2.6.1　緒言

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 3
2.6.1.1　緒言 4
2.6.1.2　参考文献 6

表目次

表 1　オラパリブの構造及び化合物名 6

図目次

図 1　HRD 腫瘍に対するオラパリブ単剤療法における作用 4

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

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
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	*gBRCA* or *sBRCA* mutated：生殖細胞系又は体細胞系 *BRCA* 変異陽性
DNA	Deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
DSB	Double strand break：二本鎖切断
gBRCA	Germline *BRCA*：生殖細胞系列の *BRCA* 遺伝子
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
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
SSB	Single strand break：一本鎖切断

2.6.1.1　　緒言

オラパリブ（表 1）は、ポリ（アデノシン二リン酸（ADP）-リボース）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、放射線療法及びその他の抗癌剤との併用療法として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）等のデオキシリボ核酸（DNA）の修復に異常を有する腫瘍を標的とする新しい治療法である。相同組換え修復異常（HRD）がない場合、PARP 阻害のみでは細胞毒性作用は認められない。しかし、HRD を有する腫瘍では、オラパリブの単剤療法によって HRD と PARP 阻害の 2 つが組み合わさり、「合成致死」として知られる過程によって細胞死及び腫瘍退縮を誘導することができる。この細胞死は、DNA の二本鎖切断（DSB）が修復されずに蓄積し、修復不可能なまでにゲノムの不安定性が増大した結果として生じる（図 1）。

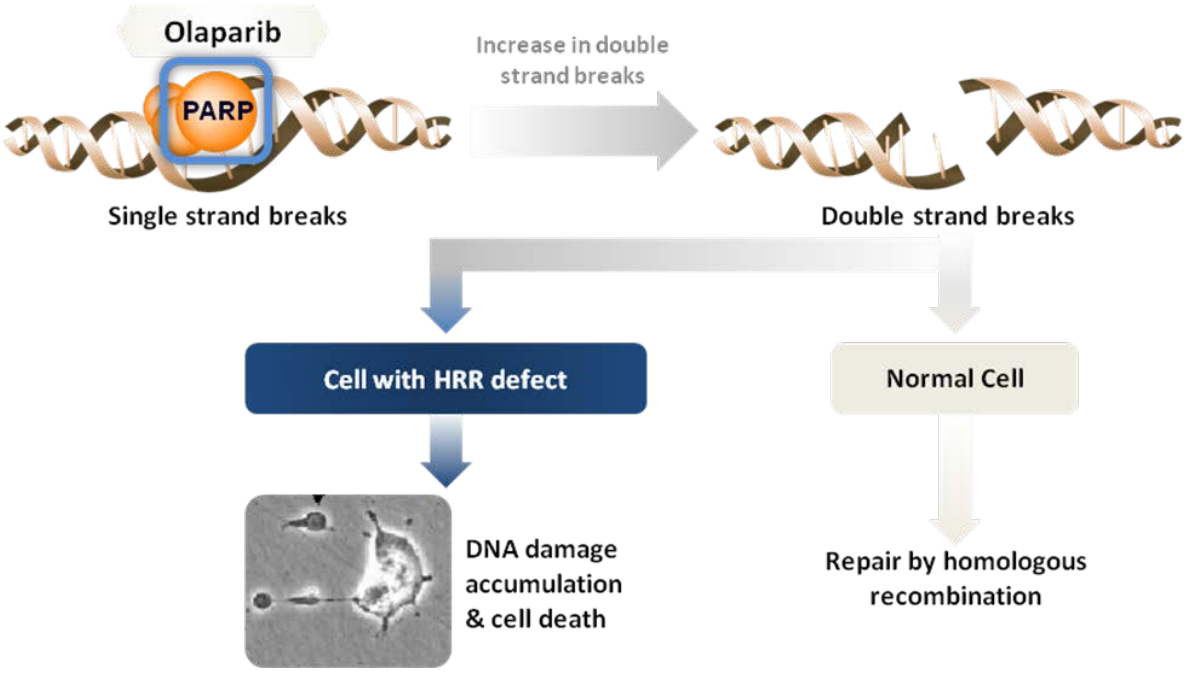


図 1　　HRD 腫瘍に対するオラパリブ単剤療法における作用

乳癌感受性遺伝子（*BRCA*）の *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）は細胞の遺伝物質である DNA の安定性を確保するのを助け、癌の形成を抑制するのに役立っている（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* 遺伝子（*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

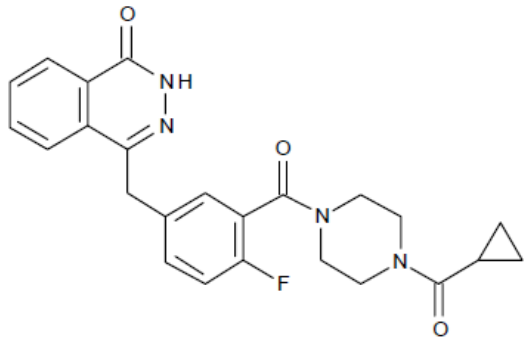
方、腫瘍細胞において、BRCA1 又は BRCA2 の機能喪失は PARP 阻害剤による標的治療にとってむしろ好都合な要因ともなっている。実際、2005 年に発表された研究結果により（Bryant et al 2005, Farmer et al 2005）、PARP 阻害剤によって *BRCA* 欠損細胞の細胞死を誘導できることが示されている。*BRCA1* 及び *BRCA2* の両方が野生型又はヘテロ接合型である正常細胞では HRR 経路が機能しており、オラパリブによる PARP 阻害効果は大きく低下すると考えられる（Farmer et al 2005）。*gBRCA* 変異を有する患者において、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、腫瘍組織では両方の機能的コピーが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（Murata et al 2016, Postel-Vinay et al 2013, Cerrato 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。

以上のような経緯から、オラパリブを創出した創薬研究計画では、DNA 修復機構に欠陥を有す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弱い抗癌剤として、経口投与可能な PARP 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。

効力を裏付ける試験において、オラパリブが PARP 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 の一本鎖切断（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の作用増強を指標として評価した。また、*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の濃度を求めた。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遺伝的背景を有する細胞株を特定し、感受性を示す癌細胞株の多くが *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。また、一連の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 傷害性化学療法剤との相関関係を検討した結果、オラパリブ感受性と白金製剤感受性の間に最も強い相関関係が認められた。これら 2 種類の薬剤間で感受性が重複する可能性は、両薬剤が DNA 修復阻害という共通した作用機序を持つことからも予想されたことであった。更に、乳癌及び肺癌の患者由来腫瘍の異種移植モデルを用いた *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。最後に、*BRCA1* 欠損腫瘍細胞株の同所移植モデルを用いた *in vivo* 試験で、オラパリブを長期投与した場合の効果を調べ、白金製剤投与後の維持療法剤としてのオラパリブの可能性について検討した。

表 1　　オラパリブの構造及び化合物名

化学構造式	化合物名／コード番号
	一般名： オラパリブ（Olaparib）（JAN） 化学名： 4-[(3-{[4-(Cyclopropylcarbonyl)piperazin-1-yl]carbonyl}-4-fluorophenyl)methyl]phthalazin-1(2*H*)-one 別名： AZD2281、KU-0059436、KU0059436、COCE42、CO-CE42、CO-CE000042

本剤の効能・効果（案）及び用法・用量（案）を以下に示す。

【効能・効果】（案）

BRCA 遺伝子変異陽性の卵巣癌

【用量・用法】（案）

通常、成人にはオラパリブとして 300 mg（150 mg 錠 2 錠）を 1 日 2 回、経口投与する。なお、患者の状態により適宜減量する。

2.6.1.2　参考文献

Bryant et al 2005

Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, Parker KM, Flower D, Lopez E, 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.

Farmer et al 2005

Farmer H, McCabe N, Lord CJ, Tutt ANJ, Johnson DA, Richardson TB, et al.　Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy.　Letter to Nature 2005 (April 14);434:917-21.

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.

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.

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.

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.

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.

Venkitaraman 2002

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

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.

2.6.2　薬理試験の概要文

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
2.6.2.1 まとめ 6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 7
2.6.2.2.1 背景 7
2.6.2.2.2 臨床開発に向けた PARP 阻害剤としてのオラパリブの選択性 9
2.6.2.2.3 一連の癌細胞株におけるオラパリブの *in vitro* 活性（試験番号：KTS00101 及び Pharmacology Report 24） 10
2.6.2.2.4 *BRCA* 欠損マウス腫瘍モデルにおけるオラパリブの抗腫瘍効果 13
2.6.2.2.5 *In vitro* 及び *in vivo* における有効性及び薬力学的試験（試験番号：KTS00048、KTS00049、Pharmacology Report 29 及び Pharmacology Report 33） 14
2.6.2.2.6 *In vitro* 及び *in vivo* におけるオラパリブと白金製剤に対する感受性の相関関係（試験番号：Pharmacology Report 22 及び Pharmacology Report 24） 19
2.6.2.2.7 白金製剤投与後のオラパリブ維持療法（試験番号：Pharmacology Report 28） 24
2.6.2.2.8 感受性細胞株モデルにおけるオラパリブ代謝物の PAR 阻害作用及び増殖抑制作用（試験番号：Pharmacology Report 34） 26
2.6.2.3 副次的薬理試験 26
2.6.2.4 安全性薬理試験 26
2.6.2.4.1 中枢神経系 26
2.6.2.4.2 心血管系 27
2.6.2.4.2.1 電位依存性カリウムチャネル（hERG） 27
2.6.2.4.2.2 麻酔イヌにおける心血管系作用 27
2.6.2.4.3 呼吸器系 27
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 28
2.6.2.6 考察及び結論 28
2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験 28
2.6.2.6.2 副次的薬理試験及び安全性薬理試験 28
2.6.2.7 参考文献 30

表目次

表 1　精製 PARP 酵素に対するオラパリブの阻害活性 10
表 2　DNA 修復因子の欠損が知られている特定細胞株におけるオラパリブ単独処理時の *in vitro* 増殖阻害活性 12
表 3　HBCx10 モデルにおいてオラパリブ各用量 IC_{50} 値及び IC_{90} 値を超えて持続する時間の推定値 18

図目次

図 1　DNA 一本鎖切断の修復における PARP-1 の役割 8
図 2　*BRCA* 表現型により異なる PARP 阻害の細胞生存に対する作用 9
図 3　KU95 細胞株パネルにおけるオラパリブの増殖阻害活性（IC_{50} 値） 11
図 4　既知 *BRCA1/2* 変異又は HRR 関連遺伝子低発現量によるオラパリブ感受性細胞株の分類（IC_{50} 値 1 μM 未満） 13
図 5　*BRCA1* 欠損同所移植マウスモデルにおけるオラパリブの作用 14
図 6　SW620 癌細胞におけるオラパリブの PARP-1 活性（PAR 形成）阻害作用 15
図 7　SW620 癌細胞におけるオラパリブの MMS 活性増強作用 16
図 8　HBCx-10 腫瘍に対するオラパリブ反復投与の腫瘍増殖抑制作用 17
図 9　オラパリブのカプセル剤及び錠剤の複数用量から得られた臨床トラフ血漿中濃度と非臨床試験で算出した IC_{90} 値との関係 19
図 10　癌細胞株におけるオラパリブと白金製剤に対する感受性の相関関係 21
図 11　乳癌 PDX モデルにおけるオラパリブと白金製剤に対する感受性の相関関係 22
図 12　肺癌 PDX モデルにおけるオラパリブと白金製剤に対する感受性の相関関係 23
図 13　*BRCA1* 欠損腫瘍細胞株同所移植モデルにおけるオラパリブ維持療法による無増悪期間の延長作用 24
図 14　*BRCA1* 欠損腫瘍細胞株同所移植モデルにおけるオラパリブ維持療法による生存期間の延長作用 25

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

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
ATM	Ataxia telangiectasia mutated gene or protein：毛細血管拡張性運動失調症の原因遺伝子又は蛋白質
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 コードしているタンパクを意図する場合は斜体にはしない。
BRCAm	*gBRCA* or *sBRCA* mutated：生殖細胞系又は体細胞系 *BRCA* 変異陽性
CFA	Colony formation assay：コロニー形成アッセイ
CHO	Chinese Hamster Ovary：チャイニーズハムスター卵巣
COSMIC	Catalogue of somatic mutations in cancer
DDR	DNA Damage Response：DNA 損傷応答
DMSO	Dimethyl sulphoxide：ジメチルスルホキシド
DNA	Deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
dP/dt	Rate of increase of left ventricular pressure (index of myocardial contractility)：左室圧立ち上がり速度（心収縮能の指標）
dP/dt_{max}	Maximum rate of increase of left ventricular pressure：最大左室圧立ち上がり速度
DSB	Double strand break：二本鎖切断
ECG	Electrocardiogram：心電図
gBRCA	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の基準
hERG	Human ether-a-go-go-related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HNSCC	Head and neck squamous cell carcinoma：頭頸部扁平上皮癌
HPβCD	Hydroxypropyl β-cyclodextrin：ヒドロキシプロピル β-シクロデキストリン
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
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration：50%阻害濃度
IC_{90}	90% maximal inhibitory concentration：90%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation：日米 EU 医薬品規制調和国際会議

略語及び専門用語	用語の説明
KU95	A mixed tumour type panel of 95 cancer cell lines：様々な腫瘍タイプを含む 95 種類の一連の癌細胞株
MMS	Methyl methanesulfonate：メチルメタンスルホン酸
MRE11	meiotic recombination 11 gene
MRE11A	meiotic recombination 11 homolog A gene
NAD^+	Nicotinamide adenine dinucleotide：ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
NSCLC	Non-small cell lung cancer：非小細胞肺癌
p53	Tumour suppressor protein 53：癌抑制蛋白質 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
PBS	Phosphate buffered saline：リン酸緩衝生理食塩水
PD	Pharmacodynamic：薬力学
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： MMS 等の 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
PK	Pharmacokinetic：薬物動態学
PK/PD	Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship：薬物動態学／薬力学的関係
PR	ECG interval measured from the beginning of the P wave to the end of the R wave：心電図の P 波の初めから QRS 波の初めまでの時間
PSR	Platinum sensitive relapse：白金製剤感受性再発
QRS	ECG interval measured from the beginning of the Q wave to the end of the S wave：心電図の Q 波の初めから S 波の終りまでの時間
QT	ECG interval measured from the beginning of the QRS complex to the end of the T wave：心電図の QRS 波の初めから T 波の終わりまでの時間
RR	ECG interval measured from the beginning of one R wave to the beginning of the next R wave：心電図の 1 つの R 波の初めから次の R 波の初めまでの時間
RTV	Ratio of tumor volume：相対的腫瘍体積
SD	Standard deviation：標準偏差
SSB	Single strand break：一本鎖切断
TNBC	Triple negative breast cancer：トリプルネガティブ乳癌

