personnel capable de travailler sur un projet potentiel de repositionnement de médicaments, ainsi qu'un financement et des ressources limités pour faire progresser l'idée au sein de l'entreprise. Une des façons de relever ces défis avec des études cliniques consiste à utiliser des ressources externes pour l'approvisionnement en médicaments *via* des organisations de fabrication sous contrat, un soutien réglementaire et la pharmacovigilance. Comme indiqué dans la section suivante, d'autres voies de financement peuvent être envisagées pour garantir la mise à l'épreuve d'hypothèses scientifiques solides alors qu'il n'aurait pas été possible de les faire évoluer au sein de l'entreprise. De plus, augmenter le choix des composés offrirait plus d'opportunités de repositionnement, en particulier pour les composés qui ciblent de nouveaux mécanismes. Cependant, la majorité de ces composés sont généralement en phase de développement et le partage de ces composés en dehors de la société pharmaceutique présente des risques perçus, tels que les nouveaux risques en matière de sécurité identifiés et le risque de perte de propriété intellectuelle. Le partage d'exemples réussis de composés repositionnés encore en phase de développement réel pourrait aider à dissiper les préoccupations émises à cet égard.

4) Modèles de collaboration pour le repositionnement de médicaments :

Les leaders de la recherche pharmaceutique et académique réalisent de plus en plus que de nouvelles stratégies sont nécessaires pour diriger le domaine du repositionnement de médicaments. Une stratégie collaborative combinant les forces des sociétés pharmaceutiques, des sociétés de biotechnologie, des chercheurs universitaires, des investisseurs en capital-risque, des associations caritatives de recherche financées par des fonds publics et d'autres bailleurs de fonds et parties prenantes a été reconnue comme un moyen nécessaire au repositionnement d médicaments. Une telle collaboration impliquera un partage accru des

données relatives aux médicaments par les sociétés pharmaceutiques et des moyens novateurs de partage de la propriété intellectuelle pouvant être générés entre l'industrie pharmaceutique, le monde universitaire et d'autres parties prenantes.

Des collaborations réussies dans le repositionnement de médicaments reposent sur trois éléments clés: l'identification d'experts scientifiques ayant des idées novatrices dans les domaines émergents de la biologie des maladies, les voies de financement alternatives et l'engagement enthousiaste de toutes les parties concernées. Plusieurs initiatives de repositionnement ont récemment été mises en place entre l'industrie pharmaceutique, les organismes subventionnaires et les scientifiques universitaires afin de relever certains des défis liés au repositionnement de médicaments. Si ces collaborations sont trop peu suffisantes dans le domaine du repositionnement de médicaments, quelques exemples tendent à montrer que ce type de collaboration devrait être encouragé par les institutions gouvernementales. Deux des exemples les plus importants de ce type de collaboration sont la «Mechanisms for Human Diseases Initiative», un partenariat entre le Conseil de la recherche médicale britannique (Medical Research Council, MRC) et AstraZeneca, lancé en 2011, et la «Discovering New Therapeutic Uses for Existing Molecules Initiative » lancée en 2012 par le NIH (NIH - NCATS) en partenariat avec huit sociétés pharmaceutiques³⁸⁹. L'initiative MRC – AstraZeneca a tout d'abord énuméré 22 composés abandonnés pour lesquels AstraZeneca a fourni des informations détaillées sur l'activité, la sélectivité, la pharmacologie, la pharmacocinétique, la sécurité et d'autres caractéristiques médicamenteuses. L'appel à projets du MRC a attiré plus de 100 propositions de 37 institutions britanniques différentes, dont 15 ont finalement été financées par le MRC à la suite d'une évaluation par des pairs, pour un financement total d'un peu plus de 8 millions d'euros. Le programme NIH-NCATS a répertorié 57 composés de huit sociétés pharmaceutiques différentes lors de son premier tour, et neuf propositions ont été financées en 2013, pour un total d'environ 12,7 millions de dollars. L'intérêt manifesté par les chercheurs universitaires pour ces deux programmes a montré qu'ils ont été perçus comme des opportunités sans précédent d'accéder à des molécules qui étaient par ailleurs inconnues du domaine public³⁹⁰. Il convient de noter qu'il existait des différences considérables entre les programmes MRC et NCATS. En effet, le programme MRC était davantage axé sur la compréhension des mécanismes de la maladie, tandis que le programme NCATS s'est spécifiquement concentré sur le repositionnement de médicaments existants avec, pour chaque projet, une étude clinique de phase II qui constituait une preuve de concept dans la nouvelle indication. Des entreprises ont été impliquées dans l'examen des propositions de programme du MRC dans les phases initiales

(mais pas dans les phases finales, où toutes les décisions de financement étaient prises par le MRC), mais aucune entreprise n'a été impliquée dans le programme NCATS. Il y avait aussi des différences dans la manière dont le financement était fourni³⁹⁰. Cependant, dans chaque cas, le MRC et le NCATS ont agi en tant qu'intermédiaire de confiance facilitant la collaboration entre les universités et l'industrie. Une évaluation intermédiaire détaillée des progrès réalisés à ce jour sur ces deux programmes a été publiée par Frail et ses collègues³⁹⁰. Bien qu'il soit trop tôt pour évaluer de manière définitive le succès de ces programmes pilotes parrainés par le gouvernement, compte tenu du long délai de développement des médicaments, les premières indications suggèrent des résultats positifs. Le saracatinib, initialement développé comme agent anticancéreux par AstraZeneca, fait actuellement l'objet de cinq programmes cliniques et précliniques distincts entre la MRC et le NCATS pour une variété d'affections situées dans des domaines hors oncologiques (douleur, psychose, lymphangiomeiomyomatose, otite chronique, et la maladie d'Alzheimer)³⁹⁰. Un autre exemple prometteur est le développement d'antagonistes des récepteurs de la neurokinine 3 pour le traitement des bouffées de chaleur ménopausiques³⁹¹. Cette découverte ne fait pas partie de l'initiative MRC – AstraZeneca, mais fait suite à une étude menée par des chercheurs universitaires en collaboration avec AstraZeneca et financée par le MRC.

Ces deux modèles de collaboration se sont clairement révélés être une stratégie novatrice en matière de collaboration ouverte et d'innovation dans la recherche sur le repositionnement de médicaments. Les cycles suivants de ces deux appels impliquent désormais un plus grand nombre de partenaires de l'industrie pharmaceutique : en 2016, l'Initiative de partage d'actifs industriels du MRC comptait sept partenaires de l'industrie pharmaceutique et avait mis à disposition davantage de composés (68 au total) à des fins de recherche. Il a également conduit à la création d'autres partenariats publics-privés similaires en matière de repositionnement de médicaments, tels que le partenariat entre AstraZeneca et le Programme national de recherche pour les produits biopharmaceutiques (NRPB) à Taiwan en 2013.

Des modèles de collaboration existent également entre les groupes d'association de patients, les organisations philanthropiques et les universitaires, en particulier pour explorer les possibilités de repositionnement des médicaments génériques commercialisés pour le traitement des maladies rares (Cures Within Reach and Duchenne UK)

Les modèles d'innovation ouverte et de collaboration doivent être étendus aux partenariats entre des associations caritatives de patients, des groupes de défense des droits, des scientifiques universitaires et des sociétés pharmaceutiques à un stade précoce du

développement d'un médicament. Cela pourrait accroître les possibilités d'accéder à des populations de maladies spécifiques, à des experts de la maladie en question et à des voies de financements alternatifs pour les études cliniques.

Deux autres initiatives de partenariat public-privé qui existent principalement dans la recherche préclinique pour aider à la réutilisation future de médicaments sont dans le domaine de la recherche sur les kinomes humains. Il s'agit du GlaxoSmithKline-led Published Kinase Inhibitor Set (PKIS)³⁹² et du Oxford-based Structural Genomics Consortium(SGC)³⁹³ basé à Oxford. Le PKIS1 de GlaxoSmithKline (suivi rapidement par PKIS2 et PKIS3) est un ensemble annoté de 367 petites molécules inhibitrices de kinase, disponible comme outil d'accès libre pour les chercheurs universitaires³⁹². Cet ensemble peut être réexaminé dans une variété d'essais *in vitro* et a déjà démontré son potentiel dans l'apport de nouvelles découvertes tant dans les secteurs académiques qu'industriels^{394,395}. Le SGC se concentre quant à lui sur la détermination à grande échelle de structures 3D de protéines humaines d'importance biomédicale, qui sont ensuite diffusées dans le domaine publique par le biais de la banque de données sur les protéines³⁹³ afin d'aider les chercheurs à identifier des partenaires potentiels de liaison aux protéines.

B) Recommandations pour le repositionnement de médicaments :

Gardant à l'esprit les opportunités et les défis en matière de repositionnement de médicaments discutés ci-dessus, six recommandations pourraient être formulées. Celles-ci viseraient à aider à réaliser pleinement le potentiel du repositionnement des médicaments.

Premièrement, la création de meilleures plateformes d'intégration pour l'analyse des données pourrait contribuer à améliorer nettement le repositionnement de médicaments. Les avantages du Big Data et la manière dont il peut aider à identifier les opportunités de repositionnement sont clairs. Cependant, l'accès aux données et leur intégration restent limités. Il se fait ainsi ressentir un besoin de solutions technologiques avancées pouvant réduire le recours nécessaire à l'analyse manuelle et aider à intégrer différents types de données « omiques » de sorte que les analyses ultérieures puissent être affinées et rendues disponibles sous des formats conviviaux et ainsi plus accessibles aux « non-experts ».

Deuxièmement, un meilleur accès aux composés précliniques et cliniques générés par l'industrie est nécessaire. Les initiatives MRC et NIH-NCATS sont un pas dans la bonne direction, mais il faut augmenter le nombre de composés accessibles aux chercheurs universitaires, idéalement dans les grandes bibliothèques de médicaments. Les processus impliqués

doivent donc être simplifiés, en particulier au niveau des signataires des accords de transfert de matériel et de la diffusion des composés.

Troisièmement, un meilleur accès aux données des essais cliniques de phase I – IV parrainés par l'industrie est nécessaire. Cela pourrait permettre aux scientifiques d'explorer de nouvelles hypothèses à partir des données et ainsi d'ouvrir des perspectives de repositionnement, en particulier pour les programmes abandonnés.

Quatrièmement, un nouveau type d'évaluation de la toxicité des agents repositionnés devrait être imaginé. Malgré le fait que la toxicité des agents repositionnés soit déjà connue, il est possible de s'interroger sur leur sécurité d'emploi dans une nouvelle indication. Si le médicament est utilisé dans une population ou à une posologie différentes que celle à laquelle il était administré les investigateurs d'essais cliniques pourraient être amenés à constater de nouveaux effets indésirables.

Cinquièmement, il est nécessaire d'augmenter les initiatives de financement visant au repositionnement des médicaments, y compris le financement de la technologie appropriée, l'accès aux composés et le partage des bibliothèques de repositionnement des médicaments. Il existe également un besoin de sources de financement innovantes pour les initiatives de repositionnement des médicaments, en particulier pour les maladies rares.

Enfin, des mesures sont nécessaires pour encourager le repositionnement des médicaments, en particulier pour éliminer les brevets et les obstacles réglementaires évoqués ci-dessus. Ces mesures pourraient inclure de meilleures périodes d'exclusivité des données pour les indications réutilisées, des accords de redevances avec des sociétés génériques ou d'autres modifications législatives afin de garantir qu'il existe une possibilité suffisante de récupérer les investissements dans des programmes de repositionnement des médicaments.

