目次

2.6.1 緒言 4

図

図 2.6.1-1 Niraparib トシル酸塩水和物（MK-4827）の化学構造 4

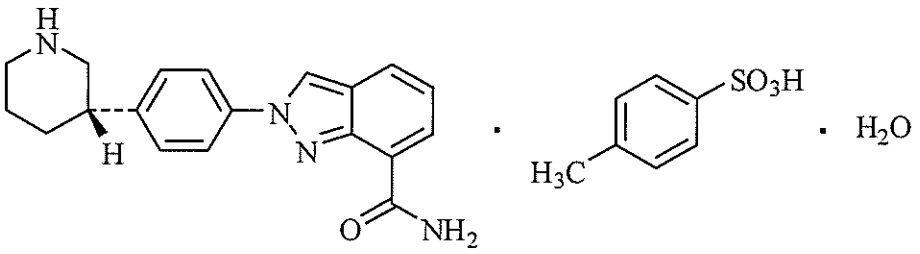
略号一覧表

略号	略していない表現又は説明	
ADP	Adenosine 5'-diphosphate	アデノシン 5'-二リン酸
AGP	α1-acid glycoprotein	α1-酸性糖蛋白質
ATM	Ataxia telangiectasia mutated	-
AUC	Area under the plasma concentration versus time-curve	血漿中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24\ hr}$	Area under the plasma concentration versus time-curve from time 0 to 24 hours	0 から 24 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}inf}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity	0 から無限大までの AUC
$AUC_{0\text{-}t}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to time "t"	0 から t 時間までの AUC
BCRP	breast cancer resistance protein	-
BER	Base excision repair	塩基除去修復
BRCA	Breast cancer susceptibility gene	乳がん感受性遺伝子
BSEP	bile salt export pump	-
CC_{50}	50% cytotoxic concentration	細胞増殖の 50%抑制に必要な濃度
CES	carboxylesterase	カルボキシエステラーゼ
CFU	Colony-forming unit	コロニー形成単位
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use	欧州医薬品委員会
CHO	Chinese Hamster Ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CL	clearance	見かけの全身クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CsA	Cyclosporin A	シクロスポリン A
CSF	Cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DSB	Double strand break	二本鎖切断
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid	エチレンジアミン四酢酸
ER	Efflux ratio	排出比
FDA	Food and Drug Administration	アメリカ食品医薬品局
FOB	Functional observation battery	機能観察総合評価法
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	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャンネル遺伝子
HR	Homologous recombination	相同組換え
HRD	HR deficiency	HR 修復欠損
HSA	Human Serum Albumin	ヒト血清アルブミン
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IC_{90}	90% Inhibitory concentration	90%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IV	intraveneously	静脈内

略号	略していない表現又は説明	
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
LLOQ	limit of quiantitation	定量下限
MATE	Multidrug and toxin extrusion	-
MC	methyl cellulose	メチルセルロース
MDR1	Multidrug resistance 1	-
MN-PCE	micronucleated polychromatic erythrocyte	小核を有する多染性赤血球
8-MOP	8-methoxypsoralen	8-メトキシソラレン
MPP+	1-methyl-4-phenylpyridinium	1-メチル-4-ヨウ化フェニルピリジニウム
MRP	Multidrug resistance-associated protein	-
NAD	Nicotinamide adenine dinucleotide	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
NADPH	Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NHEJ	non-homologous end joining	非相同末端結合
NOAEL	The no-observed-adverse-effect level	無毒性量
OAT	organic anion transporter	-
OATP	organic anion-transporting polypeptide	-
OCT	organic cation transporter	-
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PAH	para-amino hippurate	パラアミノ馬尿酸
P_{app}	Apparent permeability coefficient	見かけの透過係数
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
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells	循環末梢血単核細胞
PCE	Polychromatic erythrocyte	多染性赤血球
PDX	Patient derived xenograft	患者由来腫瘍の異種移植片
PET	Positron Emission Tomography	陽電子放出断層撮影
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PO	per os	経口
SD	Standard deviation	標準偏差
SEM	Standard error of mean	標準誤差
SSB	Single strand break	一本鎖切断
$t_{1/2}$	Half-life	半減期
TCA	taurocholic acid	タウロコール酸
TDI	Time Dependent Inhibition	時間依存性阻害
T_{max}	Time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TNBC	triple-negative breast cancer	トリプルネガティブ乳癌
UGT	UDP-glucuronosyltransferase	UDP-グルクロン酸転移酵素
UV	Ultraviolet	紫外線
UVA	Ultraviolet light A	紫外線 A
UVB	Ultraviolet light B	紫外線 B
UVR	Ultraviolet radiation	紫外線照射
V_{dss}	volume of distribution at steady-state	定常状態での分布容積

2.6.1 緒言

Niraparib トシル酸塩水和物（MK-4827）は、強力かつ高度に選択的なポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ（PARP）-1/-2 阻害剤である。化学名は 2-{4-[(3S)-Piperidin-3-yl]phenyl}-2H-indazole-7-carboxamide mono(4-methylbenzenesulfonate) monohydrate である。構造を図 2.6.1-1 に示す。Niraparib はヒト PARP-1 触媒ドメインと共結晶化し、in vitro で PARP-1 及び PARP-2 の活性を阻害することが示されており、IC_{50} はそれぞれ 3.8 及び 2.1 nmol/L であった。培養細胞では、niraparib は DNA 損傷により刺激された PARP 依存的ポリ ADP-リボシル化を阻害し、IC_{50} は 4 nmol/L、IC_{90} は 40 nmol/L であった。Niraparib は、BRCA1 若しくは BRCA2 のサイレンシングにより相同組換え修復欠損を起こすよう作製したがん細胞株、又は *BRCA*1 変異又は *BRCA*2 変異を有するがん細胞株に対し、野生型細胞株と比較して 25～160 倍高い選択性を示した。Niraparib は、30 近くの卵巣癌患者由来異種移植 PDX モデル及びがん細胞株由来異種移植モデルで検討されており、*BRCA* 変異腫瘍モデル又は HRD 陽性モデルで有効性が認められている。



分子式：$C_{19}H_{20}N_4O \cdot C_7H_8O_3S \cdot H_2O$
分子量：510.61

図 2.6.1-1　Niraparib トシル酸塩水和物（MK-4827）の化学構造

Niraparib は、プラチナ製剤を含む化学療法の施行後に完全奏効又は部分奏効が得られている再発上皮性卵巣癌、卵管癌又は原発性腹膜癌の成人患者に対する維持療法として欧米において単剤投与で使用されている。また、米国では進行又は再発卵巣癌におけるサルベージ療法についても承認を取得している。

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 5
2.6.2.1 まとめ 5
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 6
2.6.2.2.1 効力を裏付ける in vitro 試験 6
2.6.2.2.2 効力を裏付ける in vivo 試験 10
2.6.2.3 副次的薬理試験 18
2.6.2.3.1 in vitro 副次的薬理試験 18
2.6.2.3.2 in vivo 副次的薬理試験 19
2.6.2.4 安全性薬理試験 21
2.6.2.4.1 in vitro 安全性薬理試験 21
2.6.2.4.2 in vivo 安全性薬理試験 21
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 22
2.6.2.6 考察及び結論 22
2.6.2.7 図表 23
2.6.2.8 参考文献一覧 23

表

表 2.6.2.2.1.1-1　PARP ファミリー酵素に対する niraparib の活性 6
表 2.6.2.2.1.2-1　細胞を用いたポリ ADP-リボシル化試験における niraparib の阻害能 7
表 2.6.2.2.1.3-1　Jurkat ポリ ADP-リボシル化試験における niraparib の阻害能 7
表 2.6.2.2.1.4-1　Niraparib は *BRCA* 野生型の親株と比較して BRCA 欠損株に対して選択的な増殖抑制作用を示す 9
表 2.6.2.2.1.4-2　*BRCA* 変異細胞株に対する niraparib の増殖抑制作用 9
表 2.6.2.2.1.5-1　正常上皮細胞に対する niraparib の増殖抑制作用 10
表 2.6.2.2.1.5-2　正常造血細胞に対する niraparib の作用 10
表 2.6.2.2.2.2-1　卵巣癌 PDX モデルにおける niraparib の反応性 13
表 2.6.2.3.1-1　IC_{50} 5 μmol/L 未満の阻害能が認められた重要な一次スクリーニング試験の結果 19

図

図 2.6.2.2.1.3-1　Niraparib によるポリ ADP-リボース抑制と DNA 一本鎖切断修復阻害の相関 8
図 2.6.2.2.2.1-1　MDA-MB-436（*BRCA1* 変異細胞株）異種移植マウスにおける niraparib の抗腫瘍効果 11