2.6.2.1　　まとめ

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として使用する抗腫瘍薬として開発中である。

白金製剤を含む化学療法に奏効（完全奏効又は部分奏効）を示している白金製剤感受性再発（PSR）乳癌感受性遺伝子（*BRCA*）変異陽性（*BRCAm*）の高悪性度漿液性上皮性卵巣癌、卵管癌又は原発性腹膜癌に罹患した成人患者に対する単剤維持療法として、オラパリブ錠剤（300 mg 1 日 2 回）又はカプセル（400 mg 1 日 2 回）の臨床使用に際し、必要な非臨床試験として、効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験を実施した。なお、これらの試験の一部では、オラパリブの別名として、AZD2281、KU-0059436、KU0059436、COCE42、CO-CE42、CO-CE000042 等の名称も使用している。これらの試験で得られた主な知見は以下のとおりである。

- オラパリブは、哺乳類の PARP 酵素である PARP-1、PARP-2 及び PARP-3 に対して強い阻害作用を有する新規化合物であり、単独投与又は従来の化学療法との併用により、*in vitro* で特定の腫瘍細胞株の増殖を阻害し、*in vivo* で異種移植した腫瘍細胞の増殖を抑制した。
- オラパリブの PARP-1、PARP-2 及び PARP-3 酵素活性に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）は、それぞれ 5 nM、1 nM 及び 4 nM であった。オラパリブの主要標的は、核蛋白質 PARP ファミリーの最も豊富に存在するメンバーである PARP-1 で、PARP 阻害作用は DNA 一本鎖切断（SSBs）を認識して結合した PARP-1 をトラップすることによって発揮される。*In vitro* で培養した細胞で、PAR 鎖形成を指標としてオラパリブの PARP-1 活性阻害を評価した場合、PARP-1 活性は、オラパリブの濃度が 6～8 nM で 50%阻害され、細胞株においては 30～100 nM で 90%超、300 nM で完全に阻害された。オラパリブ感受性の *BRCAm* HBCx-10 患者由来腫瘍の異種移植（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、腫瘍 PARP に対するオラパリブの IC_{50} 値は 56.5 nM、90%阻害濃度（IC_{90}）は 382 nM であり、有効性を示すには 50%超の PARP-1 阻害が 13 時間以上持続するか、90%超の PARP-1 阻害が 6 時間維持される必要があることが示唆された。
- PAR 阻害と DNA SSB 形成の関係をモデル解析することにより、SSB の著明な増加は PAR 阻害が 90%を超えた場合にのみ発生することが示唆された。当該モデルから、PAR レベルの顕著な（90%超）阻害が維持される場合にのみ、SSB が大幅に増加することが予測された。このことと一致して、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 PARP 阻害の IC_{90} 値超に維持することができる用量と関連することが示唆された。
- 癌細胞株パネルを用いた検討から、特に *BRCA1*、*BRCA2* 等の相同組換え修復（HRR）不全の細胞株がオラパリブに特に高い感受性を示したが、検出可能な HRR 関連関与遺伝子に変異のない癌細胞においても活性が認められた。
- 腫瘍細胞株及び PDX モデルを用いた試験から、オラパリブに対する感受性が白金製剤に対する感受性とよく相関することが示され、白金製剤感受性がオラパリブ感受性の代替マーカーとなる可能性が示唆された。

- *BRCAm* を有する *in vivo* モデルにおいて、オラパリブは白金製剤の抗腫瘍効果を延長し（白金製剤投与後にオラパリブ投与）、白金製剤投与後の維持療法としても有用であることが示唆された。
- 血漿中に総放射能のそれぞれ約 9～14%を占める 3 種類の主代謝物（M15、M12 及び M18）が特定されているが、これらの代謝物の PAR 形成阻害作用はオラパリブの 7～20 分の 1、*BRCAm* 癌細胞に対する増殖抑制作用はオラパリブの 4～30 分の 1 であることから、これらの代謝物が有効性に大きく寄与することはないと考えられる。
- 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様々な標的分子パネルに対する活性を *in vitro* でスクリーニングしたところ、オラパリブはこれらの分子に対して有意な活性を示さなかった。
- オラパリブは *in vitro* で、ヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子（hERG）がコードするカリウムチャネルを阻害し、その IC_{50} 値は 226 μM であった。
- イヌを用いた心血管系及び呼吸器系への影響に関する試験、並びにラットを用いた中枢神経系への影響に関する試験（Irwin 法による行動観察）において、オラパリブは *in vivo* で有意な影響を示さなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 背景

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）。DNA の塩基除去修復を介した SSB 修復に加えて、PARP-1 は、様々な DNA 損傷応答（Beck et al 2014, Mansour et al 2010, Ying et al 2012）、並びに、遺伝子増幅、細胞分裂、テロメア長の制御、染色体の安定化、分化、アポトーシス、転写制御等、DNA に関連する様々な機能（d'Adda di Fagagna et al 1999, Virag and Szabo 2002, Garnett et al 2012, Brenner et al 2012, Schiewer et al 2012）にも関与していることが明らかになっている。

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 鎖形成が重要であることが明らかにされている（Althaus and Richter 1987）（図 1）。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、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（ポリ ADP リボシル化（PAR 化））。ヒストンの PAR 化修飾により DNA クロマチンが緩み、それに続く修復因子の集積が促進され、一方、PARP 自己修飾により修復因子集積及び DNA SSB 修復にも必要とされる PARP の解離が起こる。

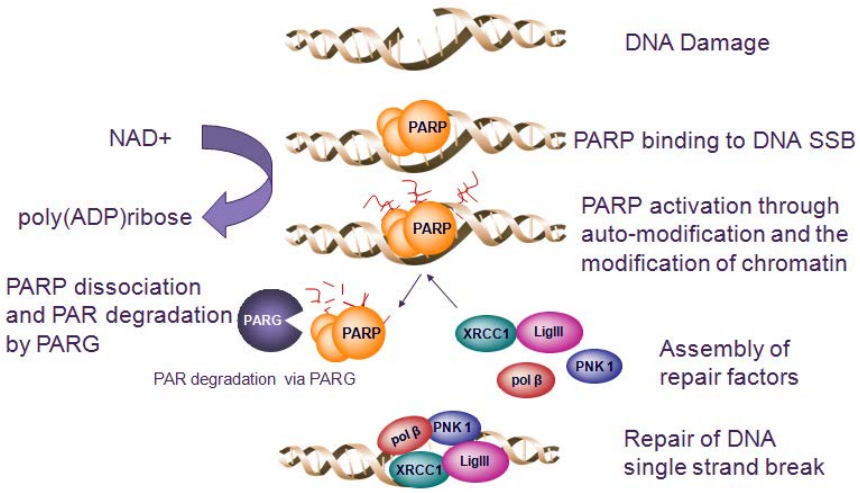


図 1　　DNA 一本鎖切断の修復における PARP-1 の役割

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（Pommier et al 2016）、DNA の SSB 修復及び細胞の DNA 複製の両方を阻害し（Helleday 2011, Murai et al 2012）、複製フォークが崩壊した箇所で DNA 二本鎖切断（DSB）を引き起こす（Pommier et al 2016）と考えられている。即ち、トラップされた PARP-DNA 複合体の処理、及び、複製フォークの失速とその後の崩壊により、より重篤な DNA の DSB が形成されると予想される（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 異常（HRD）を有する腫瘍では、修復不可能な程度までゲノムの不安定性が亢進し、細胞死に至ると考えられる。

PARP 阻害活性の上昇をもたらすことが明らかになっている疾患関連の HRR 構成要素欠損の例として最もよく知られているのは、乳癌及び卵巣癌の関連遺伝子である *BRCA1* 及び *BRCA2* である。オラパリブの前駆物質である KU-0058948 を用いた評価で、*BRCA* ホモ接合型変異株（*BRCA2*$^{-/-}$）、*BRCA* ヘテロ接合型変異株（*BRCA2*$^{-/+}$）及び野生型細胞株（*BRCA2*$^{+/+}$）の間で PARP 阻害剤に対する感受性に約 1000 倍の差があることが明らかになっている（Farmer et al 2005）（図 2）。

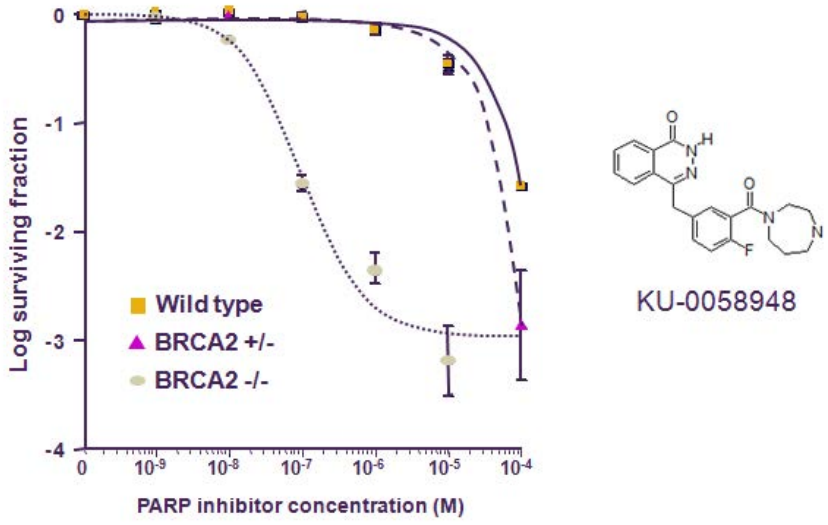


図 2　　*BRCA* 表現型により異なる PARP 阻害の細胞生存に対する作用

PARP 活性阻害は、野生型 *BRCA2* を欠損する細胞の生存を選択的に阻害する。10～12 日間にわたり阻害剤を連続曝露した後の *BRCA2* 野生型、*BRCA2* ヘテロ接合型（*BRCA2*$^{+/-}$）及び *BRCA2* 欠損（*BRCA2*$^{-/-}$）マウス ES 細胞のクローン化生存曲線。エラーバーは平均値±1 標準偏差を示す。
（出典：Farmer et al 2005）

したがって、*BRCA1*、*BRCA2* 又は他の HRR に関与する遺伝子（McCabe et al 2006, Cerrato et al, 2016, Murata et al 2016）のいずれかが野生型又はヘテロ接合型である正常細胞では、オラパリブの PARP 阻害作用は著しく低下すると考えられる。例えば、生殖細胞系 *BRCA*（g*BRCA*）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、腫瘍組織では両方の機能的コピーが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）にとって重要である。

2.6.2.2.2　臨床開発に向けた PARP 阻害剤としてのオラパリブの選択性

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いるが（Hottiger et al 2010）、SSB 修復に関与するのは PARP-1 と PARP-2 のみである。PARP-2 は PARP-1 と最も密接な関係にある同族体であり、触媒ドメインに 62%の相同性がある。しかしながら、PARP-1 は哺乳類細胞核内で最も豊富に存在する PARP ファミリー分子であり、細胞内での PAR 鎖の大半の形成に参与し、DNA SSB の修復に関与する PARP ファミリー分子の主要形成分子である。更に、単剤で有効性を示すために PARP 捕捉が必要とされること、及び、PARP-1 蛋白質発現の消失を介して PARP 阻害薬に対する抵抗性が実証されていることから、PARP 阻害剤単独療法は主に PARP-1 阻害により効果が示されると考えられる（Pettitt et al 2013）。

2008 年に Menear らによって報告されたように（Menear et al 2008）、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。表 1に示すように、オラパリブは、PARP-1 及び PARP-2（Menear et al 2008）、並びに PARP-3（試験

Pharmacology Report 31, Oplustil O'Connor et al 2016）に対して低モル濃度（nM）で阻害活性を示したが、タンキラーゼ-1 に対する阻害活性は mM オーダーで確認された。

表 1　　精製 PARP 酵素に対するオラパリブの阻害活性

酵素	IC_{50} 値（nM）
PARP-1	5
PARP-2	1
PARP-3	4
タンキラーゼ-1	1500

IC_{50} 値は 2～3 回の実験での用量反応曲線から算出した平均値を示す。
（出典：Menear et al 2008, Oplustil O'Connor et al 2016, 試験番号：Pharmacology Report 31）

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メチルメタンスルホン酸（MMS）の増殖曲線における IC_{50} 値を MMS と PARP 阻害剤併用時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。このアッセイ系における PF_{50} 値は、オラパリブで 25.8 であったのに対して、KU-0058948 では 12.6 であった（Menear et al 2008, Farmer et al 2005）。

2.6.2.2.3　一連の癌細胞株におけるオラパリブの *in vitro* 活性（試験番号：KTS00101 及び Pharmacology Report 24）

HRR に関与する遺伝子が欠損している癌細胞株を用いた研究で、オラパリブ感受性は BRCA1 及び BRCA2 欠損以外に、毛細血管拡張性運動失調症変異（ATM）、RAD51 及びファンコニ貧血遺伝子産物を含む広範囲な HRR 関連因子が欠損している場合にも認められることが示された（McCabe et al 2006）。オラパリブに対する感受性の決定因子をさらに調査するため、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（CFA）を用いて検討した。CFA は 6 穴プレートに既定の播種密度で播種し、一夜接着させた細胞を用いて実施した。24 時間後にオラパリブの 6 濃度（0、1.123、0.370、4.111、3.333 及び 10 μM）をトリプリケートで曝露した後、プレートをインキュベータに戻し、約 50 細胞以上のコロニーが形成されるまで細胞を増殖させた。その後コロニーをギムザ染色し、計数した。各細胞株の平均 IC_{50} 値は独立した生物学的再現実験（最少 n=2、通常 n=3）の平均値として算出した。卵巣癌、乳癌、肺癌、頭頸部癌、大腸癌、膵臓癌細胞株等の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（図 3）。その結果、IC_{50} 値が低濃度（18 nM）から 10 μM を超えるものまで、オラパリブの広範囲な腫瘍細胞に対する作用が明らかになった（IC_{50} 値が検討した最高濃度 10 μM 以上であり、正確な値を算出できなかった細胞株の IC_{50} 値は 10 μM とし、図にプロットする際の標準偏差は 0 とする）。

