2.4　非臨床試験の概括評価

リムパーザ®錠

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 6
2.4.2 薬理試験 9
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 9
2.4.2.2 副次的薬理試験 11
2.4.2.3 安全性薬理試験 12
2.4.3 薬物動態試験 12
2.4.3.1 分析法 12
2.4.3.2 吸収 12
2.4.3.3 分布 13
2.4.3.4 代謝 14
2.4.3.4.1 代謝物 14
2.4.3.4.2 代謝酵素 16
2.4.3.5 排泄 16
2.4.3.6 薬物相互作用 16
2.4.3.6.1 薬物相互作用データの評価 16
2.4.3.6.2 CYP が関与する薬物相互作用 17
2.4.3.6.2.1 CYP3A 阻害剤及び誘導剤の影響 17
2.4.3.6.2.2 オラパリブの CYP 阻害及び誘導作用 17
2.4.3.6.3 UGT 阻害作用 17
2.4.3.6.4 トランスポーターに関する相互作用 18
2.4.3.7 薬物動態の概要 19
2.4.4 毒性試験 19
2.4.4.1 単回投与毒性試験 19
2.4.4.2 反復投与毒性試験 20
2.4.4.2.1 トキシコキネティクス 21
2.4.4.3 遺伝毒性試験 22
2.4.4.4 生殖発生毒性試験 22
2.4.4.5 その他の毒性試験 23
2.4.4.5.1 光毒性試験 23
2.4.4.5.2 骨髄毒性試験 23
2.4.4.5.3 マウスを用いた予備用量設定試験 23

2.4.4.6　原薬中の不純物 23
2.4.4.7　毒性試験の要約 24
2.4.5　総括及び結論 24
2.4.5.1　作用機序 24
2.4.5.2　主な毒性所見 25
2.4.5.3　曝露量に関する考察 26
2.4.5.4　薬物相互作用 29
2.4.5.5　結論 29
2.4.6　参考文献一覧 30

表目次

表 1　ラット、イヌ及びヒトに[^{14}C]-オラパリブを単回経口又は静脈内投与したときの血漿中代謝物組成 15
表 2　各種トランスポーターにおける相互作用（被相互作用薬として） 18
表 3　各種トランスポーターにおける相互作用（相互作用薬として） 18
表 4　ヒト、ラット及びイヌの定常状態における AUC 群平均値の比較 21
表 5　ラット及びイヌを用いた主要毒性試験における無影響量及び最小影響量でのオラパリブの全身曝露量 28

図目次

図 1　相同組換え修復異常（HRD）の腫瘍におけるオラパリブの作用 6
図 2　DNA 一本鎖切断の修復における PARP-1 の役割 10

略語及び専門用語一覧表

略語及び専門用語	用語の説明
ADP	Adenosine diphosphate：アデノシン二リン酸
AUC	Area under the plasma concentration-time curve from zero to infinity：投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{(0-12)}$	Area under the plasma concentration-time curve from zero to 12 hours ：投与後 0 時間から 12 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{(0-24)}$	Area under the plasma concentration-time curve from zero to 24 hours ：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{(0-t)}$	Area under the plasma concentration-time curve from zero to time t：投与後 0 時間から定量可能最終時点までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein
BRCA	Breast cancer susceptibility gene, ie, *BRCA1* and *BRCA2*：乳癌感受性遺伝子。即ち、*BRCA1* 及び *BRCA2* 注）遺伝子を意図する時は斜体を用いる。例：*BRCA* 変異 コードしている蛋白質を意図する場合は斜体にはしない。
BRCAm	g*BRCA* or s*BRCA* mutated：生殖細胞系又は体細胞系 *BRCA* 変異陽性
C_{max}	Maximum plasma concentration ：最高血漿中濃度
$C_{ss,max}$	Maximum observed plasma concentration at steady state：定常状態における最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450：シトクロム P450
DNA	Deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
DSB	Double strand break：二本鎖切断
EMA	European Medicines Agency：欧州医薬品庁
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
g*BRCA*	Germline *BRCA*：生殖細胞系 *BRCA*
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
HEK-293	Human embryonic kidney-293 cells：ヒト胎児由来腎臓 293 細胞
hERG	Human ether-a-go-go Related Gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HPLC-MS	High performance liquid chromatography-mass spectrometry：高速液体クロマトグラフィー／質量分析
HPLC-MS/MS	High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry：高速液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析
HRD	Homologous recombination DNA pathway deficiency：相同組換え修復異常
HRR	Homologous Recombination DNA Repair：相同組換え修復
HCT-116	Human colorectal tumour cell line：ヒト結腸直腸腫瘍細胞株-116
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration ：50%阻害濃度
IC_{90}	90% maximal inhibitory concentration：90%阻害濃度

略語及び専門用語	用語の説明
ICH	International Conference on Harmonisation：日米 EU 医薬品規制調和国際会議
$[I_2]$又は$[I]_g$	Calculated maximal gastrointestinal concentration：消化管内の最高濃度
$[I_{in\ free}]$	Inlet maximum unbound plasma concentration to liver：非結合形の門脈血漿中最高濃度
$[I_{in\ max}]$	Inlet maximum plasma concentration to liver：門脈血漿中最高濃度
K_i	Inhibition constant：阻害定数
K_I	Inhibitor concentration producing half maximal rate of inhibition：最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度
k_{inact}	Maximum inactivation rate constant：最大不活性化速度定数
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein
MDCKII	Madin-Darby canine kidney II cells：Madin-Darby イヌ腎臓 II 細胞
MDR1	Multi-drug resistance protein 1：多剤耐性蛋白質-1（P-糖蛋白質[P-gp]）
M:E ratio	Myeloid/erythroid ratio：骨髄球・赤血球比
MMS	Methyl methanesulfonate：メチルメタンスルホン酸
MRP	Multidrug resistance-associated protein
MS	Mass spectrometry：質量分析
NAD^+	Nicotinamide adenine dinucleotide：ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
NED	No exposure data：曝露データなし
NHEJ	Non-homologous end joining：非相同末端再結合
NTCP	Sodium taurocholate co-transporting polypepetide
OAT	Organic anion transporterSCLC
OATP	Organic anion-transporting polypeptide
OCT	Organic cation-transporter
p53	Tumour suppressor protein 53：腫瘍抑制蛋白質 53
PAR	Poly (ADP-ribose)：ポリ（ADP-リボース）
PARP	Poly (ADP-ribose) polymerase：ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ
PDX	Patient-derived tumour explant：患者由来腫瘍の異種移植
PF_{50}	Potentiation factor 50 - calculated as the ratio of the growth curve IC_{50} for a DNA damaging agent, e.g. MMS, divided by the IC_{50} of the curve of MMS + PARP inhibitor：メチルメタンスルホン酸（MMS）などの DNA 傷害性薬剤の増殖曲線における IC_{50} 値を MMS＋PARP 阻害剤の増殖曲線における IC_{50} 値で割ることにより比として算出される増強係数
P-gp	P-glycoprotein：P-糖蛋白質
PSR	Platinum-sensitive relapsed：白金製剤感受性再発
Sf9	*Spodoptera frugiperda* ：ヨトウガ卵巣細胞
SSB	Single strand break：一本鎖切断
t_{max}	Time to reach maximum plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間
TTC	Threshold of toxicological concern：毒性学的懸念の閾値
UGT	Uridine di-phospho-glucuronosyl transferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
Vd	Distribution volume：分布容積

2.4.1　非臨床試験計画概略

オラパリブは、ポリ（アデノシン二リン酸（ADP）-リボース）（PAR）ポリメラーゼ（PARP）の強力な阻害剤であり、卵巣癌、乳癌、前立腺癌、膵臓癌等の様々な腫瘍を適応症として、単剤療法、並びに、化学療法、電離放射線療法及びその他の抗癌剤との併用療法に使用する抗腫瘍薬として開発中である。PARP 阻害は、相同組換え修復（HRR）異常（HRD）を有する腫瘍を標的とする新しい治療法であるが、その他のデオキシリボ核酸（DNA）修復異常のある腫瘍にも抗腫瘍効果を発揮することが示唆されている。HRD を有する腫瘍では、オラパリブの単剤療法により細胞死及び腫瘍退縮を誘導することができる。そのメカニズムは、HRD 又は PARP 阻害のどちらか一方の経路の阻害では細胞毒性作用は認められないが、HRD と PARP 阻害の両方の経路が阻害されると細胞死に至る「合成致死」として知られる過程による。これは、オラパリブにより PARP が DNA の一本鎖切断（SSB）部位にトラップされることによって DNA の二本鎖切断（DSB）が蓄積し（Pommier et al 2016）、修復不可能な程度までゲノムの不安定性が増大した結果として生じる（図 1）。

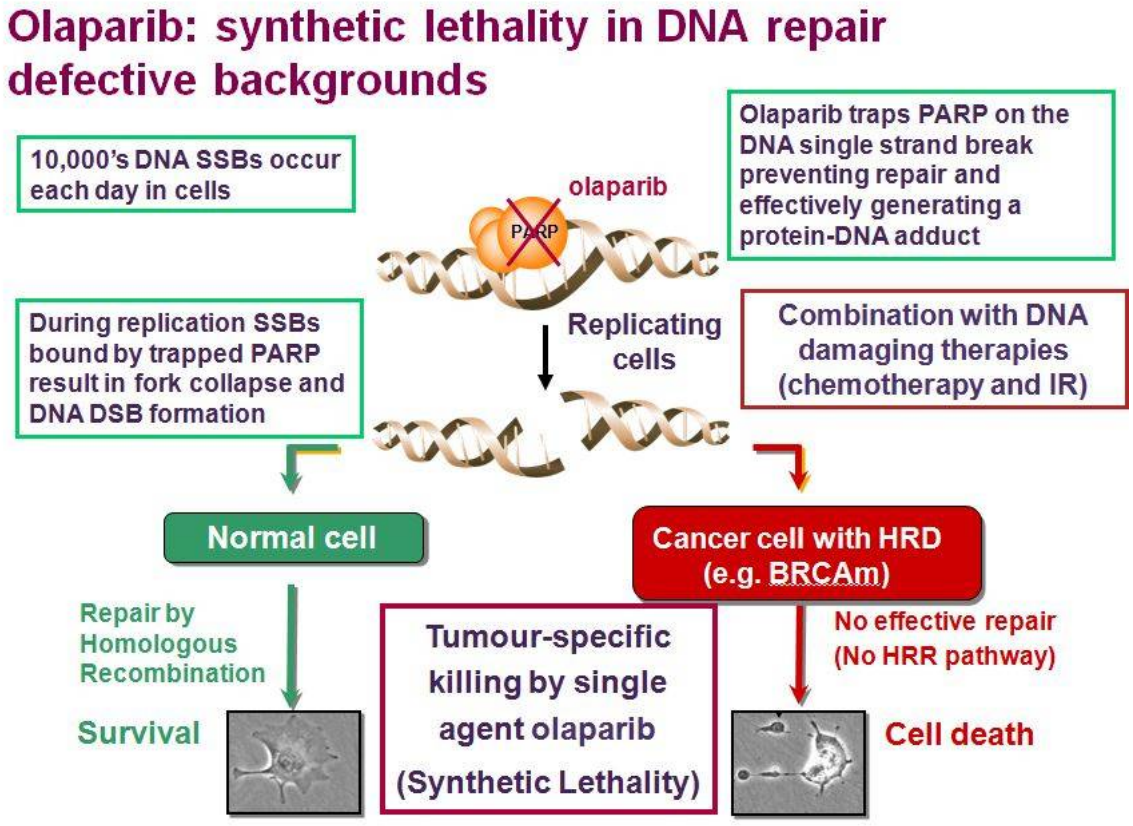


図 1　　相同組換え修復異常（HRD）の腫瘍におけるオラパリブの作用

乳癌感受性遺伝子（*BRCA*）である *BRCA1* 及び *BRCA2* は腫瘍抑制遺伝子として知られる遺伝子群に属するヒト遺伝子である。正常な細胞において、BRCA1 及び BRCA2 蛋白質（以下、

BRCA1 及び BRCA2）は、遺伝物質である DNA の安定性を確保するのを助け、癌形成の抑制に寄与している（Miki et al 1994, Wooster et al 1995）。

BRCA1 及び BRCA2 はいずれも HRR による DNA の DSB 修復に必須であり（Gudmundsdottir and Ashworth 2006）、BRCA1 又は BRCA2 の機能が失われると遺伝子変異が増加し、ゲノムが不安定化することが報告されている（Venkitaraman 2002）。このゲノムの不安定化により、生殖細胞系 *BRCA*（*gBRCA*）変異を有する患者では発癌リスクが高くなると考えられている。一方、腫瘍細胞において、BRCA1 又は BRCA2 の機能喪失は PARP 阻害剤による標的治療にとってむしろ好都合な要因ともなっている。実際、2005 年に発表された研究結果により（Bryant et al 2005, Farmer et al 2005）、PARP 阻害剤によって *BRCA* 欠損細胞の細胞死を誘導できることが示されている。*BRCA1* 及び *BRCA2* の両方が野生型又はヘテロ接合型である正常細胞では HRR 経路が機能しており、オラパリブによる PARP 阻害がもたらす影響は大きく低下すると考えられる（Farmer et al 2005）。*gBRCA* 変異を有する患者において、正常な組織は当該遺伝子 *BRCA* に変異のある遺伝子コピーを 1 つしか持たないが、腫瘍組織では正常機能を有する *BRCA* が両方欠損していると考えられる。このことは、オラパリブの選択的治療域（腫瘍組織に対する作用と正常組織に対する作用との差）にとって重要であり、本剤が奏効する可能性が高い特定の標的患者集団において、長期臨床使用に耐え得る忍容性プロファイルを持つ可能性を示している。