VI) Conclusion :

Au cours de cette thèse, nous avons pu aborder les différents enjeux du repositionnement de médicaments et nous avons pu constater que les avantages de cette stratégie sont nombreux.

Premièrement, il existe une multitude de stratégies de repositionnements permettant l'identification rapide de nouvelles indications thérapeutiques pour des médicaments déjà existants. De plus, cette stratégie permet de diminuer considérablement les coûts et les temps de recherche associés au développement de médicaments. L'utilisation d'agents repositionnables dans le cadre d'essais cliniques en phase précoce permet notamment de réduire l'effectif de patients nécessaires et de limiter les risques liés à l'administration de ces molécules car la toxicité de ces agents est généralement bien connue.

Néanmoins quelques points restent à améliorer. Les principaux inconvénients sont liés aux droits de propriété intellectuelle et aux incitations économiques, en particulier pour les médicaments non brevetés et les médicaments génériques. Enfin, un effort doit être fourni afin d'améliorer la compréhension du mécanisme d'action de ces médicaments dans leur nouvelle indication thérapeutique. Dans des domaines tels que l'oncologie, il existe une grande variabilité tumorale intra- et inter-patients. Cette dernière est à l'origine de nombreux échecs thérapeutiques ou d'arrêts de réponse au traitement après plusieurs lignes de chimiothérapies. Aussi, il apparaît nécessaire d'identifier des biomarqueurs permettant d'anticiper la réponse des patients à ce type de traitement. Cela permettrait de sélectionner au mieux les patients dans le cadre d'essais cliniques et d'identifier la population la plus à même de bénéficier de ce type de thérapies.

Compte tenu de la grande polypharmacologie des médicaments, l'effet observé dans une nouvelle indication thérapeutique est souvent dû à l'action du médicament sur une cible non répertoriée. Il apparaît donc essentiel de les identifier. Dans ce contexte j'ai pu développer deux approches méthodologiques. Les approches de chimie click et de prédiction *in silico* que nous avons pu mettre en place nous a permis d'identifier des nouvelles cibles thérapeutiques pour le mebendazole. Ces approches sont transposables à n'importe quel type de cancer et pour n'importe quel agent repositionnable. Ainsi, elles pourraient contribuer à améliorer le repositionnement de médicaments et la compréhension des mécanismes physiopathologiques des cancers.

BIBLIOGRAPHIE

1. Hogan, J. C. Combinatorial chemistry in drug discovery. *Nat. Biotechnol.* **15**, 328–330 (1997).
2. Sanger, F. Sequences, Sequences, and Sequences. *Annu. Rev. Biochem.* **57**, 1–29 (1988).
3. Meldrum, C., Doyle, M. A. & Tohill, R. W. Next-Generation Sequencing for Cancer Diagnostics: a Practical Perspective. *Clin. Biochem. Rev.* **32**, 177–195 (2011).
4. Joachimiak, A. High-throughput Crystallography for Structural Genomics. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **19**, 573–584 (2009).
5. Van Brunt, J. Protein Architecture: Designing from the Ground Up. *Nat. Biotechnol.* **4**, 277–283 (1986).
6. Mayr, L. M. & Fuerst, P. The Future of High-Throughput Screening. *J. Biomol. Screen.* **13**, 443–448 (2008).
7. Why Products Fail in Phase III. *In Vivo* <https://invivo.pharmaintelligence.informa.com/IV002756/Why-Products-Fail-in-Phase-III> (2006).
8. Comanor, W. S. Research and Technical Change in the Pharmaceutical Industry. *Rev. Econ. Stat.* **47**, 182 (1965).
9. Jensen, E. J. Research Expenditures and the Discovery of New Drugs. *J. Ind. Econ.* **36**, 83 (1987).
10. Joglekar, P. & Paterson, M. L. A closer look at the returns and risks of pharmaceutical R&D. *J. Health Econ.* **5**, 153–177 (1986).
11. Grabowski, H. G., Vernon, J. M. & Thomas, L. G. Estimating the Effects of Regulation on Innovation: An International Comparative Analysis of the Pharmaceutical Industry. *J. Law Econ.* **21**, 133–163 (1978).
12. Prasad, V., De Jesús, K. & Mailankody, S. The high price of anticancer drugs: origins, implications, barriers, solutions. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **14**, 381–390 (2017).
13. Scannell, J. W., Blanckley, A., Boldon, H. & Warrington, B. Diagnosing the decline in pharmaceutical R&D efficiency. *Nat. Rev. Drug Discov.* **11**, 191–200 (2012).
14. An end to the search for new drugs? | Nature.

<https://www.nature.com/articles/296387a0>.

15. Horrobin, D. F. Realism in drug discovery—could Cassandra be right? *Nat. Biotechnol.* **19**, 1099–1100 (2001).
16. Horrobin, D. F. Innovation in the pharmaceutical industry. **93**, 5 (2000).
17. Horrobin, D. F. Modern biomedical research: an internally self-consistent universe with little contact with medical reality? *Nat. Rev. Drug Discov.* **2**, 151–154 (2003).
18. Paul, S. M. *et al.* How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge. *Nat. Rev. Drug Discov.* **9**, 203–214 (2010).
19. Munos, B. Lessons from 60 years of pharmaceutical innovation. *Nat. Rev. Drug Discov.* **8**, 959–968 (2009).
20. Hopkins, A., Mason, J. & Overington, J. Can we rationally design promiscuous drugs? *Curr. Opin. Struct. Biol.* **16**, 127–136 (2006).
21. Fojo, T. & Parkinson, D. R. Biologically targeted cancer therapy and marginal benefits: are we making too much of too little or are we achieving too little by giving too much? *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **16**, 5972–5980 (2010).
22. Huang, M., Shen, A., Ding, J. & Geng, M. Molecularly targeted cancer therapy: some lessons from the past decade. *Trends Pharmacol. Sci.* **35**, 41–50 (2014).
23. Gerlinger, M. *et al.* Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N. Engl. J. Med.* **366**, 883–892 (2012).
24. Fisher, R., Puztai, L. & Swanton, C. Cancer heterogeneity: implications for targeted therapeutics. *Br. J. Cancer* **108**, 479–485 (2013).
25. Gerlinger, M. & Swanton, C. How Darwinian models inform therapeutic failure initiated by clonal heterogeneity in cancer medicine. *Br. J. Cancer* **103**, 1139–1143 (2010).
26. Gillies, R. J., Verduzco, D. & Gatenby, R. A. Evolutionary dynamics of carcinogenesis and why targeted therapy does not work. *Nat. Rev. Cancer* **12**, 487–493 (2012).
27. Epstein, R. J. The unpluggable in pursuit of the undruggable: tackling the dark matter of the cancer therapeutics universe. *Front. Oncol.* **3**, 304 (2013).
28. André, F. *et al.* Comparative genomic hybridisation array and DNA sequencing to direct treatment of metastatic breast cancer: a multicentre, prospective trial (SAFIR01/UNICANCER). *Lancet Oncol.* **15**, 267–274 (2014).

29. Li, F., Zhao, C. & Wang, L. Molecular-targeted agents combination therapy for cancer: developments and potentials. *Int. J. Cancer* **134**, 1257–1269 (2014).
30. Vera-Badillo, F. E., Al-Mubarak, M., Templeton, A. J. & Amir, E. Benefit and harms of new anti-cancer drugs. *Curr. Oncol. Rep.* **15**, 270–275 (2013).
31. Li, X. *et al.* Incidence and risk of treatment-related mortality with anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody in cancer patients: a meta-analysis of 21 randomized controlled trials. *PloS One* **8**, e81897 (2013).
32. Sacher, A. G., Le, L. W. & Leighl, N. B. Shifting patterns in the interpretation of phase III clinical trial outcomes in advanced non-small-cell lung cancer: the bar is dropping. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **32**, 1407–1411 (2014).
33. Amit, L., Ben-Aharon, I., Vidal, L., Leibovici, L. & Stemmer, S. The impact of Bevacizumab (Avastin) on survival in metastatic solid tumors--a meta-analysis and systematic review. *PloS One* **8**, e51780 (2013).
34. Niraula, S. *et al.* The price we pay for progress: a meta-analysis of harms of newly approved anticancer drugs. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **30**, 3012–3019 (2012).
35. Chabner, B. A. & Roberts, T. G. Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. *Nat. Rev. Cancer* **5**, 65–72 (2005).
36. DeMonaco, H. J., Ali, A. & Hippel, E. von. The Major Role of Clinicians in the Discovery of Off-Label Drug Therapies. *Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. Drug Ther.* **26**, 323–332 (2006).
37. PAREXEL Biopharmaceutical R&D Statistical Sourcebook 2018/2019 (Electronic + Hard Copy). *Barnett International* <https://www.barnettinternational.com/parexel-biopharmaceutical-rampd-statistical-sourcebook-2018-2019-electronic-hard-copy-0>.
38. Streptomycin Treatment of Pulmonary Tuberculosis. *Br. Med. J.* **2**, 769–782 (1948).
39. Pedersen, T. R. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Atheroscler. Suppl.* **5**, 81–87 (2004).
40. Healy, D. *The Antidepressant Era*. (Harvard University Press, 1997).
41. Trends in Risks Associated With New Drug Development: Success Rates for Investigational Drugs - DiMasi - 2010 - Clinical Pharmacology & Therapeutics - Wiley Online Library. <https://ascpt-onlinelibrary-wiley->

com.gate2.inist.fr/doi/epdf/10.1038/clpt.2009.295.

42. Langedijk, J., Mantel-Teeuwisse, A. K., Slijkerman, D. S. & Schutjens, M.-H. D. B. Drug repositioning and repurposing: terminology and definitions in literature. *Drug Discov. Today* **20**, 1027–1034 (2015).
43. Ashburn, T. T. & Thor, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* **3**, 673–683 (2004).
44. Experts in Chronic Myeloid Leukemia. The price of drugs for chronic myeloid leukemia (CML) is a reflection of the unsustainable prices of cancer drugs: from the perspective of a large group of CML experts. *Blood* **121**, 4439–4442 (2013).
45. Collins, F. S. & Varmus, H. A New Initiative on Precision Medicine. *N. Engl. J. Med.* **372**, 793–795 (2015).
46. Moses, H. *et al.* The Anatomy of Medical Research: US and International Comparisons. *JAMA* **313**, 174 (2015).
47. Drug Development Costs Jump to \$2.6 Billion. *Cancer Discov.* **5**, OF2–OF2 (2015).
48. Moffat, J. G., Rudolph, J. & Bailey, D. Phenotypic screening in cancer drug discovery — past, present and future. *Nat. Rev. Drug Discov.* **13**, 588–602 (2014).
49. Vogelstein, B. *et al.* Cancer Genome Landscapes. *Science* **339**, 1546–1558 (2013).
50. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* **144**, 646–674 (2011).
51. Keith, C. T., Borisy, A. A. & Stockwell, B. R. Multicomponent therapeutics for networked systems. *Nat. Rev. Drug Discov.* **4**, 71–78 (2005).
52. Robert, C. *et al.* Improved Overall Survival in Melanoma with Combined Dabrafenib and Trametinib. *N. Engl. J. Med.* **372**, 30–39 (2015).
53. Keiser, M. J. *et al.* Predicting new molecular targets for known drugs. *Nature* **462**, 175–181 (2009).
54. Lamb, J. The Connectivity Map: a new tool for biomedical research. *Nat. Rev. Cancer* **7**, 54–60 (2007).
55. Jahchan, N. S. *et al.* A Drug Repositioning Approach Identifies Tricyclic Antidepressants as Inhibitors of Small Cell Lung Cancer and Other Neuroendocrine Tumors. *Cancer Discov.* **3**, 1364–1377 (2013).