検討に用いた細胞株には，*BRCA1* 又は *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（MRE11）（MRE11 homolog A gene［MRE11A］）のような他の DNA 修復不全が知られている細胞株も含まれていた。また、これら一連の細胞株について、DNA 損傷応答（DDR）経路及び HRR 経路に関連する主な遺伝子（*BRCA1*、*BRCA2*、毛細血管拡

張性運動失調症の原因遺伝子又は蛋白質［ATM］、ATR、MDC1、MRE11A 等）に関する相対的蛋白質発現量及びメッセンジャーリボ核酸発現量に関する評価も行った。

2 種類以上の HRR 標的遺伝子の相対的遺伝子発現量又は蛋白質発現量が、平均発現量の 50%未満であった場合、その細胞株は HRD に分類した。また、公表文献において *BRCA1* 又は *BRCA2* の有害なホモ接合型機能喪失型突然変異が報告されている細胞株についても、HRD に分類した（D'Amours et al 1999, Elstrodt et al 2006, Giannini et al 2002, Goggins et al 1996）。

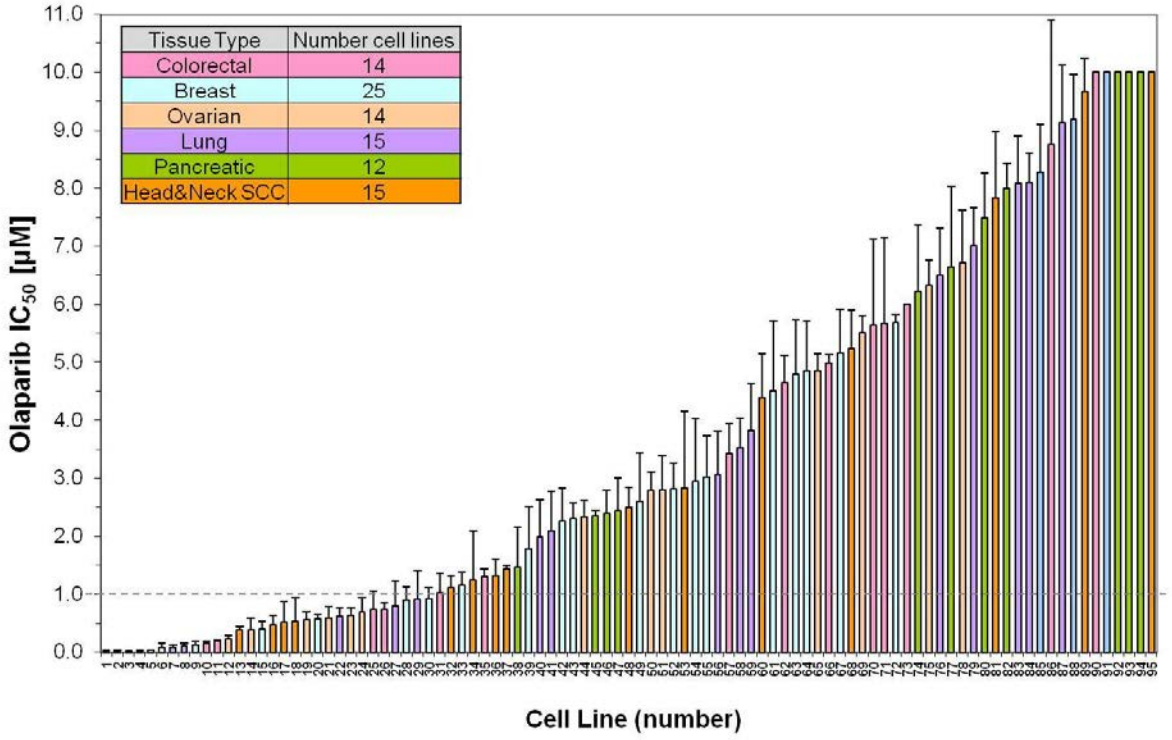


図 3　　KU95 細胞株パネルにおけるオラパリブの増殖阻害活性（IC_{50} 値）

95 種類の腫瘍細胞株を用いて CFA 法によりオラパリブ単独の増殖抑制作用（IC_{50} 値）を測定した。本法では細胞を低密度で播種してコロニーを形成させ、被験物質を処置して 1～3 週間後にコロニー数を計測した。データは IC_{50} 値の平均 ± 標準偏差（n=2～3）を示す。図の左上部に腫瘍細胞株の名称及び数、図横軸に細胞株番号を示す。
Head&Neck SCC = 頭頸部扁平上皮癌。
（試験番号：KTS00101）

HRR 標的遺伝子の欠損が知られているこれらの細胞株の一部について、オラパリブに対する感受性を表 2に示す。

表 2　DNA 修復因子の欠損が知られている特定細胞株におけるオラパリブ単独処理時の *in vitro* 増殖阻害活性

細胞株の名称	組織の種類	DNA 修復因子の状態	オラパリブ IC_{50} 値（μM）
MDA-MB-436	乳癌	*BRCA1* 変異	0.018 ±0.013
SUM1315MO2	乳癌	*BRCA1* 変異	0.032 ±0.010
MDA-MB-468	乳癌	ATM 低発現	0.896 ± 0.048
BT474	乳癌	不明	9.186 ± 0.779
MDA-MB-231	乳癌	不明	8.280 ± 0.818
CAPAN-1	膵臓癌	*BRCA2* 変異	0.024 ± 0.015
HUPT4	膵臓癌	不明	6.646 ± 1.374
HCT116	大腸癌	MRE11A 変異	0.198 ± 0.021
SW480	大腸癌	不明	>10
OVCAR3	卵巣癌	*BRCA1* プロモーターのメチル化	0.221 ± 0.060
SKOV3	卵巣癌	不明	5.508 ± 0.298

DNA 修復状態は文献（D'Amours et al 1999, Elstrodt et al 2006, Giannini et al 2002）及び COSMIC 突然変異データベース（http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/）から引用した。
BRCA1 プロモーターのメチル化及び ATM 発現量情報は社内データから入手した。オラパリブの IC_{50} 値（μM）は平均 ± 標準偏差（n=3）で示す。
IC_{50}=50%阻害濃度、ATM=毛細血管拡張性運動失調症の原因遺伝子又は蛋白質、*BRCA*=乳癌感受性遺伝子、COSMIC=Catalogue of somatic mutations in cancer、MRE11A= meiotic recombination 11 homolog A gene。

これらの細胞株パネルを通して、オラパリブ処理により広範囲にわたる連続した増殖阻害活性（IC_{50} 値）が認められたが（0.018 μM～10 μM 超の範囲）、*BRCA1* 又は *BRCA2* 変異、若しくは HRR 遺伝子／蛋白質の低発現が知られている細胞株でオラパリブに対する感受性が高く（IC_{50} 値 1 μM 未満）、両者の間には明らかな関連性があった（図 4）。これらのデータは、HRD が PARP 阻害処理により生じる DSB 修復を妨げるという PARP 阻害剤で提唱されている作用機序と一致するものであった。感受性の高い細胞株に明らかに集中して HRD が認められたが（24/30）、分子学的要因が不明のオラパリブ感受性細胞株も認められた。PARP 阻害薬（オラパリブ）の感受性は BRCA 及び HRR の異常よりも広範囲に示され、HRR 以外の DNA 損傷応答異常及び経路にも及んでいる可能性を示唆する研究結果が報告されている（Postel-Vinay et al 2013, Cerrato et al, 2016, Murata et al 2016, Lu et al 2017）。

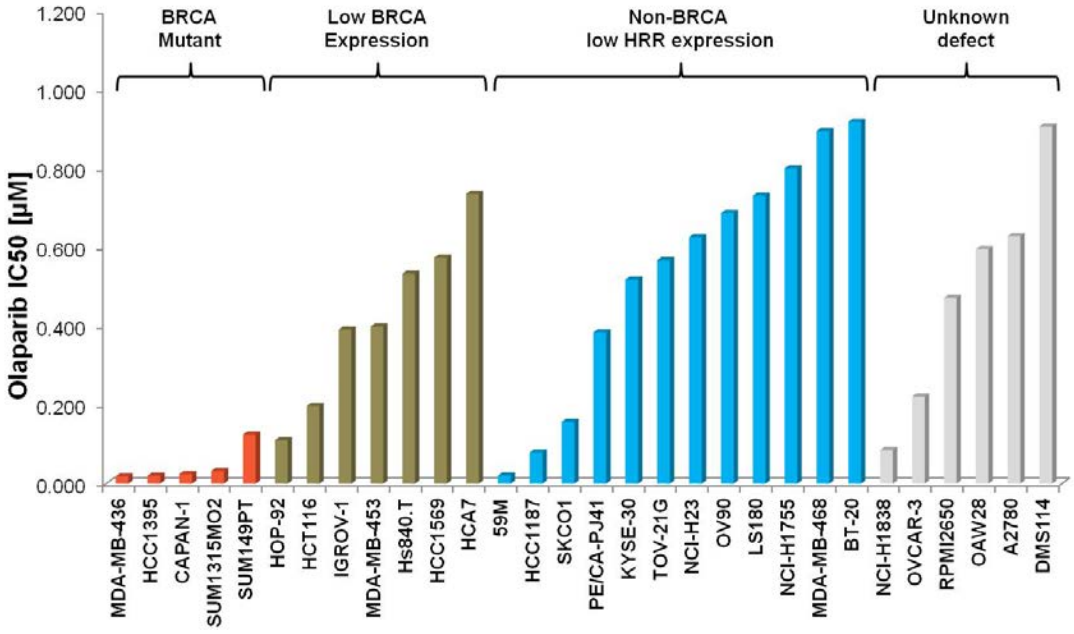


図 4　　既知 *BRCA1/2* 変異又は HRR 関連遺伝子低発現量によるオラパリブ感受性細胞株の分類（IC_{50} 値 1 μM 未満）

オラパリブ感受性が高い細胞株（IC_{50} 値 1 μM 未満）を、*BRCA1/2* の有害突然変異細胞株（*BRCA Mutant*）、*BRCA1/2* 発現量が低下した細胞株（low BRCA expression）、*BRCA1/2* 変異／発現量低下がなく別の HRR 関連遺伝子発現量が低下した細胞株（Non-BRCA, low HRR expression）又はこれらのいずれの欠損もない（unknown defect）細胞株に分類して表示した。
（試験番号：Pharmacology Report 24）

2.6.2.2.4　*BRCA* 欠損マウス腫瘍モデルにおけるオラパリブの抗腫瘍効果

同所移植 *BRCA* ノックアウトモデルを用いて、オラパリブの作用を評価した。*BRCA1*$^{-/-}$同所移植乳癌マウスモデル（Rottenberg et al 2008）（図 5）及び *BRCA2*$^{-/-}$同所移植マウスモデル（Hay et al 2009）を用いた試験において、オラパリブを 50 mg/kg の用量で 1 日 1 回 28 日間単独投与したとき、いずれのモデルにおいても有意な腫瘍増殖抑制作用が認められた。

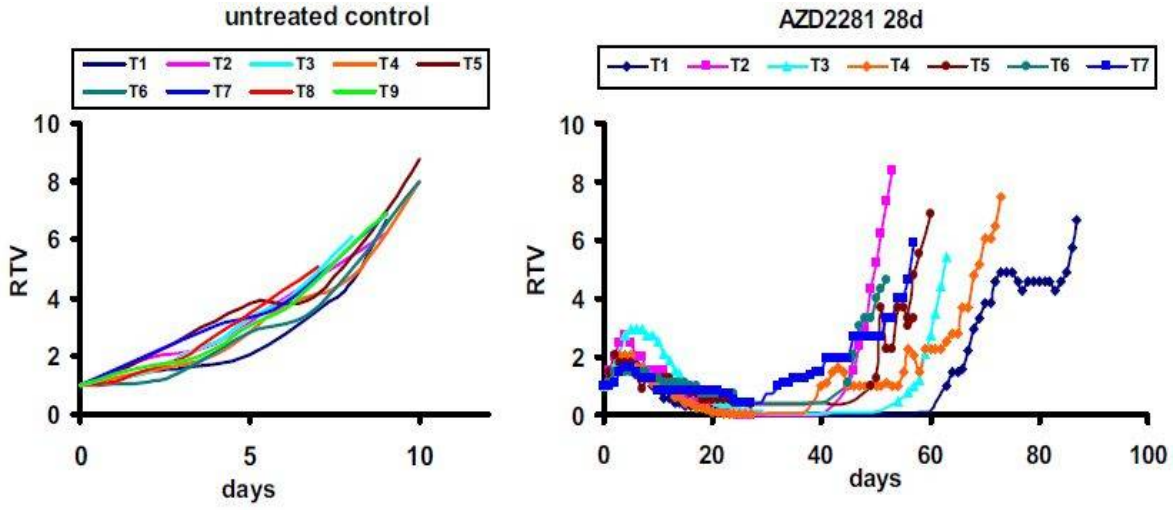


図 5　　*BRCA1* 欠損同所移植マウスモデルにおけるオラパリブの作用

BRCA1$^{-/-}$、癌抑制蛋白質 53（p53）$^{-/-}$腫瘍を同所移植したマウスにオラパリブ（AZD2281）を 50 mg/kg の用量で腹腔内投与した。個別に腫瘍を同所移植したマウス（T1～T7）に AZD2281 を 1 日 1 回 28 日間又は 100 日間投与した。AZD2281 はジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解した 50 mg/mL 原液を 10% ヒドロキシプロピル β シクロデキストリン（HPβCD）含有リン酸緩衝生理食塩水（PBS）で希釈して用いた。対照群は無処置又は溶媒投与のみとした。相対的腫瘍体積（RTV、投与開始時の初期体積に対する腫瘍体積の比）を時間の関数として表示した。（出典：Rottenberg et al 2008）