BRCA 以外の HRR 異常を含めたマッチドペア癌細胞株モデルにおいてもオラパリブに対する感受性が示されたが（McCabe et al 2006, Weston et al 2010, Wang et al 2017, Gilardini Montani et al 2013, Cerrato et al 2016, Murata et al 2016）、HRR 以外の DNA 修復（Postel-Vinay et al 2013, Cerrato et al 2016, Murata et al 2016）、即ち、ヌクレオチド除去修復やイソクエン酸脱水素酵素をコードする遺伝子 *IDH*（Lu et al 2017）に異常がみられる場合にもオラパリブが活性を示すことを示唆する結果が得られている。

以上のような背景から、オラパリブ（4-[(3-{[4-(Cyclopropylcarbonyl)piperazin-1-yl]carbonyl}-4-fluorophenyl)methyl]phthalazin-1(2*H*)-one）を創出した創薬研究計画では、DNA 修復機構に異常のある腫瘍の治療に有効でありながら、従来の化学療法剤に比べて毒性の低い抗癌剤として、経口投与可能な PARP-1 阻害剤を見出すことを目標とした。また、単剤療法として、腫瘍増殖抑制作用を効果的に誘導し、これを持続させるためには長期投与が必要であると予想されたことから経口剤を目指して開発を進めた。

遺伝子組換え酵素を用いた *in vitro* 試験、ヒト腫瘍細胞を用いた *in vitro* 試験及びマウス腫瘍モデルを用いた *in vivo* 試験により、オラパリブが PARP-1 を強力に阻害することが明らかになった。オラパリブの DNA の SSB 修復阻害作用について、SSB を惹起するメチルメタンスルホン酸（MMS）の作用増強を指標として評価した。

In vitro 及び *in vivo* モデルを用いて、PARP-1 活性に依存した PAR 鎖形成を指標に薬力学的評価を行い、標的酵素を阻害するとともに、非臨床で腫瘍退縮効果が認められるオラパリブ濃度を求めた。一連の癌細胞株に対するオラパリブの有効性データから、最大の感受性を示す細胞株の多くが *BRCA1*、*BRCA2* 又は他の HRR に関与する遺伝子にホモ接合型変異を有していたが、それら以外の遺伝子に対する異常がみられた場合でも同程度の感受性を示すものがみられた。

一連の癌細胞株（乳癌細胞株）の一部を用いて、オラパリブに対する感受性と様々な DNA 傷害性化学療法剤に対する感受性との相関関係についても検討した結果、カルボプラチン及びカンプトテシン類に最も密接な相関関係が認められた。このことは、これらによって誘発される DNA 損傷の種類（カルボプラチンのような白金製剤の場合は DNA 鎖間及び鎖内架橋、カンプトテシン類の場合は捕捉されたトポイソメラーゼ I - DNA 複合体であり、いずれも、複製細胞内で DSB が形成される原因となる）及びこれらを修復しようとする DNA 損傷応答経路（主に DNA

複製中の細胞における HRR）に関する知見と一致する。一方、パクリタキセル等の作用機序の点で関連性のない化学療法剤では、このような相関関係はみられない。オラパリブ及び白金製剤に対する感受性の評価を、白金製剤が標準的治療である他の腫瘍細胞株（卵巣癌、非小細胞肺癌及び頭頸部扁平上皮癌）でも実施した。その結果、乳癌細胞株での成績と同様、白金製剤とオラパリブに対する感受性との間に強い相関関係が認められた。また、乳癌及び肺癌の患者由来腫瘍の異種移植（PDX）モデルを用いた *in vivo* 試験でも、オラパリブと白金製剤の感受性間に相関関係が確認された。更に、*BRCA* モデル（*BRCA2* ノックアウトマウスモデル及び *BRCA2* 変異 PDX モデルの両方）を用いてオラパリブ長期投与時の影響を検討したところ、オラパリブが白金製剤投与後の維持療法剤として使用可能であることが示された。

効力を裏付ける試験に加えて、*in vitro* 副次的薬理試験、並びに、心血管系、呼吸器系、中枢神経系、末梢神経系及び自律神経系に対する影響を評価する安全性薬理試験を実施した。一連の安全性薬理試験は、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）安全性薬理試験ガイドライン（ICH S7A, ICH S7B）及び医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した（薬理試験概要表 2.6.3 項参照）。

吸収、分布、代謝及び排泄試験で使用した動物種及び系統は、薬理試験及び毒性試験で使用されたものと同じである。また、組織内分布試験はアルビノラット、有色ラット及び担癌マウスを用いて実施した。さらに、*in vitro* 試験では、ヒト由来組織及びヒトの代謝酵素あるいはトランスポーターを発現させた動物又は昆虫由来細胞を用いた。薬物相互作用については、一連の *in vitro* 試験系を適切な濃度範囲で検討した。これらの薬物動態試験では、通常、毒性試験と同じ溶媒を用いてオラパリブを強制経口投与した。トキシコキネティクスの検討は、GLP に準拠して実施した。

オラパリブを全身曝露したときの毒性を評価するため、マウス及びラットを用いた単回経口及び静脈内投与毒性試験、GLP 適用のマウス（最長 14 日間）、ラット及びイヌ（最長 6 カ月間）を用いた反復経口投与毒性試験を実施した。また、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験によりオラパリブの遺伝毒性を評価するとともに、ラットを用いた経口投与による雌雄受胎能及び胚・胎児発生に関する試験で生殖発生毒性を評価した。これらの主要な試験は全て GLP に準拠して実施した（毒性試験の概要文 2.6.6 項及び毒性試験の概要表 2.6.7 項参照）。PARP は哺乳類細胞に普遍的に発現することから、オラパリブの薬理作用及び毒性を評価する非臨床試験動物種として、げっ歯類及びイヌは適切であると考えられる。更に、オラパリブを経口投与したときにヒトで同定されたすべての主代謝物がラット及び／又はイヌにも存在していたことから（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項参照）、毒性試験に使用する動物種としてラット及びイヌを選択したことが妥当であったと判断できる。一般に、卵巣癌は進行した段階まで検出されず、進行期に発見された場合の 5 年生存率は 27%である（Siegel et al 2013）。全てのオラパリブ投与の対象患者が前治療として白金製剤を含む複数サイクルの化学療法を受けている可能性があり、再発後には、遺伝毒性のある化学療法サイクルがさらに継続されることになる。維持療法としてオラパリブを投与したとき、無増悪生存期間が有意に延長することが明らかになっており、このような患者にオラパリブを投与することにより、さらなる遺伝毒性のある抗がん剤を用いた化学療法を開始する時期を大幅かつ臨床的に意味のある程度に遅延させることができると考えられる（臨床に関する概括評価 2.5.1.2.5 項参照）。抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン（ICH S9）に従って、*BRCAm* 白金製剤感受性（PSR）卵巣癌患者への投与をサポートする反復投与試験として、ラット 6 カ月間、イヌ 6 カ月間の反復投与毒性試験は適切であり、がん原性試験は不要であると考えられる。更に、オラパリブに変異原性はないが、その主たる薬理作用の結果として染色体異常を誘発することから、遺伝毒性物質であると考えられる。これらのことを考慮すると、今回の適応症で開発するためにがん原性試験は不要と考え、実施しなかった。

反復投与毒性試験において、オラパリブ及びその代謝物の毒性機序に関する追加試験が必要であると判断される所見は認められなかった。雌ラットを用いた生殖発生毒性試験において、治療血中濃度以下のオラパリブは胚・胎児致死及び胎児奇形を誘発した。しかしながら、発生毒性は薬理作用から予想されたことであり、2 種目の動物種を用いた確認試験は不要であると考えられた。また、オラパリブは、*BRCAm* を有する PSR 卵巣癌患者、即ち、進行がんで治療方法の選択肢が限られた患者に用いることから、こういった適応症に対して適用できるICH S9ガイドラインに準拠したとき、げっ歯類を用いた出生前及び出生後の発生に関する試験も不要であると考えられた。

予定されている患者集団は、主に *BRCAm* を有する PSR 卵巣癌に罹患した成人患者であることから、幼若動物を用いた非臨床安全性試験は実施しなかった。また、オラパリブは経口でのみ投与されることから、局所刺激性試験も実施しなかった。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

哺乳類の酵素 PARP-1 は作用機序として、SSB を認識し、速やかにこれに結合することで、DNA 損傷のシグナル伝達に関与している（D'Amours et al 1999）。さらに、PARP-1 は、遺伝子増幅、細胞分裂、テロメア長の制御、並びに染色体の安定化、分化、アポトーシス、転写制御及び DNA の塩基除去修復を介した SSB 修復等、DNA に関連する様々な機能にも関与していることが明らかになっている（d'Adda di Fagagna et al 1999, Virag and Szabo 2002, Garnett et al 2012, Bindra et al 2004, Bindra et al 2005, Brenner et al 2012, Schiewer et al 2012）。

PARP-1 が DNA 修復及びその他の過程をどのように調節しているかに関する研究から、核内での PAR 鎖の形成が重要であることが明らかになっている（Althaus and Richter 1987）。DNA に結合して活性化された PARP-1 は、トポイソメラーゼ、ヒストン及び PARP-1 自身等、様々な核内標的蛋白質に関して、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD^+）を利用して長いポリマー鎖（PAR）を合成する（PAR 化）（図 2）。

オラパリブ単剤療法の有効性を示す根拠となる作用機序として、オラパリブは、SSB 上に不活性化 PARP をトラップして DNA の修復を阻害し、細胞の DNA 複製を阻害すると考えらている（Helleday 2011, Murai et al 2012, Pommier et al 2016）。その重大な結果として、トラップされた PARP-DNA 複合体の処理、及び／又は、複製フォークの失速若しくは複製フォークの崩壊が起こり、より重篤な DSB が形成されると予想される（Helleday 2011, Murai et al 2012, Pommier et al 2016）。通常、DSB は HRR 経路によって修復されるが、HRR を欠損する腫瘍では、結果的に修復不可能な程度までゲノムの不安定性が大幅に亢進し、腫瘍細胞の死に至ると考えられる。

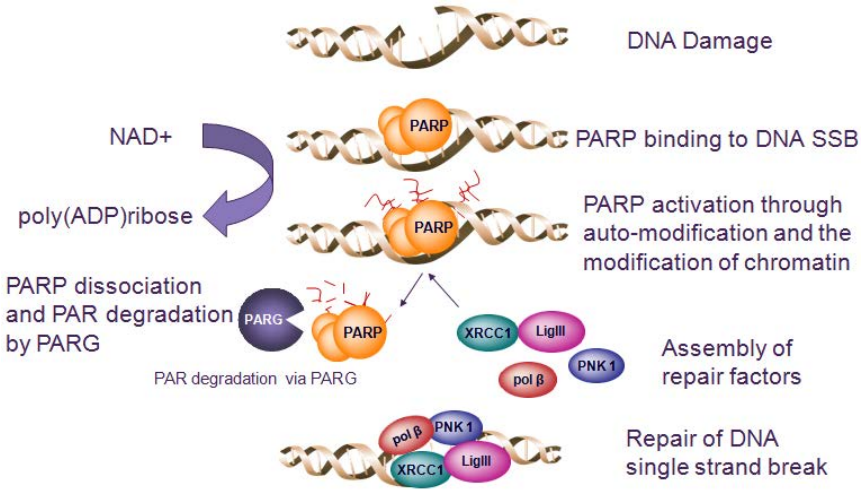


図 2　　DNA 一本鎖切断の修復における PARP-1 の役割

PARP には 17 種類のファミリー分子が存在することが知られており（Hottiger et al 2010）、オラパリブは PARP-1、PARP-2（Menear et al 2008）及び PARP-3（Pharmacology Report 31, Oplustil O'Connor et al 2016）を nM オーダーで阻害することが明らかとなっている。DNA の SBB 修復に関与するのは PARP-1 と PARP-2 のみであり、PARP-1 が DNA の SBB 修復に関与する主なファミリー分子である。PARP-2 も DNA に結合し、この点で PARP-1 活性を補う役割を有する。また、PARP-2 は定常状態下及びストレス反応時の造血幹細胞／前駆細胞の生存に役割を果たしていることが報告されている（Farrés et al 2013）。PARP-3 は SSB 修復において明らかな役割をもたず、むしろ非相同末端結合（N）を介して DSB を促進する（Rulten et al 2011）。しかし、最近の非臨床モデルを用いたデータでは、PARP-3 を阻害しない PARP 阻害剤（AZD2461）に置き換えても *BRCAm* 腫瘍が退縮し、PARP-3 阻害は *BRCAm* 癌に対する抗腫瘍活性に関与していないことが示唆されている（Jaspers et al 2013, Oplustil O'Connor et al 2016）。