図 2.6.2.2.2.1-2　MDA-MB-436（*BRCA*1 変異細胞株）異種移植マウスに niraparib 80 mg/kg を 1 日 1 回、1、2、3 及び 4 週間経口投与したときの抗腫瘍効果 12
図 2.6.2.2.2.2-1　高悪性度漿液性卵巣癌の *BRCA*2 変異及び *BRCA* 野生型 PDX モデルに対する niraparib 単剤の効果 14
図 2.6.2.2.2.3-1　Niraparib 維持療法に対する *BRCA*2 変異高悪性度漿液性卵巣癌 PDX の反応 15
図 2.6.2.2.2.4-1　Niraparib 投与後の CAPAN-1（*BRCA*2 変異細胞株）腫瘍における残存 PARP 活性 16
図 2.6.2.2.2.4-2　Niraparib 投与後の MDA-MB-436（*BRCA*1 変異細胞株）腫瘍における残存 PARP 活性 17
図 2.6.2.2.2.5-1　Niraparib 100 及び 50 mg/kg 経口投与後のマウス PBMC 中の残存 PARP 活性 18
図 2.6.2.3.2.1-1　Niraparib（L-001946812）又は GBR12909 投与後のマウス線条体における[^{11}C]CFT 結合能 20

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明	
ADP	Adenosine 5'-diphosphate	アデノシン 5'-二リン酸
AGP	α1-acid glycoprotein	α1-酸性糖蛋白質
ATM	Ataxia telangiectasia mutated	-
AUC	Area under the plasma concentration versus time-curve	血漿中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24\ hr}$	Area under the plasma concentration versus time-curve from time 0 to 24 hours	0 から 24 時間までの血漿中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}inf}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity	0 から無限大までの AUC
$AUC_{0\text{-}t}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to time "t"	0 から t 時間までの AUC
BCRP	breast cancer resistance protein	-
BER	Base excision repair	塩基除去修復
BRCA	Breast cancer susceptibility gene	乳がん感受性遺伝子
BSEP	bile salt export pump	-
CC_{50}	50% cytotoxic concentration	細胞増殖の 50%抑制に必要な濃度
CES	carboxylesterase	カルボキシエステラーゼ
CFU	Colony-forming unit	コロニー形成単位
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use	欧州医薬品委員会
CHO	Chinese Hamster Ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CL	clearance	見かけの全身クリアランス
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CsA	Cyclosporin A	シクロスポリン A
CSF	Cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CYP	Cytochrome P450	チトクローム P450
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DSB	Double strand break	二本鎖切断
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid	エチレンジアミン四酢酸
ER	Efflux ratio	排出比
FDA	Food and Drug Administration	アメリカ食品医薬品局
FOB	Functional observation battery	機能観察総合評価法
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	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャンネル遺伝子
HR	Homologous recombination	相同組換え
HRD	HR deficiency	HR 修復欠損
HSA	Human Serum Albumin	ヒト血清アルブミン
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IC_{90}	90% Inhibitory concentration	90%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IV	intraveneously	静脈内

略号	略していない表現又は説明	
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
LLOQ	limit of quiantitation	定量下限
MATE	Multidrug and toxin extrusion	-
MC	methyl cellulose	メチルセルロース
MDR1	Multidrug resistance 1	-
MN-PCE	micronucleated polychromatic erythrocyte	小核を有する多染性赤血球
8-MOP	8-methoxypsoralen	8-メトキシソラレン
MPP+	1-methyl-4-phenylpyridinium	1-メチル-4-ヨウ化フェニルピリジニウム
MRP	Multidrug resistance-associated protein	-
NAD	Nicotinamide adenine dinucleotide	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
NADPH	Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NHEJ	non-homologous end joining	非相同末端結合
NOAEL	The no-observed-adverse-effect level	無毒性量
OAT	organic anion transporter	-
OATP	organic anion-transporting polypeptide	-
OCT	organic cation transporter	-
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PAH	para-amino hippurate	パラアミノ馬尿酸
P_{app}	Apparent permeability coefficient	見かけの透過係数
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
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells	循環末梢血単核細胞
PCE	Polychromatic erythrocyte	多染性赤血球
PDX	Patient derived xenograft	患者由来腫瘍の異種移植片
PET	Positron Emission Tomography	陽電子放出断層撮影
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PO	per os	経口
SD	Standard deviation	標準偏差
SEM	Standard error of mean	標準誤差
SSB	Single strand break	一本鎖切断
$t_{1/2}$	Half-life	半減期
TCA	taurocholic acid	タウロコール酸
TDI	Time Dependent Inhibition	時間依存性阻害
T_{max}	Time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TNBC	triple-negative breast cancer	トリプルネガティブ乳癌
UGT	UDP-glucuronosyltransferase	UDP-グルクロン酸転移酵素
UV	Ultraviolet	紫外線
UVA	Ultraviolet light A	紫外線 A
UVB	Ultraviolet light B	紫外線 B
UVR	Ultraviolet radiation	紫外線照射
V_{dss}	volume of distribution at steady-state	定常状態での分布容積

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

Niraparib は、1 日 1 回経口投与の高度に選択的なポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ(PARP)-1/-2 阻害剤であり、プラチナ製剤を含む化学療法により奏効が得られているプラチナ感受性の再発性卵巣癌、卵管癌又は原発性腹膜癌の成人患者に対する維持療法として単剤投与を行うことが提案されている。Niraparib は、細胞内で酵素 PARP-1 及び PARP-2 を阻害し、HeLa 細胞での 50%阻害濃度 (IC_{50}) 及び 90%阻害濃度 (IC_{90}) はそれぞれ 4 及び 40 nmol/L である。Niraparib をマウスに単回経口投与すると、循環末梢血単核細胞 (PBMC) 及び異種移植腫瘍の両方において、PARP 活性が十分かつ持続的に阻害される。

乳がん感受性遺伝子 (BRCA) 1 又は BRCA2 を安定的にノックダウンしたヒトがん細胞株は、対照である *BRCA* 野生型細胞株と比較して、niraparib に対する感受性が高い。ヒト細胞株に由来する *BRCA* 変異型腫瘍のマウスモデルに、niraparib を 1 日 1 回強制経口投与すると、抗腫瘍活性が認められた。27 種類の卵巣癌患者由来腫瘍の異種移植片 (PDX) モデルから成るコホートにおいて、niraparib の連日経口投与も検討した結果、*BRCA* 変異及び *BRCA* 野生型腫瘍モデルの両方で効果が認められた。myChoice® HRD 検査[1]で明らかにされた HRD 陽性/*BRCA* 野生型及び *BRCA* 変異腫瘍は、HRD 陰性腫瘍よりも高い割合で niraparib 投与に反応し、より深い奏効を示した。これらの試験結果から、niraparib 単剤療法は *BRCA* 変異及び *BRCA* 野生型腫瘍両方の前臨床モデルに対して活性をもつことが示されている。

Niraparib は、PARP-1 及び PARP-2 に対して、PARP ファミリーの他の分子よりもおよそ 100 倍以上高い選択性を示す。168 種類の酵素及び受容体を含むパネルの結合試験により niraparib を検討したところ、ドパミン、ノルエピネフリン及びセロトニン再取込みトランスポーターとの結合が認められ、IC_{50} はそれぞれ 51、240 及び 360 nmol/L であった。3 種類のげっ歯類を用いた in vivo 試験では、niraparib 投与によって、中枢神経系におけるドパミン濃度上昇に伴う行動的又は神経化学的作用は生じず、in vivo で抗腫瘍活性をもたらすことが示されている血漿中濃度の niraparib による、マウスのドパミン再取込みトランスポーター系の占有も認められていない。

安全性薬理試験では、コアバッテリー試験として human ether-a-go-go related gene (hERG) 試験、イヌを用いた心血管系試験、ラットを用いた呼吸系試験及びラットを用いた中枢神経系試験を、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP)」に従って実施した。加えて、GLP 非適用下で麻酔下の迷走神経切断イヌを用いた心血管系試験も行った。Niraparib によって、hERG 電流阻害 (IC_{50}=15 μmol/L) はみられたものの、イヌにおいては経口投与の 15 mg/kg (GLP) 及び静脈内投与の 10 mg/kg (GLP 非適用) まで QT 間隔の延長は認められなかった。また、高用量 (15 mg/kg) においては血圧が軽度に上昇し、GLP 非適用の静脈内投与試験でも軽度の血圧上昇が確認されているが、イヌの GLP 試験では、その他の心電図パラメータ、心電図定性評価、脈圧及び心拍数にも投薬起因の変化はみられていない。心電図に対する影響は、イヌにおける 1 及び 3 ヵ月間反復投与毒性試験 (最高用量はそれぞれ 15 及び 12 mg/kg/日) でも検討したが、niraparib に関連した心電図異常は認められなかった。呼吸系及び中枢神経系の試験では投薬起因の変化は認められなかった (2.6.6 項)。

非臨床薬理試験データは、予定する臨床的適応での niraparib の使用を支持している。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