2.6.2.2.5　*In vitro* 及び *in vivo* における有効性及び薬力学的試験（試験番号：KTS00048、KTS00049、Pharmacology Report 29 及び Pharmacology Report 33）

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 PAR 鎖の形成を効果的に阻害（90%超）することが明らかになった。これらの濃度により、PARP 活性が有意に低下し（PAR 鎖の形成阻害に基づく）、100～300 nM で最大の PARP-1 阻害作用が認められた（図 6）。

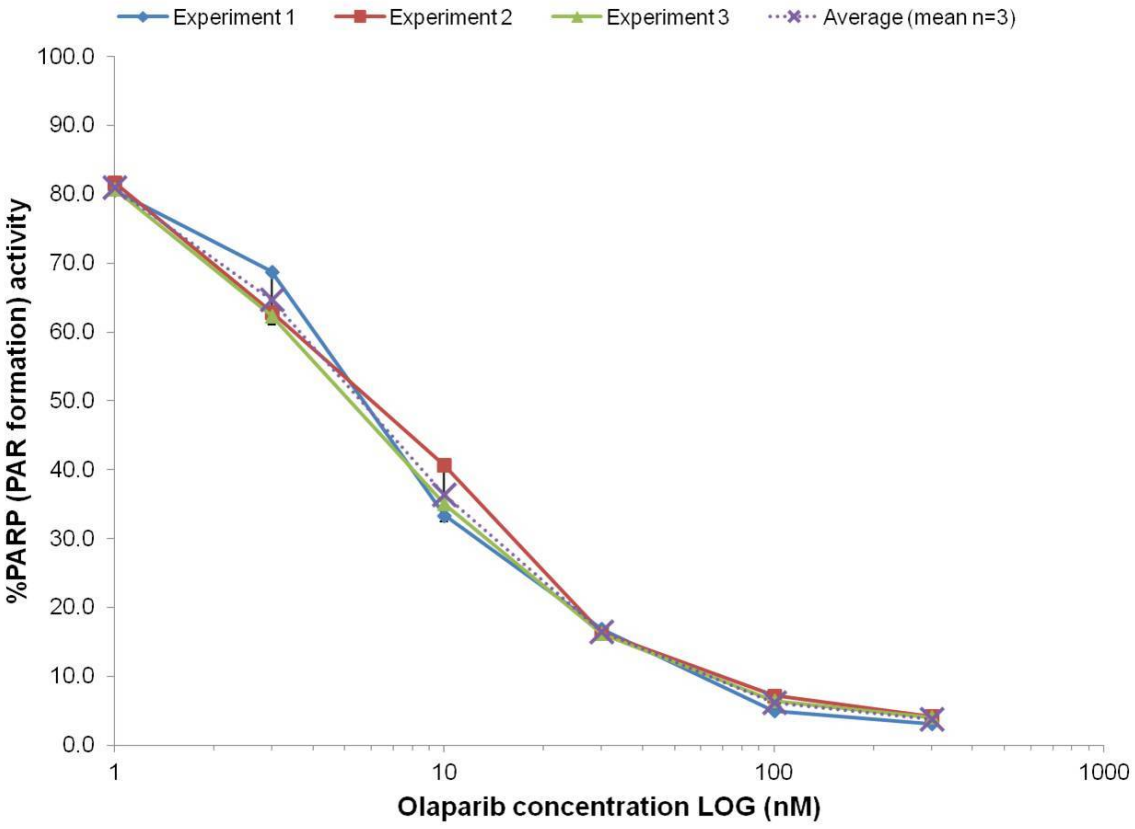


図 6　　SW620 癌細胞におけるオラパリブの PARP-1 活性（PAR 形成）阻害作用

3 回の独立した試験により、濃度 100～300 nM で PARP-1 活性に対する阻害作用が最大になることが示された。これらの試験からオラパリブの IC_{50} 値は 6 nM であると算出された。なお、溶媒（DMSO）処置時の最大 PARP 活性を 100%とした。
（試験番号：KTS00049）

この成績と一致して、SSB を惹起する MMS の作用増強を評価した *in vitro* 試験においても濃度 100 nM（43.4 ng/mL に相当）で最大の作用増強が認められた（図 7）。

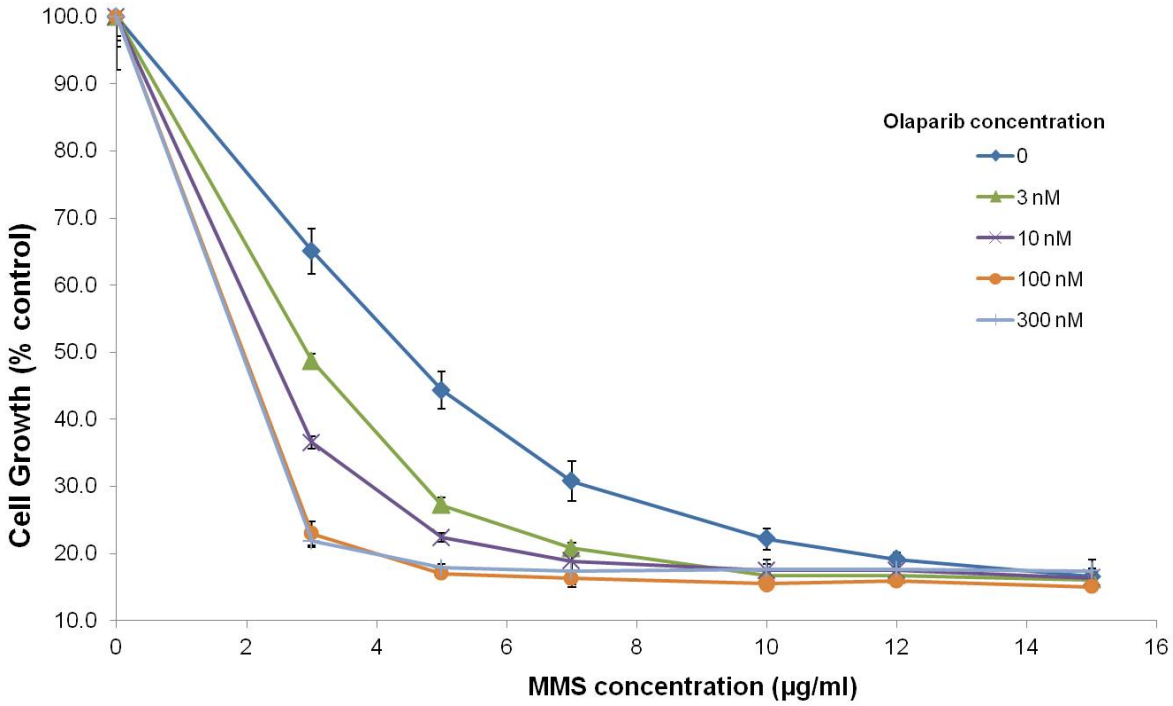


図 7　　SW620 癌細胞におけるオラパリブの MMS 活性増強作用

漸増濃度のオラパリブ（DMSO に溶解）を添加し、1 時間後に漸増濃度の MMS を添加して 4 日間インキュベートし、スルホローダミン B アッセイを利用して細胞増殖阻害を測定することにより、MMS の活性増強を評価した。エラーバーは 3 回の独立した試験の平均値の標準誤差を示す。
（試験番号：KTS00048）

マウスのオラパリブ感受性 PDX モデル（HBCx-10）を用いて、非臨床 PK／PD／有効性関係モデルを構築した（試験番号：Pharmacology report 33）。なお、本モデルは、ホモ接合型 *BRCA2* 変異を有するトリプルネガティブ乳癌（TNBC）患者に由来し、オラパリブ 100 mg/kg を 1 日 1 回単独経口投与したときに反応を示すことが明らかになっている。また、本モデルは白金製剤に対しても非常に高い感受性を示すことが知られている。この HBCx-10 PDX モデルを用いて、2.5～100 mg/kg の範囲の様々な用量について検討した。これらオラパリブ各用量を反復投与したときの抗腫瘍効果を図 8に示す。

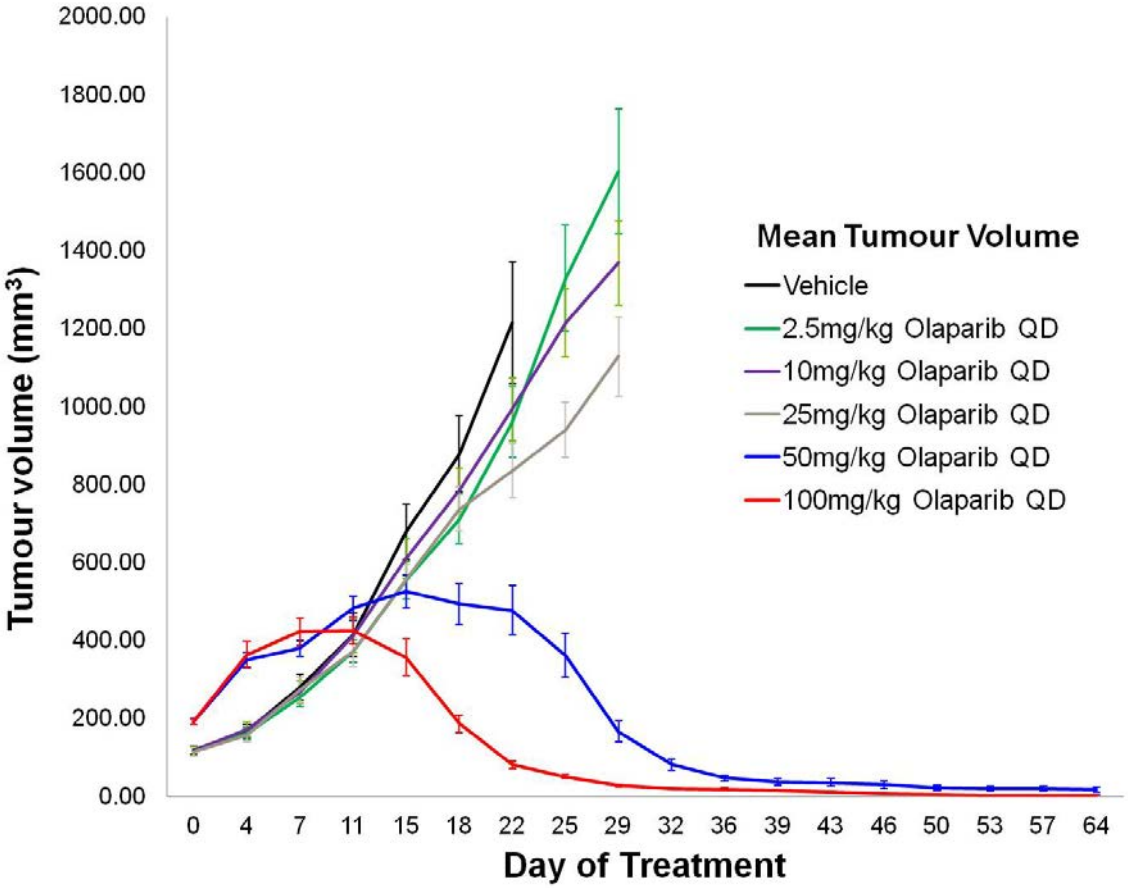


図 8　　HBCx-10 腫瘍に対するオラパリブ反復投与の腫瘍増殖抑制作用

HBCx-10 腫瘍（TNBC *BRCA2* 変異細胞株）を移植したマウスに対して、腫瘍体積が 100 mm^3 又は 200 mm^3 に達した時点でオラパリブを 2.5、10、25、50 及び 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回反復投与した。各群の担癌マウス数は 10 例とした。腫瘍の退縮が認められなかったマウスには、30 日目以降投与を行わなかった。腫瘍の退縮が認められた 50 又は 100 mg/kg 群については、少なくとも 64 日間にわたり投与を継続した。
（試験番号：Pharmacology Report 33）

50 又は 100 mg/kg 群では、腫瘍の退縮前に初期の腫瘍増殖期間が認められた。これは、PARP-1 が阻害されるとともに、*BRCA2* 変異により HRR 不全が認められる状況で複製が起こり、修復不可能なところまでゲノムの不安定性が増大した結果として細胞死に至るというオラパリブの既知の作用機序と一致していた（Farmer et al 2005）。50 mg/kg 群に比べて 100 mg/kg 群では、腫瘍退縮に至るまでに要する期間が短縮した（約 28 日から約 17 日に短縮）。さらに、投与 30 日目の平均腫瘍体積は、50 mg/kg 群で開始時体積の 8.6%であったのに対して、100 mg/kg 群では 1.4%であった。50 mg/kg 未満の用量では、30 日目までに腫瘍の退縮は認められなかった。

溶媒対照群及びオラパリブ投与群の両方について、反復投与 7 及び 14 日目の投与 1 時間後に腫瘍に対する薬力学的作用（PAR 鎖形成阻害）及び血漿中濃度を調べた。その結果、オラパリブの用量、血漿中非結合形濃度及び腫瘍組織における PAR 形成阻害レベルの間に明白な相関関係

が認められた。これらの成績から、検討したオラパリブ各用量について、PAR 形成の IC_{50} 値及び IC_{90} 値を超える血漿中非結合形濃度が得られる時間を推定した結果を表 3に示す。

表 3　HBCx10 モデルにおいてオラパリブ各用量 IC_{50} 値及び IC_{90} 値を超えて持続する時間の推定値

投与量 mg/kg	IC_{50} 値（56.5 nM）超の時間	IC_{90} 値（382 nM）超の時間
2.5	1.9	0.7
10	7.1	1.1
25	10.5	3.4
50	13.1	6.0
100	15.6	8.5

IC_{50}/IC_{90} 値：シミュレーションによって推定された PAR 鎖形成を 50%又は 90%阻害するのに必要な血漿中非結合形オラパリブ濃度
（試験番号：Pharmacology report 33）