2008 年に Menear らによって報告されたように、一連の 4-benzyl-2H-phthalazin-1-one 化合物について最適化を図った結果、オラパリブが見出された。オラパリブの単離酵素 PARP-1 に対する阻害活性の IC_{50} 値は 5 nM、PARP-2 に対する IC_{50} 値は 1 nM であり、もう 1 つの PARP ファミリー分子であるタンキラーゼ-1 に対する IC_{50} 値は 1500 nM であった（Menear et al 2008）。PARP-3 に対するオラパリブの IC_{50} 値は 4 nM であった（Pharmacology Report 31, Oplustil O'Connor et al 2016）。

1000 種類を超える化合物を合成して評価した結果、その約半数で PARP-1 に関して 10 nM 未満の IC_{50} 値及び 2 を超える増強係数（PF_{50} 値）が認められた。ここで、PF_{50} 値は、アルキル化剤である MMS の増殖曲線における IC_{50} 値を MMS＋PARP 阻害剤の増殖曲線における IC_{50} 値で割ることにより比として算出される増強係数のことである。この分析系におけるオラパリブの PF_{50} 値は 25.8 であった（Menear et al 2008, Farmer et al 2005）。

卵巣癌細胞株 A2780、乳癌細胞株 MCF-7 及び大腸癌細胞株 SW620 を含む複数の腫瘍細胞株において、濃度 30～100 nM のオラパリブは PARP 活性を 90%超阻害（PAR 鎖形成（PARP-1 の PD マーカー）阻害に基づく）することが明らかになった。これらの濃度により、細胞株で PARP 活性が有意に低下し、約 300 nM で最大の阻害作用が得られた。*BRCAm* HBCx-10 PDX モデルを用いた *in vivo* での PK／PD／有効性モデル解析において、オラパリブの腫瘍 PARP の IC_{50} 値は

56.5 nM、IC_{90} 値は 382 nM であり、このモデルで有効性を示すには 90%超の PARP 阻害が 6 時間維持される必要があることが示唆された。更に PAR 形成阻害と SSB 形成との関係をモデル解析することにより、HRR 欠損細胞の腫瘍細胞死に至る SSB の著明な増加は、顕著な（90%超）PAR 形成阻害が維持されることによってのみ生じることが予測された。オラパリブの臨床効果は、定常状態における非結合形血漿中薬物濃度のトラフ値を 90%超の PARP 阻害を維持することができる用量で得られることが確認され、非臨床試験の結果と一致した（薬理試験の概要文 2.6.2.2.5 項参照）。

一連の腫瘍細胞株をオラパリブで単独処理したときの PARP 阻害に対する感受性について、コロニー形成アッセイを用いて検討した。卵巣癌細胞株等、様々な腫瘍タイプを含む 95 種類の一連の癌細胞株（KU95 パネル）を用い、各腫瘍細胞株に対する IC_{50} 値を算出した（薬理試験の概要文 2.6.2.2.3 項参照）。乳癌、卵巣癌、大腸癌、頭頚部癌、肺癌及び膵臓癌を代表する細胞株のスクリーニングを行った結果、IC_{50} 値が低濃度（18 nM）から 10 μM を超えるものまで広範囲の細胞活性が明らかになった。

これら一連の腫瘍細胞株には、*BRCA1* 若しくは *BRCA2* の不活性化変異、*BRCA1* プロモーターのメチル化、又は、meiotic recombination 11 homolog A gene 及び ATM 等の他の DNA 修復に関わる分子の欠損が知られている細胞株も含まれており、これらの細胞株はオラパリブに対して高い感受性を示した（薬理試験の概要文 2.6.2.2.3 項参照）。同所移植 *BRCA* ノックアウトモデルを用いた *in vivo* 試験を用いてこの遺伝的背景におけるオラパリブの活性を確認した結果、$BRCA1^{-/-}$（ホモ接合型ヌル変異）モデル（Rottenberg et al 2008）及び $BRCA2^{-/-}$（ホモ接合型ヌル変異）モデル（Hay et al 2009）のいずれにおいても、オラパリブ単剤投与により有意な抗腫瘍効果が認められた（薬理試験の概要文 2.6.2.2.4 項参照）。マウスへのオラパリブ単剤投与による抗腫瘍効果に加えて、白金製剤を単回投与した後にオラパリブを反復投与することにより無増悪期間及び生存期間が延長したことから、維持療法剤としてオラパリブを反復投与することにより白金製剤の抗腫瘍効果が持続する可能性が裏付けられた（Rottenberg et al 2008）。

オラパリブ感受性を示すこれらの癌細胞株及び患者由来の移植腫瘍細胞と白金製剤に対して感受性を示すそれらの細胞との間に相関関係が確認されている（薬理試験の概要文 2.6.2.2.6 項参照）。HRR 経路は白金製剤療法によって生じる DSB の修復にも重要な役割を果たしているので、作用機序を考慮すると、この相関関係は理にかなっている（Taniguchi et al 2003）。更に、この相関性は腫瘍が既に白金製剤感受性であることが明らかにされている場合、オラパリブが奏効する可能性が高い患者を選択する手段としても有用であると考えられる。高悪性度漿液性上皮性卵巣癌は HRR に異常を有する白金製剤感受性腫瘍に顕著に認められることは注目に値する（Bowtell 2010）。

2.4.2.2 副次的薬理試験

酵素、受容体、トランスポーター及びイオンチャネルを含む多様な分子標的からなる 239 種類の *in vitro* 放射性リガンド結合試験及び酵素アッセイ、並びに 7 種類のヒト遺伝子組換え電位依存性心臓イオンチャネルを用いた試験において、オラパリブは試験に用いた非結合型最高濃度（リガンド結合試験及び酵素アッセイは 10 μM、イオンチャネルを用いた試験は 31.6 μM）まで有意な活性を示さなかった。これらの結果から、ヒトに臨床用量 300 mg を 1 日 2 回反復投与後にも（非結合形最高血漿中濃度（C_{max}）平均値 = 3.80 μM）、有意な標的外活性が誘発される可能性はほとんどないことが示唆された（薬理試験の概要文 2.6.2.3 項参照）。

2.4.2.3 安全性薬理試験

心血管系、呼吸器系、中枢神経系、末梢神経系及び自律神経系に対するオラパリブの影響を評価するため、一連の安全性薬理試験を実施した（薬理試験の概要文 2.6.2.4 項参照）。*In vivo* 試験で、オラパリブの血漿中濃度は測定しなかった。しかし、ラット及びイヌを用いたその他の単回投与及び反復投与試験で得られた薬物動態及びトキシコキネティクスデータから、これらの安全性薬理試験における曝露量は、臨床用量 300 mg 1 日 2 回反復投与後のヒト曝露量と少なくとも同程度以上であったと推定される（薬理試験の概要文 2.6.2.6.2 項参照）。

ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）カリウムチャネル試験において、オラパリブの IC_{50} 値は 226 μM であり、臨床用量 300 mg 1 日 2 回投与時の非結合型 C_{max} 平均値（3.80 μM）に比べて約 60 倍高かった。また、麻酔下のイヌにオラパリブを静脈内投与しても、QT 間隔延長作用は認められなかった。これらの結果から、ヒトにおける推定治療用量で QT 間隔が延長する可能性はほとんどないと考えられた。更に、麻酔下のイヌにオラパリブを静脈内投与したときの呼吸機能パラメータに対する影響、並びに、ラットにオラパリブを経口投与したときの中枢神経系、末梢神経系及び自律神経系に対する影響を評価した試験において、臨床的意義のある所見は認められなかった。

結論として、オラパリブは良好な副次的薬理プロファイル及び安全性薬理プロファイルを示すことが明らかになった。

2.4.3　薬物動態試験

非臨床の吸収、分布、代謝および排泄試験で使用した動物種及び系統は、薬理試験及び毒性試験で使用されたものと同じである（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項及び薬物動態試験の概要表 2.6.5 項参照）。組織内分布試験はアルビノラット、有色ラット及び担癌マウスを用いて実施した。*In vitro* 試験では、ヒト由来組織及びヒトの代謝酵素あるいはトランスポーターを発現させた動物又は昆虫由来細胞を用いた。吸収、分布及び排泄を検討した試験では、通常、毒性試験と同じ溶媒を用いてオラパリブを経口投与した。トキシコキネティクスの検討は GLP に準拠して実施した。

2.4.3.1 分析法

マウス、ラット及びイヌ血漿中オラパリブ濃度の測定には、高速液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析（HPLC-MS/MS）を用いた。試料中のオラパリブは保存期間中安定であった。

2.4.3.2 吸収

マウス、ラット及びイヌにオラパリブを経口投与したときの吸収率は評価しなかった。毒性試験と同じ溶媒でオラパリブを単回経口投与したときのバイオアベイラビリティは、雌雄マウスで 55～60%、雌雄ラットで 20%未満、雄イヌで 79%であった。単回経口投与したときの吸収は速やかであり、マウス、ラット及びイヌのいずれの動物種でも 2 時間以内に C_{max} に到達した。ラットで低いバイオアベイラビリティを示した理由は、初回通過代謝が大きいためと考えられた。

マウス及びイヌにオラパリブを静脈内投与したとき、クリアランス（CL）は中程度（マウスで 1.3～1.7 L/h/kg、イヌで 0.4 L/h/kg）であったが、分布容積（Vd）は小さかった（マウスで 0.5 L/kg 未満、イヌで 1.0 L/kg 未満）。マウス、ラット及びイヌににおける消失半減期は、いずれの種も経口投与時の方が静脈内投与時よりも明らかに長く、経口吸収速度は消失速度よりも遅いことが示唆された。

雌雄 Crl:CD-1 マウスを用いた 14 日間反復経口投与毒性試験でトキシコキネティクスを評価した。曝露量は低用量（100 mg/kg/日）では雌雄間で同程度であり、雌雄ともに曝露量は用量比より低い増加を示したが、この傾向は雄の方が顕著であった。投与 14 日目の曝露量は 1 日目の曝露量に比べて低かった。反復投与後の曝露量低下について詳細な検討は行っていないが、消化管吸収の低下及び代謝亢進によるものと考えられた。

雌雄ラットにおいて、単回経口投与後（5 mg/kg）のオラパリブの吸収は速やかであり（最高血漿中濃度到達時間[t_{max}]は 1～2 時間）、雌の曝露量は雄に比べて顕著に高く、投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC）は雌の方が 5 倍高かった。

雌雄ラットを用いた 1 カ月間及び 6 カ月間反復経口投与毒性試験でトキシコキネティクスを評価した。投与 1 日目の曝露量は用量比以上の増加を示した。1 カ月及び 6 カ月投与後の曝露量は、投与 1 日目に比べて低用量（雄：5 mg/kg/日、雌：1 及び 5 mg/kg/日）では著しい変化は認められなかったが、高用量（雄：30 及び 40 mg/kg/日、雌：15 及び 40 mg/kg/日）では 24～45%低下した。高用量における曝露量の低下は、マウスと同様に消化管吸収の低下及び代謝亢進によるものと考えられた。

また、雌雄ラットに更に高い用量（雄：100～1000 mg/kg/日、雌：25～250 mg/kg/日）を投与した 1 カ月間及び 3 カ月間反復経口投与毒性試験でもトキシコキネティクスを評価した。より高用量の試験のため、投与 1 日目の曝露量は先の試験より高い値を示した。曝露量の増加比は用量比より低かった。1 カ月及び 3 カ月投与後の曝露量は 1 日目に比べて低下し、雄ラットの方が顕著に低下した。

雌雄イヌを用いた 1 カ月間及び 6 カ月間反復経口投与毒性試験でトキシコキネティクスを評価した。雌雄イヌの曝露量は同程度であり、低用量から中用量にかけて用量に比例して増加した。雄では中用量から高用量にかけての曝露量の増加比は用量比より低かったが、雌では用量に比例して増加した。1 カ月及び 6 カ月投与後の曝露量は投与 1 日目の曝露量と同程度であった。

2.4.3.3 分布

オラパリブの血漿蛋白結合率を 0.010～40.0 μg/mL（0.023～92.1 μM）の検討濃度で *in vitro* で検討した。非結合率はイヌ 37.9～47.7%、マウス 28.4～33.9%、ラット 26.5～31.3%、ヒト 8.8～29.8%の順に低くなった。マウス及びラット血漿では蛋白結合率にオラパリブの濃度依存性はみられなかったが、イヌ及びヒト血漿では濃度 10.0～40.0 μg/mL で濃度依存的に非結合率が増加した。ヒト血清アルブミン（HSA）及び α1-酸性糖蛋白質（α1-AGP）に対するオラパリブ（0.100～40.0 μg/mL）の結合率を測定したところ、α1-AGP に比べて HSA に対する結合率の方が高かった。したがって、*in vivo* では HSA が主な血漿結合蛋白であることが示唆された。