PARP 機能が喪失すると、デオキシリボ核酸（DNA）一本鎖切断（SSB）の修復に欠損が生じ、DNA 複製中の DNA 二本鎖切断（DSB）に進行する場合がある。DSB は、細胞が細胞周期を進むうちに、正確性の高い相同組換え（HR）によって修復される。*BRCA* 変異がん細胞は HR 修復欠損（HRD）を有し、PARP 阻害により合成致死を示すという知見をもとに、HRD 腫瘍に対する治療として選択的 PARP 阻害剤の臨床開発が進められている[2][3]。

2.6.2.2.1 効力を裏付ける in vitro 試験

一連の生化学的及び細胞試験において、PARP ファミリーの酵素に対する niraparib の阻害能及び選択性を検討した。生化学的試験では、niraparib は PARP-1/-2 に選択性を示し、IC_{50} はそれぞれ 3.8 及び 2.1 nmol/L であった。PARP-1 に対する阻害能は細胞で再現され、niraparib は、DNA 損傷によって促進される PARP 依存性ポリ ADP-リボシル化を阻害し、IC_{50} は 4 nmol/L であった。Niraparib は、がん細胞株を用いた増殖試験において、野生型細胞株と比較して、BRCA1/2 発現ノックダウン又は *BRCA* 変異細胞株に対して 25～160 倍高い選択的な活性を示した。これらのデータを総合すると、niraparib は PARP-1/-2 に対する強力かつ選択的な阻害剤であるといえる。

2.6.2.2.1.1 Niraparib の阻害能及び選択性

添付資料番号：4.2.1.1-1（評価）、-2（参考）、-3（参考）

Niraparib は、ヒト PARP1 の触媒ドメインのニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)結合ポケットで結晶化する、低分子 NAD 模倣物である[4]。伸長するポリ ADP-リボース(PAR)ポリマーへの[^{3}H]NAD の取込みを検出する in vitro 試験において、niraparib の PARP-1/-2/-3、vPARP (PARP-4) 及び tankyrase-1 (PARP-5a) に対する阻害能を評価した (4.2.1.1-1)。Niraparib は PARP-1/-2 を強力かつ選択的に阻害し、IC_{50} はそれぞれ 3.8 及び 2.1 nmol/L であった。これは、他の PARP ファミリー分子に対する IC_{50} の約 1/100 未満であった（PARP-3、v-PARP 及び tankyrase-1 に対する IC_{50} はそれぞれ 1,250、334 及び 567 nmol/L；表 2.6.2.2.1.1-1）。

表 2.6.2.2.1.1-1　PARP ファミリー酵素に対する niraparib の活性

PARP アイソフォーム[a]	IC50 (nmol/L)[b]
hPARP-1	3.76 ± 1.6 (n = 9)
hPARP-2	2.15 ± 0.70 (n = 5)
hPARP-3	1,250 ± 34.0 (n = 7)
h-vPARP	334 ± 101 (n = 5)
hTANK-1	567 ± 381 (n = 6)

a h= ヒト.; vPARP = vault PARP (又は PARP4); TANK-1 = tankyrase-1 (又は PARP-5a)
b 各値は表示された数の試験から算出した平均±標準偏差（SD）を表す。

別の一連の試験において、in vitro で NAD^+-ビオチンを用いた比色分析により、さらに大規模なヒト PARP 酵素パネルに対する niraparib の活性を検討した（4.2.1.1-2）。PARP パネルには、PARP-1-3、-5-8、-10-12 及び-14-15 が含まれた。この試験において、niraparib は PARP-1/-2 に対し、検討を行った他の PARP ファミリー分子と比較して 500 倍以上の選択性をもつことがわかった。これらの結果を総合すると、niraparib は PARP-1/-2 に対し、他の触媒活性 PARP

ファミリー分子と比較して 100 倍以上の選択性をもつことを裏付けている。ラット及びイヌにおける niraparib の血中主要代謝物である M1（2.6.4.5.2 項）は、in vitro で PARP-1 又は PARP-2 に対する阻害作用を示さなかった（4.2.1.1-3）。

2.6.2.2.1.2 細胞における PARP 阻害

添付資料番号：4.2.1.1-4（評価）

PARP-1 は SSB の誘発後に発生するポリ ADP-リボシル化の 90%を担い、PARP-2 は細胞における残りのポリ ADP-リボシル化活性の大半を担う[5][6]。過酸化水素誘発性の SSB の結果として細胞内で形成されるポリ ADP-リボース鎖の量を、ポリ ADP-リボースに結合する一次モノクローナル抗体及び二次抗体 AlexaFluor488 結合抗体を用いた画像検出試験により測定し、niraparib による細胞内 PARP-1/-2 活性の阻害を検討した（4.2.1.1-4）。Niraparib は HeLa 細胞において細胞内ポリ ADP-リボシル化を阻害し、IC_{50} 及び IC_{90} はそれぞれ 4 及び 37 nmol/L であった（表 2.6.2.2.1.2-1）。*BRCA* 野生型 A2780 卵巣癌細胞株及び *BRCA2* 変異 CAPAN-1 膵臓癌細胞株においても、niraparib について同様の結果を得た[4]。したがって niraparib は、酵素及び細胞試験の両方で、PARP-1/-2 を強力かつ選択的に阻害する。

表 2.6.2.2.1.2-1　細胞を用いたポリ ADP-リボシル化試験における niraparib の阻害能

細胞	ポリ ADP-リボシル化に対する IC_{50} (nmol/L) [a]	ポリ ADP-リボシル化に対する IC_{90} (nmol/L) [a]
HeLa 子宮頸癌 (n=18)[b]	4±2.6	37±24

[a] 値は平均±SD。
[b] n= 試験数。

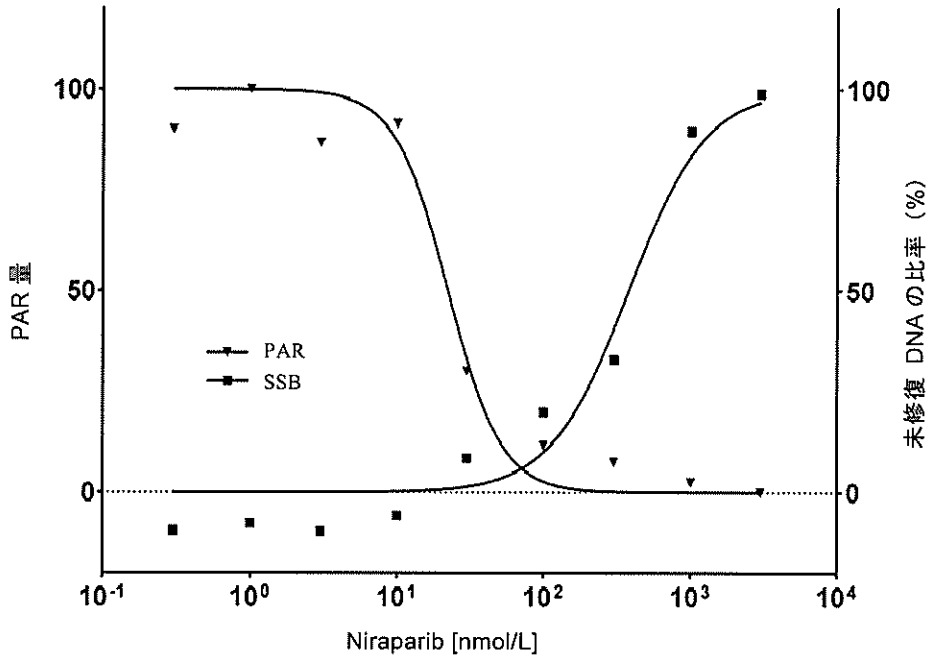
2.6.2.2.1.3 Niraparib はポリ ADP-リボシル化及び一本鎖 DNA 切断修復を機能的に阻害する

添付資料番号：4.2.1.1-5（参考）

SSB を阻害するために必要な PARP 阻害の程度を検討するために、不死化 T リンパ球を用いて、niraparib によるポリ ADP-リボース量の抑制作用と DNA 損傷修復の抑制作用を同時に調べた（4.2.1.1-5）。過酸化水素誘発性の SSB の結果として細胞内で形成されるポリ ADP-リボース鎖の量を検出する市販の試験（[redacted]）により、niraparib の細胞内 PARP-1/-2 活性に対する阻害を検討した。Niraparib は Jurkat 細胞において細胞内ポリ ADP-リボシル化を阻害し、IC_{50} 及び IC_{90} はそれぞれ 22 及び 56 nmol/L であった（表 2.6.2.2.1.3-1）。細胞内で SSB 修復を阻害するために必要な PARP 阻害の程度との関連を検討するために、単細胞ゲル電気泳動（[redacted]）を用いて、過酸化水素による SSB 誘発の直後と、過酸化水素を洗い流した 1 時間後に、細胞内の SSB を直接測定した。Niraparib は、Jurkat 細胞において、ポリ ADP-リボースに対する IC_{90} を上回る用量で、一本鎖切断修復を阻害した（表 2.6.2.2.1.3-1）。図 2.6.2.2.1.3-1 に示すように、ポリ ADP-リボース量が約 90%抑制されるまで、DNA 修復は阻害されなかった。