以上の結果より（試験番号：Pharmacology report 33）、非臨床の HBCx-10 PDX モデルで抗腫瘍効果が認められるには、血漿中オラパリブ濃度が PARP-1 の IC_{50} 値（腫瘍の PAR 形成では 56.5 nM）超となる時間が 13 時間を超えるか、IC_{90} 値（腫瘍の PAR 形成では 382 nM）超の濃度が 6 時間を超える必要があることが示唆された。

PK／PD 関係、並びに PARP-1、NAD^+、SSB 及び PARP 阻害薬との結合速度論について作用機序に基づくモデル解析を実施した。この HBCx-10 PDX モデルにおいて、腫瘍の PD（PAR 濃度減少として測定）ともたらされる有効性（腫瘍増殖阻害として測定）との関係について詳しい知見を得るため使用した。作用機序に基づくモデルのシミュレーションの結果から、予測されたとおり PAR 形成と SSB 形成との間に逆相関関係が存在することが示唆された。しかし重要な点として、SSB 数が顕著な増加を示したのは PAR 形成が 90%超減少したときのみであった。このモデルに基づくと、PAR 濃度の顕著な（90%超）減少を維持することでのみ、SSB の大きな増加が得られ、HRR 経路に異常のある細胞における腫瘍細胞死につながると予測される。

更に、オラパリブの臨床効果は定常状態における血漿中非結合形濃度のトラフ値を PARP 阻害の IC_{90} 値超に維持することができる用量と相関することが明らかとなっている（図 9）。既に公表されている g*BRCA* 変異を有する乳癌及び卵巣癌患者を対象としたオラパリブの臨床試験において（Tutt et al 2010, Audeh et al 2010）、オラパリブの臨床的有効性は、カプセル剤 100 mg 1 日 2 回と比較して、カプセル剤 400 mg 1 日 2 回の方が高いことが示された。アウトカムデータが得られているオラパリブカプセルの複数の臨床用量から得られた PK データと照合すると、腫瘍内 PAR 形成の 90%超阻害を達成する持続的な標的阻害が、感受性腫瘍に対するオラパリブ単剤療法に必要であるという考えが裏付けられた。オラパリブ錠剤について 300 mg 1 日 2 回投与により PAR 形成の 90%超阻害を達成し得ると考えられる。

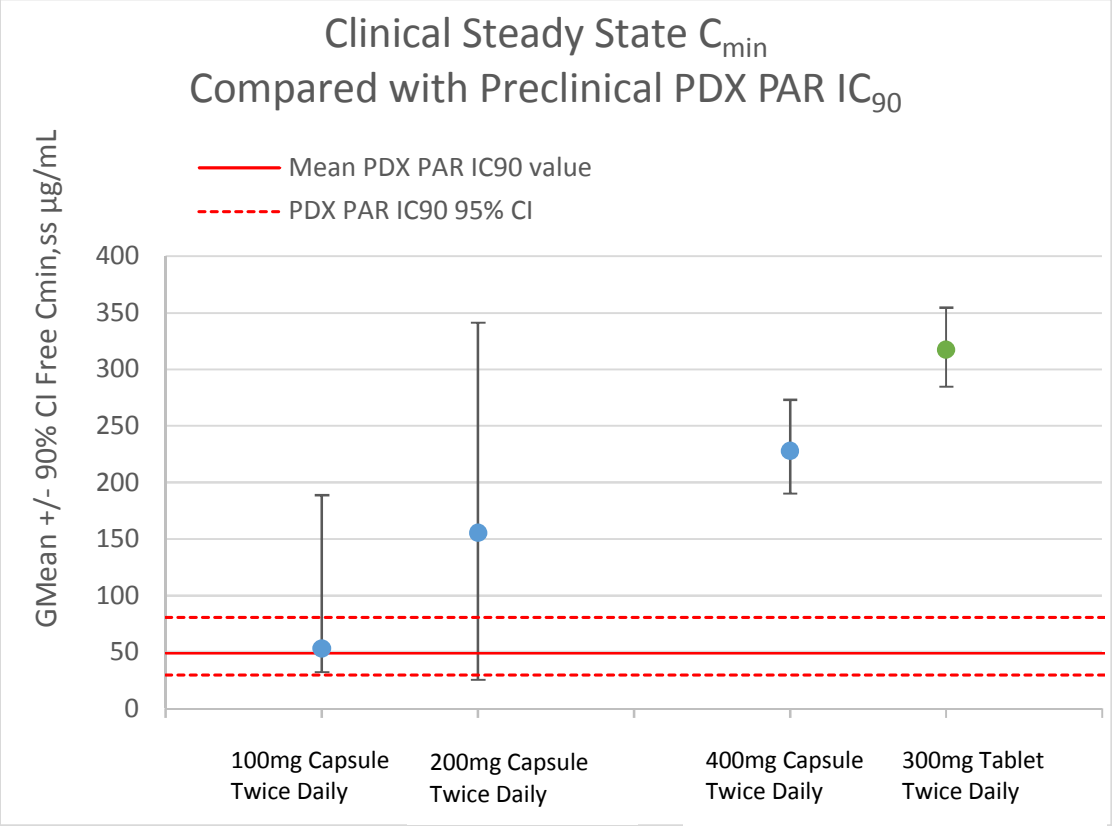


図 9　　オラパリブのカプセル剤及び錠剤の複数用量から得られた臨床トラフ血漿中濃度と非臨床試験で算出した IC_{90} 値との関係

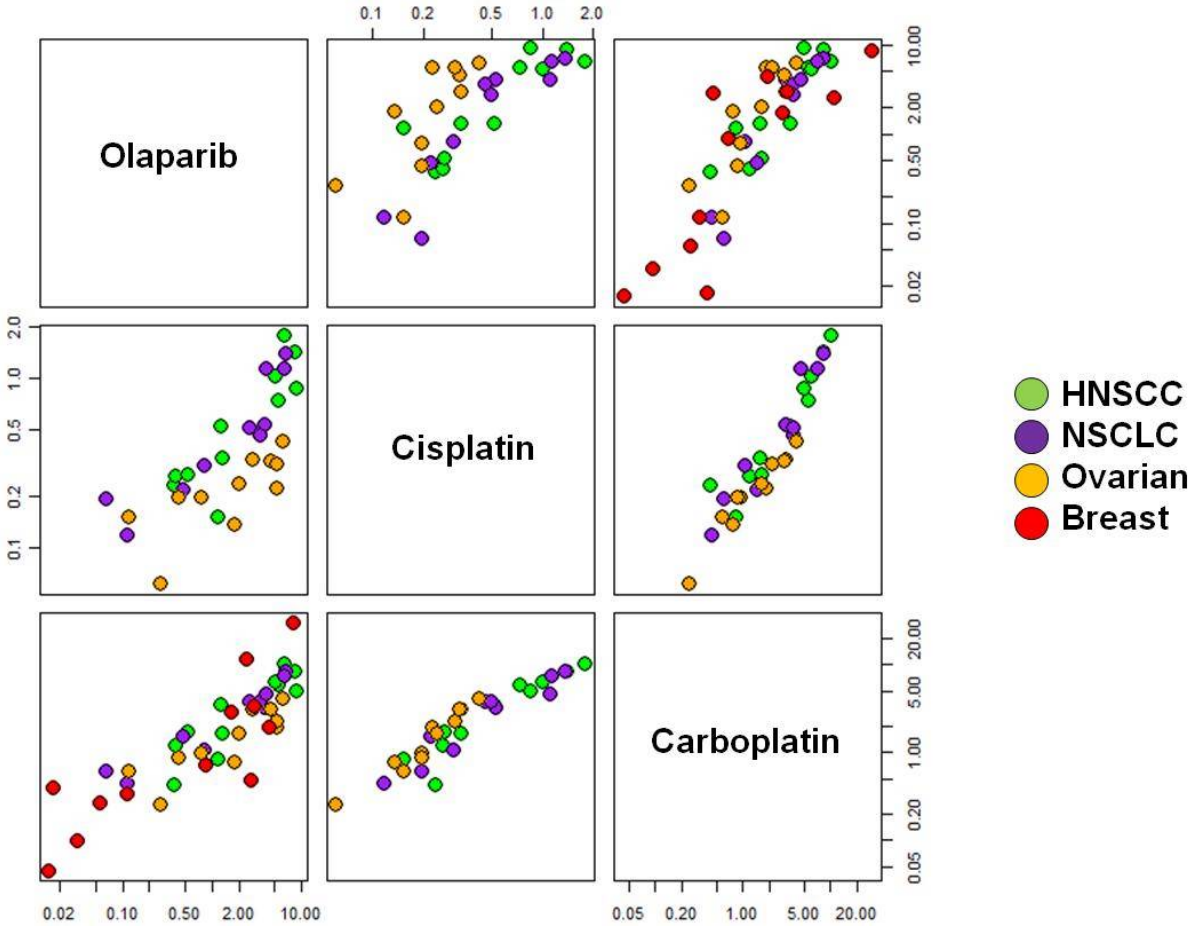
オラパリブカプセル剤 100～400 mg 投与後の C_{min}：幾何平均 ± 90%信頼区間（Olaparib-MS-01［5 部 5.3.3.5 項、試験 1、2、12 及び 24］、市販製剤と同様に速やかに溶解するバッチのカプセル剤を投与）。オラパリブ錠剤 300 mg 投与後の C_{min}：幾何平均 ± 90%信頼区間（D0816C00004、D0816C00007 及び D081CC00001 試験）。オラパリブのヒトにおける血漿蛋白結合率：81.9%（試験 KPJ019）。

2.6.2.2.6　*In vitro* 及び *in vivo* におけるオラパリブと白金製剤に対する感受性の相関関係（試験番号：Pharmacology Report 22 及び Pharmacology Report 24）

CFA を用いて 6 穴プレートに播種し、一夜接着させた細胞を用いて実施した。24 時間後に 6 点の用量反応曲線が得られるような濃度で細胞を処理した後、プレートをインキュベータに戻し、約 50 細胞以上のコロニーが形成されるまで細胞を増殖させた。その後コロニーをギムザ又はクリスタルバイオレット染色し、細胞を計数した。IC_{50} 値は曲線近似ソフトウエアを用いて算出した。各組織内で各化合物対間のピアソン相関係数を IC_{50} 値の対数を用いて算出した。化合物対間の相関の有意性検定は一方の化合物の IC_{50} 値の対数と他方の化合物の IC_{50} 値の対数間の回帰モデルの F 検定により行った。一連の乳癌細胞株を用いて、オラパリブに対する感受性と標準的治療に使用する数種の化学療法剤に対する感受性の相関関係について検討した結果、カルボプラチン（0.84、p=0.0006）及びカンプトテシン（0.8）との間に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トラップ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 DDR 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。DNA 損傷の誘導とは無関係の作用機序を有するパクリタキセル（-0.11）等、作用機序の点で関連性のない化学療法剤では、同様の相関性は認められなかった。

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［NSCLC］及び頭頸部扁平上皮癌［HNSCC］）でも実施した（図 10）。乳癌細胞株での成績と一致して、*in vitro* 及び *in vivo* のいずれの試験においても白金製剤とオラパリブに対する感受性に強い相関関係が認められ、白金製剤に対する感受性に基づき、オラパリブが有効性を示す腫瘍を選択できる可能性が示唆された。



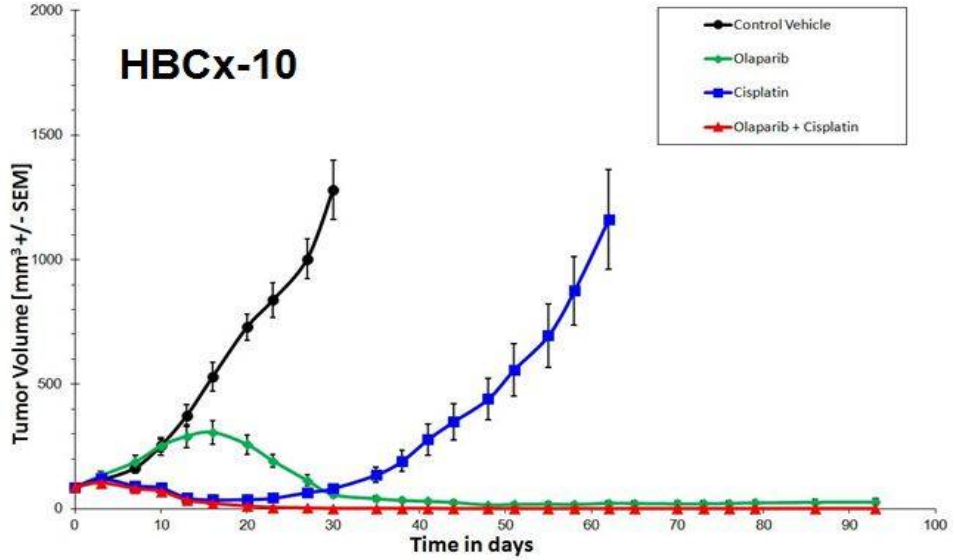
	HNSCC	NSCLC	Ovarian	Breast
Olaparib Cisplatin	0.873 p=0.00044	0.908 p=0.00028	0.739 p=0.0093	NT
Olaparib Carboplatin	0.889 p=0.00025	0.958 p=0.00001	0.856 p=0.0007	0.842 p=0.0006
Cisplatin Carboplatin	0.942 p=0.00001	0.952 p=0.00002	0.969 p=0.0000008	NT

NT =Not tested

図 10　　癌細胞株におけるオラパリブと白金製剤に対する感受性の相関関係

上図は、癌細胞株におけるオラパリブ（0～10 μM）、シスプラチン（0～2 μM）及びカルボプラチン（0～30 μM）の IC_{50} 値の X-Y 相関プロットを組織由来別に色分けして示した図である。下図は、IC_{50} 値について、オラパリブとシスプラチン及びカルボプラチンを比較したとき、並びにシスプラチンとカルボプラチンを比較したときの統計学的相関関係及び p 値を示す。HNSCC = 頭頸部扁平上皮癌、NSCLC = 非小細胞肺癌。
（試験番号：Pharmacology Report 22）