56. Zerbini, L. F. *et al.* Computational Repositioning and Preclinical Validation of Pentamidine for Renal Cell Cancer. *Mol. Cancer Ther.* **13**, 1929–1941 (2014).
57. Talele, T. T., Khedkar, S. A. & Rigby, A. C. Successful applications of computer aided drug discovery: moving drugs from concept to the clinic. *Curr. Top. Med. Chem.* **10**, 127–141 (2010).
58. Liu, Z. *et al.* In silico drug repositioning: what we need to know. *Drug Discov. Today* **18**, 110–115 (2013).
59. Röhrig, U. F. *et al.* Rational design of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors. *J. Med. Chem.* **53**, 1172–1189 (2010).
60. Cheng, F. *et al.* Prediction of drug-target interactions and drug repositioning via network-based inference. *PLoS Comput. Biol.* **8**, e1002503 (2012).
61. Brown, D. Unfinished business: target-based drug discovery. *Drug Discov. Today* **12**, 1007–1012 (2007).
62. Zhang, L. *et al.* Quantitative High-Throughput Drug Screening Identifies Novel Classes of Drugs with Anticancer Activity in Thyroid Cancer Cells: Opportunities for Repurposing. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **97**, E319–E328 (2012).
63. Rickles, R. J. *et al.* Adenosine A2A and beta-2 adrenergic receptor agonists: novel selective and synergistic multiple myeloma targets discovered through systematic combination screening. *Mol. Cancer Ther.* **11**, 1432–1442 (2012).
64. Borisy, A. A. *et al.* Systematic discovery of multicomponent therapeutics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 7977–7982 (2003).
65. Brandl, M. B. *et al.* Computational analysis of image-based drug profiling predicts synergistic drug combinations: applications in triple-negative breast cancer. *Mol. Oncol.* **8**, 1548–1560 (2014).
66. Roix, J. J. *et al.* Systematic repurposing screening in xenograft models identifies approved drugs with novel anti-cancer activity. *PloS One* **9**, e101708 (2014).
67. Elmslie, R. E., Glawe, P. & Dow, S. W. Metronomic therapy with cyclophosphamide and piroxicam effectively delays tumor recurrence in dogs with incompletely resected soft tissue sarcomas. *J. Vet. Intern. Med.* **22**, 1373–1379 (2008).
68. Campillos, M., Kuhn, M., Gavin, A.-C., Jensen, L. J. & Bork, P. Drug target identification using side-effect similarity. *Science* **321**, 263–266 (2008).

69. Amelio, I. *et al.* DRUGSURV: a resource for repositioning of approved and experimental drugs in oncology based on patient survival information. *Cell Death Dis.* **5**, e1051 (2014).
70. Ghofrani, H. A., Osterloh, I. H. & Grimminger, F. Sildenafil: from angina to erectile dysfunction to pulmonary hypertension and beyond. *Nat. Rev. Drug Discov.* **5**, 689–702 (2006).
71. Carella, A. M., Beltrami, G., Pica, G., Carella, A. & Catania, G. Clarithromycin potentiates tyrosine kinase inhibitor treatment in patients with resistant chronic myeloid leukemia. *Leuk. Lymphoma* **53**, 1409–1411 (2012).
72. Léauté-Labrèze, C. *et al.* Propranolol for severe hemangiomas of infancy. *N. Engl. J. Med.* **358**, 2649–2651 (2008).
73. Flynn, P. J. *et al.* Retinoic acid treatment of acute promyelocytic leukemia: in vitro and in vivo observations. *Blood* **62**, 1211–1217 (1983).
74. Nygren, P. & Larsson, R. Drug repositioning from bench to bedside: tumour remission by the antihelminthic drug mebendazole in refractory metastatic colon cancer. *Acta Oncol. Stockh. Swed.* **53**, 427–428 (2014).
75. Banavali, S. Targeted therapy with propranolol and metronomic chemotherapy combination: sustained complete response of a relapsing metastatic angiosarcoma. *ecancermedicalscience* **9**, (2015).
76. Evans, J. M. M., Donnelly, L. A., Emslie-Smith, A. M., Alessi, D. R. & Morris, A. D. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *BMJ* **330**, 1304–1305 (2005).
77. Rothwell, P. M. *et al.* Effect of daily aspirin on risk of cancer metastasis: a study of incident cancers during randomised controlled trials. *Lancet Lond. Engl.* **379**, 1591–1601 (2012).
78. Cuzick, J. *et al.* Estimates of benefits and harms of prophylactic use of aspirin in the general population. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **26**, 47–57 (2015).
79. Rothwell, P. M. *et al.* Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet Lond. Engl.* **377**, 31–41 (2011).
80. Jacobs, E. J., Newton, C. C., Gapstur, S. M. & Thun, M. J. Daily aspirin use and cancer mortality in a large US cohort. *J. Natl. Cancer Inst.* **104**, 1208–1217 (2012).
81. Liao, X. *et al.* Aspirin use, tumor PIK3CA mutation, and colorectal-cancer survival. *N.*

Engl. J. Med. **367**, 1596–1606 (2012).

82. Domingo, E. *et al.* Evaluation of PIK3CA mutation as a predictor of benefit from nonsteroidal anti-inflammatory drug therapy in colorectal cancer. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **31**, 4297–4305 (2013).
83. Nishihara, R. *et al.* Aspirin use and risk of colorectal cancer according to BRAF mutation status. *JAMA* **309**, 2563–2571 (2013).
84. Chan, A. T., Ogino, S. & Fuchs, C. S. Aspirin use and survival after diagnosis of colorectal cancer. *JAMA* **302**, 649–658 (2009).
85. Fink, S. P. *et al.* Aspirin and the risk of colorectal cancer in relation to the expression of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (HPGD). *Sci. Transl. Med.* **6**, 233re2 (2014).
86. Nan, H. *et al.* Association of aspirin and NSAID use with risk of colorectal cancer according to genetic variants. *JAMA* **313**, 1133–1142 (2015).
87. Yin, M., Zhou, J., Gorak, E. J. & Quddus, F. Metformin is associated with survival benefit in cancer patients with concurrent type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The Oncologist* **18**, 1248–1255 (2013).
88. Gandini, S. *et al.* Metformin and cancer risk and mortality: a systematic review and meta-analysis taking into account biases and confounders. *Cancer Prev. Res. Phila. Pa* **7**, 867–885 (2014).
89. Gronich, N. & Rennert, G. Beyond aspirin-cancer prevention with statins, metformin and bisphosphonates. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **10**, 625–642 (2013).
90. Blandino, G. *et al.* Metformin elicits anticancer effects through the sequential modulation of DICER and c-MYC. *Nat. Commun.* **3**, 865 (2012).
91. Janzer, A. *et al.* Metformin and phenformin deplete tricarboxylic acid cycle and glycolytic intermediates during cell transformation and NTPs in cancer stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **111**, 10574–10579 (2014).
92. Orecchioni, S. *et al.* The biguanides metformin and phenformin inhibit angiogenesis, local and metastatic growth of breast cancer by targeting both neoplastic and microenvironment cells. *Int. J. Cancer* **136**, E534-544 (2015).
93. Kordes, S. *et al.* Metformin in patients with advanced pancreatic cancer: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol.* **16**, 839–847 (2015).
94. Sakoda, L. C. *et al.* Metformin use and lung cancer risk in patients with diabetes. *Cancer*

Prev. Res. Phila. Pa **8**, 174–179 (2015).

95. Orecchioni, S. *et al.* Complementary populations of human adipose CD34⁺ progenitor cells promote growth, angiogenesis, and metastasis of breast cancer. *Cancer Res.* **73**, 5880–5891 (2013).
96. Birsoy, K. *et al.* Metabolic determinants of cancer cell sensitivity to glucose limitation and biguanides. *Nature* **508**, 108–112 (2014).
97. Pernicova, I. & Korbonits, M. Metformin--mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. *Nat. Rev. Endocrinol.* **10**, 143–156 (2014).
98. Hirsch, H. A., Iliopoulos, D. & Struhl, K. Metformin inhibits the inflammatory response associated with cellular transformation and cancer stem cell growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **110**, 972–977 (2013).
99. Eikawa, S. *et al.* Immune-mediated antitumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **112**, 1809–1814 (2015).
100. Hart, C. *et al.* Anakoinosis: Communicative Reprogramming of Tumor Systems - for Rescuing from Chemorefractory Neoplasia. *Cancer Microenviron. Off. J. Int. Cancer Microenviron. Soc.* **8**, 75–92 (2015).
101. Prost, S. *et al.* Erosion of the chronic myeloid leukaemia stem cell pool by PPAR γ agonists. *Nature* **525**, 380–383 (2015).
102. Roberts, K. G. *et al.* Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.* **371**, 1005–1015 (2014).
103. Schultz, K. R. *et al.* Improved early event-free survival with imatinib in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: a children's oncology group study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **27**, 5175–5181 (2009).
104. Kris, M. G. *et al.* Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA* **311**, 1998–2006 (2014).
105. Tsimberidou, A.-M. *et al.* Personalized medicine for patients with advanced cancer in the phase I program at MD Anderson: validation and landmark analyses. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **20**, 4827–4836 (2014).
106. Schwaederle, M. *et al.* Impact of Precision Medicine in Diverse Cancers: A Meta-Analysis of Phase II Clinical Trials. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **33**, 3817–3825 (2015).

107. Le Tourneau, C. *et al.* Molecularly targeted therapy based on tumour molecular profiling versus conventional therapy for advanced cancer (SHIVA): a multicentre, open-label, proof-of-concept, randomised, controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol.* **16**, 1324–1334 (2015).
108. Tsimberidou, A. M. & Kurzrock, R. Precision medicine: lessons learned from the SHIVA trial. *Lancet Oncol.* **16**, e579–e580 (2015).
109. Kyle, R. A. & Rajkumar, S. V. Multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* **351**, 1860–1873 (2004).
110. Singhal, S. *et al.* Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* **341**, 1565–1571 (1999).
111. Dimopoulos, M. A., Anagnostopoulos, A. & Weber, D. Treatment of plasma cell dyscrasias with thalidomide and its derivatives. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **21**, 4444–4454 (2003).
112. Dimopoulos, M. A. *et al.* Thalidomide and dexamethasone combination for refractory multiple myeloma. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **12**, 991–995 (2001).
113. Anagnostopoulos, A., Weber, D., Rankin, K., Delasalle, K. & Alexanian, R. Thalidomide and dexamethasone for resistant multiple myeloma. *Br. J. Haematol.* **121**, 768–771 (2003).
114. García-Sanz, R. *et al.* The combination of thalidomide, cyclophosphamide and dexamethasone (ThaCyDex) is feasible and can be an option for relapsed/refractory multiple myeloma. *Hematol. J. Off. J. Eur. Haematol. Assoc.* **3**, 43–48 (2002).
115. Mitsiades, N. *et al.* Apoptotic signaling induced by immunomodulatory thalidomide analogs in human multiple myeloma cells: therapeutic implications. *Blood* **99**, 4525–4530 (2002).
116. Richardson, P. G. *et al.* Immunomodulatory drug CC-5013 overcomes drug resistance and is well tolerated in patients with relapsed multiple myeloma. *Blood* **100**, 3063–3067 (2002).
117. Zeldis, J. B., Knight, R., Hussein, M., Chopra, R. & Muller, G. A review of the history, properties, and use of the immunomodulatory compound lenalidomide. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1222**, 76–82 (2011).
118. Lopez-Girona, A. *et al.* Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide. *Leukemia* **26**, 2326–2335 (2012).