ヒト血漿中の 3 種の主代謝物（M12、M15 及び M18）について、マウス及びヒトにおける *in vitro* 血漿蛋白結合率を濃度範囲 0.1～100 μM で評価した。M12 の非結合率はマウス血漿において 0.1 μM で 44.0%、100 μM で 45.0%であり、ヒト血漿において 0.1 μM で 6.82%、100 μM で 47.1%であった。M15 の非結合率はマウス血漿において 0.1 μM で 60.1%、100 μM で 57.1%であり、ヒ

ト血漿において 0.1 μM で 56.8%、100 μM で 60.3%であった。M18 の非結合率はマウス血漿において 0.1 μM で 24.6%、100 μM で 31.5%であり、ヒト血漿において 0.1 μM で 11.6%、100 μM で 23.4%であった。

雌雄の有色ラットに[^{14}C]-オラパリブを単回経口投与したとき、放射能は広範な組織に分布した。脳及び脊髄では放射能は検出されなかった。メラニン含有組織（ブドウ膜及び有色皮膚）中の放射能は他の臓器よりわずかに長く滞留したが、滞留時間は短かった。雌雄ラットにおける放射能分布の傾向は同様であったが、組織内濃度は雌の方が高く、これは血漿中濃度が雌の方が高い血漿中濃度を示すことと一致していた。

ヒト結腸直腸腫瘍細胞株-116（HCT-116）を移植した雌ヌードマウスに[^{14}C]-オラパリブを単回経口投与したとき、放射能はラットと同様の分布を示した。しかしながら、腫瘍組織における放射能濃度は血液中より高く、消失も緩徐であった。

2.4.3.4 代謝

2.4.3.4.1　　代謝物

ラット、イヌ及びヒトにおけるオラパリブの代謝物について、[^{14}C]-オラパリブを用いて検討した。ラット及びヒトの血漿中並びに尿糞中の代謝物分析を主に実施し、イヌでは詳細な代謝物分析を実施しなかった。

女性の固形癌患者に[^{14}C]-オラパリブを 100 mg 単回経口投与したとき、血漿中にはオラパリブに加え、3 種の代謝物が定量可能な量で認められた。オラパリブは血漿中放射能の 70%であり、3 種の代謝物はそれぞれ血漿中放射能の 9～14%であった。3 種の代謝物は M12（ピペラジン開環体の 3 位水酸化体）、M15（フルオロベンジル環のメチレン基水酸化体）及び M18（ピペラジン環の 3 位水酸化体）であった。これら 3 種の代謝物は、雄ラットに単回経口投与後の血漿中にも認められた。M12 及び M15 は雌ラットの血漿中でも検出されたが、定量可能な量ではなく、ラットにおける代謝の性差を反映したものと考えられた（表 1）。ヒト血漿中には他にも 20 種の代謝物が認められたが、放射能検出器付き高速液体クロマトグラフィー（Radio-HPLC）では定量できなかった。このうち 14 種は、ラット及びイヌ血漿中でも確認できなかったが、13 種はラット尿又は糞中の少なくとも一方で認められた。

表 1　　ラット、イヌ及びヒトに[^{14}C]-オラパリブを単回経口又は静脈内投与したときの血漿中代謝物組成

代謝物番号	代謝部位構造	血漿中放射能量の比率（%）						
		ラット（経口）		イヌ（静脈内）		イヌ（経口）		ヒト（経口）
		雄	雌	雄		雄		女性
		プール	プール	1 時間	4 時間	1 時間	8 時間	プール
M12	ピペラジン開環体の 3 位水酸化体	12.3	√	NI	NI	NI	NI	9.3
M15	フルオロベンジル環のメチレン基水酸化体	9.4	√	NI	NI	NI	NI	10.3
M18	ピペラジン環の 3 位水酸化体	7.9	ND	NI	NI	NI	NI	13.7
オラパリブ	-	70.4	100	86.6	86.4	90.9	85.8	70.0

NI　同定作業は実施していない（定量的・定性的評価せず）。
ND　HPLC-MS で検出されず。
√　HPLC-MS で検出されたが、Radio-HPLC では定量できず。
ラット試験 KMR027 及び臨床試験 D0810C00010 で得られた試料を試験 KMX032 で分析した結果、及びイヌ試験 KMD008 の結果を示す。ラット試験 KKR007 については十分な分析が実施されていないため表に含めていない。また、HPLC-MS のみで検出された代謝物も表から除外した。

女性の固形癌患者に[^{14}C]-オラパリブを 100 mg 単回経口投与したとき、放射能の尿及び糞便中排泄率はそれぞれ約 44%及び 42%であり、多数の代謝物が検出された。尿中放射能の主成分はオラパリブであった（投与放射能量の 14.6%、個別値範囲 10～19%）。尿中には少なくとも 37 種の代謝物が存在し、18 種が定量可能であった。尿中の主代謝物は M15 であった（投与放射能量の 6.1%、個別値範囲 4～8%）。他の代謝物はいずれも投与放射能量の 2.3%以下であった。糞便中でも放射能の主成分はオラパリブであった（投与放射能量の 5.7%、個別値範囲 1%未満～14%）。その他に少なくとも 20 種の代謝物が認められ、そのうち 10 種は Radio-HPLC で定量可能であった。尿中と同様に、糞便中の主代謝物は M15 であり（投与放射能量の 4.8%、個別値範囲 1～8%）、他に比較的多い代謝物として M9、M12、M23 及び M28 が認められ、これらは投与放射能量の 2.3～3.5%（個別値範囲 6%以下）であった。ヒト排泄物中で認められたほとんどの代謝物はラット排泄物でも認められたが、5 種の代謝物はラット排泄物中で検出されなかった。しかしながら、これらの代謝物の割合は投与放射能量の 1%未満であった。

雌雄ラットに[^{14}C]-オラパリブを単回経口投与したとき、尿糞中放射能で最も高い割合を示した成分はオラパリブであった。オラパリブの尿中排泄量は雄及び雌でそれぞれ投与放射能量の 4%及び 21%であり、オラパリブの糞中排泄量は雄及び雌でそれぞれ投与放射能量の 20%及び 38%であった。しかしながら、尿糞中放射能の大部分は代謝物であり、雄の方が代謝物の排泄率は高く、代謝物の種類も多かった。これらのデータは、ラットの血漿中濃度及び排泄率に性差が認められたことと一致するものであった。

雄イヌに[^{14}C]-オラパリブを単回経口投与したとき、尿及び糞中放射能でオラパリブの存在比が最も高かった（それぞれ投与放射能量の 5%及び 31%）。オラパリブの他に糞中には 4 種の代謝物（いずれも投与放射能量の 4～7%）、尿中には 3 種の代謝物（いずれも投与放射能量の 2%未満）が定量可能であったが、同定には至らなかった。

ラット及びヒトでは、オラパリブの代謝物は主に第 I 相反応による代謝物であった。主な代謝部位はピペラジン環及びフルオロベンジル環であった。主な代謝反応は酸化反応及び水酸化反応

であり、多くの代謝物は複数の代謝反応で生成した代謝物であった。第 I 相反応後に第 II 相反応で生成した代謝物は微量であった。

2.4.3.4.2 代謝酵素

In vitro 試験からヒトにおけるオラパリブの第 I 相代謝にはシトクロム P450（CYP）が関与し、主代謝酵素は CYP3A4 及び 3A5 であることが示された。オラパリブの体内からの消失は主に代謝によるものであり、ヒトでの CYP3A4 及び 3A5 の発現に大きな個人差があることから、これらがオラパリブの臨床における薬物動態のばらつきの一因と考えられた。

2.4.3.5 排泄

雌雄ラットに[^{14}C]-オラパリブを単回経口投与したとき、放射能は速やかに排泄され（48 時間以内に 94～96%排泄）、5 日以内にほぼ完全に回収された。雌雄ともに放射能の主な排泄経路は糞中であったが、糞中排泄率は雄の方が雌より高かった。これに対応し、放射能の尿中排泄率は雌の方が高かった。胆管カニューレを施した雌雄ラットに[^{14}C]-オラパリブを単回静脈内投与したとき、雄では放射能の大部分が胆汁排泄され、排泄経路に関する性差が確認された。これら所見はラットでオラパリブの代謝に性差が認められたことと一致するものであった。

雄イヌに[^{14}C]-オラパリブを単回静脈内及び経口投与したとき、放射能は速やかに排泄され（静脈内及び経口投与後 48 時間以内にそれぞれ 99%及び 91%が排泄）、7 日以内にそのほとんどが回収された。主な排泄経路は糞であった。

2.4.3.6 薬物相互作用

2.4.3.6.1 薬物相互作用データの評価

オラパリブの薬物相互作用の可能性を *in vitro* で評価した。錠剤でオラパリブ 300 mg を 1 日 2 回投与した臨床試験の成績から、ヒトの定常状態における最高血漿濃度（$C_{ss,max}$）は 9.13 μg/mL（21.0 μM）であった（臨床薬理試験 2.7.2.3.1.6 項参照）。この濃度はヒト血漿蛋白結合率が非線形を示す濃度範囲内にあったため、これに近いオラパリブ濃度（10 μg/mL [23.0 μM]）のヒト血漿蛋白非結合率（18.1%）を用いて非結合形 C_{max}（1.65 μg/mL [3.80 μM]）を算出した。

薬物相互作用の検討に関する欧州医薬品庁ガイドライン（EMA 2013）、米国食品医薬品局ガイダンス草案（FDA 2012）及び厚生労働省ガイドライン最終案（MHLW 2014b）に従い、*in vitro* 薬物相互作用試験の結果に基づいて臨床薬物相互作用試験の必要性を評価した。用量 300 mg で溶解度及びバイオアベイラビリティが完全と仮定し、カットオフ基準の算出式に記載の以下のパラメータを算出した：消化管内の最高濃度（$[I_2]$又は$[I]_g$）、門脈血漿中最高濃度（$[I_{in\ max}]$）、非結合形の門脈血漿中最高濃度（$[I_{in\ free}]$）、非結合形 C_{max} の 50 倍値及び$[I_{in\ free}]$の 25 倍値（臨床薬理試験 2.7.2 項、表 12 参照）。

2.4.3.6.2　CYP が関与する薬物相互作用

2.4.3.6.2.1　CYP3A 阻害剤及び誘導剤の影響

女性の固形癌患者に[^{14}C]-オラパリブを 100 mg 単回経口投与したとき、尿及び糞便中にそれぞれ投与放射能量の約 44%及び 42%の計 86%が排泄された。尿及び糞便中放射能でオラパリブの存在比が最も高く、それぞれ投与放射能量の 14.6%（個別値範囲 10～19%）及び 5.7%（個別値範囲 1%未満～14%）であった。投与放射能量に対する未吸収の割合は求めていないが、回収放射能の残りの部分は代謝物であり、代謝を受けやすいことが示唆された。オラパリブは主に CYP3A4/5 で代謝されることから、CYP3A 阻害剤／誘導剤の併用投与によりオラパリブの体内動態は影響を受けることが示唆された。

2.4.3.6.2.2　オラパリブの CYP 阻害及び誘導作用

オラパリブの CYP に対する直接的阻害作用を *in vitro* で検討した。オラパリブは濃度 100 μM で CYP3A4/5（最大 46%の阻害）に対して弱い阻害作用を示したが、その他の分子種に対する明らかな阻害作用は認められなかった。この検討では CYP3A4/5 に対する IC_{50} 値を算出できなかったため、より高濃度のオラパリブ（17～500 μM）を用いて CYP3A4/5 に対する直接的阻害を検討した結果、IC_{50} 値は 119 μM であった（K_i 値：59.5 μM）。EMA 2013、FDA 2012及びMHLW 2014bに記載の基準に照らし、大部分の CYP 分子種では肝での直接的阻害による相互作用リスクは低いが、肝及び小腸の CYP3A4/5 阻害は相互作用リスクがあると考えられた。

CYP に対する時間依存的阻害を検討した最初の試験（オラパリブ濃度 10 μM のみ）では、オラパリブは CYP3A4/5 に対してわずかな阻害作用を示したが、その他の CYP に阻害作用は認められなかった。次の試験で CYP3A4/5 に対する時間依存的阻害作用をオラパリブ濃度 2～200 μM で検討した。オラパリブは CYP3A4/5 を時間依存的に阻害し、最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度（K_I）及び最大不活性化速度定数（k_{inact}）値はそれぞれ 72.2 μM 及び 0.0675 min^{-1} であった。EMA 2013、FDA 2012及びMHLW 2014bの基準に照らし、オラパリブによる肝及び小腸の CYP3A4/5 の時間依存的阻害は相互作用リスクがあると考えられた。

オラパリブの CYP 誘導作用について、ヒト肝細胞を用いた検討を 2 試験実施した。最初の試験では CYP1A2、2B6、2C9、2C19 及び 3A4/5 に対する誘導作用をオラパリブ濃度 0.3～30 μM で検討し、CYP2B6 の酵素活性のみがオラパリブ濃度依存的にわずかに増加した（最高濃度 30 μM でも陽性対照の 40%未満）。CYP3A4/5 の酵素活性は濃度依存的に低下し、これはオラパリブが CYP3A4/5 を時間依存的に阻害したためと考えられた。次の試験では、CYP1A1/2、2B6 及び 3A4/5 に対する誘導作用をオラパリブ濃度 0.061～133 μM で検討した。CYP1A2 に非常に弱い誘導作用が認められ、CYP2B6 では mRNA が濃度依存的に増加した。CYP3A4 の mRNA は濃度依存的に増加したが、酵素活性の誘導は認められなかった。したがって、CYP1A2 及び CYP2B6 の誘導作用については注意を要する。