これらの *in vitro* データをさらに乳癌及びNSCLCの *in vivo* PDXモデルへと展開したところ、*in vitro* データと一致して *in vivo* モデルにおいても白金製剤とオラパリブ感受性の間に相関関係が認められた（図 11及び図 12）。



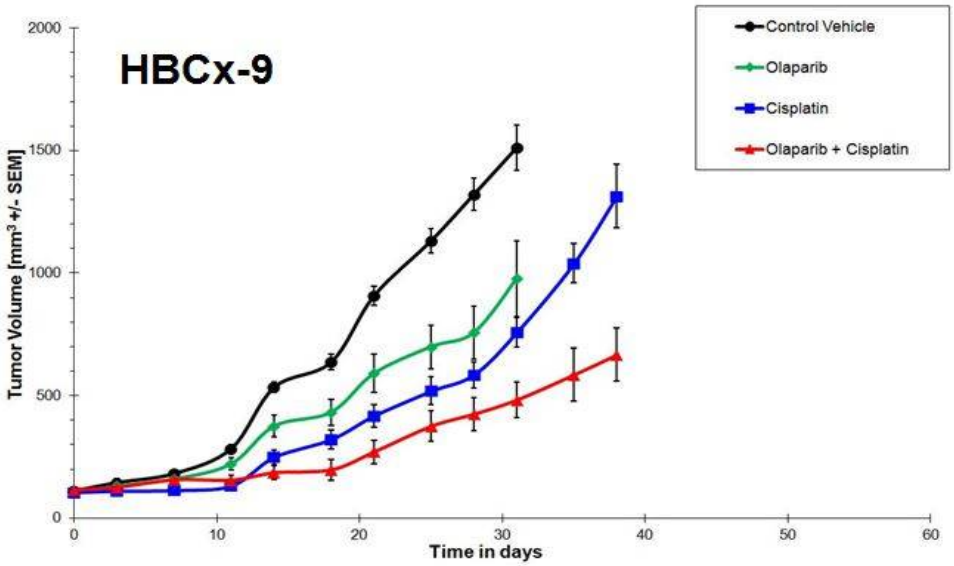


図 11　　乳癌 PDX モデルにおけるオラパリブと白金製剤に対する感受性の相関関係

TNBC 乳癌細胞株 HBCx-10（*BRCA2m* 及び TP53 変異）及び HBCx-9（TP53 変異）の PDX モデルに対する白金製剤の感受性の差異とオラパリブの感受性との相関を示す。担癌動物に溶媒投与（黒線、n=12）、シスプラチン 6 mg/kg 単回投与（0 日目）（青線、n=10）、オラパリブ 100 mg/kg 1 日 1 回投与（緑線、n=10）又はシスプラチン 6 mg/kg 単回投与（0 日目）の 3 日後からオラパリブ 100 mg/kg 1 日 1 回投与（赤線、n=12）のいずれかの処置を行った。HBCx-10 は白金製剤及びオラパリブ投与の両方に感受性を示し、腫瘍の退縮が認められたが、対照的に、HBCx-9 は白金製剤及びオラパリブ投与のいずれに対しても明らかに低い感受性を示し、腫瘍増殖は遅延したが、退縮はみられなかった。
（試験番号：Pharmacology Report 22）

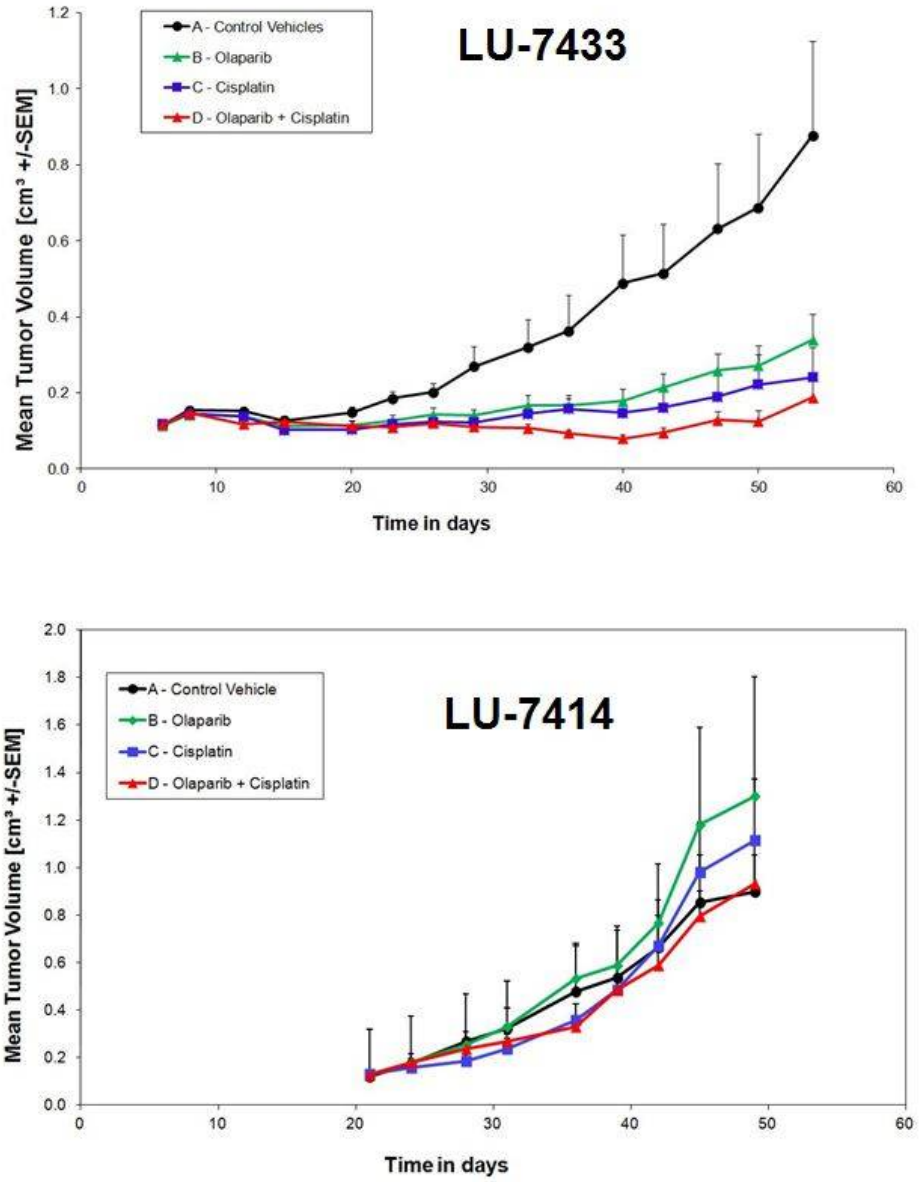


図 12　　肺癌 PDX モデルにおけるオラパリブと白金製剤に対する感受性の相関関係

肺癌細胞株 LU-7433 及び LU-7414 の PDX モデルに対する白金製剤の感受性の差異とオラパリブの感受性との相関を示す。LU-7433 は TP53 及び EGFR 変異を有し、パクリタキセル及びシスプラチンに感受性を示す。また、LU-7414 は、ゲムシタビン、パクリタキセル、エルロチニブ及びセツキシマブに感受性を示すが、シスプラチンに感受性を示さない。担癌動物に溶媒投与（黒線、n=12）、シスプラチン 6 mg/kg 単回投与（0 日目）（青線、n=10）、オラパリブ 100 mg/kg 1 日 1 回投与（緑線、n=10）又はシスプラチン 6 mg/kg 単回投与（0 日目）3 日後からオラパリブ 100 mg/kg 1 日 1 回投与（赤線、n=12）のいずれかの処置を行った。その結果、LU-7433 は白金製剤及びオラパリブ投与の両方に感受性を示し、100%の腫瘍増殖遅延が認められたが、対照的に、LU-7414 は白金製剤及びオラパリブ投与のいずれに対しても明らかに低い感受性を示し、有意な腫瘍増殖遅延はみられなかった。（試験番号：Pharmacology Report 22）

2.6.2.2.7　白金製剤投与後のオラパリブ維持療法（試験番号：Pharmacology Report 28）

BRCA1 欠損腫瘍細胞株を同所移植したマウスモデルを用いた *in vivo* 試験から、オラパリブ単独投与による効果に加えて、マウスに白金製剤を単回投与した後にオラパリブを投与することで無増悪期間及び生存期間（マウスを安楽死させなければならない腫瘍体積に到達するまでの時間）が延長することが明らかになった。これらのデータ（図 13及び図 14）から、維持療法剤としてオラパリブを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）。

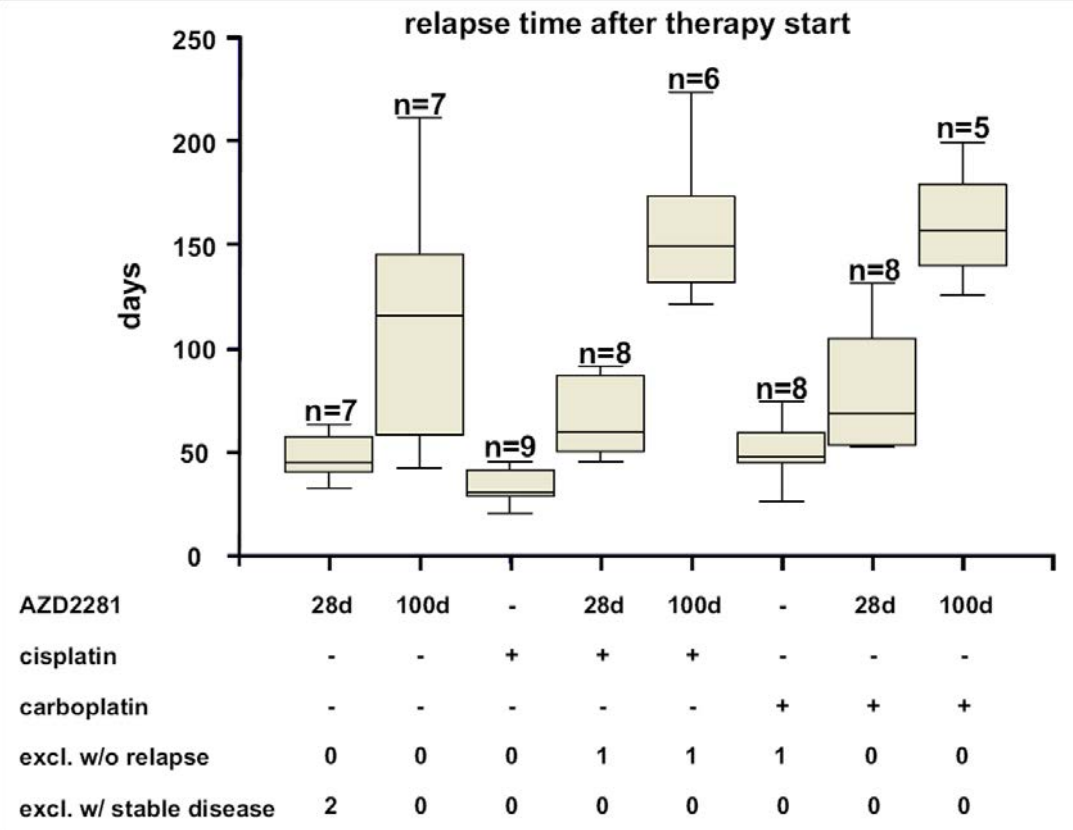


図 13　*BRCA1* 欠損腫瘍細胞株同所移植モデルにおけるオラパリブ維持療法による無増悪期間の延長作用

オラパリブ（AZD2281）とカルボプラチン及びシスプラチンの併用投与により、無再発生存期間が延長した。*BRCA1*$^{-/-}$; p53$^{-/-}$乳腺腫瘍は K14cre; BRCA1$^{F/F}$; p53$^{F/F}$ マウスで作成し、遺伝子型を同定して同系の野生型マウスに同所性に移植した。AZD2281 は DMSO に溶解した 50 mg/mL 原液を 10% HPβCD 含有 PBS で希釈して用いた。シスプラチン（1 mg/mL 生理食塩液 - マンニトール液）及びカルボプラチン（10 mg/mL マンニトール水溶液）は購入した。対照群は無処置又は溶媒投与のみとした。箱ひげ図は、治療開始後から腫瘍が治療開始時のサイズに戻る再発前までの期間を示す。AZD2281 は 50 mg/kg の用量を 1 日 1 回 28 日間又は 1 日 1 回 100 日間腹腔内投与、シスプラチンは 6 mg/kg の用量を 0 日目（初回 AZD2281 投与後 30 分）に静脈内投与、カルボプラチンは 100 mg/kg の用量を 0 日目（初回 AZD2281 投与後 30 分）に静脈内投与した。
（出典：Rottenberg et al 2008）