119. Chamberlain, P. P. *et al.* Structure of the human Cereblon-DDB1-lenalidomide complex reveals basis for responsiveness to thalidomide analogs. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **21**, 803–809 (2014).
120. Ali, A. *et al.* Propranolol attenuates hemorrhage and accelerates wound healing in severely burned adults. *Crit. Care Lond. Engl.* **19**, 217 (2015).
121. Peskind, E. R. *et al.* Propranolol for disruptive behaviors in nursing home residents with probable or possible Alzheimer disease: a placebo-controlled study. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **19**, 23–28 (2005).
122. Greendyke, R. M., Kanter, D. R., Schuster, D. B., Verstrete, S. & Wootton, J. Propranolol treatment of assaultive patients with organic brain disease. A double-blind crossover, placebo-controlled study. *J. Nerv. Ment. Dis.* **174**, 290–294 (1986).
123. Fogari, R. *et al.* Beta-blocker effects on plasma lipids in antihypertensive therapy: importance of the duration of treatment and the lipid status before treatment. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **16 Suppl 5**, S76-80 (1990).
124. Shand, D. G. Pharmacokinetics of propranolol: a review. *Postgrad. Med. J.* **52 Suppl 4**, 22–25 (1976).
125. Walle, T. *et al.* Food-induced increase in propranolol bioavailability--relationship to protein and effects on metabolites. *Clin. Pharmacol. Ther.* **30**, 790–795 (1981).
126. Bowman, S. L., Hudson, S. A., Simpson, G., Munro, J. F. & Clements, J. A. A comparison of the pharmacokinetics of propranolol in obese and normal volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **21**, 529–532 (1986).
127. Leahey, W. J., Neill, J. D., Varma, M. P. & Shanks, R. G. Comparison of the efficacy and pharmacokinetics of conventional propranolol and a long acting preparation of propranolol. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **9**, 33–40 (1980).
128. Olesen, J., Hougård, K. & Hertz, M. Isoproterenol and propranolol: ability to cross the blood-brain barrier and effects on cerebral circulation in man. *Stroke* **9**, 344–349 (1978).
129. Filippi, L. *et al.* Successful Propranolol Treatment of a Kaposiform Hemangioendothelioma Apparently Resistant to Propranolol. *Pediatr. Blood Cancer* **63**, 1290–1292 (2016).
130. Mutschler, E., Spahn, H. & Kirch, W. The interaction between H₂-receptor antagonists and beta-adrenoceptor blockers. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **17 Suppl 1**, 51S-57S (1984).

131. Winniford, M. D., Huxley, R. L. & Hillis, L. D. Randomized, double-blind comparison of propranolol alone and a propranolol-verapamil combination in patients with severe angina of effort. *J. Am. Coll. Cardiol.* **1**, 492–498 (1983).
132. Martin, T. J. *et al.* Characterization of beta-adrenergic receptor linked to adenylate cyclase in a human cancer cell line (COLO 16). *Clin. Sci. Mol. Med.* **55**, 23–29 (1978).
133. Schmitt, H. & Pochet, R. In vivo labelling of beta-adrenergic receptors on rat glioma cells. *FEBS Lett.* **76**, 302–305 (1977).
134. Delavier-Klutchko, C., Hoebeke, J. & Strosberg, A. D. The human carcinoma cell line A431 possesses large numbers of functional beta-adrenergic receptors. *FEBS Lett.* **169**, 151–155 (1984).
135. Ramu, A., Spanier, R., Rahamimoff, H. & Fuks, Z. Restoration of doxorubicin responsiveness in doxorubicin-resistant P388 murine leukaemia cells. *Br. J. Cancer* **50**, 501–507 (1984).
136. Tsuruo, T. *et al.* Effects of quinidine and related compounds on cytotoxicity and cellular accumulation of vincristine and adriamycin in drug-resistant tumor cells. *Cancer Res.* **44**, 4303–4307 (1984).
137. Shiraishi, N., Akiyama, S., Kobayashi, M. & Kuwano, M. Lysosomotropic agents reverse multiple drug resistance in human cancer cells. *Cancer Lett.* **30**, 251–259 (1986).
138. Hajighasemi, F. & Mirshafiey, A. In vitro sensitivity of leukemia cells to propranolol. *J. Clin. Med. Res.* **1**, 144–149 (2009).
139. Lamkin, D. M. *et al.* Chronic stress enhances progression of acute lymphoblastic leukemia via β -adrenergic signaling. *Brain. Behav. Immun.* **26**, 635–641 (2012).
140. Hajighasemi, F. & Hajighasemi, S. Effect of propranolol on angiogenic factors in human hematopoietic cell lines in vitro. *Iran. Biomed. J.* **13**, 223–228 (2009).
141. Shakhar, G. & Ben-Eliyahu, S. In vivo beta-adrenergic stimulation suppresses natural killer activity and compromises resistance to tumor metastasis in rats. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **160**, 3251–3258 (1998).
142. Benish, M. *et al.* Perioperative use of beta-blockers and COX-2 inhibitors may improve immune competence and reduce the risk of tumor metastasis. *Ann. Surg. Oncol.* **15**, 2042–2052 (2008).
143. Thaker, P. H. *et al.* Chronic stress promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse

model of ovarian carcinoma. *Nat. Med.* **12**, 939–944 (2006).

144. Sloan, E. K. *et al.* The sympathetic nervous system induces a metastatic switch in primary breast cancer. *Cancer Res.* **70**, 7042–7052 (2010).

145. Lang, K. *et al.* Induction of a metastatogenic tumor cell type by neurotransmitters and its pharmacological inhibition by established drugs. *Int. J. Cancer* **112**, 231–238 (2004).

146. Strell, C. *et al.* Norepinephrine promotes the β 1-integrin-mediated adhesion of MDA-MB-231 cells to vascular endothelium by the induction of a GRO α release. *Mol. Cancer Res. MCR* **10**, 197–207 (2012).

147. Pasquier, E. *et al.* Propranolol potentiates the anti-angiogenic effects and anti-tumor efficacy of chemotherapy agents: implication in breast cancer treatment. *Oncotarget* **2**, 797–809 (2011).

148. Liu, D. *et al.* β 2-AR signaling controls trastuzumab resistance-dependent pathway. *Oncogene* **35**, 47–58 (2016).

149. Campbell, J. P. *et al.* Stimulation of host bone marrow stromal cells by sympathetic nerves promotes breast cancer bone metastasis in mice. *PLoS Biol.* **10**, e1001363 (2012).

150. Hasegawa, H. & Saiki, I. Psychosocial stress augments tumor development through beta-adrenergic activation in mice. *Jpn. J. Cancer Res. Gann* **93**, 729–735 (2002).

151. Dal Monte, M. *et al.* Functional involvement of β 3-adrenergic receptors in melanoma growth and vascularization. *J. Mol. Med. Berl. Ger.* **91**, 1407–1419 (2013).

152. Wrobel, L. J. & Le Gal, F. A. Inhibition of human melanoma growth by a non-cardioselective β -blocker. *J. Invest. Dermatol.* **135**, 525–531 (2015).

153. Glasner, A. *et al.* Improving survival rates in two models of spontaneous postoperative metastasis in mice by combined administration of a beta-adrenergic antagonist and a cyclooxygenase-2 inhibitor. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **184**, 2449–2457 (2010).

154. Lutgendorf, S. K. *et al.* Vascular endothelial growth factor and social support in patients with ovarian carcinoma. *Cancer* **95**, 808–815 (2002).

155. Lutgendorf, S. K. *et al.* Stress-related mediators stimulate vascular endothelial growth factor secretion by two ovarian cancer cell lines. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **9**, 4514–4521 (2003).

156. Sood, A. K. *et al.* Stress hormone-mediated invasion of ovarian cancer cells. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **12**, 369–375 (2006).

157. Lee, J.-W. *et al.* Surgical stress promotes tumor growth in ovarian carcinoma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **15**, 2695–2702 (2009).
158. Chisholm, K. M. *et al.* β -Adrenergic receptor expression in vascular tumors. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **25**, 1446–1451 (2012).
159. Stiles, J. M. *et al.* Targeting of beta adrenergic receptors results in therapeutic efficacy against models of hemangioendothelioma and angiosarcoma. *PloS One* **8**, e60021 (2013).
160. Pasquier, E. *et al.* Effective Management of Advanced Angiosarcoma by the Synergistic Combination of Propranolol and Vinblastine-based Metronomic Chemotherapy: A Bench to Bedside Study. *EBioMedicine* **6**, 87–95 (2016).
161. Pasquier, E. *et al.* β -blockers increase response to chemotherapy via direct antitumour and anti-angiogenic mechanisms in neuroblastoma. *Br. J. Cancer* **108**, 2485–2494 (2013).
162. Xu, T. *et al.* Antiangiogenic effect of propranolol on the growth of the neuroblastoma xenografts in nude mice. *J. Pediatr. Surg.* **48**, 2460–2465 (2013).
163. Wolter, J. K. *et al.* Anti-tumor activity of the beta-adrenergic receptor antagonist propranolol in neuroblastoma. *Oncotarget* **5**, 161–172 (2014).
164. Palm, D. *et al.* The norepinephrine-driven metastasis development of PC-3 human prostate cancer cells in BALB/c nude mice is inhibited by beta-blockers. *Int. J. Cancer* **118**, 2744–2749 (2006).
165. Guo, K. *et al.* Norepinephrine-induced invasion by pancreatic cancer cells is inhibited by propranolol. *Oncol. Rep.* **22**, 825–830 (2009).
166. Zhang, D., Ma, Q., Shen, S. & Hu, H. Inhibition of pancreatic cancer cell proliferation by propranolol occurs through apoptosis induction: the study of beta-adrenoceptor antagonist's anticancer effect in pancreatic cancer cell. *Pancreas* **38**, 94–100 (2009).
167. Zhang, D., Ma, Q.-Y., Hu, H.-T. & Zhang, M. β 2-adrenergic antagonists suppress pancreatic cancer cell invasion by inhibiting CREB, NF κ B and AP-1. *Cancer Biol. Ther.* **10**, 19–29 (2010).
168. Kim-Fuchs, C. *et al.* Chronic stress accelerates pancreatic cancer growth and invasion: a critical role for beta-adrenergic signaling in the pancreatic microenvironment. *Brain. Behav. Immun.* **40**, 40–47 (2014).
169. Partecke, L. I. *et al.* Chronic stress increases experimental pancreatic cancer growth, reduces survival and can be antagonised by beta-adrenergic receptor blockade. *Pancreatol. Off.*

J. Int. Assoc. Pancreatol. IAP AI **16**, 423–433 (2016).

170. Masur, K., Niggemann, B., Zanker, K. S. & Entschladen, F. Norepinephrine-induced migration of SW 480 colon carcinoma cells is inhibited by beta-blockers. *Cancer Res.* **61**, 2866–2869 (2001).

171. Coelho, M. *et al.* Antiproliferative effects of β -blockers on human colorectal cancer cells. *Oncol. Rep.* **33**, 2513–2520 (2015).