表 2.6.2.2.1.3-1　Jurkat ポリ ADP-リボシル化試験における niraparib の阻害能

試験	Niraparib [nmol/L]
ポリ ADP-リボースに対する IC_{50}	22
ポリ ADP-リボースに対する IC_{90}	56



Jurkat 細胞を指定の濃度の niraparib により 1 時間前処理した後、H_2O_2 で 15 分間刺激して DNA 損傷を誘発した。1 時間後に ELISA（[redacted]）によりポリ ADP-リボース量を測定し、単細胞ゲル電気泳動（[redacted]）を用いて DNA 一本鎖切断を定量化した。DNA 修復は、ジメチルスルホキシド（DMSO）試料における H_2O_2 処理の 15 及び 75 分後をそれぞれ最小及び最大修復として標準化した。

図 2.6.2.2.1.3-1　Niraparib によるポリ ADP-リボース抑制と DNA 一本鎖切断修復阻害の相関

2.6.2.2.1.4 Niraparib は BRCA1/2 欠損がん細胞株を選択的に阻害する

添付資料番号：4.2.1.1-6（評価）

BRCA 欠損がん細胞は PARP 阻害剤に感受性を示す[1][2]。同様に niraparib は、短鎖ヘアピン RNA を用いた安定的ノックダウンにより BRCA1 及び BRCA2 を欠損させたがん細胞株に対し、*BRCA* 野生型のがん細胞株と比較して、選択的な増殖抑制作用を示した（4.2.1.1-6）。細胞増殖の 50%抑制に必要な濃度（CC_{50}）は、BRCA1 欠損 HeLa 細胞で 34 nmol/L であり、これは対応する *BRCA*1 野生型発現 HeLa 細胞と比べて 25 倍の選択性であった（表 2.6.2.2.1.4-1）。Niraparib は、BRCA2 をノックダウンした A549 ヒト肺癌細胞株の増殖を抑制し、CC_{50} は 11 nmol/L で、*BRCA*2 野生型 A549 細胞と比べて約 160 倍の選択性を示した（表 2.6.2.2.1.4-1）。

表 2.6.2.2.1.4-1　Niraparib は *BRCA* 野生型の親株と比較して BRCA 欠損株に対して選択的な増殖抑制作用を示す

細胞株	腫瘍型	CC_{50} (nmol/L)[a]
野生型 HeLa	子宮頸癌	852 ± 262 (n = 52)
HeLa BRCA1 欠損	子宮頸癌	34 ± 17 (n = 52)
野生型 A549	非小細胞肺癌	1,760 ± 670 (n = 3)
A549 BRCA2 欠損	非小細胞肺癌	11 ± 5 (n = 3)

[a] Niraparib を培地に添加して 5～7 日後に、CellTiter-Blue™アッセイ（Promega）を用いて増殖を測定した。表示された数の試験から算出した CC50 の平均値±SD を示す。

Niraparib は、*BRCA1*（MDA-MB-436、SUM149PT 及び SUM1315MO2）又は *BRCA2*（CAPAN-1）遺伝子の不活性化変異を有するがん細胞株の増殖も強力に抑制し、CC_{50} は 18～73 nmol/L であった（表 2.6.2.2.1.4-2）。乳頭状漿液性腺癌の組織像を示す患者の、*BRCA1* 遺伝子の不活性化変異を有する腫瘍に由来する UWB1.289 細胞株を用いて、BRCA 変異細胞に対する niraparib の選択性を検討した。UWB1.289 細胞株に対する CC_{50} は 56 nmol/L であり、UWB1.289 細胞に由来する、野生型 BRCA1 を回復させた安定細胞株である UWB1.289+BRCA1 と比較して、18 倍の選択性を示した[4]。全体として、niraparib は BRCA1/2 変異がん細胞に対する選択的な増殖抑制作用を示している。

表 2.6.2.2.1.4-2　*BRCA* 変異細胞株に対する niraparib の増殖抑制作用

細胞株	腫瘍型	変異	CC_{50} (nmol/L)[a]
MDA-MB-436	乳癌	*BRCA1* 5396 + 1G>A 変異及び野生型アレルの欠失	18 ± 3 (n = 6)
SUM149PT	乳癌	*BRCA1* 2288delT 変異及び野生型アレルの欠失	24 ± 7 (n = 9)
SUM1315MO2	乳癌	*BRCA1* 185deAG 変異及び野生型アレルの欠失	20 ± 6 (n = 3)
CAPAN-1	膵臓癌	*BRCA2* 6174delT 変異及び野生型アレルの欠失	73 ± 22 (n = 6)

[a] Niraparib を培地に添加して 6 日後（MDA-MB-436 及び SUM149PT）又は 12 日後（CAPAN-1 及び SUM1315MO2）に、CellTiter-Blue™アッセイ（Promega）を用いて増殖を測定した。表示された数の試験から算出した CC50 の平均値±SD を示す。

2.6.2.2.1.5 正常細胞に対する niraparib の増殖抑制作用

添付資料番号：4.2.1.1-6（評価）、-7（評価）

非がん細胞に対する niraparib の作用を検討するために、ヒトの腎、前立腺及び乳腺組織に由来する正常上皮細胞を用いて増殖試験を行った（4.2.1.1-6）。Niraparib は正常ヒト細胞に対して弱い増殖抑制作用を示した。BRCA1/2 欠損がん細胞（CC_{50} 10～100 nmol/L）と比較して、ヒト腎、前立腺及び乳腺上皮細胞を含む正常ヒト細胞は niraparib に不応性であり、CC_{50} は 2.9 μmol/L 以上であった（表 2.6.2.2.1.5-1）。

表 2.6.2.2.1.5-1　正常上皮細胞に対する niraparib の増殖抑制作用

細胞	CC_{50} (nmol/L)[a]
HRE（ヒト腎上皮）	2,900 ± 16 (n = 2)
PREC（ヒト前立腺上皮）	>4,000 (n = 1)
HMEC（ヒト乳腺上皮）	>5,000 (n = 1)

[a] 増殖は、CellTiter-Blue™アッセイ（Promega）を用いて、使用説明書に従って測定した。表示された数の試験から算出した CC50 の平均値±SD を示す。

標準化 in vitro コロニー形成単位（CFU）試験により、niraparib が血液毒性を及ぼす可能性を検討した（4.2.1.1-7）。これらの試験では、ヒト及びマウスの巨核球及び造血細胞を、10 μmol/L を最高とする一連の濃度の niraparib に曝露した。CFU-MK 試験の結果から、ヒト巨核球はマウス巨核球と比較して niraparib 感受性が高い傾向が認められ、IC_{50} はヒト巨核球及びマウス巨核球で、それぞれ 460 及び 1,000 nmol/L である。Niraparib は赤血球前駆細胞及び骨髄系前駆細胞に対して同程度の作用を示し、IC_{50} は検討を行った各細胞集団に対して約 1 μmol/L であった（表 2.6.2.2.1.5-2）。これらのデータから、*BRCA* 変異がん細胞に対する CC_{50} 平均値（表 2.6.2.2.1.4-2）と比較して、同様の条件下で、正常造血細胞に対しては 14 倍以上の選択性マージンがあることが示された（表 2.6.2.2.1.5-2）。

表 2.6.2.2.1.5-2　正常造血細胞に対する niraparib の作用

CFU 試験	オラパリブ IC_{50} (nmol/L)	Niraparib IC_{50} (nmol/L)	Niraparib の選択性マージン（*BRCA* 変異細胞と比較した変化倍率）[a]
ヒト巨核球	490	460	14
ヒト赤血球	3,800	1,300	38
ヒト骨髄球	2,900	1,100	32
マウス巨核球	1,700	1,000	29
マウス骨髄球[b]	5,400	1,000	29

[a] *BRCA* 変異がん細胞に対する CC_{50} 平均値は 34 nmol/L であった（表 2.6.2.2.1.4-2）
[b] マウス赤血球集団は出現頻度が低かったため IC_{50} を測定できなかった

2.6.2.2.2 効力を裏付ける in vivo 試験

卵巣癌の細胞株由来異種移植及び PDX マウスモデルにおいて、niraparib の連日経口投与による効果を検討した。Niraparib は、*BRCA*1 変異、*BRCA*2 変異ヒト腫瘍及び myChoice® HRD 陽性の *BRCA* 野生型ヒト腫瘍のマウスモデルで抗腫瘍活性を示した。マウスへの連日経口投与により、マウス PBMC 中及び異種移植された腫瘍内で PARP 阻害が確認された。