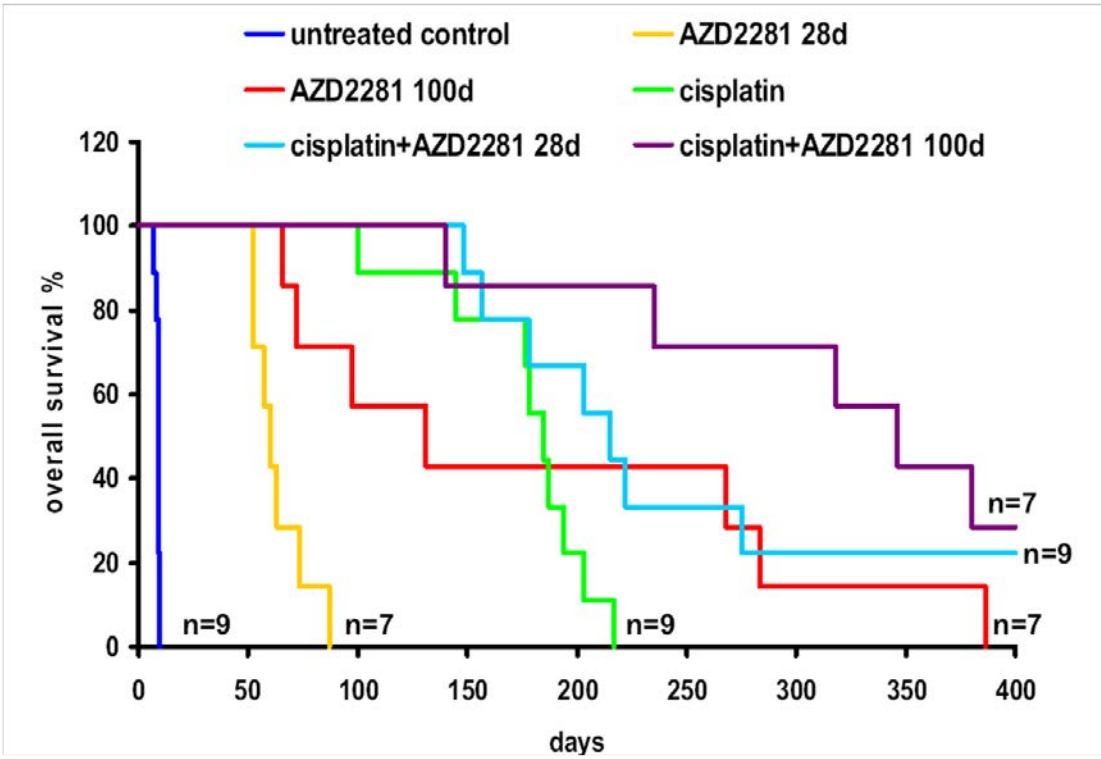


図 14　*BRCA1* 欠損腫瘍細胞株同所移植モデルにおけるオラパリブ維持療法による生存期間の延長作用

オラパリブ（AZD2281）とカルボプラチン及びシスプラチンの併用投与により、生存期間が延長した。Kaplan-Meyer 曲線は 400 日後までの総生存率を示す。Wilcoxon の符号付順位検定の結果は、対照群と AZD2281-28 日間投与群の比較で P<0.009 (n=7)、対照群と AZD2281-100 日間投与群の比較で P<0.009 (n=7)、AZD2281-28 日間投与群と AZD2281-100 日間投与群の比較で P<0.009 (n=7)、シスプラチン投与群とシスプラチン＋AZD2281-28 日間投与群の比較で P<0.019 (n=9)、シスプラチン投与群とシスプラチン＋AZD2281-100 日間投与群の比較で P<0.014 (n=7)であった。
（出典：Rottenberg et al 2008）

追加実施した HBCx-10 *BRCAm* PDX モデルを用いた試験（試験番号：Pharmacology Report 28）において、オラパリブ投与（100 mg/kg 1 日 1 回、35 日間連続投与）による最初の腫瘍縮小後のオラパリブ維持療法の有効性を裏付ける非臨床成績が得られた。本試験の維持療法期では、高用量（100 mg/kg 1 日 1 回）の間欠投与（1 週間投薬/1 週間休薬）と低用量（50 mg/kg 1 日 1 回）の連続投与のいずれの場合でも 35 日間投与により腫瘍退縮を維持できた。オラパリブ投与を 35 日目で中止した後に腫瘍を増殖させたままにした場合には、高用量（100 mg/kg 1 日 1 回）の連続投与が腫瘍を再度退縮させるのには至適であった。

上記の成績から、オラパリブの高用量の連続投与が維持療法に最適であると考えられる。また、最初の治療で腫瘍がほぼ消失した場合（この腫瘍モデルでは 2%未満）には投与を一時中断又は減量することも可能と考えられるが、その期間に腫瘍が進行する可能性は増大すると考えられる。

2.6.2.2.8 感受性細胞株モデルにおけるオラパリブ代謝物の PAR 阻害作用及び増殖抑制作用（試験番号：Pharmacology Report 34）

血漿中放射能のそれぞれ約 10%を占める 3 種類のオラパリブ代謝物（M15、M12 及び M18）について、その標的（PAR）阻害作用及び *BRCAm* 乳癌細胞株 MDA-MB436 に対する増殖抑制作用をコロニー形成法により評価した。

PARP-1 による PAR 化に対するオラパリブの阻害作用は 3 種類の代謝物（M15、M12 及び M18）に比べて強力であり、PAR ELISA 法による評価で M18 に比べて約 7 倍、M12 及び M15 に比べて約 20 倍高い活性を示した。

BRCA1m 細胞（MDA-MB-436）に対する増殖抑制作用の点でも、オラパリブはこれら 3 種類の代謝物に比べて強力であり、M18 に比べて約 4 倍、M12 及び M15 に比べて約 30 倍高い活性を示したことから、これらの代謝物が有効性に大きく寄与することはないと考えられる。

2.6.2.3 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を実施した（試験番号：0818SY、8157 及び 8234）。これらの試験において、単一濃度 10 μM のオラパリブは、これらの標的分子のいずれに対しても有意な活性（50%を超える阻害と定義）を示さなかった。

また、オラパリブの *in vitro* 電気生理学的試験を実施し、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について評価した結果、最高濃度 31.6 μM まで活性は認められなかった（試験番号：0818SY）。

2.6.2.4 安全性薬理試験

一連の安全性薬理試験を実施し、心血管系、呼吸器系、並びに中枢、末梢及び自律神経系に対するオラパリブの影響を評価した。これらの試験は、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）に従って実施された。

これらの試験の概要を薬理試験概要表 2.6.3 項に示す。

2.6.2.4.1 中枢神経系

ラット Irwin 試験では、Wistar 雄ラット 6 例からなる各群にオラパリブを 0（溶媒：10%DMSO、10% HPβCD 含有 PBS）、20、115 及び 250 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与 30、60、90、180 及び 300 分後に、Irwin 法により、一般状態、自律神経系及び運動神経系への影響を観察した。その後、さらに投与後 7 日間にわたり動物を飼育し、一般状態を観察した。なお、この試験では、オラパリブの血漿中濃度は測定しなかった。250 mg/kg 群のラット 2 例で投与 30 分後に軟便が認められたが、軽度の所見であり、本試験の目的を考慮すると重要ではないと考えられた。この試

験において、オラパリブを 20、115 又は 250 mg/kg の用量で単回投与しても、一般状態、自律神経系及び運動神経系への影響はみられなかった（試験番号：2229/047）。

2.6.2.4.2 心血管系

2.6.2.4.2.1 電位依存性カリウムチャネル（hERG）

hERG を発現するチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いて、hERG カリウムチャネルに対するオラパリブの影響を評価した。溶媒（0.1%DMSO）を添加した後、6 濃度のオラパリブ（名目濃度 1～300 μM）について、低濃度から順に検討した。この試験において、オラパリブの IC_{50} 値は 226 μM であった（95%信頼区間 193～266 μM、試験番号：0242SZ）。

2.6.2.4.2.2 麻酔イヌにおける心血管系作用

ビーグル犬をプロポフォール（Rapinovet, Schering-Plough Animal Health, Uxbridge, UK）で麻酔し、収縮期血圧、拡張期血圧、左室 dP/dt_{max}、心拍数、心電図上の波形高（R、P 及び T 波）、並びに間隔（RR、QRS、PR、QT 間隔及び Fridericia 式を用いて補正した QTc 間隔）並びに平均動脈血流量を測定するため、テレメトリー装置を埋め込んだ。なお、これらのイヌには、呼吸機能パラメータを測定するための装置も装着した（本概要の2.6.2.4.3項参照）。また、この試験では、オラパリブの血漿中濃度は測定しなかった。

オラパリブの 1.5、5 及び 15 mg/kg を用量漸増法を用いて雌雄各 2 例のイヌに 10 分間かけて静脈内投与した。各用量の投与の間には少なくとも 45 分間の間隔を設けた。雌雄各 2 例からなる別の群には、オラパリブ投与群と同様の方法で溶媒（10%DMSO、10%HPβCD 含有 PBS）を投与し、対照とした。

この試験において、オラパリブを 1.5 及び 5 mg/kg の用量で静脈内投与しても、溶媒対照群と比較して心血管系パラメータに対する影響は認められなかった。高用量の 15 mg/kg 投与時には、平均心拍数（123 bpm vs. ベースライン値 88 bpm）及び dP/dt_{max} が軽度に上昇したが、溶媒対照群と比較して統計学的有意差は認められなかった（試験番号：2229/053）。

2.6.2.4.3 呼吸器系

ビーグル犬をプロポフォール（Rapinovet, Schering-Plough Animal Health, Uxbridge, UK）で麻酔し、呼吸機能パラメータ（最大呼気流量、最大吸気流量、分時換気量及び呼吸数）を測定するための装置を装着した。オラパリブの 1.5、5 及び 15 mg/kg を用量漸増法を用いて雌雄各 2 例のイヌに 10 分間かけて静脈内投与した。各用量の投与の間には少なくとも 45 分間の間隔を設けた。雌雄各 2 例からなる別の群には、オラパリブ投与群と同様の方法で溶媒（10%DMSO、10%HPβCD 含有 PBS）を投与し、対照とした。この試験では、オラパリブの血漿中濃度は測定しなかった。

この試験において、オラパリブを 1.5 及び 5 mg/kg の用量で静脈内投与しても、溶媒対照群と比較して呼吸機能パラメータに対する影響は認められなかった。高用量の 15 mg/kg 投与時には、すべての呼吸機能パラメータについて、投与後 10 分以内の初期にわずかに上昇した後、観察期間終了時までにベースライン値未満にまで低下するという同様のパターンが認められた。溶媒対照群と比較して、これらの変化に統計学的有意差は認められなかった（試験番号：2229/053）。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.6.2.6　考察及び結論

2.6.2.6.1　効力を裏付ける試験

オラパリブは、*BRCAm* 腫瘍において、合成致死と呼ばれるメカニズムを介して単独投与で抗腫瘍効果を示すことが期待される PARP-1 阻害剤として開発されてきた。DNA 修復能を欠損している腫瘍細胞では DNA 修復が PARP-1 依存状態にあり、合成致死という本メカニズムはこれを標的としており、ホモ接合型 *BRCA1* 又は *BRCA2* 変異を有する HRR 不全の腫瘍細胞で裏付けられているが、その他の DNA 修復異常を有する腫瘍細胞にも抗腫瘍効果を発揮することが示唆されている。このことと一致して、一連の癌細胞株を用いた *in vitro* 試験において、*BRCA* ホモ接合型変異を有する細胞株でオラパリブに対する高い感受性が認められたが、*BRCA* 欠損のみに限らず、BRCA 以外の HRR 不全を有する細胞株にもオラパリブに対する感受性が認められた。*BRCA* 欠損モデルを用いた *in vivo* 試験でも、オラパリブは 50 mg/kg 以上の用量の 1 日 1 回単独投与により抗腫瘍効果を示すことが確認された。オラパリブの PK／PD／有効性の相関関係はこれらの *in vivo BRCA* モデルの 1 つでも確立されており、1 日 2 回反復投与を支持するデータとして、90%を超える PARP-1 阻害（PAR 鎖形成阻害を指標）が 4～7 時間維持されることが抗腫瘍効果に重要であることが明らかになった。上記モデルにおけるオラパリブによる長期間の腫瘍増殖抑制には、持続的かつ長期間の 90%超の PARP 阻害作用が必要であることが示された。

各種腫瘍 の癌細胞株を用いた *in vitro* 試験において、白金製剤とオラパリブとの感受性の間に密接な相関関係が認められた。さらに、*BRCA* ノックアウトモデルを用いた *in vivo* 試験において、白金製剤を投与した後、維持療法としてオラパリブを 1 日 1 回反復投与することで腫瘍増殖抑制及び生存期間が改善することが示された。

2.6.2.6.2　副次的薬理試験及び安全性薬理試験

副次的薬理試験として、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を実施した結果、単一濃度 10 μM のオラパリブは、これらの標的分子のいずれに対しても有意な活性を示さなかった。また、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 *in vitro* 試験においても、オラパリブは最高濃度 31.6 μM まで有意な活性を示さなかった。このことから、臨床有効血中濃度（臨床用量 300 mg 錠 1 日 2 回反復投与後の定常状態におけるヒト非結合形最高血漿中濃度（C_{max}）平均値 = 3.80 μM）において、オラパリブが有意な標的外活性を示すことはほとんどないことが示唆された。

中枢、末梢及び自律神経系に対する影響（Irwin 法）を評価する安全性薬理試験において、雄ラットにオラパリブを 250 mg/kg の用量まで単回投与しても、神経系への影響を窺わせる行動学的及び生理学的変化は惹起されなかった。この試験では、オラパリブの血漿中濃度は測定しなかった。同等用量のオラパリブを単回投与したときの曝露量データは他の試験でも得られていない

が、7 日間経口投与毒性試験で雄ラットに 200 mg/kg/日を投与したときの最大曝露量（8 日目の総 C_{max} 平均値）は、臨床用量 300 mg 1 日 2 回反復投与後のヒト曝露量の 3～4 倍であった（毒性試験の概要文 2.6.6.1 項参照）。このことから、ラットを用いた Irwin 試験で使用した高用量では、臨床曝露量と少なくとも同程度の最大曝露量が達成されていたと考えられる。全身オートラジオグラフィー試験において、ラット及びマウスに[^{14}C]-オラパリブを経口投与したときの脳及び脊髄中の放射能濃度が定量限界未満であったことから、ラット Irwin 試験で影響が認められなかったことは予想外のことではない（薬物動態試験の概要文 2.6.4.4.2 項参照）。さらに、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において最長 6 カ月間にわたりオラパリブを投与しても、神経系に対する影響を示唆する症状は認められなかった（毒性試験の概要文 2.6.6.3 項参照）。これまでに得られている臨床試験データからも、中枢及び末梢神経系に対してオラパリブが有害な影響を及ぼすことを示す確定的証拠は得られていない（臨床的安全性の概要 2.7.4.3 項参照）。