172. Chin, C.-C. *et al.* Selective β 2-AR Blockage Suppresses Colorectal Cancer Growth Through Regulation of EGFR-Akt/ERK1/2 Signaling, G1-Phase Arrest, and Apoptosis. *J. Cell. Physiol.* **231**, 459–472 (2016).

173. Lin, Q. *et al.* Effect of chronic restraint stress on human colorectal carcinoma growth in mice. *PloS One* **8**, e61435 (2013).

174. Yang, E. V. *et al.* Norepinephrine up-regulates the expression of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase (MMP)-2, and MMP-9 in nasopharyngeal carcinoma tumor cells. *Cancer Res.* **66**, 10357–10364 (2006).

175. Annabi, B., Lachambre, M.-P., Plouffe, K., Mouldjian, R. & Béliveau, R. Propranolol adrenergic blockade inhibits human brain endothelial cells tubulogenesis and matrix metalloproteinase-9 secretion. *Pharmacol. Res.* **60**, 438–445 (2009).

176. Bernabé, D. G., Tamae, A. C., Biasoli, É. R. & Oliveira, S. H. P. Stress hormones increase cell proliferation and regulates interleukin-6 secretion in human oral squamous cell carcinoma cells. *Brain. Behav. Immun.* **25**, 574–583 (2011).

177. Wolter, N. E., Wolter, J. K., Enepekides, D. J. & Irwin, M. S. Propranolol as a novel adjunctive treatment for head and neck squamous cell carcinoma. *J. Otolaryngol. - Head Neck Surg. J. Oto-Rhino-Laryngol. Chir. Cervico-Faciale* **41**, 334–344 (2012).

178. Grzanna, R., Frondoza, C. G., Hung, G. L. & Sastre, A. In vivo administration of propranolol delays development of a murine plasmacytoma tumor. *J. Auton. Nerv. Syst.* **14**, 397–401 (1985).

179. Bomber, P., McCready, R. & Hammersley, P. Propranolol hydrochloride enhancement of tumor perfusion and uptake of gallium-67 in a mouse sarcoma. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **27**, 243–245 (1986).

180. Burton, M. A. & Gray, B. N. Redistribution of blood flow in experimental hepatic tumours with noradrenaline and propranolol. *Br. J. Cancer* **56**, 585–588 (1987).

181. Liao, X. *et al.* The β -adrenoceptor antagonist, propranolol, induces human gastric cancer cell apoptosis and cell cycle arrest via inhibiting nuclear factor κ B signaling. *Oncol. Rep.* **24**, 1669–1676 (2010).
182. Liao, X. *et al.* Effects of propranolol in combination with radiation on apoptosis and survival of gastric cancer cells in vitro. *Radiat. Oncol. Lond. Engl.* **5**, 98 (2010).
183. Al-Wadei, H. A. N., Al-Wadei, M. H. & Schuller, H. M. Cooperative regulation of non-small cell lung carcinoma by nicotinic and beta-adrenergic receptors: a novel target for intervention. *PloS One* **7**, e29915 (2012).
184. Al-Wadei, M. H., Al-Wadei, H. A. N. & Schuller, H. M. Pancreatic cancer cells and normal pancreatic duct epithelial cells express an autocrine catecholamine loop that is activated by nicotinic acetylcholine receptors α 3, α 5, and α 7. *Mol. Cancer Res. MCR* **10**, 239–249 (2012).
185. Kozanoglu, I. *et al.* New indication for therapeutic potential of an old well-known drug (propranolol) for multiple myeloma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **139**, 327–335 (2013).
186. Abdin, A. A., Soliman, N. A. & Saied, E. M. Effect of propranolol on IL-10, visfatin, Hsp70, iNOS, TLR2, and survivin in amelioration of tumor progression and survival in Solid Ehrlich Carcinoma-bearing mice. *Pharmacol. Rep. PR* **66**, 1114–1121 (2014).
187. Wei, W.-J., Shen, C.-T., Song, H.-J., Qiu, Z.-L. & Luo, Q.-Y. Propranolol sensitizes thyroid cancer cells to cytotoxic effect of vemurafenib. *Oncol. Rep.* **36**, 1576–1584 (2016).
188. Albiñana, V. *et al.* Propranolol reduces viability and induces apoptosis in hemangioblastoma cells from von Hippel-Lindau patients. *Orphanet J. Rare Dis.* **10**, 118 (2015).
189. Perron, L., Bairati, I., Harel, F. & Meyer, F. Antihypertensive drug use and the risk of prostate cancer (Canada). *Cancer Causes Control CCC* **15**, 535–541 (2004).
190. Nkontchou, G. *et al.* Effect of long-term propranolol treatment on hepatocellular carcinoma incidence in patients with HCV-associated cirrhosis. *Cancer Prev. Res. Phila. Pa* **5**, 1007–1014 (2012).
191. Chang, P.-Y. *et al.* Propranolol Reduces Cancer Risk: A Population-Based Cohort Study. *Medicine (Baltimore)* **94**, e1097 (2015).
192. Zhong, S. *et al.* β -Blocker use and mortality in cancer patients: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur. J. Cancer Prev. Off. J. Eur. Cancer Prev. Organ. ECP* **25**, 440–448 (2016).

193. Barron, T. I., Connolly, R. M., Sharp, L., Bennett, K. & Visvanathan, K. Beta blockers and breast cancer mortality: a population- based study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **29**, 2635–2644 (2011).
194. Childers, W. K., Hollenbeak, C. S. & Cheriya, P. β -Blockers Reduce Breast Cancer Recurrence and Breast Cancer Death: A Meta-Analysis. *Clin. Breast Cancer* **15**, 426–431 (2015).
195. Galván, D. C., Ayyappan, A. P. & Bryan, B. A. Regression of primary cardiac angiosarcoma and metastatic nodules following propranolol as a single agent treatment. *Oncoscience* **5**, 264–268 (2018).
196. Chow, W. *et al.* Growth Attenuation of Cutaneous Angiosarcoma With Propranolol-Mediated β -Blockade. *JAMA Dermatol.* **151**, 1226–1229 (2015).
197. Daguzé, J. *et al.* Visceral metastatic angiosarcoma treated effectively with oral cyclophosphamide combined with propranolol. *JAAD Case Rep.* **2**, 497–499 (2016).
198. Daguzé, J., Saint-Jean, M. & Dréno, B. Large nose angiosarcoma treated effectively with oral cyclophosphamide combined with propranolol. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **32**, e52–e54 (2018).
199. Bhattacharyya, G. S. *et al.* Continuous metronomic temozolamide with propranolol and etodolac in recurrent glioblastoma: A pilot study. *J. Clin. Oncol.* **32**, e13005–e13005 (2014).
200. Shahid, T. *et al.* Continuous low dose temozolamide with or without VT-122 in glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* **33**, e13010–e13010 (2015).
201. Bhattacharyya, G. S. *et al.* Effect of coadministered beta blocker and COX-2 inhibitor to patients with pancreatic cancer prior to receiving albumin-bound (Nab) paclitaxel. *J. Clin. Oncol.* **33**, 302–302 (2015).
202. de la Torre, A. N. *et al.* Effect of coadministration of propranolol and etodolac (VT-122) plus sorafenib for patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). *J. Clin. Oncol.* **33**, 390–390 (2015).
203. Aoyagi, T., Terracina, K. P., Raza, A., Matsubara, H. & Takabe, K. Cancer cachexia, mechanism and treatment. *World J. Gastrointest. Oncol.* **7**, 17–29 (2015).
204. Hyltander, A., Körner, U. & Lundholm, K. G. Evaluation of mechanisms behind elevated energy expenditure in cancer patients with solid tumours. *Eur. J. Clin. Invest.* **23**, 46–52 (1993).

205. Hyltander, A., Daneryd, P., Sandström, R., Körner, U. & Lundholm, K. Beta-adrenoceptor activity and resting energy metabolism in weight losing cancer patients. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990* **36**, 330–334 (2000).
206. Lindgren, M. E. *et al.* Beta-blockers may reduce intrusive thoughts in newly diagnosed cancer patients. *Psychooncology*. **22**, 1889–1894 (2013).
207. Selye, H., Veilleux, R. & Cantin, M. Excessive stimulation of salivary gland growth by isoproterenol. *Science* **133**, 44–45 (1961).
208. Barka, T. INDUCED CELL PROLIFERATION: THE EFFECT OF ISOPROTERENOL. *Exp. Cell Res.* **37**, 662–679 (1965).
209. Iwata, H., Kariya, K. & Fujimoto, S. Effect of compounds affecting the adrenergic mechanism on cell growth and division of *Tetrahymena pyriformis* W. *Jpn. J. Pharmacol.* **19**, 275–281 (1969).
210. Bijman, J. T. *et al.* Modulation of placental alkaline phosphatase activity and cytokeratins in human HN-1 cells by butyrate, retinoic acid, catecholamines and histamine. *Br. J. Cancer* **56**, 127–132 (1987).
211. Schuller, H. M. & Cole, B. Regulation of cell proliferation by beta-adrenergic receptors in a human lung adenocarcinoma cell line. *Carcinogenesis* **10**, 1753–1755 (1989).
212. Lin, X., Luo, K., Lv, Z. & Huang, J. Beta-adrenoceptor action on pancreatic cancer cell proliferation and tumor growth in mice. *Hepatogastroenterology*. **59**, 584–588 (2012).
213. Işeri, O. D. *et al.* beta-Adrenoreceptor antagonists reduce cancer cell proliferation, invasion, and migration. *Pharm. Biol.* **52**, 1374–1381 (2014).
214. Valles, S. L. *et al.* Stress hormones promote growth of B16-F10 melanoma metastases: an interleukin 6- and glutathione-dependent mechanism. *J. Transl. Med.* **11**, 72 (2013).
215. Shay, G., Lynch, C. C. & Fingleton, B. Moving targets: Emerging roles for MMPs in cancer progression and metastasis. *Matrix Biol. J. Int. Soc. Matrix Biol.* **44–46**, 200–206 (2015).
216. Yadav, L. *et al.* Matrix metalloproteinases and cancer - roles in threat and therapy. *Asian Pac. J. Cancer Prev. APJCP* **15**, 1085–1091 (2014).
217. Guo, K. *et al.* Norepinephrine-induced invasion by pancreatic cancer cells is inhibited by propranolol. *Oncol. Rep.* **22**, 825–830 (2009).
218. Moretti, S. *et al.* β -adrenoceptors are upregulated in human melanoma and their activation releases pro-tumorigenic cytokines and metalloproteases in melanoma cell lines.

Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol. **93**, 279–290 (2013).

219. Barbieri, A. *et al.* The stress hormone norepinephrine increases migration of prostate cancer cells in vitro and in vivo. *Int. J. Oncol.* **47**, 527–534 (2015).

220. Annabi, B., Vaillancourt-Jean, E., Weil, A. G. & Béliveau, R. Pharmacological targeting of β -adrenergic receptor functions abrogates NF- κ B signaling and MMP-9 secretion in medulloblastoma cells. *OncoTargets Ther.* **3**, 219–226 (2010).

221. Wu, S. *et al.* Clinical efficacy of propranolol in the treatment of hemangioma and changes in serum VEGF, bFGF and MMP-9. *Exp. Ther. Med.* **10**, 1079–1083 (2015).

222. Thaivalappil, S. *et al.* Propranolol-mediated attenuation of MMP-9 excretion in infants with hemangiomas. *JAMA Otolaryngol.-- Head Neck Surg.* **139**, 1026–1031 (2013).