2.4.3.6.3　UGT 阻害作用

ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）1A1 及び UGT2B7 に対する阻害作用について、ヒト肝ミクロソームを用いてオラパリブ濃度 0.243～100 μM で検討した。オラパリブは UGT1A1 を濃度依存的に阻害したが（IC_{50} 値：96.7 μM、K_i：48.4 μM）、UGT2B7 をほとんど阻害しなかった。したがって、オラパリブによる肝及び小腸の UGT1A1 直接阻害は、相互作用リスクがあると考えられた。

2.4.3.6.4　　トランスポーターに関する相互作用

オラパリブが各種トランスポーターの基質又は阻害剤である可能性について、ヒト薬物トランスポーターを発現させた Madin-Darby イヌ腎臓 II 細胞（MDCKII 細胞）、ヒト胎児由来腎臓 293 細胞（HEK-293 細胞）、ヒト肝細胞懸濁液又はヨトウガ卵巣細胞（*Sf9*）から単離した膜小胞を用いて検討した。

EMA 2013、FDA 2012及びMHLW 2014bに記載の基準に従い、オラパリブが各種トランスポーターの被相互作用薬及び相互作用薬となる可能性を評価し、それぞれ表 2及び表 3に示した。

表 2　　各種トランスポーターにおける相互作用（被相互作用薬として）

トランスポーター	基質	試験系	相互作用を受ける可能性
MDR1（P-gp）	○	MDCKII-MDR1 細胞及び *Sf9* 膜小胞	あり（消化管）、低い（肝）
BCRP	×	MDCKII-BCRP 細胞及び *Sf9* 膜小胞	低い
MRP2	×	MDCKII-MRP2 細胞及び *Sf9* 膜小胞	低い
OATP1B1	×	HEK-293-OATP1B1 細胞	低い
OATP1B3	×	HEK-293-OATP1B3 細胞	低い
OCT1	×	HEK-293-OCT1 細胞	低い
OCT2	検討せず	-	低い
OAT1	検討せず	-	低い
OAT3	検討せず	-	低い
MATE1	検討せず	-	低い
MATE2-K	検討せず	-	低い
NTCP	検討せず	-	低い

未変化体の腎排泄率が投与量の 25%以下であったため、腎トランスポーターを介した相互作用の影響は低いと判断し、腎トランスポーターの基質かどうかは検討しなかった。

表 3　　各種トランスポーターにおける相互作用（相互作用薬として）

トランスポーター	阻害作用	試験系	相互作用を及ぼす可能性		
			EMA	FDA	MHLW
MDR1（P-gp）	あり、IC_{50} 値 76.0 μM	MDCKII-MDR1 細胞	あり（消化管及び肝）	あり（消化管及び肝）	あり（消化管及び肝）
BCRP	弱い、100 μM で 47%阻害	MDCKII-BCRP 細胞	低い	低い	低い
MRP2	なし	反転膜小胞	低い	低い	低い
OATP1B1	あり、IC_{50} 値 20.3 及び 27.1 μM	HEK-293-OATP1B1 細胞	あり	あり	あり
OATP1B3	なし	HEK-293-OATP1B3 細胞	低い	低い	低い
OCT1	あり、IC_{50} 値 37.9 μM	HEK-293-OCT1 細胞	あり	あり	あり
OCT2	あり、IC_{50} 値 19.9 μM	HEK-293-OCT2 細胞	あり	あり	低い
OAT1	なし	HEK-293-OAT1 細胞	低い	低い	低い
OAT3	あり、IC_{50} 値 18.4 μM	HEK-293-OAT3 細胞	あり	あり	低い
MATE1	あり、IC_{50} 値 5.50 μM	HEK-293-MATE1 細胞	あり	あり	あり
MATE2-K	あり、IC_{50} 値 47.1 μM	HEK-293-MATE2-K 細胞	あり	低い	低い
NTCP	弱い、100 μM で 23%阻害	ヒト肝細胞	低い	低い	低い

EMA、FDA 及び MHLW はそれぞれEMA 2013、FDA 2012及びMHLW 2014bの記載基準に基づく判定を示す。

2.4.3.7 薬物動態の概要

オラパリブの薬物動態的特性を評価するため一連の動物試験を実施した。また、ヒトにおける代謝及び臨床における薬物相互作用の可能性についても検討した。主な結果を以下に示す。

- オラパリブは主に代謝により消失した。
- ヒト血漿中の 3 種の主代謝物は、いずれもラット血漿中で認められた。
- ヒト尿糞便中にオラパリブ及び多数の代謝物が認められ、各代謝物の量は概してわずかであった。ヒト尿糞便中のほとんどの代謝物はラットの尿糞中で認められたが、5 種の代謝物（いずれも投与放射能量の 1%未満）はラット尿糞中で検出されなかった。
- *In vitro* 試験からオラパリブの主代謝酵素は CYP3A4/5 であることが示された。CYP3A4/5 の阻害剤／誘導剤と併用した場合、オラパリブの体内動態は影響を受けると考えられた。
- オラパリブの各種 CYP に対する直接的阻害作用を *in vitro* で検討した結果、CYP3A に対してのみ弱い直接的阻害作用を示した。
- オラパリブの各種 CYP に対する時間依存的阻害作用を *in vitro* で検討した結果、CYP3A に対してのみ弱い時間依存的阻害作用を示した。
- ヒト肝細胞を用いた検討で、オラパリブによる CYP1A2 及び 2B6 の誘導作用が認められた。CYP3A4 の mRNA は濃度依存的に増加したが、酵素活性の誘導は認められなかった。
- オラパリブは UGT1A1 を濃度依存的に阻害したが、UGT2B7 をほとんど阻害しなかった。
- オラパリブは MDR1（P-gp）の基質であることから、P-gp の阻害剤／誘導剤の併用でオラパリブの体内動態は影響を受けると考えられた。
- オラパリブは *in vitro* で OATP1B1、OCT1、OCT2、OAT3、MATE1、MATE2-K 及び P-gp を阻害した。

2.4.4 毒性試験

オラパリブの安全性について、単回及び反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験及び遺伝毒性試験で得られた所見に基づいて評価した（毒性試験の概要文 2.6.6 項及び毒性試験の概要表 2.6.7 項参照）。これらの試験で得られた主な所見を以下に示すとともに、2.4.4.7項で概説する。ラット及びイヌを用いた 1 カ月間及び 6 カ月間反復投与毒性試験、並びにラットを用いた生殖発生毒性試験では、臨床投与経路である経口投与によりオラパリブを投与した。また、本薬投与に起因した変化の回復性を検討するため、1 カ月間毒性試験の投与期間終了後に 4 週間の休薬群（対照群及びオラパリブ投与群）を設けた。更に、ラットを用いたがん原性試験の用量設定のため、最長 3 カ月間の反復投与毒性試験を実施した。がん原性試験は、本剤を早期がんに適用する際には必要であるが、今回対象とする進行がんには不要である。しかし、これら用量設定試験における投与量及びオラパリブの曝露レベルは、ラットを用いた主要な反復投与毒性試験のそれらを上回ることから、これらの試験成績も本資料に含めた。また、オラパリブの光毒性作用、並びに原薬中に含まれる不純物の安全性についても考察した。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

マウス及びラットを用いた単回経口投与毒性試験では、オラパリブを 300 mg/kg（用いた溶媒の溶解限界、純度換算した用量はマウスでは 228 mg/kg、ラットでは 228 又は 291 mg/kg）の用量

まで投与した（毒性試験の概要文 2.6.6.2 項参照）。マウスでは、300（228）mg/kg 群で死亡例及び一般状態の変化がみられなかったことから、最小致死量は得られなかった。ラットにおける最小致死量は 300（228～291）mg/kg であり、投与後 1～3 日目に数例が死亡した。ラットにおける経口投与時の最大非致死量は 240（182.4～232.8）mg/kg であった。

マウス及びラットを用いた単回静脈内投与毒性試験における最小致死量は、いずれの動物種においても 100（76）mg/kg であり、100（76）mg/kg 以上の群の動物が投与直後に死亡した。マウス及びラットにおける最大非致死量は 70（53.2）mg/kg であった。

イヌを用いた単回投与毒性試験は実施していないが、イヌを用いたバイオアベイラビリティ、及び最大耐量（MTD）並びに 7 日間固定用量反復経口投与毒性試験（毒性試験の概要文 2.6.6.3.2.1 項参照）の結果から、イヌの経口投与時の概略の致死量は>75 mg/kg と考えられた。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

ラットを用いた反復経口投与毒性試験において、オラパリブを 200 mg/kg/日まで 7 日間、40 mg/kg/日まで 1 カ月間、及び 15 mg/kg/日（雌）又は 30 mg/kg/日（雄）まで 6 カ月間反復投与したときの忍容性は良好であり、本薬に関連する死亡例はなかった。これらの試験において、雌で 15 mg/kg/日以上、雄で 40 mg/kg/日以上において、体重増加抑制及び／又は摂餌量の減少がみられた。雄に比べて雌で血漿曝露量が高かったことから、ラット 6 カ月間試験では、高用量群として、雌では 15 mg/kg/日、雄では 30 mg/kg/日を選択した。主要な GLP 試験とは異なる投与媒体を用いた最長 3 カ月間のラットがん原性用量設定試験において、より高用量である 1000 mg/kg/日（雄）及び 250 mg/kg/日（雌）を投与した結果、主要試験よりも高い曝露が確認されたが忍容性は良好であった。

イヌに 50 及び 75 mg/kg/日の用量を 3 又は 7 日間反復投与したとき、体重減少及び食欲不振、並びに一般状態の変化が認められ、結果として 50 mg/kg/日群のイヌ 1 例を 5 日目に早期屠殺した。その後、1 カ月間及び 6 カ月間反復投与毒性試験では、これより低い用量である 15 mg/kg/日及び 10 mg/kg/日までをそれぞれ選択した。これらの用量での忍容性は良好であり、死亡例、一般状態の変化並びに体重及び摂餌量に対する影響は認められなかった。

両動物種にオラパリブを 1 カ月間又は 6 カ月間反復経口投与したときの主な毒性標的器官は骨髄であり、末梢血の血液学的検査パラメータの変化を伴っていた。ラットでは、100 又は 200 mg/kg/日を 7 日間、40 mg/kg/日を 1 カ月間、又は 5、15、30 mg/kg/日を 6 カ月間投与したとき、雌雄の一方又は両方で赤血球パラメータ、白血球数、好中球数及び／又はリンパ球数の減少、並びに網状赤血球数及び血小板数の増加又は減少が認められた。これらの変化に関連して、骨髄内で赤血球生成及び／又は造血細胞が増加し、脾造血の亢進、肝細胞色素沈着及び／又は胸腺萎縮が認められた。雄ラットに比べて雌ラットの全身曝露量が高かったことを反映して、これらの変化は概して雌で低い用量で発現した。同様に、イヌに 50 mg/kg/日を 7 日間又は 15 mg/kg/日を 1 カ月間投与したときにも、赤血球パラメータ、白血球数、好中球数、リンパ球数、網状赤血球数及び／又は血小板数の減少が認められ、これらに関連して、骨髄萎縮及び骨髄塗抹標本における骨髄球系／赤芽球系比（M:E ratio）の上昇が認められた。3 又は 10 mg/kg/日を 6 カ月間投与したときにも、赤血球数、白血球数及び血小板数の減少が認められたが、骨髄の病理組織学的検査において、これに伴う変化は認められなかった。ラット及びイヌの 1 カ月間試験で認められた変化はすべて、28 日間の休薬期間後には、完全又は部分的に回復した。

主要な GLP 試験とは異なる媒体を用いたラット 1 及び 3 か月間がん原性用量設定試験において、雄は 1000 mg/kg/日まで、雌は 250 mg/kg/日まで忍容性は良好であった。これらの試験におい

て体重及び／又は摂餌量の低下が認められた。その他に主な病理組織学的変化として、骨髄の造血細胞数減少、リンパ組織のリンパ球枯渇（胸腺、腸管関連リンパ組織、腸間膜リンパ節）、及び／又は脾臓/肝臓の髄外造血亢進が認められ、随伴所見として、赤血球及び白血球系細胞（リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球）、網状赤血球の減少並びに血小板の増加が認められた。

2.4.4.2.1　トキシコキネティクス

反復投与毒性試験の動物で得られた定常状態における曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$）と、臨床用量 300 mg 1 日 2 回投与時におけるヒト曝露量（$AUC_{(0\text{-}12)}$及び $AUC_{(0\text{-}24)}$推定値）との比較結果を表 4に示す。

ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の最高用量（40 mg/kg/日）における定常状態での平均曝露量（雄の場合 $AUC_{(0\text{-}8)}$、雌の場合 $AUC_{(0\text{-}24)}$）は、ヒトに臨床用量 300 mg 1 日 2 回（約 5 mg/kg 1 日 2 回）を投与したときの定常状態における $AUC_{(0\text{-}24)}$推定平均値（115.8 μg·h/mL）の約 1/20～1/7 であり、ラット 6 カ月間反復投与毒性試験の最高用量（15/30 mg/kg/日）における定常状態での平均曝露量 $AUC_{(0\text{-}24)}$は約 1/27～1/17 であった。しかし、ラット 7 日間反復投与毒性試験における高用量（200 mg/kg/日）投与時の定常状態における雌の平均曝露量 $AUC_{(0\text{-}24)}$は、臨床用量投与時の定常状態におけるヒト $AUC_{(0\text{-}24)}$推定平均値の約 1.5 倍であった。雄での曝露量は、臨床曝露量よりわずかに低かった。がん原性試験用量設定のための 1 カ月及び 3 カ月試験における曝露量は、上述の 1 カ月及び 6 カ月反復投与毒性試験の値よりも高かったが、最高曝露量（1 カ月試験における雄 1000 mg/kg、雌 250 mg/kg 投与時）は依然として臨床曝露量より低かった（1/7～1/2）。

イヌを用いた反復投与毒性試験における曝露量も、臨床曝露量に比べて低かった（表 4）。イヌ 1 カ月間及び 6 カ月間試験の最高用量（それぞれ、15 mg/kg/日及び 10 mg/kg/日）における定常状態での $AUC_{(0\text{-}24)}$平均値は、ヒトに臨床用量 300 mg 1 日 2 回を投与したときの定常状態における $AUC_{(0\text{-}24)}$推定平均値の、それぞれ約 1/11～1/5 及び約 1/8～1/7 であった。

表 4　　ヒト、ラット及びイヌの定常状態における AUC 群平均値の比較

投与量	ラット[+]		イヌ[+]	
（mg/kg/日）	$AUC_{(0\text{-}t)}$（μg·h/mL）	試験期間	$AUC_{(0\text{-}t)}$（μg·h/mL）	試験期間
1	雌 0.373	6 カ月間[d]	雄 2.18、雌 1.19	6 カ月間[g]
2.5	-	-	雄 3.43、雌 4.92	1 カ月間[f]
3	-	-	雄 3.83、雌 3.60	6 カ月間[g]
5	雄 0.239*、雌 1.64	1 カ月間[c]	雄 5.60、雌 6.52	1 カ月間[f]
	雄 0.227、雌 3.15	6 カ月間[d]		
10	-	-	雄 15.6、雌 14.0	6 カ月間[g]
15	雄 3.68*、雌 6.26	7 日間[b]	雄 10.7、雌 22.2	1 カ月間[f]
	雄 1.06、雌 6.27	1 カ月間[c]		
	雄 1.64、雌 6.75	6 カ月間[d]		
25	雌 7.60	1 カ月間[h]		
	雌 10.47	3 カ月[i]		
30	雄 4.23	6 カ月間[d]	-	-
40	雄 5.75*、雌 15.6	1 カ月間[c]	-	-
50	雌 12.38	1 カ月間[h]	雄 13.7、雌 23.8、雌 34.2	7 日間[e]
	雌 17.81	3 カ月間[i]		

投与量 （mg/kg/日）	ラット+ $AUC_{(0-t)}$（μg·h/mL）	試験期間	イヌ+ $AUC_{(0-t)}$（μg·h/mL）	試験期間
100	雄 58.3、雌 123	7 日間 [b]	-	-
	雄 3.49、雌 27.42	1 カ月間 [h]		
	雄 2.93、雌 30.67	3 カ月間 [i]		
200	雄 99.4、雌 173	7 日間 [b]	-	-
250	雄 14.64、雌 53.44	1 カ月間 [h]		
	雄 6.65	3 カ月間 [i]		
500	雄 12.56	1 カ月間 [h]		
1000	雄 17.47	1 カ月間 [h]		
	雄 15.90	3 カ月間 [i]		
ヒト [a] 300 mg 1 日 2 回 [a]	$AUC_{(0-12)}$ 平均値＝57.9 μg·h/mL[j] $AUC_{(0-24)}$推定平均値＝115.8 μg·h/mL[j]			

+ 特に示さない限り、ラット及びイヌ試験では $AUC_{(0-24)}$を示す。但し、*は $AUC_{(0-8)}$を示す。
a ヒト用量 300 mg 1 日 2 回＝600 mg/日（体重 60 kg のヒトで 5 mg/kg 1 日 2 回に相当）
b 試験 2229/040
c 試験 2229/037
d 試験 TII0012
e 試験 2229/037（個別データを示す）
f 試験 2229/038－4 週間試験
g 試験 TII0011
h 試験 8000589
i 試験 526803
j ヒト曝露量データは、試験 D0816C00004、試験 D0816C00007 及び試験 D081CC00001 からプールした。$AUC_{(0-12)}$は投与後 12 時間にわたり採取した試料から計算し、$AUC_{(0-24)}$は $AUC_{(0-12)}$値を 2 倍にすることにより推定した。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

オラパリブは細菌を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。一方、*in vitro* 染色体異常試験において染色体異常誘発作用を示し、*in vivo* ラット骨髄小核試験では最高 400 mg/kg/日を 2 日間経口投与したときに小核を誘発した。この染色体異常誘発作用は、オラパリブの薬理作用に起因すると考えられた（毒性試験の概要文 2.6.6.4 項参照）。

2.4.4.4 生殖発生毒性試験

ラットにおけるオラパリブの雄及び雌受胎能、並びに胚・胎児毒性に対する影響を評価することを目的として、一連の生殖発生毒性試験を実施した（毒性試験の概要文 2.6.6.6 項参照）。

雄受胎能試験において、雄ラットにオラパリブを交配前に連続して少なくとも 70 日間及び受胎が確認されるまで投与し、投与を行っていない雌と交配させた。40 mg/kg/日の用量まで、交尾行動、受胎能、胚生存率、精子パラメータ、並びに精巣及び精巣上体の重量及び病理組織学的検査所見に対する影響は認められなかったが、15 mg/kg/日以上の群において毒性所見、特に摂餌量及び体重増加量の減少が認められた（毒性試験の概要文 2.6.6.6.1.1 項参照）。

雌受胎能及び初期胚の発生に関する試験において、雌ラットにオラパリブを交配 14 日前から交尾後 6 日まで投与しても、特記すべき母動物毒性並びに交尾行動及び受胎能（排卵率及び妊娠

率）に対する影響は認められなかったが、高用量 15 mg/kg/日群で胚・胎児生存率が低下した。この試験には、回復性評価群を設定し、19 日間投与後に 4 週間の休薬期間を設けて交配させたところ、15 mg/kg/日投与群の動物でも、胚・胎児生存率の低下はみられなかった（毒性試験の概要文 2.6.6.6.1.2 項参照）。

胚・胎児発生に関する試験において、妊娠ラットの器官形成期中にオラパリブを経口投与したとき、5 mg/kg/日以上の用量で全胚・胎児死亡がみられた。これより低い用量（例えば、0.05 又は 0.5 mg/kg/日）においては、胎児奇形（無眼球、小眼球など）の発現率が上昇した。これらの結果から、オラパリブは母動物毒性を誘発しない用量において、発生毒性作用を誘発することが示された（毒性試験の概要文 2.6.6.6.2 項参照）。

2.4.4.5 その他の毒性試験

2.4.4.5.1　　光毒性試験

オラパリブは波長 290～700 nm の光をほとんど吸収せず、276 nm に吸収極大を示す（毒性試験の概要文 2.6.6.8.2 項参照）。臨床において患者にオラパリブを 300 mg の用量で 1 日 2 回投与したとき、光毒性を示唆する有害事象は認められなかったことから（臨床的安全性 2.7.4 項参照）、オラパリブにヒトに対する光毒性リスクはないと考えられた。したがって、光毒性作用を評価する追加の *in vitro* あるいは *in vivo* 非臨床試験は実施しなかった。

2.4.4.5.2　　骨髄毒性試験

ヒトドナー及びラットから採取した骨髄細胞を用いた *ex vivo* 骨髄増殖試験及び／又は顆粒球マクロファージコロニー形成ユニット（CFU-GM：colony-forming unit/granulocyte/monocyte）アッセイにおいて、オラパリブは骨髄毒性作用を示した（毒性試験の概要文 2.6.6.8.3 項参照）。

2.4.4.5.3　　マウスを用いた予備用量設定試験

将来的に実施する可能性がある長期試験の用量設定試験の一部として、マウスにおけるオラパリブの毒性及びトキシコキネティクスを評価するための反復投与試験を実施した（毒性試験の概要文 2.6.6.8.4 項参照）。400 mg/kg/日を 14 日間経口投与したときの忍容性は低く、一般状態が悪化したため、1 例を試験 11 日目に安楽死させた。この動物の死因は特定されなかったが、投与との関連性を否定することはできなかった。血液学的検査において、200 又は 400 mg/kg/日群で網状赤血球、赤血球パラメータ及び白血球数の変化が認められた。この試験における 14 日目の全身曝露量は、1 日目に比べて著しく低かった。

2.4.4.6 原薬中の不純物

オラパリブの原薬において規格値が設定されている有機不純物の規格限度値は、毒性試験における安全性評価に基づいて設定されているか、又は [redacted] ICH ガイドラインで規定されている[redacted]に従って設定されている[redacted]。オラパリブには染色体異常誘発作用があるが、患者は遺伝毒性を有する化学療法剤を用いる複数サイクルの前治療を受けている可能性があることから、予定臨床適応

症では、毒性学的懸念の閾値（TTC）に基づいて変異原性不純物を管理する必要はないと考えられる（品質に関する概括資料 2.3.S.3.2 項参照）。

2.4.4.7 毒性試験の要約

非臨床毒性試験において、問題となる所見は比較的少なかったが、これらの試験における曝露量は、臨床用量 300 mg 1 日 2 回投与で達成される曝露量に比べて、概して低かった。これらの試験で認められた主な所見を以下に要約した。

- ラット及びイヌにオラパリブを最長 6 カ月間反復経口投与したときの主な毒性標的器官は骨髄であり、末梢血の血液学的検査パラメータの変化を伴っていた。これはオラパリブの主たる薬理作用に関連していると考えられた。全ての変化は、オラパリブ投与後、一定の休薬期間を設けることで、完全又は部分的に回復した。
- 細菌を用いた復帰突然変異試験においてオラパリブに変異原性は認められなかった。一方、哺乳類細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験では染色体異常誘発作用が明らかになり、ラットにオラパリブを経口投与した骨髄小核試験では小核誘発作用が認められた。これらの陽性試験結果は、オラパリブの主たる薬理作用であるゲノムの不安定化に起因するものと考えられた。
- ラットを用いた生殖発生毒性試験において、交配前の雄にオラパリブを経口投与しても、雄受胎能に対する影響はみられなかった。妊娠前及び妊娠中の雌ラットにオラパリブを投与しても妊娠率に対する影響は認められなかったが、胚・胎児生存率は低下した。また、器官形成期中に雌ラットにオラパリブを投与したとき、母動物毒性を誘発しない用量で、胚・胎児生存率への影響がみられるとともに、胎児奇形の発現率が上昇した。これらの胚・胎児発生に対する影響は、オラパリブの主な薬理作用に関連していると考えられた。
- 原薬及び製剤中の不純物に、臨床使用上問題となる毒性学的な懸念は認められなかった。

結論として、実施した非臨床安全性試験（単回投与毒性試験、ラット及びイヌを用いた最長 6 カ月間の反復投与毒性試験、遺伝毒性試験及びラットを用いた生殖発生毒性試験を含む）の結果から、*BRCAm* を有する PSR 卵巣癌患者へオラパリブを使用することの妥当性が裏付けられた。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 作用機序

オラパリブは PARP-1 及び PARP-2 両方の活性部位に結合し、NAD^+を基質とした PAR 鎖の形成を競合的に阻害することにより SSB 修復を阻害する。DNA から PARP が解離すると同時に、修復酵素が DNA 切断点にアクセスするのを促進するためには、PAR の形成が必須である。2012 年に Murai らによって発表された研究結果から（Murai et al 2012）、オラパリブは DNA 上に PARP をトラップすることで修復を阻害し、複製フォークが PARP-DNA 複合体と会合する際に DNA の DSB を生じさせることが示唆されている。正常な複製細胞では、正常な BRCA1 及び BRCA2 を必要とする HRR 経路によって DSB が効果的に修復される。機能的 *BRCA1* 又は *BRCA2* が欠損している場合、DSB が HRR によって修復されずに、NHEJ 等の複製エラーのおこりやすい修復経路が活性化され、その結果としてゲノムの不安定化が亢進する。癌細胞は正常細胞に比

べて既に DNA 損傷が蓄積しているため、さらなる複製の繰り返しでゲノムの不安定化が修復不可能なレベルに達して細胞死に至る。*BRCA* 欠損腫瘍患者におけるオラパリブ維持療法が、腫瘍細胞を死滅させ腫瘍の増殖を遅延させながら良好な忍容性を示す理由はここにあると考えられる。白金製剤及びオラパリブはいずれも機能的 HRR 修復経路を必要とする DNA 損傷を誘発するので、腫瘍の白金製剤感受性は、その腫瘍がオラパリブ投与にも反応する可能性が高いことを示す指標となる可能性がある。以上、オラパリブの作用機序に関して得られている知見から、PSR *BRCAm* 卵巣癌患者にオラパリブを使用することは妥当であると考えられる。同時に、*BRCA* 又は他の HRR に関与する遺伝子変異のない癌細胞株に対して、オラパリブが増殖抑制作用を示したとの報告があることから、オラパリブには、このような DNA 修復異常を誘導する以外の作用機序があることが示唆される（Cerrato et al 2016, Murata et al 2016, Lu et al 2017）。