心血管系及び呼吸器系パラメータに対する影響を評価する試験において、麻酔下のイヌにオラパリブを静脈内投与したとき、検討した最高用量（15 mg/kg）で心拍数の増加及び呼吸機能パラメータの変化が認められた。この試験では、オラパリブの血漿中曝露量は確認しなかった。比較に利用可能な非臨床での静脈内投与の曝露データはイヌを用いた単回投与薬物動態試験（試験 0088/453［KMD008］）及びイヌでの製剤比較試験（試験 2229/045）で得られたもののみである。これらの試験の比較可能な最短時点（5 分）の曝露量データから、2.5 mg/kg を静脈内投与（試験 2229/045）したときの血漿中曝露量（4.17 μg/mL）は、試験 0088/453 での 1 mg/kg 投与時の曝露量（1.41 μg/mL）の約 3 倍であった。このことは、これらの試験の用量範囲では血漿中曝露量に線形性が認められることを示している。更に、試験 2229/045 での 2.5 mg/kg 静脈内投与（2 分間）終了時点の最大血漿曝露量は 10.99 μg/mL であり、臨床用量（300 mg 1 日 2 回）反復投与後の総 C_{max} 平均値（9.13 μg/mL）の約 1.2 倍であった。血漿タンパク結合率の違い（非結合率：ヒト 18.1%、イヌ 39.7%）を補正した場合には、試験 2229/045 での 2.5 mg/kg における非結合形血漿中曝露量（4.36 μg/mL）は、臨床用量（300 mg 1 日 2 回）反復投与後の相当値（1.65 μg/mL）の約 2.6 倍であった。したがって、麻酔イヌを用いた試験で最高 15 mg/kg まで静脈内投与したときの最大曝露量は、臨床用量（300 mg 1 日 2 回）投与時の曝露量と少なくとも同程度であったと考えられる。これまでに得られている臨床試験データからも、血圧評価を含めて、バイタルサイン及び身体所見に対してオラパリブが臨床的に意義のある影響を及ぼさないことが示されている（臨床的安全性の概要 2.7.4.4 項参照）。

心血管系試験から、ヒトで QT 間隔が延長する可能性はほとんどないことが示唆されている。hERG コード化カリウムチャネル試験におけるオラパリブの IC_{50} 値は 226 μM であり、臨床用量投与時のヒト非結合形 C_{max} 平均値（3.80 μM）に比べて約 60 倍であった。イヌ試験において、オラパリブを最高 15 mg/kg まで静脈内投与したとき、その曝露量は臨床曝露量と同程度であったと推定されたが、QT 間隔延長は確認されなかった。心室再分極に対するオラパリブの影響は、臨床試験（D0816C00004, D0816C00007 及び D081CC00001）においても調べられており、臨床用量（300 mg 1 日 2 回）の単回あるいは反復投与によって臨床的に意義のある QT 間隔への影響は認められなかった（臨床的安全性の概要 2.7.4.7 項参照）。

結論として、オラパリブは *in vitro* 及び *in vivo* の副次的及び安全性薬理試験で良好なプロファイルを示すことが明らかになった。

2.6.2.7 参考文献

Althaus and Richter 1987
Althaus FR and Richter C. ADP-Ribosylation of proteins: Enzymology and biological significance. Berlin/New York: Springer-Verlag, 1987. [NLM ID: 8704493].

Audeh et al 2010
Audeh MW, Carmichael J, Penson RT, Friedlander M, Powell B, Bell-McGuinn KM, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. Lancet 2010;376:245-51.

Beck et al 2014
Beck C, Robert I, Reina-San-Martin B, Schreiber V, Dantzer F. Poly(ADP-ribose) polymerases in double-strand break repair: Focus on PARP1, PARP1, PARP2 and PARP3. Exp Cell Res. 2014;329(1):18-25.

Brenner et al 2011
Brenner JC, Ateeq B, Li Y, Yocum AK, Cao Q, Asangani IA, et al. Mechanistic Rationale for Inhibition of Poly(ADP-Ribose) Polymerase in ETS Gene Fusion-Positive Prostate Cancer. Cancer Cell 2011;19: 664-78.

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.

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.

d'Adda di Fagagna et al 1999
d'Adda di Fagagna F, Hande MP, Tong WM, Lansdorp PM, 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.

Elstrodt et al 2006
Elstrodt F, Hollestelle A, Nagel JH, Gorin M, Wasielewski M, van den Ouweland A, et al. BRCA1 mutation analysis of 41 human breast cancer cell lines reveals three new deleterious mutants. Cancer Res 2006; 66(1): 41-5.

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.

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.

Giannini et al 2002
Giannini G, Ristori E, Cerignoli F, Rinaldi C, Zani M, Viel A, et al.　Human MRE11 is inactivated in mismatch repair-deficient cancers.　EMBO Rep 2002; 3(3):248-54.

Goggins et al 1996
Goggins M, Schutte M, Lu J, Moskaluk CA, Weinstein CL, Petersen GM, et al.　Germline BRCA2 Gene mutations in patients with apparently sporadic pancreatic carcinomas.　Cancer Res 1996;56:5360-64.

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;69:3850-55.

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.

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].

Mansour et al 2010
Mansour WY, Rhein T, Dahm-Daphi J.　The alternative end-joining pathway for repair of DNA double-strand breaks requires PARP1 but is not dependent upon microhomologies.　Nucleic Acids Res. 2010; 38(18):6065-77.

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]-2H-phthalazin-1-one: a novel bioavailable inhibitor of poly(ADP-ribose) polymerase-1. J Med Chem. 2008; 51(20): 6581-91.

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.

Pettitt et al 2013
Pettitt SJ, Rehman FL, Bajrami I, Brough R, Wallberg F, Kozarewa I, et al. A genetic screen using the PiggyBac transposon in haploid cells identifies Parp1 as a mediator of olaparib toxicity. PLoS One. 2013; 8(4):e61520.

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.

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.

Tutt et al 2010

Tutt A, Robson M, Garber JE, Domchek SM, Audeh MW, Weitzel JN, et al.　Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial.　Lancet 2010;376(9737):235-44.

Virag and Szabo 2002

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

Ying et al 2012

Ying S, Hamdy FC, Helleday T.　Mre11-dependent degradation of stalled DNA replication forks is prevented by BRCA2 and PARP1.　Cancer Res. 2012;72(11):2814-21.

2.6.3　薬理試験概要表

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 3
2.6.3.1　薬理試験：一覧表 4
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 6
2.6.3.3　副次的薬理試験 7
2.6.3.4　安全性薬理試験 8
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験 8

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

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
CHO	Chinese Hamster Ovary：チャイニーズハムスター卵巣
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	Human Ether-a-go-go-related Gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HNSCC	Head and neck squamous cell carcinoma：頭頸部扁平上皮癌
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration：50%阻害濃度
NSCLC	Non-small cell lung cancer：非小細胞肺癌
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
PD	Pharmacodynamic：薬力学
PDX	Patient-derived tumour explant：患者由来腫瘍の異種移植
PK	Pharmacokinetic：薬物動態学
TNBC	Triple negative breast cancer：トリプルネガティブ乳癌

2.6.3.1　薬理試験：一覧表

Test article: Olaparib

Test Compound/ Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number (Sponsor reference number)	Location in CTD
1.1 Primary pharmacodynamics					
Olaparib: Activity against Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) 3 enzyme	PARP-3 protein expressed in *E.coli* and purified using Ni-NTA resin	*In vitro*	[redacted], UK	Pharmacology Report 31	4.2.1.1
Olaparib: Effects on Cell Across a Panel of Cancer Cell Lines *In Vitro*	Various tumour cell lines	*In vitro*	KuDOS Pharmaceuticals, UK	KTS00101	4.2.1.1
Olaparib: Growth Inhibitory Activity Across a Panel of Cancer Cell Lines *In Vitro*	Various tumour cell lines	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Pharmacology Report 24	4.2.1.1
Olaparib*:* effects on cell survival in SW620 colorectal cell lines *in vitro*	SW620 colorectal tumour cell line	*In vitro*	[redacted] UK	KTS00048	4.2.1.1
Olaparib: inhibition of PARP activity in SW620 colorectal cell lines *in vitro*	SW620 colorectal tumour cell line	*In vitro*	KuDOS Pharmaceuticals, UK	KTS00049	4.2.1.1
PARP Pharmacodynamic (PD) Assay: Validation	Whole cell extracts containing intact and functional PARP-1 enzyme	*In vitro*	[redacted] UK	Pharmacology Report 29	4.2.1.1
Olaparib: PK, PD and Efficacy Using Different Olaparib (AZD2281) Doses in the TNBC PDX *In vivo* Model HBCx-10	Patient-derived tumour explant (PDX) model, HBCx-10 xenograft model	*In vivo*	AstraZeneca, UK	Pharmacology Report 33	4.2.1.1

Test article: Olaparib

Test Compound/ Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number (Sponsor reference number)	Location in CTD
Olaparib: Correlation of Olaparib and Platinum Agent Response *In Vitro* and *In Vivo*	Various tumour cell lines *in vitro*; Non-small cell lung cancer (NSCLC) and triple negative breast cancer (TNBC) PDX xenograft models *in vivo*	*In vitro* and *in vivo*	AstraZeneca, UK	Pharmacology Report 22	4.2.1.1
Olaparib: Effect of Dose and Scheduling on Both Initial Tumour Regression and Progression on Treatment using the TNBC PDX *In vivo* Model HBCx-10	TNBC PDX xenograft model *in vivo*	*In vivo*	AstraZeneca, UK	Pharmacology Report 28	4.2.1.1
Olaparib and olaparib metabolites, M15, M12 and M18: *In vitro* efficacy of the metabolites, M15, M12 and M18 compared with olaparib	A PAR ELISA to assess inhibitory activity of PARylation in a breast cancer cell line (HCC1806) Clonogenic assays to determin the the potency in a *BRCA1* mutant cell line (MDA-MB-436)	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Pharmacology Report 34	4.2.1.1
1.2 Secondary pharmacodynamics					
Olaparib: Selectivity Screening in Radioligand Binding, Enzyme and Electrophysiological Assays *in vitro*	Various recombinant cell lines	*In vitro*	[redacted], Taiwan	0818SY	4.2.1.2
Olaparib: *in vitro* Phosphodiesterase Enzyme Assays	*In vitro* enzyme assays	*In vitro*	[redacted], France	8157	4.2.1.2
Olaparib: Receptor Binding Assays *in vitro*[b]	Various recombinant cell lines	*In vitro*	[redacted], France	8234	4.2.1.2
1.3 Safety pharmacology					
Olaparib: Central nervous system (Irwin screen)[a]	Rat / Wistar	Oral (gavage)	[redacted], UK	2229/047	4.2.1.3

Test article: Olaparib

Test Compound/ Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number (Sponsor reference number)	Location in CTD
Olaparib: Cardiovascular (hERG channel)[a] Olaparib: Cardiovascular and Respiratory (anaesthetised dogs)[a] **1.4 Pharmacodynamic drug interactions** No studies conducted	hERG expressing CHO cells Dog / Beagle -	*In vitro* i.v. -	AstraZeneca, UK [redacted], UK -	0242SZ 2229/053 -	4.2.1.3 4.2.1.3 -

Olaparib is referred to as AZD2281, KU-0059436, KU0059436, COCE42, CO-CE42 and/or CO-CE000042 in some of the study reports.

[a] Study claims GLP compliance.　All other studies are non-GLP.

[b] The secondary pharmacology study 8234 conducted at [redacted] also included KU-0058944. an additional compound that was being investigated as a potential candidate drug at the time.　This additional compound is not referenced further within the Nonclinical Written or Tabular Pharmacology sections of the olaparib documentation.

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

オラパリブに関する効力を裏付ける試験成績は「薬理試験の概要文 2.6.2 項」に要約した。

2.6.3.3　副次的薬理試験

Test article: Olaparib

Assay	Species/ strain	Method of administration	Doses	Gender and number per group	Noteworthy findingsa	GLP compliance	Study number
Selectivity Screening in Radioligand Binding, Enzyme and Electrophys-iological Assays	Not applicable	*In vitro*	10 µM	Not applicable	Olaparib had no significant (defined as >50% inhibition) activity in 220 *in vitro* radioligand binding and enzyme assays when tested at a concentration of 10 µM.	No	0818SY
			31.6 µM	Not applicable	Olaparib was inactive in electrophysiological assays of 7 human recombinant voltage-gated cardiac ion channels when tested at a concentration of 31.6 µM.		
Phospho-diesterase Enzyme Assays	Not applicable	*In vitro*	10 µM	Not applicable	Olaparib had no significant activity in 6 *in vitro* phosphodiesterase binding assays at a concentration of 10 µM.	No	8157
Receptor Binding Assays	Not applicable	*In vitro*	10 µM	Not applicable	Olaparib had no significant activity in 50 *in vitro* receptor binding assays at a concentration of 10 µM	No	8234

Olaparib is referred to as AZD2281, KU-0059436, KU0059436 and/or CO-CE000042 in some of the study reports.

[a] In studies 0818SY, 8157 and 8234, olaparib was tested in a total of 239 different *in vitro* radioligand binding and enzyme assays, covering a diverse panel of molecular targets including enzymes, receptors, transporters and ion channels. Olaparib was also tested in electrophysiological assays in a total of 7 types of human recombinant voltage-gated cardiac ion channels.

2.6.3.4　安全性薬理試験

Test article: Olaparib

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses	Gender and number per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study number
Central nervous system	Rat / Wistar	Oral (gavage)	0, 20, 115, 250 mg/kg	6M	Oral administration of olaparib at dose levels of 20, 115 or 250 mg/kg produced no behavioural or physiological changes in rats when compared to vehicle-treated animals.	Yes	2229/047
Cardio-vascular system	hERG-expressing CHO cells	*In vitro*	1, 3, 10, 30, 100, 300 μM	Not applicable	Olaparib was active against the voltage-dependent hERG potassium channel: IC_{50}=226 μM.	Yes	0242SZ
Cardio-vascular and respiratory systems	Dog / beagle	Intravenous infusion over 10 minutes	0, 1.5, 5, 15 mg/kg	2M + 2F	Intravenous administration of olaparib, at doses of 1.5 and 5 mg/kg had no noticeable effects on the cardiovascular or respiratory parameters of anaesthetised dogs when compared to the vehicle control group. A dose of 15 mg/kg elicited a slight increase in heart rate, but this was not statistically significant compared with the vehicle treated group.	Yes	2229/053

Olaparib is referred to as AZD2281 and/or KU0059436 in some of the study reports.
M male
F female
Vehicle for *in vivo* studies 2229/047 and 2229/053 = DMSO diluted 1 in 10 by 10 % hydroxypropyl β-cyclodextrin in phosphate buffered saline

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。