223. Pon, C. K., Lane, J. R., Sloan, E. K. & Halls, M. L. The β 2-adrenoceptor activates a positive cAMP-calcium feedforward loop to drive breast cancer cell invasion. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **30**, 1144–1154 (2016).

224. Smith, B. N. & Bhowmick, N. A. Role of EMT in Metastasis and Therapy Resistance. *J. Clin. Med.* **5**, (2016).

225. Shan, T. *et al.* Novel regulatory program for norepinephrine-induced epithelial-mesenchymal transition in gastric adenocarcinoma cell lines. *Cancer Sci.* **105**, 847–856 (2014).

226. Zhang, J. *et al.* Norepinephrine induced epithelial-mesenchymal transition in HT-29 and A549 cells in vitro. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **142**, 423–435 (2016).

227. Jacob, A. & Prekeris, R. The regulation of MMP targeting to invadopodia during cancer metastasis. *Front. Cell Dev. Biol.* **3**, 4 (2015).

228. Creed, S. J. *et al.* β 2-adrenoceptor signaling regulates invadopodia formation to enhance tumor cell invasion. *Breast Cancer Res. BCR* **17**, 145 (2015).

229. Linden, J. Adenosine promotes tumor metastasis. *Sci. Signal.* **6**, pe20 (2013).

230. Ntantie, E. *et al.* An adenosine-mediated signaling pathway suppresses prenylation of the GTPase Rap1B and promotes cell scattering. *Sci. Signal.* **6**, ra39 (2013).

231. Psaila, B. & Lyden, D. The metastatic niche: adapting the foreign soil. *Nat. Rev. Cancer* **9**, 285–293 (2009).

232. Barcellos-Hoff, M. H., Lyden, D. & Wang, T. C. The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis. *Nat. Rev. Cancer* **13**, 511–518 (2013).

233. Karaman, S. & Detmar, M. Mechanisms of lymphatic metastasis. *J. Clin. Invest.* **124**, 922–928 (2014).
234. Le, C. P. *et al.* Chronic stress in mice remodels lymph vasculature to promote tumour cell dissemination. *Nat. Commun.* **7**, 10634 (2016).
235. Ozeki, M. *et al.* Propranolol as an alternative treatment option for pediatric lymphatic malformation. *Tohoku J. Exp. Med.* **229**, 61–66 (2013).
236. Asano, A., Morimatsu, M., Nikami, H., Yoshida, T. & Saito, M. Adrenergic activation of vascular endothelial growth factor mRNA expression in rat brown adipose tissue: implication in cold-induced angiogenesis. *Biochem. J.* **328 (Pt 1)**, 179–183 (1997).
237. Tonello, C. *et al.* Role of sympathetic activity in controlling the expression of vascular endothelial growth factor in brown fat cells of lean and genetically obese rats. *FEBS Lett.* **442**, 167–172 (1999).
238. Lee, J.-W. *et al.* Surgical stress promotes tumor growth in ovarian carcinoma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **15**, 2695–2702 (2009).
239. Yang, E. V. *et al.* Norepinephrine upregulates VEGF, IL-8, and IL-6 expression in human melanoma tumor cell lines: implications for stress-related enhancement of tumor progression. *Brain. Behav. Immun.* **23**, 267–275 (2009).
240. Wolter, N. E., Wolter, J. K., Enepekides, D. J. & Irwin, M. S. Propranolol as a novel adjunctive treatment for head and neck squamous cell carcinoma. *J. Otolaryngol. - Head Neck Surg. J. Oto-Rhino-Laryngol. Chir. Cervico-Faciale* **41**, 334–344 (2012).
241. Lamy, S., Lachambre, M.-P., Lord-Dufour, S. & Béliveau, R. Propranolol suppresses angiogenesis in vitro: inhibition of proliferation, migration, and differentiation of endothelial cells. *Vascul. Pharmacol.* **53**, 200–208 (2010).
242. Kum, J. J. & Khan, Z. A. Mechanisms of propranolol action in infantile hemangioma. *Dermatoendocrinol.* **6**, e979699 (2014).
243. Annabi, B., Lachambre, M.-P., Plouffe, K., Moundjian, R. & Béliveau, R. Propranolol adrenergic blockade inhibits human brain endothelial cells tubulogenesis and matrix metalloproteinase-9 secretion. *Pharmacol. Res.* **60**, 438–445 (2009).
244. Park, S. Y. *et al.* Norepinephrine induces VEGF expression and angiogenesis by a hypoxia-inducible factor-1 α protein-dependent mechanism. *Int. J. Cancer* **128**, 2306–2316 (2011).

245. Muraki, C. *et al.* Cyclooxygenase-2 inhibition causes antiangiogenic effects on tumor endothelial and vascular progenitor cells. *Int. J. Cancer* **130**, 59–70 (2012).
246. Iñiguez, M. A., Rodríguez, A., Volpert, O. V., Fresno, M. & Redondo, J. M. Cyclooxygenase-2: a therapeutic target in angiogenesis. *Trends Mol. Med.* **9**, 73–78 (2003).
247. Ciccarelli, M. *et al.* Impaired neoangiogenesis in β_2 -adrenoceptor gene-deficient mice: restoration by intravascular human β_2 -adrenoceptor gene transfer and role of NF κ B and CREB transcription factors. *Br. J. Pharmacol.* **162**, 712–721 (2011).
248. Zamora, J. M., Pearce, H. L. & Beck, W. T. Physical-chemical properties shared by compounds that modulate multidrug resistance in human leukemic cells. *Mol. Pharmacol.* **33**, 454–462 (1988).
249. Bando, T. *et al.* Stimulation of beta-adrenoceptor enhances sensitivity to cisplatin in non-small cell lung cancer cell lines. *Int. J. Oncol.* **10**, 1197–1201 (1997).
250. Pasquier, E. *et al.* Effective Management of Advanced Angiosarcoma by the Synergistic Combination of Propranolol and Vinblastine-based Metronomic Chemotherapy: A Bench to Bedside Study. *EBioMedicine* **6**, 87–95 (2016).
251. Akutsu, Y. *et al.* COX2 expression predicts resistance to chemoradiotherapy in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann. Surg. Oncol.* **18**, 2946–2951 (2011).
252. Xia, S., Zhao, Y., Yu, S. & Zhang, M. Activated PI3K/Akt/COX-2 pathway induces resistance to radiation in human cervical cancer HeLa cells. *Cancer Biother. Radiopharm.* **25**, 317–323 (2010).
253. Yang, H. J., Kim, N., Seong, K. M., Youn, H. & Youn, B. Investigation of radiation-induced transcriptome profile of radioresistant non-small cell lung cancer A549 cells using RNA-seq. *PloS One* **8**, e59319 (2013).
254. Brohée, L. *et al.* Lipin-1 regulates cancer cell phenotype and is a potential target to potentiate rapamycin treatment. *Oncotarget* **6**, 11264–11280 (2015).
255. Liu, J. *et al.* The effect of chronic stress on anti-angiogenesis of sunitinib in colorectal cancer models. *Psychoneuroendocrinology* **52**, 130–142 (2015).
256. Green McDonald, P., O’Connell, M. & Lutgendorf, S. K. Psychoneuroimmunology and cancer: a decade of discovery, paradigm shifts, and methodological innovations. *Brain. Behav. Immun.* **30 Suppl**, S1-9 (2013).
257. Teshima, H. *et al.* Prevention of immunosuppression in stressed mice by

- neurotrophin(NSP). *Life Sci.* **47**, 869–876 (1990).
258. Kalinichenko, V. V., Mokyr, M. B., Graf, L. H., Cohen, R. L. & Chambers, D. A. Norepinephrine-mediated inhibition of antitumor cytotoxic T lymphocyte generation involves a beta-adrenergic receptor mechanism and decreased TNF-alpha gene expression. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **163**, 2492–2499 (1999).
259. Wu, W. *et al.* Social isolation stress enhanced liver metastasis of murine colon 26-L5 carcinoma cells by suppressing immune responses in mice. *Life Sci.* **66**, 1827–1838 (2000).
260. Kanemi, O., Zhang, X., Sakamoto, Y., Ebina, M. & Nagatomi, R. Acute stress reduces intraparenchymal lung natural killer cells via beta-adrenergic stimulation. *Clin. Exp. Immunol.* **139**, 25–34 (2005).
261. Tarr, A. J. *et al.* β -Adrenergic receptor mediated increases in activation and function of natural killer cells following repeated social disruption. *Brain. Behav. Immun.* **26**, 1226–1238 (2012).
262. Ben-Eliyahu, S. Can we really know if a stressor increases or decreases natural killer cell activity? *Brain. Behav. Immun.* **26**, 1224–1225 (2012).
263. Sonnenfeld, G., Cunnick, J. E., Armfield, A. V., Wood, P. G. & Rabin, B. S. Stress-induced alterations in interferon production and class II histocompatibility antigen expression. *Brain. Behav. Immun.* **6**, 170–178 (1992).
264. Khalili, A. *et al.* Long acting propranolol and HSP-70 rich tumor lysate reduce tumor growth and enhance immune response against fibrosarcoma in Balb/c mice. *Iran. J. Immunol. IJI* **10**, 70–82 (2013).
265. Huang, H.-W., Tang, J.-L., Han, X.-H., Peng, Y.-P. & Qiu, Y.-H. Lymphocyte-derived catecholamines induce a shift of Th1/Th2 balance toward Th2 polarization. *Neuroimmunomodulation* **20**, 1–8 (2013).
266. Huang, H.-W., Fang, X.-X., Wang, X.-Q., Peng, Y.-P. & Qiu, Y.-H. Regulation of differentiation and function of helper T cells by lymphocyte-derived catecholamines via α_1 - and β_2 -adrenoceptors. *Neuroimmunomodulation* **22**, 138–151 (2015).
267. Panina-Bordignon, P. *et al.* Beta2-agonists prevent Th1 development by selective inhibition of interleukin 12. *J. Clin. Invest.* **100**, 1513–1519 (1997).
268. Khaled, Y. S., Ammori, B. J. & Elkord, E. Myeloid-derived suppressor cells in cancer: recent progress and prospects. *Immunol. Cell Biol.* **91**, 493–502 (2013).

269. Motallebnezhad, M. *et al.* The immunobiology of myeloid-derived suppressor cells in cancer. *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med.* **37**, 1387–1406 (2016).
270. Jin, J. *et al.* Chronic psychological stress induces the accumulation of myeloid-derived suppressor cells in mice. *PloS One* **8**, e74497 (2013).
271. Mao, Y. *et al.* Inhibition of tumor-derived prostaglandin-e2 blocks the induction of myeloid-derived suppressor cells and recovers natural killer cell activity. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **20**, 4096–4106 (2014).
272. Zhou, L. *et al.* Propranolol Attenuates Surgical Stress-Induced Elevation of the Regulatory T Cell Response in Patients Undergoing Radical Mastectomy. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **196**, 3460–3469 (2016).
273. Normanno, N. *et al.* Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene* **366**, 2–16 (2006).
274. Rush, J. S., Quinalty, L. M., Engelman, L., Sherry, D. M. & Ceresa, B. P. Endosomal accumulation of the activated epidermal growth factor receptor (EGFR) induces apoptosis. *J. Biol. Chem.* **287**, 712–722 (2012).
275. Mosesson, Y., Mills, G. B. & Yarden, Y. Derailed endocytosis: an emerging feature of cancer. *Nat. Rev. Cancer* **8**, 835–850 (2008).
276. Shaughnessy, R. *et al.* Epidermal growth factor receptor endocytic traffic perturbation by phosphatidate phosphohydrolase inhibition: new strategy against cancer. *FEBS J.* **281**, 2172–2189 (2014).
277. Norambuena, A. *et al.* Phosphatidic acid induces ligand-independent epidermal growth factor receptor endocytic traffic through PDE4 activation. *Mol. Biol. Cell* **21**, 2916–2929 (2010).
278. Lavie, Y., Piterman, O. & Liscovitch, M. Inhibition of phosphatidic acid phosphohydrolase activity by sphingosine. Dual action of sphingosine in diacylglycerol signal termination. *FEBS Lett.* **277**, 7–10 (1990).
279. Kang, F. *et al.* Propranolol inhibits glucose metabolism and 18F-FDG uptake of breast cancer through posttranscriptional downregulation of hexokinase-2. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **55**, 439–445 (2014).
280. Nakanishi, M. & Rosenberg, D. W. Multifaceted roles of PGE2 in inflammation and cancer. *Semin. Immunopathol.* **35**, 123–137 (2013).