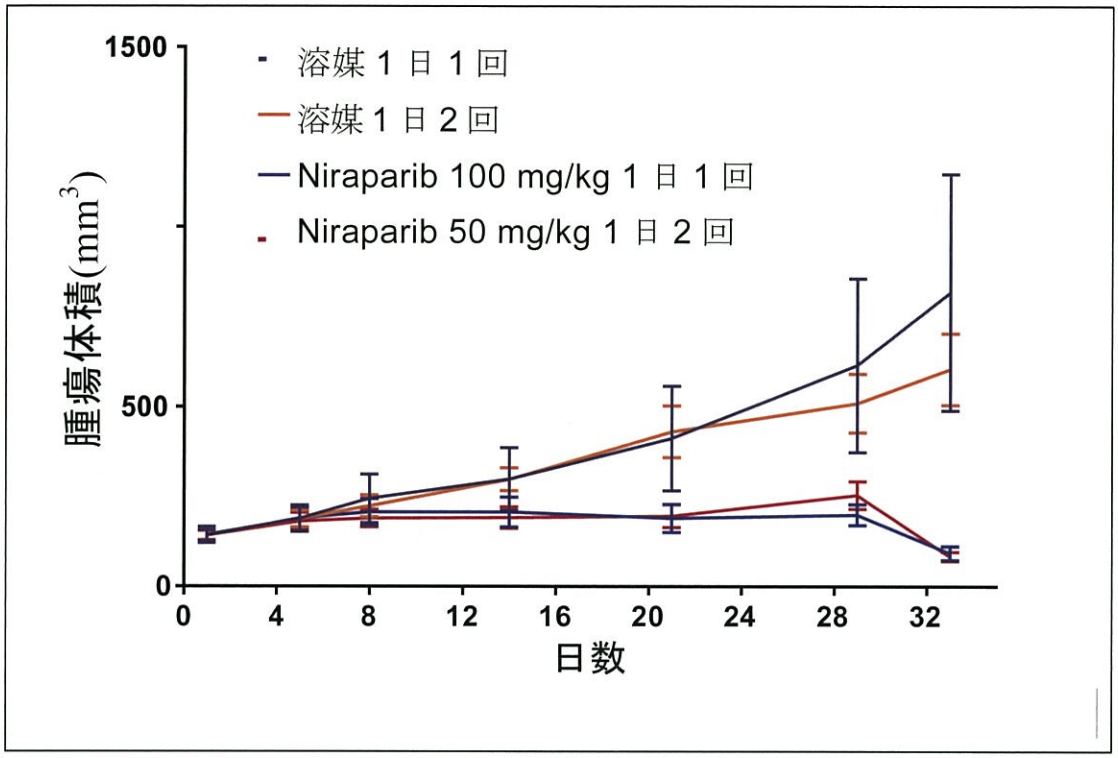
2.6.2.2.2.1 *BRCA*1 変異ヒト細胞株異種移植モデルにおける niraparib の効力

添付資料番号：4.2.1.1-8（評価）、-9（評価）

*BRCA*1 変異腫瘍の増殖に対する niraparib の作用を検討するために、*BRCA*1 変異 MDA-MB-436 を皮下移植した雌性マウスに、niraparib 100 mg/kg 1 日 1 回又は 50 mg/kg 1 日 2 回経口投与を行った（4.2.1.1-8）。Niraparib は in vitro において MDA-MB-436 細胞に対する強力な増殖抑制を示している（表 2.6.2.2.1.4-2）。標準的方法を用いて経時的に腫瘍体積と体重を測定した。

図 2.6.2.2.2.1-1 に示すように、いずれの投与群でも平均腫瘍体積の顕著な縮小が認められた。試験期間に認められた体重減少は 10%未満であった。この結果から、このモデルにおい

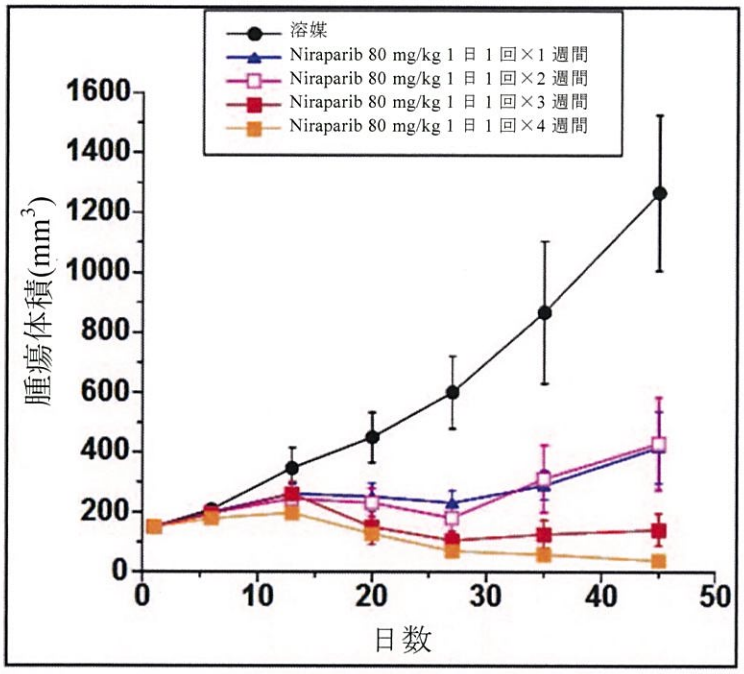
て niraparib の 1 日 1 回又は 1 日 2 回連日投与は忍容性が良好で、効果的であることが示された。



n=5。平均値±標準誤差（SEM）。

図 2.6.2.2.2.1-1　MDA-MB-436（*BRCA*1 変異細胞株）異種移植マウスにおける niraparib の抗腫瘍効果

Niraparib の最大効果を得るために継続的な連日投与が必要かどうかを検討する目的で、*BRCA*1 変異 MDA-MB-436 を皮下移植した担がん雌 CD1 マウスに niraparib 80 mg/kg を 1 日 1 回、1、2、3 又は 4 週間投与した（4.2.1.1-9）。図 2.6.2.2.2.1-2 に示すように、いずれの投与群でも顕著な腫瘍増殖抑制が認められたが、3 又は 4 週間の継続的投与はより効果的であり、3 週間投与では顕著な腫瘍退縮が、4 週間投与では完全退縮が 3 匹で認められた。いずれの投与方法も忍容性は良好であり、体重減少は 10%未満であった（4.2.1.1-9）。これらのデータから、*BRCA*1 変異腫瘍モデルに niraparib を単剤療法として継続投与すると、抗腫瘍効果が増強されることが示された。



n=7。平均値±SEM。

図 2.6.2.2.2.1-2　MDA-MB-436（*BRCA*1 変異細胞株）異種移植マウスに niraparib 80 mg/kg を 1 日 1 回、1、2、3 及び 4 週間経口投与したときの抗腫瘍効果

2.6.2.2.2.2 高悪性度漿液性卵巣癌患者由来腫瘍の同所性異種移植片モデルにおける niraparib の抗腫瘍効果

添付資料番号：4.2.1.1-10（参考）

高悪性度漿液性卵巣癌に対する niraparib 単剤の抗腫瘍効果を評価するため、未治療患者の腫瘍を異種移植した 27 種類のモデルから成るコホートで niraparib（60 mg/kg）を連日投与した（4.2.1.1-10）。Myriad myChoice® HRD 検査を用いて各腫瘍の相同組換え DNA 修復の欠損を調べ、niraparib 療法が有効となる可能性のある患者の特定にこの腫瘍分類指標が有用となるかどうかを評価した。myChoice® HRD 陽性腫瘍は、*BRCA*1/2 変異を有すること及び／又は陽性の HRD スコアを有することと定義される[1]。

経腹的超音波検査を用いて腫瘍の生着及び増殖を追跡し、腫瘍増殖が目に見えた時点（0.5～1 cm）で、niraparib 投与を開始した。最大腫瘍径及び断面積を経時的に測定した。表 2.6.2.2.2.2-1 のように、niraparib 投与により腫瘍は進行から退縮まで様々な反応を示した。腫瘍反応は、niraparib 投与開始時の腫瘍面積と投与終了時の腫瘍面積との変化率を基に、変化率>1.2 を進行、変化率 1.2-0.7 を安定、変化率<0.7 を部分奏効とみなした。部分奏功を認めたのは、全体では 27 モデルのうち 7 モデル（26%）、myChoice® HRD 陽性では 16 モデルのうち 7 モデル（44%）であった。本試験においては myChoice® HRD 陰性では奏効例がなかった。*BRCA* 変異陽性では 4 モデルのうち 3 モデルで部分奏功を認めた。奏効例として、図 2.6.2.2.2.2-1 のように、PH077（*BRCA*2 変異）はベースライン値の 41%まで退縮し、PH039（*BRCA* 野生型、HRD 陽性）はベースライン値の 14%以内に退縮した。