骨髄及び末梢血でオラパリブの影響が認められているが（2.4.5.2項参照）、これは PARP-1 及び PARP-2 阻害薬としてのオラパリブの薬理作用及び作用機序が関連していると考えられる。例えば、定常状態下での造血幹細胞／前駆細胞の生存及びストレスに対する反応に PARP-2 が重要な役割を果たしていることが報告されている（Farrés et al 2013）。

2.4.5.2 主な毒性所見

ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、遺伝毒性試験及び生殖発生毒性試験において、*BRCAm* を有する PSR 卵巣癌患者にオラパリブを経口投与したときに、留意すべき重要な所見が認められた。

反復投与毒性試験で認められた所見で、より高用量での検討を制限する要因となったものは、体重、体重増加量及び／又は摂餌量の減少であった。ラットを用いた 1 カ月間試験において、高用量 40 mg/kg/日では体重増加量及び摂餌量が有意に減少したことから、ラットにおける全身毒性を検討する上で十分な高用量であると考えられた。同様に、6 カ月間試験で雌ラットに高用量（15 mg/kg/日）を投与した際も、体重増加量及び摂餌量が減少した。一方、雄の最高用量（30 mg/kg/日）では、雌に比べて比較的曝露量が低かったことを反映して、同様の変化はみられなかった。主要な GLP 試験とは別の投与媒体を用いたラット 1 及び 3 カ月間用量設定試験において、雄は 1000 mg/kg/日、雌 250 mg/kg/日まで投与した結果、忍容性は良好であったが、体重及び摂餌量の低下が認められた。

イヌに 50 又は 75 mg/kg/日を最長 7 日間投与したときにも、一般状態の変化、体重減少及び食欲不振が認められ、50 mg/kg/日群の 1 例を 5 日目に早期屠殺した。これより低い用量を選択したイヌ 1 カ月間及び 6 カ月間反復投与試験では、体重及び摂餌量に対する明らかな影響は認められなかったが、これらの試験で認められた標的器官毒性は、最低 7 日間投与した用量設定試験において、忍容性のみられない高用量で認められた毒性所見と概ね一致していた。

両動物種にオラパリブを反復投与したときの主な毒性標的器官は骨髄であり、これに関連して末梢血の血液学的検査パラメータに変化が認められた。ラット主要毒性試験では、赤血球パラメータ、白血球数、好中球数及び／又はリンパ球数の低値、並びに網状赤血球数及び血小板数の高値及び／又は低値が認められ、骨髄内で赤血球生成及び骨髄造血細胞が増加し、脾造血の亢進、肝細胞色素沈着及び胸腺萎縮が認められた。ラット 1 及び 3 カ月間用量設定試験において、より高用量（雄は 1000 mg/kg/日、雌は 250 mg/kg/日）を投与した結果、主な病理組織学的変化として、骨髄の造血細胞数減少、リンパ組織のリンパ球枯渇（胸腺、腸管関連リンパ組織、腸間膜リンパ節）、及び／又は脾臓/肝臓の髄外造血亢進が認められた。

イヌに反復投与したときにも、赤血球及び白血球パラメータ、網状赤血球数及び／又は血小板数においてラットと同様の変化が認められ、骨髄萎縮及び／又は骨髄塗抹標本で骨髄球系／赤芽球系（M:E）比の上昇を伴っていた。非臨床試験で認められた骨髄及び末梢血に対する影響は、既に考察したように、オラパリブの薬理作用及び作用機序に関連していると考えられた（2.4.5.1 項参照）。1 カ月試験でみられた全ての変化は、オラパリブの投与中止により回復した。

貧血、好中球減少、血小板減少、リンパ球減少等の血液毒性は、ヒトに 300 mg を 1 日 2 回投与した場合に報告されている（臨床に関する概括評価 2.5.5.4.1.1 項参照）。同様の血液毒性は、初期臨床開発中の他の PARP 阻害剤でもみられており（臨床安全性 2.7.4.2.1.2 項参照）、PARP 阻害剤に共通する作用（クラス効果）の可能性が考えられる。

遺伝毒性試験において、細菌を用いた復帰突然変異試験でオラパリブに変異原性は認められなかったが、哺乳類細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験で染色体異常誘発作用が明らかになり、*in vivo* ラット骨髄小核試験において経口投与後に小核誘発作用が認められた。p53 ヌルマウスと比較して、PARP-1 及び p53 の両方を欠損するマウスでは小核形成が亢進されることが報告されており（Conde et al 2001）、オラパリブによる染色体異常誘発作用は、主たる薬理作用に起因するゲノムの不安定化から誘発されるものと考えられた。本プロファイルはヒトで遺伝毒性をもたらす可能性を示唆するが、オラパリブを投与される卵巣癌患者は、前治療として白金製剤を含む複数サイクルの化学療法を受けている可能性があり、再発後には、遺伝毒性のある化学療法サイクルがさらに継続されることになる。したがって、複数の前治療歴のある進行癌患者集団にオラパリブを投与しても、遺伝毒性学的負荷が大きく変化することはないと考えられる。骨髄異形成症候群／急性骨髄性白血病及び／又は新たな原発性悪性腫瘍は、オラパリブの重大な潜在リスクとして認識されているが、これまでに実施された臨床試験プログラムにおいて、オラパリブ投与と新たな悪性腫瘍の発現との関連性を示す十分な証拠は得られていない（臨床的安全性 2.7.4.6.2 項参照）。

生殖発生毒性試験において、ラットにオラパリブを投与しても、雄受胎能に対する影響は誘発されなかった。雌ラットにオラパリブを妊娠前及び妊娠中に投与しても妊娠率に対する影響は認められなかったが、胚・胎児生存率は低下した。また、器官形成期にオラパリブを投与したとき、母動物毒性を誘発しない用量で、胚・胎児生存率及び発生に影響がみられた。PARP-1 及び PARP-2 の発現及び機能的 DNA 損傷修復メカニズムは初期胚形成に不可欠であると考えられることから（Menissier de Murcia et al 2003）、ラットで認められた胚・胎児生存率に対する影響は、オラパリブの主たる薬理作用に関連していると考えられた。これらの試験成績は、妊娠中にオラパリブを投与した場合、胚・胎児発生に有害な影響が生じる可能性があることを示している。したがって、十分な臨床情報が得られていない状況で、妊娠中又は妊娠を計画している女性にオラパリブを投与すべきではない（臨床的安全性 2.7.4.8.4 項参照）。

2.4.5.3 曝露量に関する考察

主要な非臨床毒性試験で認められた主な毒性に関する無影響量及び最小影響量における定常状態の全身曝露量（AUC）を表 5に示す。

ラット及びイヌを用いた主要な 1 カ月間及び 6 カ月間試験の最高用量での定常状態における曝露量（$AUC_{(0\text{-}24)}$平均値）は、臨床用量 300 mg 1 日 2 回投与時のヒト曝露量に比べて著しく低く（2.4.4.2.1項参照）、これらの試験で認められた標的器官毒性に関する安全域は得られなかった。さらに、ラット生殖発生毒性試験で胚・胎児生存率及び発生に有害な影響が認められた用量における血漿曝露量も、臨床用量におけるヒト曝露量に比べて大幅に低かった。しかし、毒性試験で

の曝露量は、標的器官毒性の検討に十分であったと考えられた。癌患者を対象とした臨床試験では、臨床効果と許容可能な有害事象に基づく増量計画が、非臨床試験で検討した最高用量による制限を受けることはないため（ICH S9）、抗癌剤開発では、臨床曝露量が動物試験での曝露量を超えることは稀ではない。

表 5　　ラット及びイヌを用いた主要毒性試験における無影響量及び最小影響量でのオラパリブの全身曝露量

毒性所見／動物種		無影響量での曝露量 AUC(0-24)平均値（μg·h/mL）		最小影響量での曝露量 AUC(0-24)平均値（μg·h/mL）	
		雄	雌	雄	雌
血液学的検査：					
赤血球、白血球、網状赤血球及び血小板の変化	ラット	無影響量未確定	0.373 (1 mg/kg/日)[c]	0.227 (5 mg/kg/日)[c]	3.15 (5 mg/kg/日)[c]
	イヌ	2.18 (1 mg/kg/日)[e]	3.60 (3 mg/kg/日)[e]	3.83 (3 mg/kg/日)[e]	6.52 (5 mg/kg/日)[d]
骨髄：					
造血亢進	ラット	4.23 (30 mg/kg/日)[c]	6.75 (15 mg/kg/日)[c]	5.75 (40 mg/kg/日)[b]	15.6 (40 mg/kg/日)[b]
萎縮	イヌ	15.6 (10 mg/kg/日)[e]	14.0 (10 mg/kg/日)[e]	10.7 (15 mg/kg/日)[d]	22.2 (15 mg/kg/日)[d]
M:E 比低下	ラット	1.06 (15 mg/kg/日)[b]	6.27 (15 mg/kg/日)[b]	5.75 (40 mg/kg/日)[b]	15.6 (40 mg/kg/日)[b]
	イヌ	15.6 (10 mg/kg/日)[e]	3.60 (3 mg/kg/日)[e]	最小影響量未確定[e]	14.0 (10 mg/kg/日)[e]
M:E 比上昇	ラット	4.23 (30 mg/kg/日)[c]	3.15 (5 mg/kg/日)[c]	最小影響量未確定[d]	6.75 (15 mg/kg/日)[c]
	イヌ	5.6 (5 mg/kg/日)[d]	6.52 (5 mg/kg/日)[d]	10.7 (15 mg/kg/日)[d]	22.2 (15 mg/kg/日)[d]
胸腺：軽度萎縮	ラット	4.23 (30 mg/kg/日)[c]	6.75 (15 mg/kg/日)[c]	5.75 (40 mg/kg/日)[b]	15.6 (40 mg/kg/日)[b]
脾臓（ラット）：造血亢進		1.06 (15 mg/kg/日)[b]	NOEL 特定されず[b]	5.75 (40 mg/kg/日)[b]	1.64 (5 mg/kg/日)[b]
生殖発生毒性（ラット）：					
初期胚・胎児死亡		-	0.21 (0.5 mg/kg/日)[f]	-	1.83 (5 mg/kg/日)[f]
胎児生存率の低下		-	未確定(0.05 mg/kg/日未満)[g]	-	0.21 (0.5 mg/kg/日)[g]
重大な眼の奇形（無眼球、小眼球）を含む内臓／骨格異常		-	未確定(0.05 mg/kg/日未満)[g]		NED (0.05 mg/kg/日)[g]
300 mg 1 日 2 回におけるヒト曝露量[a]		AUC(0-12)平均値＝57.9 μg·h/mL[a] AUC(0-24)推定平均値＝115.8 μg·h/mL[a]			

NED 曝露量データなし；M 雄；F 雌

M:E ratio 骨髄塗抹標本における骨髄球系／赤芽球系比

[a] 用量 300 mg 1 日 2 回投与時のヒトデータは、試験 D0816C00004、D0816C00007 及び D081CC00001 からプールした。ヒト AUC(0-12)は投与後 12 時間にわたり採取した試料から計算し、AUC(0-24)は AUC(0-12)値を 2 倍にすることにより推定した。

[b] 試験 2229/037－1 カ月間試験

[c] 試験 TII0012－6 カ月間試験

[d] 試験 2229/038－1 カ月間試験

[e] 試験 TII0011－6 カ月間試験

[f] 試験 1555RR－胚・胎児発生に関する用量設定試験

[g] 試験 1556TR－胚・胎児発生に関する試験（1555RR の曝露量データ）

2.4.5.4 薬物相互作用

ヒトにおけるオラパリブの消失は CYP3A4/5 に大きく依存すると考えられ、CYP3A の阻害剤／誘導剤と併用した場合、オラパリブの消失は影響を受けると考えられる。

オラパリブは CYP3A4 に対してのみ弱い直接的阻害作用を示した（CYP3A4 に対し最も強く作用、IC_{50} 値 119 μM、Ki 値 59.5 μM）。EMA 2013、FDA 2012及びMHLW 2014bに記載の基準では、オラパリブは臨床用量で肝及び小腸の CYP3A を阻害する可能性が示唆された（薬物動態試験の概要文 2.6.4.7.1 項参照）。

オラパリブは CYP3A に対してのみ弱い時間依存的阻害作用を示した（K_I 値 72.2 μM、k_{inact} 値 0.0675 min^{-1}）。EMA 2013、FDA 2012及びMHLW 2014bに記載の基準では、オラパリブは臨床用量で肝及び小腸の CYP3A を時間依存的に阻害する可能性が示唆された。