281. Nagaraja, A. S. *et al.* Sustained adrenergic signaling leads to increased metastasis in ovarian cancer via increased PGE2 synthesis. *Oncogene* **35**, 2390–2397 (2016).
282. Gay, L. J. & Felding-Habermann, B. Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat. Rev. Cancer* **11**, 123–134 (2011).
283. Su, B. B., Chen, J. H., Shi, H., Chen, Q. Q. & Wan, J. Aspirin may modify tumor microenvironment via antiplatelet effect. *Med. Hypotheses* **83**, 148–150 (2014).
284. Mousa, S. A. & Petersen, L. J. Anti-cancer properties of low-molecular-weight heparin: preclinical evidence. *Thromb. Haemost.* **102**, 258–267 (2009).
285. Pfankuchen, D. B., Stölting, D. P., Schlesinger, M., Royer, H.-D. & Bendas, G. Low molecular weight heparin tinzaparin antagonizes cisplatin resistance of ovarian cancer cells. *Biochem. Pharmacol.* **97**, 147–157 (2015).
286. Spano, D. *et al.* Dipyridamole prevents triple-negative breast-cancer progression. *Clin. Exp. Metastasis* **30**, 47–68 (2013).
287. Bonten, T. N. *et al.* Effect of β -blockers on platelet aggregation: a systematic review and meta-analysis. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **78**, 940–949 (2014).
288. Punda, A. *et al.* Effects of atenolol and propranolol on platelet aggregation in moderate essential hypertension: randomized crossover trial. *Croat. Med. J.* **46**, 219–224 (2005).
289. Aschbacher, K. *et al.* Good stress, bad stress and oxidative stress: insights from anticipatory cortisol reactivity. *Psychoneuroendocrinology* **38**, 1698–1708 (2013).
290. Cao, L. *et al.* Environmental and genetic activation of a brain-adipocyte BDNF/leptin axis causes cancer remission and inhibition. *Cell* **142**, 52–64 (2010).
291. Ammann, R. W., Fleiner-Hoffmann, A., Grimm, F. & Eckert, J. Long-term mebendazole therapy may be parasitocidal in alveolar echinococcosis. *J. Hepatol.* **29**, 994–998 (1998).
292. Rausch, R. L., Wilson, J. F., McMahon, B. J. & O’Gorman, M. A. Consequences of continuous mebendazole therapy in alveolar hydatid disease--with a summary of a ten-year clinical trial. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **80**, 403–419 (1986).
293. Reuter, S., Jensen, B., Buttenschoen, K., Kratzer, W. & Kern, P. Benzimidazoles in the treatment of alveolar echinococcosis: a comparative study and review of the literature. *J. Antimicrob. Chemother.* **46**, 451–456 (2000).
294. Münst, G. J., Karlaganis, G. & Bircher, J. Plasma concentrations of mebendazole during

- treatment of echinococcosis: preliminary results. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **17**, 375–378 (1980).
295. Braithwaite, P. A., Roberts, M. S., Allan, R. J. & Watson, T. R. Clinical pharmacokinetics of high dose mebendazole in patients treated for cystic hydatid disease. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **22**, 161–169 (1982).
296. Dawson, M. & Watson, T. R. The effect of dose form on the bioavailability of mebendazole in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **19**, 87–90 (1985).
297. Shcherbakov, A. M. & Lur'e, A. A. [Clinical trial of the possibility of increasing the bioavailability of mebendazole using sunflower oil in echinococcosis]. *Med. Parazitol. (Mosk.)* 46–49 (1989).
298. Liu, C. *et al.* Enhanced bioavailability and cysticidal effect of three mebendazole-oil preparations in mice infected with secondary cysts of *Echinococcus granulosus*. *Parasitol. Res.* **111**, 1205–1211 (2012).
299. Chiba, Y., Kohri, N., Iseki, K. & Miyazaki, K. Improvement of dissolution and bioavailability for mebendazole, an agent for human echinococcosis, by preparing solid dispersion with polyethylene glycol. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **39**, 2158–2160 (1991).
300. Bekhti, A. & Pirotte, J. Cimetidine increases serum mebendazole concentrations. Implications for treatment of hepatic hydatid cysts. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **24**, 390–392 (1987).
301. Deva, S. & Jameson, M. Histamine type 2 receptor antagonists as adjuvant treatment for resected colorectal cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.* CD007814 (2012) doi:10.1002/14651858.CD007814.pub2.
302. Bai, R.-Y. *et al.* Brain Penetration and Efficacy of Different Mebendazole Polymorphs in a Mouse Brain Tumor Model. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **21**, 3462–3470 (2015).
303. Mukhopadhyay, T., Sasaki, J., Ramesh, R. & Roth, J. A. Mebendazole elicits a potent antitumor effect on human cancer cell lines both in vitro and in vivo. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **8**, 2963–2969 (2002).
304. Sasaki, J. *et al.* The anthelmintic drug mebendazole induces mitotic arrest and apoptosis by depolymerizing tubulin in non-small cell lung cancer cells. *Mol. Cancer Ther.* **1**, 1201–1209 (2002).
305. Martarelli, D., Pompei, P., Baldi, C. & Mazzoni, G. Mebendazole inhibits growth of human adrenocortical carcinoma cell lines implanted in nude mice. *Cancer Chemother.*

Pharmacol. **61**, 809–817 (2008).

306. Doudican, N., Rodriguez, A., Osman, I. & Orlow, S. J. Mebendazole induces apoptosis via Bcl-2 inactivation in chemoresistant melanoma cells. *Mol. Cancer Res. MCR* **6**, 1308–1315 (2008).

307. Doudican, N. A., Byron, S. A., Pollock, P. M. & Orlow, S. J. XIAP downregulation accompanies mebendazole growth inhibition in melanoma xenografts. *Anticancer. Drugs* **24**, 181–188 (2013).

308. Bai, R.-Y., Staedtke, V., Aprhys, C. M., Gallia, G. L. & Riggins, G. J. Antiparasitic mebendazole shows survival benefit in 2 preclinical models of glioblastoma multiforme. *Neuro-Oncol.* **13**, 974–982 (2011).

309. Nygren, P., Fryknäs, M., Agerup, B. & Larsson, R. Repositioning of the anthelmintic drug mebendazole for the treatment for colon cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **139**, 2133–2140 (2013).

310. Coyne, C. P., Jones, T. & Bear, R. Gemcitabine-(C4-amide)-[anti-HER2/neu] Anti-Neoplastic Cytotoxicity in Dual Combination with Mebendazole against Chemotherapeutic-Resistant Mammary Adenocarcinoma. *J. Clin. Exp. Oncol.* **2**, (2013).

311. Dobrosotskaya, I. Y., Hammer, G. D., Schteingart, D. E., Maturen, K. E. & Worden, F. P. Mebendazole monotherapy and long-term disease control in metastatic adrenocortical carcinoma. *Endocr. Pract. Off. J. Am. Coll. Endocrinol. Am. Assoc. Clin. Endocrinol.* **17**, e59-62 (2011).

312. Laclette, J. P., Guerra, G. & Zetina, C. Inhibition of tubulin polymerization by mebendazole. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **92**, 417–423 (1980).

313. Friedman, P. A. & Platzer, E. G. Interaction of anthelmintic benzimidazoles with *Ascaris suum* embryonic tubulin. *Biochim. Biophys. Acta* **630**, 271–278 (1980).

314. Argyriou, A. A., Kyritsis, A. P., Makatsoris, T. & Kalofonos, H. P. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy in adults: a comprehensive update of the literature. *Cancer Manag. Res.* **6**, 135–147 (2014).

315. Cata, J. P., Weng, H. R., Lee, B. N., Reuben, J. M. & Dougherty, P. M. Clinical and experimental findings in humans and animals with chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Minerva Anesthesiol.* **72**, 151–169 (2006).

316. Dakshanamurthy, S. *et al.* Predicting new indications for approved drugs using a

- proteochemometric method. *J. Med. Chem.* **55**, 6832–6848 (2012).
317. Pourgholami, M. H. *et al.* Potent inhibition of tumoral hypoxia-inducible factor 1alpha by albendazole. *BMC Cancer* **10**, 143 (2010).
318. Chu, S. W. L., Badar, S., Morris, D. L. & Pourgholami, M. H. Potent inhibition of tubulin polymerisation and proliferation of paclitaxel-resistant 1A9PTX22 human ovarian cancer cells by albendazole. *Anticancer Res.* **29**, 3791–3796 (2009).
319. Pasquier, E., Honore, S. & Braguer, D. Microtubule-targeting agents in angiogenesis: Where do we stand? *Drug Resist. Updat.* **9**, 74–86 (2006).
320. Stupp, R. *et al.* Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* **352**, 987–996 (2005).
321. Peón, A., Naulaerts, S. & Ballester, P. J. Predicting the Reliability of Drug-target Interaction Predictions with Maximum Coverage of Target Space. *Sci. Rep.* **7**, 3820 (2017).
322. Pantziarka, P., Bouche, G., Meheus, L., Sukhatme, V. & Sukhatme, V. P. Repurposing Drugs in Oncology (ReDO)-mebendazole as an anti-cancer agent. *Ecancermedicalscience* **8**, 443 (2014).
323. Lai, S. R., Castello, S. A., Robinson, A. C. & Koehler, J. W. In vitro anti-tubulin effects of mebendazole and fenbendazole on canine glioma cells. *Vet. Comp. Oncol.* **15**, 1445–1454 (2017).
324. Tyler, D. S. *et al.* Click chemistry enables preclinical evaluation of targeted epigenetic therapies. *Science* **356**, 1397–1401 (2017).
325. Bounedjah, O. *et al.* Free mRNA in excess upon polysome dissociation is a scaffold for protein multimerization to form stress granules. *Nucleic Acids Res.* **42**, 8678–8691 (2014).
326. Dewey, C. M. *et al.* TDP-43 aggregation in neurodegeneration: are stress granules the key? *Brain Res.* **1462**, 16–25 (2012).
327. King, O. D., Gitler, A. D. & Shorter, J. The tip of the iceberg: RNA-binding proteins with prion-like domains in neurodegenerative disease. *Brain Res.* **1462**, 61–80 (2012).
328. Ramaswami, M., Taylor, J. P. & Parker, R. Altered ribostasis: RNA-protein granules in degenerative disorders. *Cell* **154**, 727–736 (2013).
329. Li, Y. R., King, O. D., Shorter, J. & Gitler, A. D. Stress granules as crucibles of ALS pathogenesis. *J. Cell Biol.* **201**, 361–372 (2013).