これらの結果より、*BRCA* 変異腫瘍及び myChoice® HRD 陽性腫瘍は HRD 陰性腫瘍よりも高い割合で niraparib 投与に反応した。

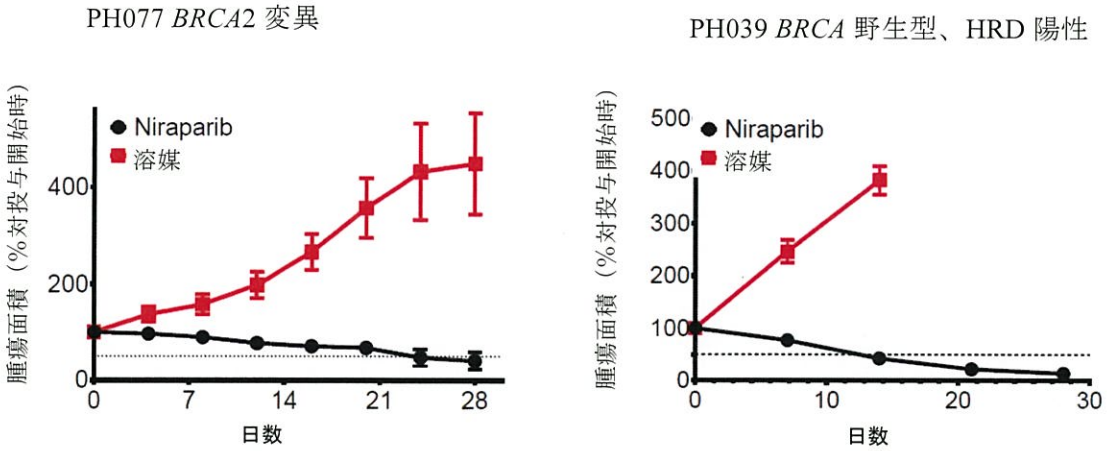
表 2.6.2.2.2.2-1　卵巣癌 PDX モデルにおける niraparib の反応性

PDX モデル番号	HRD の有無 [a]	*BRCA*1/2 変異の有無 [a]	ベースラインからの変化率 [b]	腫瘍反応 [c]
PH054	陽性	*BRCA*1 変異	0.08	部分奏功
PH039	陽性	野生型	0.14	部分奏功
PH088	陽性	*BRCA*1 変異	0.17	部分奏功
PH242	陽性	野生型	0.24	部分奏功
PH013	陽性	野生型	0.36	部分奏功
PH077	陽性	*BRCA*2 変異	0.41	部分奏功
PH056	陽性	野生型	0.62	部分奏功
PH038	陽性	野生型	1.11	安定
PH331	陰性	野生型	1.35	進行
PH235	陰性	野生型	1.42	進行
PH048	陰性	野生型	1.42	進行
PH044	陰性	野生型	2.50	進行
PH087	陰性	野生型	1.45	進行
PH080	陰性	野生型	1.53	進行
PH095	陽性	*BRCA*2 変異	2.05	進行
PH063	陽性	野生型	2.14	進行
PH098	陰性	野生型	2.33	進行
PH026	陰性	野生型	2.71	進行
PH233	陽性	野生型	2.91	進行
PH061	陽性	野生型	3.43	進行
PH045	陰性	野生型	3.48	進行
PH134	陽性	野生型	3.99	進行
PH249	陽性	野生型	4.58	進行
PH247	陰性	野生型	5.31	進行
PH231	陽性	野生型	5.66	進行
PH081	陰性	野生型	7.38	進行
PH291	陽性	野生型	10.60	進行

[a] Myriad myChoice® HRD 検査において、陽性腫瘍は *BRCA*1/2 変異を有する又は HRD スコア ≥ 42 を有すること[1]

[b] 投与開始時の腫瘍面積 / 投与終了時の腫瘍面積

[c] 進行：変化率 >1.20、安定：変化率=1.20-0.70、部分奏功：変化率 <0.70



各腫瘍の面積を同一腫瘍の投与開始時の面積で除し、比率 対 時間としてプロットした。n=5。平均値±SEM。

図 2.6.2.2.2.2-1　高悪性度漿液性卵巣癌の *BRCA2* 変異及び *BRCA* 野生型 PDX モデルに対する niraparib 単剤の効力

2.6.2.2.2.3 *BRCA2* 変異高悪性度漿液性卵巣癌患者由来腫瘍の異種移植片モデルにおける niraparib 維持療法の効力

添付資料番号：4.2.1.1-11（参考）

Niraparib 維持療法が卵巣癌に有効となる可能性を検討するために、*BRCA2* 変異（PH077）卵巣癌同所 PDX モデルにおいて、週 1 回の 2 剤（カルボプラチン、パクリタキセル）又は 3 剤（カルボプラチン、パクリタキセル、niraparib）併用療法 4 サイクル、若しくは 3 剤併用療法後の niraparib 維持療法を施行し、比較を行った（4.2.1.1-11）。2 剤併用療法は、カルボプラチン 50 mg/kg +パクリタキセル 15 mg/kg 週 1 回投与とし、3 剤併用療法はカルボプラチン 50 mg/kg +パクリタキセル 15 mg/kg + niraparib 30 mg/kg 週 1 回投与とした。維持療法では、3 剤併用療法に続いて niraparib 30 mg/kg 連日投与を 20 週間行った。図 2.6.2.2.2.3-1 に示すように、4 週間の投与後に 2 剤併用療法群（コホート 1、灰色の丸）と 3 剤併用療法群（コホート 2、黒色の丸）のいずれにおいても腫瘍退縮が認められた。しかし、コホート 1 及び 2 ともに、観察期間に腫瘍の急速な再増殖が認められた（赤色及び青色の丸）。一方、niraparib 維持療法群（30 mg/kg 1 日 1 回、緑色の丸）のマウスでは、腫瘍が検出されなかった。これらのデータは、化学療法薬による腫瘍縮小後の niraparib 維持療法によって、無再発生存期間が延長する可能性があるという考え方を裏付けている。

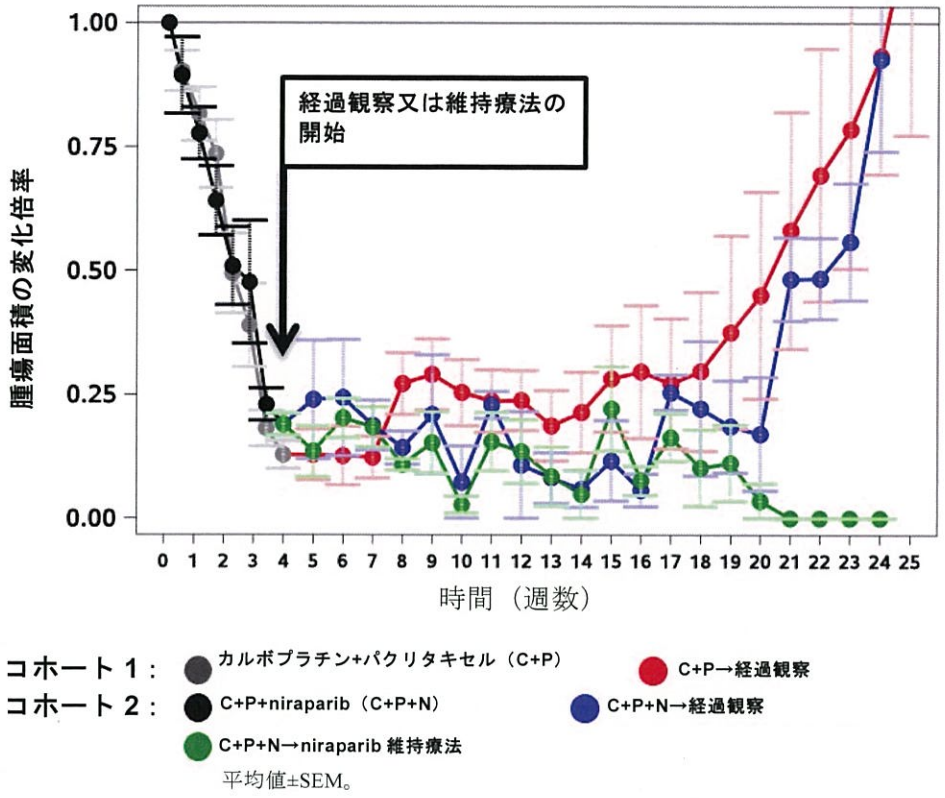


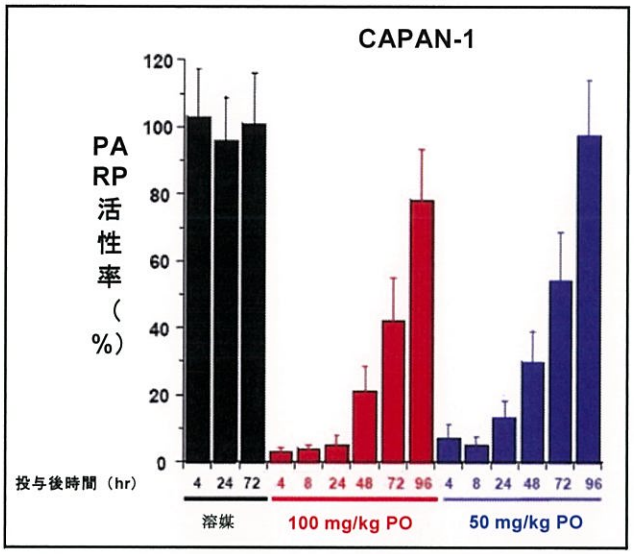
図 2.6.2.2.2.3-1　Niraparib 維持療法に対する *BRCA2* 変異高悪性度漿液性卵巣癌 PDX の反応