オラパリブ濃度 0.061～133 μM で CYP1A1/2、2B6 及び 3A4/5 に対する誘導作用を検討した。CYP1A2 及び 2B6 の mRNA は濃度依存的にわずかに増加し、CYP3A4 の mRNA は顕著に増加した。したがって、肝 CYP 及び小腸 CYP3A4 の誘導により相互作用を生じる可能性が示唆された。なお、CYP3A4/5 の酵素活性は 3 人中 2 人のドナー由来の肝細胞でほとんど変化なく、1 人のドナー由来の肝細胞でオリパリブ濃度依存的に低下した。これは CYP3A4/5 が時間依存的に阻害されたためと考えられた。

以上、オラパリブの消失は CYP3A 阻害剤／誘導剤の併用により影響を受けると考えられ、また肝及び小腸の CYP3A 阻害並びに CYP 誘導（特に CYP3A4）により臨床的に意味のある相互作用を引き起こす可能性がある。

ヒト肝ミクロソームを用いた検討でオラパリブは UGT1A1 を阻害したが（IC_{50}：96.7 μM）、UGT2B7 をほとんど阻害しなかった。したがって、肝及び小腸 UGT1A1 の直接阻害により臨床的に意味のある相互作用を引き起こす可能性がある。

オラパリブは MDR1（P-gp）の基質であるが、BCRP、MRP2、OATP1B1、OATP1B3 及び OCT1 の基質ではなかった。オラパリブの消化管吸収は P-gp の排出作用により制限されていると考えられるため、P-gp の阻害剤併用でオラパリブの曝露量は増加する可能性がある。しかしながら、P-gp を介した肝臓からの排出はオラパリブの消失にほとんど影響せず、肝臓における P-gp 阻害はオラパリブの曝露量に影響しないと考えられる。

オラパリブは P-gp（IC_{50} 値 76.0 μM）、OATP1B1（IC_{50} 値 20.3 μM 及び 27.1 μM）、OCT1（IC_{50} 値 37.9 μM）、OCT2（IC_{50} 値 19.9 μM）、OAT3（IC_{50} 値 18.4 μM）、MATE1（IC_{50} 値 5.50 μM）及び MATE2-K（IC_{50} 値 47.1 μM）を阻害した。EMA 2013、FDA 2012及びMHLW 2014bに記載の基準では、オラパリブはこれらトランスポーターの基質の曝露量に影響する可能性がある。なお、オラパリブの BCRP 及び NTCP に対する阻害作用は弱く、OATP1B3、OAT1 及び MRP2 に対する阻害作用は認められなかった。

2.4.5.5 結論

本申請における非臨床試験プログラムは、*BRCAm* 卵巣癌患者にオラパリブを適用することの妥当性を裏付けるものと結論する。

2.4.6 参考文献一覧

Althaus and Richter 1987

Althaus FR, Richter C. ADP-Ribosylation of Proteins: Enzymology and Biological Significance. Berlin/New York: Springer-Verlag, c1987. [NLM ID: 8704493].

Bindra et al 2004

Bindra RS, Schaffer PJ, Meng A, Woo J, Måseide K, Roth ME, et al. Down-regulation of Rad51 and decreased homologous recombination in hypoxic cancer cells. Mol Cell Biol, 2004;24:8504-18.

Bindra et al 2005

Bindra RS, Gibson SL, Meng A, Westermark U, Jasin M, Pierce AJ, et al. Hypoxia-induced down-regulation of *BRCA1* expression by E2Fs. Cancer Res. 2005; 65:11597-604.

Bowtell 2010

Bowtell DD. The genesis and evolution of high-grade serous ovarian cancer. Nature Reviews Cancer. 2010; 10: 803-8.

Brenner et al 2012

Brenner JC, Feng FY, Han S, Patel S, Goyal SV, Bou-Maroun LM, et al. PARP-1 inhibition as a targeted strategy to treat Ewing's sarcoma. Cancer Res. 2012; 72:1608-13.

Bryant et al 2005

Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, et al. Specific killing of *BRCA2*-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose)polymerase. Nature 2005; 434(7035): 913-17.

Cerrato et al 2016

Cerrato A, Morra F, Celetti A. Use of poly ADP-ribose polymerase [PARP] inhibitors in cancer cells bearing DDR defects: the rationale for their inclusion in the clinic. J Exp Clin Cancer Res. 2016 Nov 24;35(1):179.

Conde et al 2001

Conde C, Mark M, Oliver FJ, Huber A, de Murcia G and Menissier-de Murcia J. Loss of poly (ADP-ribose) polymerase-1 causes increased tumour latency in p53-deficient mice. EMBO J 2001;20: 3535-43.

d'Adda di Fagagna et al 1999

d'Adda di Fagagna F, Hande MP, Tong WM, Lansdorp PM, Wang ZQ, Jackson SP. Functions of poly(ADP-ribose) polymerase in controlling telomere length and chromosomal stability. Nat Genet. 1999; 23(1): 76-80.

D'Amours et al 1999

D'Amours D, Desnoyers S, D'Silva I, Poirier GG.　Poly(ADP-ribosyl)ation reactions in the regulation of nuclear functions.　Biochem J. 1999;342 (Pt 2):249-68.

EMA 2013

Guideline on the investigation of drug interactions (CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr.*) 2012.

Farmer et al 2005

Farmer H, McCabe N, Lord CJ, Tutt AN, Johnson DA, Richardson TB, et al.　Targeting the DNA repair defect in *BRCA* mutant cells as a therapeutic strategy.　Nature 2005; 434:917-21.

Farrés et al 2013

Farrés J, Martín-Caballero J, Martínez C, Lozano J, et al.　PARP-2 is required to maintain haematopoiesis following sublethal γ-irradiation in mice.　Blood Epub May 15, 2013.

FDA 2012

Guidance for industry.　Drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations.　Draft document 2012.

Garnett et al 2012

Garnett MJ, Edelman EJ, Heidorn SJ, Greenman CD, Dastur A, Lau KW, et al.　Systematic identification of genomic markers of drug sensitivity in cancer cells.　Nature 2012; 438:570-5.

Gilardini Montani et al 2013

Gilardini Montani MS, Prodosmo A, Stagni V, Merli D, Monteonofrio L, Gatti V, et al.　ATM-depletion in breast cancer cells confers sensitivity to PARP inhibition.　J Exp Clin Cancer Res. 2013;32:95.

Gudmundsdottir and Ashworth 2006

Gudmundsdottir K and Ashworth A.　The roles of *BRCA1* and *BRCA2* and associated proteins in the maintenance of genomic stability.　Oncogene 2006; 25:5864-74.

Hay et al 2009

Hay T, Matthews JR, Pietzka L, Lau A, Cranston A, Nygren AO, et al.　Poly(ADP-Ribose) polymerase-1 inhibitor treatment regresses autochthonous *BRCA2*/p53-Mutant mammary tumors *in vivo* and delays tumor relapse in combination with carboplatin.　Cancer Res. 2009; 69:3850-5.

Helleday 2011

Helleday T.　The underlying mechanism for the PARP and *BRCA* synthetic lethality: clearing up the misunderstandings.　Mol Oncol. 2011;5: 387-93.

Hottiger et al 2010

Hottiger MO, Hassa PO, Luscher B, Schuler H and Koch-Nolte F.　Toward a unified nomenclature for mammalian ADP-ribosyltransferases.　TIBS. 2010;35: 208-19.

ICH S7A

European Medicines Agency.　ICH Topic S7A: Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals; June 2001.

ICH S7B

European Medicines Agency.　ICH Topic S7B: The nonclinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals; November 2005.

ICH S9

International Conference on Harmonisation (ICH). Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceutical S9, 29 October 2009.

Jaspers et al 2013

Jaspers JE, Kersbergen A, Boon U, Sol W, van Deemter L, Zander SA, et al.　Loss of 53BP1 causes PARP inhibitor resistance in *BRCA1*-mutated mouse mammary tumors.　Cancer Discov 2013;3(1):68-81

Lu et al 2017

Lu Y, Kwintkiewicz J, Liu Y, Tech K, Frady LN, Su YT, et al.　Chemosensitivity of IDH1-mutated gliomas due to an impairment in PARP1-mediated DNA repair.　Cancer Res. 2017; Published OnlineFirst on February 15, 2017; DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2773. [Epub ahead of print].

McCabe et al 2006

McCabe N, Turner NC, Lord CJ, Kluzek K, Bialkowska A, Swift S, et al.　Deficiency in the Repair of DNA Damage by Homologous Recombination and Sensitivity to Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibition. Cancer Res. 2006; 66(16): 8109-15.

Menear et al 2008

Menear KA, Adcock C, Boulter R, Cockcroft XL, Copsey L, Cranston A, et al.　4-[3-(4-cyclopropanecarbonylpiperazine-1-carbonyl)-4-fluorobenzyl]-2*H*-phthalazin-1-one:
a novel bioavailable inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase-1.　J Med Chem 2008;51(20):6581-91.

Menissier de Murcia et al 2003

Menissier de Murcia J, Ricoul M, Tartier L, Niedergang C, Huber A, Dantzer F, Schreiber V, Ame J-C, Dierich A, LeMeur M, Sabatier L, Chambon P and de Murcia G.　Functional interaction between PARP-1 and PARP-2 in chromosome stability and embryonic development in mouse.　EMBO J 2003;22:2255-63.

MHLW 2014b

医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン（最終案）2014

Miki et al 1994

Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al.　A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*.　Science 1994; 266 (5182):66-71.

Murai et al 2012

Murai J, Huang SY, Das BB, Renaud A, Zhang Y, Doroshow JH, et al.　Trapping of PARP1 and PARP2 by Clinical PARP Inhibitors.　Cancer Res 2012;72:5588-99.

Murata et al 2016

Murata S, Zhang C, Finch N, Zhang K, Campo L, Breuer EK. Predictors and Modulators of Synthetic Lethality: An Update on PARP Inhibitors and Personalized Medicine. BioMed Research International. 2016: 1-12.

Oplustil O'Connor et al 2016

Oplustil O'Connor L, Rulten SL, Cranston AN, Odedra R, Brown H, Jaspers JE, et al.　The PARP Inhibitor AZD2461 Provides Insights into the Role of PARP3 Inhibition for Both Synthetic Lethality and Tolerability with Chemotherapy in Preclinical Models.　Cancer Res. 2016; 76(20): 6084-6094.

Pommier et al 2016

Pommier Y, O'Connor MJ, de Bono J.　Laying a trap to kill cancer cells: PARP inhibitors and their mechanisms of action.　Sci. Transl. Med. 2016; 8: 362ps17.

Postel-Vinay et al 2013

Postel-Vinay S, Bajrami I, Friboulet L, Elliott R, Fontebasso Y, Dorvault N, et al.　A high-throughput screen identifies PARP1/2 inhibitors as a potential therapy for ERCC1-deficient non-small cell lung cancer. Oncogene. 2013;32(47):5377-87.

Rottenberg et al 2008

Rottenberg S, Jaspers JE, Kersbergen A, van der Burg E, Nygren AO, Zander SA, et al.　High sensitivity of *BRCA1*-deficient mammary tumors to the PARP inhibitor AZD2281 alone and in combination with platinum drugs.　Proc Natl Acad Sci 2008;105(44):17079-84.

Rulten et al 2011

Rulten SL, Fisher AE, Robert I, Zuma MC, Rouleau M, Ju L, et al. PARP-3 and APLF function together to accelerate nonhomologous end-joining. Mol Cell 2011; 41:33-45.

Schiewer et al 2012

Schiewer MJ, Goodwin JF, Han S, Brenner JC, Augello MA, Dean JL, et al.　Dual Roles of PARP-1 Promote Cancer Growth and Progression.　Cancer Discov 2012; 2:1134-49.

Siegel et al 2013

Siegel R, Naishadham D and Jemal A.　Cancer Statistics, 2013.　CA Cancer J Clin 2013;63: 11-30.

Taniguchi et al 2003

Taniguchi T, Tischkowitz M, Ameziane N, Hodgson SV, Mathew CG, Joenje H, et al.　Disruption of the Fanconi anemia-*BRCA* pathway in cisplatin-sensitive ovarian tumours.　Nat Med 2003; 9:568-74.

Venkitaraman 2002

Venkitaraman AR.　Cancer susceptibility and the functions of *BRCA1* and *BRCA2*.　Cell 2002; 108:171-82.

Virag and Szabo 2002

Virag L and Szabo C.　The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. Pharmacol Rev 2002;54:375-429.

Wang et al 2017

Wang C, Jette N, Moussienko D, Bebb DG, Lees-Miller SP.　ATM-Deficient Colorectal Cancer Cells Are Sensitive to the PARP Inhibitor Olaparib.　Transl Oncol. 2017;10(2):190-196.

Weston et al 2010

Weston VJ, Oldreive CE, Skowronska A, Oscier DG, Pratt G, Dyer MJ, et al.　The PARP inhibitor olaparib induces significant killing of *ATM*-deficient lymphoid tumor cells *in vitro* and *in vivo*.　Blood. 2010;116(22):4578-4587.

Wooster et al 1995

Wooster R, Bignell G, Lancaster J, Swift S, Seal S, Mangion J, et al.　Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*.　Nature 1995; 378:789-92.