330. Papakrivos, J. Regulatory Strategy for the Development of Known Drugs in New Therapeutic Areas. (2011).
331. Balogh, S. Extensions of indication in the European Union – a regulatory overview. (2016).
332. European Medicines Agency 2013a. Abraxane assessment report - EMA/CHMP/627629/2013. (2013).
333. European Medicines Agency 2015. Abraxane assessment report - EMA/76768/2015. (2015).
334. European Medicines Agency 2019 a. European Medicines Agency post- authorisation procedural advice for users of the centralised procedure - EMEA-H-19984/03 Rev. 82. Vol. 29. (2019).
335. European Commission (2013). Guidelines on the details of the various categories of variations, on the operation of the procedures laid down in Chapters II, IIa, III and IV of Commission Regulation (EC) No 1234/2008 of 24 November 2008 concerning the examination of variations to the terms of marketing authorisations for medicinal products for human use and veterinary medicinal products and on the documentation to be submitted pursuant to those procedures. *J Eur Union* **56**, 1–79 (2013).
336. European Medicines Agency.(2013b). Lysodren (mitotane): EPAR summary for the public. **EMA/423898**, (2013).
337. Vogel, A. M. Hybrid or Mixed Marketing Authorization Application in the European Union: Not a Trivial Decision in New Development Programs for Established Drugs. *Drug Inf. J.* **46**, 479–484 (2012).
338. Pantziarka, P., Pirmohamed, M. & Mirza, N. New uses for old drugs. *BMJ* k2701 (2018) doi:10.1136/bmj.k2701.
339. Shah, R. R. & Stonier, P. D. Repurposing old drugs in oncology: Opportunities with clinical and regulatory challenges ahead. *J. Clin. Pharm. Ther.* **44**, 6–22 (2019).
340. Langedijk, J. *et al.* Extensions of indication throughout the drug product lifecycle: a quantitative analysis. *Drug Discov. Today* **21**, 348–355 (2016).
341. Nayroles, G. *et al.* Unlocking the potential of established products: toward new incentives rewarding innovation in Europe. *J. Mark. Access Health Policy* **5**, 1298190 (2017).
342. European Commission (2007a). Guidance on elements required to support the

significant clinical benefit in comparison with existing therapies of a new therapeutic indication in order to benefit from an extended (11-year) marketing protection period. (2007).

343. European Commission (2007b). Guidance on a new therapeutic indication for a well-established substance. (2007).

344. Copenhagen Economics (2018). Study on the economic impact of supplementary protection certificates, pharmaceutical incentives and rewards in Europe. (2018) doi:10.2873/886648.

345. Smith, R. B. Repositioned drugs: integrating intellectual property and regulatory strategies. *Drug Discov. Today Ther. Strateg.* **8**, 131–137 (2011).

346. Novac, N. Challenges and opportunities of drug repositioning. *Trends Pharmacol. Sci.* **34**, 267–272 (2013).

347. Dilly, S. J. & Morris, G. S. Pimping up Drugs Recovered, Superannuated and Under Exploited Drugs - An Introduction to the Basics of Drug Reprofileing. *Curr. Drug Discov. Technol.* **14**, 121–126 (2017).

348. Murteira, S., Millier, A., Ghezaiel, Z. & Lamure, M. Drug reformulations and repositioning in the pharmaceutical industry and their impact on market access: regulatory implications. *J. Mark. Access Health Policy* **2**, (2014).

349. Norman, P. Repurposing as a strategy for orphan drug development, evidence from European approvals. *Expert Opin. Orphan Drugs* **1**, 473–480 (2013).

350. Davies, E. H., Fulton, E., Brook, D. & Hughes, D. A. Affordable orphan drugs: a role for not-for-profit organizations: Non-profit orphan drug development. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **83**, 1595–1601 (2017).

351. European Medicines Agency (2008). Thalidomide Celgene : EPAR - Public assessment report. (2008).

352. European Commission (2017). State of paediatric medicines in the EU - 10 years of the EU Paediatric Regulation. (2017).

353. European Medicines Agency (2014). Hemangirol : EPAR - Public assessment report. (2014).

354. Blatt, J. & Corey, S. J. Drug repurposing in pediatrics and pediatric hematology oncology. *Drug Discov. Today* **18**, 4–10 (2013).

355. Rumore, M. M. Medication Repurposing in Pediatric Patients: Teaching Old Drugs New

- Tricks. *J. Pediatr. Pharmacol. Ther.* **21**, 36–53 (2016).
356. Murteira, S., Millier, A. & Toumi, M. Drug repurposing in pharmaceutical industry and its impact on market access: market access implications. *J. Mark. Access Health Policy* **2**, 22814 (2014).
357. Minghetti, P. *et al.* From Off-Label to Repurposed Drug in Non-Oncological Rare Diseases: Definition and State of the Art in Selected EU Countries. *Med. Access Point Care* **1**, maapoc.0000016 (2017).
358. Shineman, D. W. *et al.* Overcoming obstacles to repurposing for neurodegenerative disease. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* **1**, 512–518 (2014).
359. Toumi, M. & Rémuzat, C. Value added medicines: what value repurposed medicines might bring to society? *J. Mark. Access Health Policy* **5**, 1264717 (2017).
360. STAMP European Commission expert group (2017a). Repurposing of established medicines/active substances - Ad hoc session with invited stakeholders - STAMP 6/31. (2017).
361. Simoens, S., Picavet, E., Cassiman, D. & Doooms, M. PHP15 What Price do we Pay for Repurposing Medicines for Rare Diseases? *Value Health* **15**, A15–A16 (2012).
362. Doooms, M., Pincé, H. & Simoens, S. Do we need authorized orphan drugs when compounded medications are available?: Unnecessary authorization of some orphan drugs. *J. Clin. Pharm. Ther.* **38**, 1–2 (2013).
363. Van Bossuyt, A. Parliamentary questions: the sharp price increase of the drug CDCA (chenodeoxycholic acid). (2018).
364. Sheldon, T. Dutch hospital makes own drug for rare condition after manufacturer hikes price to €170 000. *BMJ* k2103 (2018) doi:10.1136/bmj.k2103.
365. Breckenridge, A. & Jacob, R. Overcoming the legal and regulatory barriers to drug repurposing. *Nat. Rev. Drug Discov.* **18**, 1–2 (2019).
366. European Medicines Agency (2019b). Explanatory note on general fees payable to the European Medicines Agency as of 1 April 2019. (2019).
367. Sachs, R. E., Ginsburg, P. B. & Goldman, D. P. Encouraging New Uses for Old Drugs. *JAMA* **318**, 2421 (2017).
368. Pushpakom, S. *et al.* Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. *Nat. Rev. Drug Discov.* **18**, 41–58 (2019).

369. Sukhatme, V. P., Fang, K, Lo, A & ukhatme, V. Financial orphan therapies looking for adoption. (2014).
370. Polamreddy, P. & Gattu, N. The drug repurposing landscape from 2012 to 2017: evolution, challenges, and possible solutions. *Drug Discov. Today* **24**, 789–795 (2019).
371. Association of Medical Research Charities. Facilitating adoption of off- patent, repurposed medicines into NHS clinical practice. (2017).
372. Weir, S. J., DeGennaro, L. J. & Austin, C. P. Repurposing Approved and Abandoned Drugs for the Treatment and Prevention of Cancer through Public-Private Partnership. *Cancer Res.* **72**, 1055–1058 (2012).
373. Oprea, T. I. & Mestres, J. Drug Repurposing: Far Beyond New Targets for Old Drugs. *AAPS J.* **14**, 759–763 (2012).
374. DeVita, V. T. Off-label use of approved drugs. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **6**, 181–181 (2009).
375. Weda, M. *et al.* Study on off-label use of medicinal products in the European Union. (2017).
376. Vannieuwenhuysen, C *et al.* Towards a better managed off-label use of drugs - KCE Reports 252. *KCE Rep. 252 Belg. Health Care Knowl. Cent. KCE* (2015).
377. Persidis, A. Drug Repositioning and Off-Label Use—Finding the Balance and Understanding the Differences: Interview with David Cavalla, MA, PhD, Founder, Numedicus. *Drug Repurposing Rescue Repositioning* **1**, 5–7 (2015).
378. Abernethy, A. P. Systematic Review: Reliability of Compendia Methods for Off-Label Oncology Indications. *Ann. Intern. Med.* **150**, 336 (2009).
379. Green, A. K., Wood, W. A. & Basch, E. M. Time to Reassess the Cancer Compendia for Off-label Drug Coverage in Oncology. *JAMA* **316**, 1541 (2016).
380. Lenk, C. & Duttge, G. Ethical and legal framework and regulation for off-label use: European perspective. *Ther. Clin. Risk Manag.* 537 (2014) doi:10.2147/TCRM.S40232.
381. Egualé, T. *et al.* Association of Off-label Drug Use and Adverse Drug Events in an Adult Population. *JAMA Intern. Med.* **176**, 55 (2016).
382. Verbaanderd, C., Meheus, L., Huys, I. & Pantziarka, P. Repurposing Drugs in Oncology: Next Steps. *Trends Cancer* **3**, 543–546 (2017).

383. Pammolli, F., Magazzini, L. & Riccaboni, M. The productivity crisis in pharmaceutical R&D. *Nat. Rev. Drug Discov.* **10**, 428–438 (2011).
384. Waring, M. J. *et al.* An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. *Nat. Rev. Drug Discov.* **14**, 475–486 (2015).
385. Nosengo, N. Can you teach old drugs new tricks? *Nature* **534**, 314–316 (2016).
386. YCharts. Pfizer's Expiring Viagra Patent Adversely Affects Other Drugmakers Too. *Forbes* <https://www.forbes.com/sites/investor/2013/12/20/pfizers-expiring-viagra-patent-adversely-affects-other-drugmakers-too/>.
387. Urquhart, L. Market watch: Top drugs and companies by sales in 2017. *Nat. Rev. Drug Discov.* **17**, 232 (2018).
388. Repurposed drugs: second time lucky. <https://www.lifesciencesipreview.com/article/repurposed-drugs-second-time-lucky>.
389. Allison, M. NCATS launches drug repurposing program. *Nat. Biotechnol.* **30**, 571–572 (2012).
390. Frail, D. E. *et al.* Pioneering government-sponsored drug repositioning collaborations: progress and learning. *Nat. Rev. Drug Discov.* **14**, 833–841 (2015).
391. Prague, J. K. *et al.* Neurokinin 3 receptor antagonism as a novel treatment for menopausal hot flashes: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* **389**, 1809–1820 (2017).
392. Drewry, D. H., Willson, T. M. & Zuercher, W. J. Seeding collaborations to advance kinase science with the GSK Published Kinase Inhibitor Set (PKIS). *Curr. Top. Med. Chem.* **14**, 340–342 (2014).
393. Knapp, S. *et al.* A public-private partnership to unlock the untargeted kinome. *Nat. Chem. Biol.* **9**, 3–6 (2013).
394. Billin, A. N. *et al.* Discovery of Novel Small Molecules that Activate Satellite Cell Proliferation and Enhance Repair of Damaged Muscle. *ACS Chem. Biol.* **11**, 518–529 (2016).
395. Elkins, J. M. *et al.* Comprehensive characterization of the Published Kinase Inhibitor Set. *Nat. Biotechnol.* **34**, 95–103 (2016).

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.