2.6.2.2.2.4 異種移植腫瘍における PARP 活性の阻害

添付資料番号：4.2.1.1-12（評価）-13（評価）

2 種類の *BRCA* 変異腫瘍異種移植モデルにおいて、有効用量に相当する PARP 阻害の程度を評価するために、2 種類の有効用量で経時的（4～96 時間）に PARP 阻害を測定した（4.2.1.1-12 及び 4.2.1.1-13）。CAPAN-1（*BRCA2* 変異腫瘍）又は MDA-MB-436（*BRCA1* 変異腫瘍）を異種移植したマウスに、niraparib 50 又は 100 mg/kg を単回経口投与した。CAPAN-1 は投与 4、8、24、48、72 及び 96 時間後に MDA-MB-436 は 4、8 及び 24 時間後にマウスを安楽死させ、腫瘍を摘出して直ちに凍結した。ADP-リボースポリマーに取り込まれた放射性標識 NAD 量を測定する in vitro 試験により、各時点の腫瘍ホモジネート中の PARP-1 活性を測定した。各試料の PARP-1 活性測定値は、ホモジネート中の PARP-1 総量で標準化し、溶媒の PARP-1 活性を 100%とした。

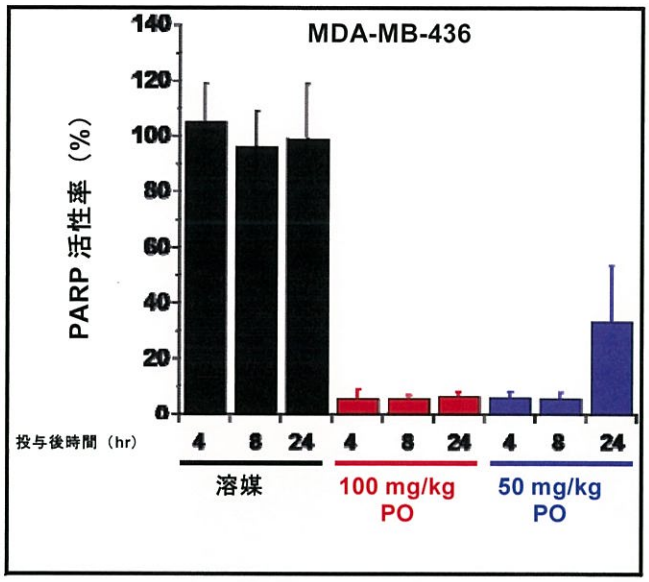
図 2.6.2.2.2.4-1 に示すように、CAPAN-1 腫瘍移植マウスに niraparib 50 mg/kg を単回投与すると、PARP 活性の 90%超の阻害が 8 時間以上持続した。異種移植モデルにおいて顕著な腫瘍増殖抑制が認められる、より高用量の 100 mg/kg 投与では、PARP 活性の約 90%の阻害が 24 時間持続した。また、48 時間後には活性が次第に上昇し始めた。



投与マウスと未投与マウスを比較した腫瘍ホモジネート中の PARP 活性率（%）を示す。
平均値及び SEM。

図 2.6.2.2.2.4-1　Niraparib 投与後の CAPAN-1（*BRCA2* 変異細胞株）腫瘍における残存 PARP 活性

図 2.6.2.2.2.4-2 に示すように、*BRCA1* 変異 MDA-MB-436 を異種移植したマウスに niraparib 50 mg/kg 投与を行うと、PARP の 90%阻害が 8 時間以上持続した。また、24 時間後には PARP 活性が上昇し始めた。より高用量の niraparib 100 mg/kg 投与では、90%阻害が 24 時間以上持続した。以上の結果を総合すると、2 種類の腫瘍異種移植モデルに niraparib 50 及び 100 mg/kg を単回投与したとき、PARP 活性の十分な阻害（90%超）がそれぞれ 8 及び 24 時間持続することが示され、この用量で、HRD 腫瘍モデルにおける niraparib 単剤投与の効力が認められることが示された



投与マウスと未投与マウスを比較した腫瘍ホモジネート中の PARP 活性率（%）を示す。
n=5。平均値及び SEM。

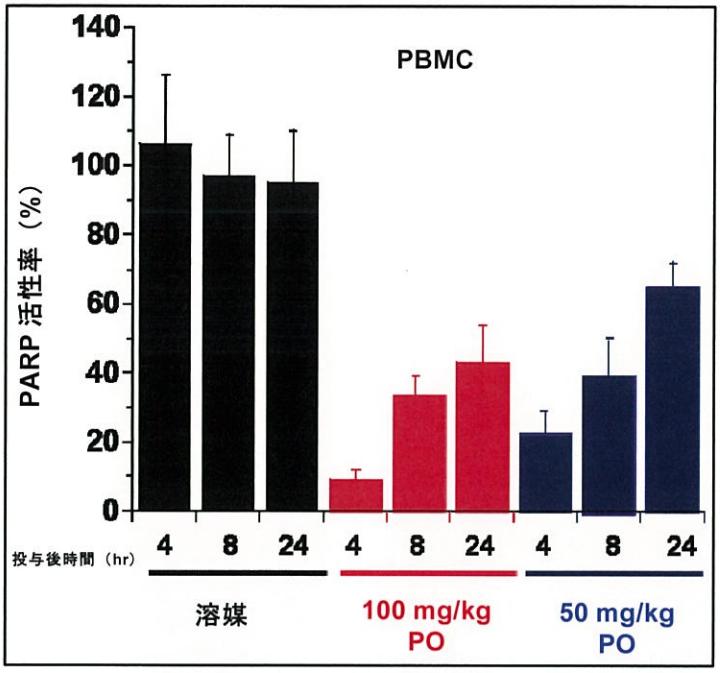
図 2.6.2.2.2.4-2　Niraparib 投与後の MDA-MB-436（*BRCA*1 変異細胞株）腫瘍における残存 PARP 活性

2.6.2.2.2.5 末梢血単核細胞中の PARP 活性の阻害

添付資料番号：4.2.1.1-13（評価）

腫瘍異種移植モデルにおける niraparib による PBMC 中の PARP 阻害の程度を評価するために、マウスに 2 種類の用量で投与を行い、経時的（4～24 時間）に PBMC 中の PARP 阻害を測定した（4.2.1.1-13）。マウスに niraparib 50 又は 100 mg/kg 単回経口投与を行い、投与 4、8 及び 24 間時後に血液をエチレンジアミン四酢酸（EDTA）採血管に採取した（0.4 mL、各時点で 4 検体）。ADP-リボースポリマーに取り込まれた放射性標識 NAD 量を測定する in vitro 試験により、各時点の細胞溶解物中の PARP-1 活性を測定した。各試料の PARP-1 活性測定値は、細胞溶解物中の PARP-1 総量で標準化し、溶媒投与群の PARP-1 活性を 100%とした。

図 2.6.2.2.2.5-1 に示すように、niraparib 50 mg/kg の投与 4、8 及び 24 時間後に、PBMC 中 PARP 活性のそれぞれ 80%、60%及び 40%の阻害が認められた。より高用量である 100 mg/kg の投与 4、8 及び 24 時間後には、PARP のそれぞれ 90%、65%及び 55%の阻害が認められた。これらの試験では、niraparib 100 mg/kg 投与により、24 時間にわたって PBMC 中 PARP 活性が 50%以上阻害されることが示された。したがって、PBMC 中で PARP 活性の 50%阻害を 8 時間持続させる臨床用量が、治療効果をもたらす可能性があるという仮説が立てられた。



投与マウスと未投与マウスを比較した PBMC 中の活性率（%）を示す。
n=5。平均値及び SEM。

図 2.6.2.2.2.5-1　Niraparib 100 及び 50 mg/kg 経口投与後のマウス PBMC 中の残存 PARP 活性

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 in vitro 副次的薬理試験

添付資料番号：4.2.1.2-1（参考）、-2（参考）

Niraparib の非特異的活性の可能性を検討するために、イオンチャネル、トランスポーター及びその他の G 蛋白質共役受容体との結合を調べた（4.2.1.2-1）。従来の放射性リガンド結合試験及び酵素試験を、標準試験手順に従い、標準参照薬により特性が明らかにされた適切な標的を用いて実施した。168 種類の一次スクリーニング試験を含むパネルに対し、niraparib（最高濃度 100 μmol/L）の活性を調べた。一次試験において、最初の被験濃度を 1 対数単位下回る濃度で 50%超の活性が認められた場合に、可能な二次スクリーニング試験を実施した。表 2.6.2.3.1-1 に示すように、6 つの評価項目で IC_{50} 値 5 μmol/L 未満であった。

表 2.6.2.3.1-1　IC_{50} 5 μmol/L 未満の阻害能が認められた重要な一次スクリーニング試験の結果

酵素試験	種	濃度 (μmol/L)	% 阻害	IC_{50} (μmol/L)	Ki (μmol/L)
ドパミントランスポーター	ヒト	0.1	61	0.0509	0.0404
ノルエピネフリントランスポーター	ヒト	1	73	0.239	0.237
セロトニン（5-ヒドロキシトリプタミン）トランスポーター	ヒト	1	71	0.363	0.193
モノアミン酸化酵素 MAO-B	ヒト	1	56	0.751	測定せず
セロトニン（5-ヒドロキシトリプタミン）$5\text{-}HT_4$	モルモット	1	57	0.976	0.163
L 型カルシウムチャネル/ベンゾジアゼピン	ラット	10	60	3.22	2.87

一次スクリーニング試験で最も顕著な阻害が認められた、ドパミントランスポーター及びノルエピネフリントランスポーターに対する niraparib の機能的活性を評価した（4.2.1.2-2）。ドパミントランスポーターを発現するヒト CHO-K1 細胞及びノルエピネフリントランスポーターを発現するヒト MDCK 細胞を niraparib とインキュベートして、それぞれドパミン及びノルエピネフリンの取込みに対する阻害を検討した。Niraparib はドパミン及びノルエピネフリンの取込みを阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 24 及び 130 nmol/L であった。

2.6.2.3.2 in vivo 副次的薬理試験

上記 in vitro の結合データの影響を検討するため、げっ歯類を用いた 3 種類の in vivo 試験を実施した。これらの試験のデータから、niraparib は、中枢神経系におけるドパミン濃度上昇に一致する行動的又は神経化学的作用をもたらさず、また、in vivo で抗腫瘍活性をもつことが示されている血漿中濃度[7]ではマウスのドパミン再取込みトランスポーターを占有しないといえる。

2.6.2.3.2.1 マウス脳内モノアミンに対する niraparib の影響

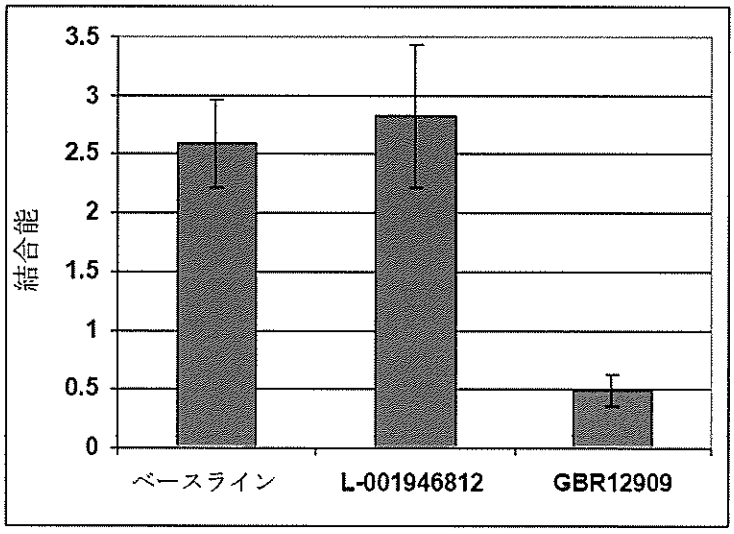
添付資料番号：4.2.1.2-3（参考）、-4（評価）、-5（参考）

Niraparib はげっ歯類の脳内に分布することが示されているため（4.2.1.2-4）、マウスの脳内モノアミンに対する niraparib 投与の影響をアンフェタミンと比較した（4.2.1.2-3）。ラット及びヒトドパミントランスポーターは 92%相同であり、ラット及びヒトモノアミントランスポーターの精神刺激薬に対する反応には高い相関が認められることから、げっ歯類を用いた試験を選択した[8][9]。この試験では、雌 ICR マウスに niraparib（20、30 及び 40 mg/kg、腹腔内）又はアンフェタミン（10 mg/kg、腹腔内）を投与し、投与 1 時間後に線条体、海馬及び皮質のモノアミン／代謝物濃度を測定した。Niraparib 投与により、陽性対照であるアンフェタミン投与時と比較して、線条体又は海馬におけるドパミン濃度、モノアミン／代謝物濃度、ドパミン代謝に顕著な変化は認められなかった。Niraparib 投与によって、皮質のドパミン、代謝物であるジヒドロキシフェニル酢酸及びホモバニリン酸の細胞内濃度がそれぞれ 330%、295%及び 236%上昇したが、ドパミン放出に対する影響は認められなかった。これらの結果から、niraparib は皮質において細胞内にドパミンを蓄積させる可能性があるが、中枢神経系の作用部位でドパミン濃度を上昇させることはないことが示唆される。したがって、niraparib はドパミン作用に影響を及ぼさないと考えられた。

ドパミントランスポーター特異的トレーサ[^{11}C]CFT を用いたマウス脳陽電子放出断層撮影（PET）により、in vivo での niraparib のドパミントランスポーター占有率を測定した（4.2.1.2-5）。雌 Swiss Webster マウスに、niraparib（25 mg/kg、腹腔内）又は既知のドパミントランスポーター再取込み阻害剤 GBR12909（25 mg/kg、腹腔内）を投与し、続いて 20～30 分後に尾静脈から[^{11}C]CFT（4.6±1.6 MBq、静脈内）を投与し、PET 撮像を行った。

PET 撮像の開始時及び終了時に、niraparib 及び GBR12909 の血漿中濃度を測定した。ドパミントランスポーター占有率は、放射性トレーサ投与 30 分前のベースライン PET 検査との画像データの比較により算出した。

ベースライン PET 検査における結合能の計算値は 2.6±0.4（n=4）で、被験動物間変動は約 15%であった。GBR12909 投与後、PET データ収集中の血漿中濃度は 1.7±0.6 μmol/L となり、結合能が 0.4±0.1（n=4）に低下し、ドパミントランスポーター受容体占有率は 81±5%であった（図 2.6.2.3.2.1-1）。一方、niraparib 投与後には PET データ収集中の血漿中濃度は 20±5 μmol/L となり、niraparib 投与マウスを、ベースライン条件下で測定を行ったマウスと比較して、ドパミントランスポーター結合測定値（結合能= 2.8±0.6）に統計学的有意な変化は認められなかった。これらの結果は、niraparib が抗腫瘍活性をもたらす曝露量では線条体のドパミントランスポーターを占有しないことを示しており、がん治療中にドパミントランスポーター占有に起因する副作用は発生しないものと考えられた。



n=4-5。

図 2.6.2.3.2.1-1　Niraparib（L-001946812）又は GBR12909 投与後のマウス線条体における[^{11}C]CFT 結合能

2.6.2.3.2.2 自発運動行動

添付資料番号：4.2.1.2-6（参考）

Niraparib が運動活性に影響を及ぼす可能性を、マウスにおいてアンフェタミンを陽性対照として比較検討した（4.2.1.2-6）。雌 CD-1 マウスに niraparib（20、30 又は 40 mg/kg、腹腔内）又は d-アンフェタミン（1、3.3 又は 10 mg/kg、腹腔内）を投与し、自発運動活性モニターで 90 分間に移動した距離を評価した。アンフェタミン投与マウスでは、移動総距離に用量依存

性の有意な増加が認められたが、niraparib 投与マウスでは移動距離が減少した。したがって、niraparib にはアンフェタミンと同様の精神刺激作用はないと考えられた。

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.4.1 in vitro 安全性薬理試験

2.6.2.4.1.1 hERG 電流への影響

添付資料番号：4.2.1.3-1（評価）

hERG チャネルを安定的に発現させた HEK 細胞を用いた GLP 試験において、niraparib の hERG 電流に対する影響を 3、10、30 及び 100 μmol/L でホールセルパッチクランプ法により検討した（4.2.1.3-1）。Niraparib は hERG 電流を阻害し、IC_{50} は 15 μmol/L（4,800 ng/mL）であった。なお、陽性対照薬（terfenadine, 60 nmol/L）は hERG テール電流を 79.6%阻害したことから、この試験の妥当性が確認されている。

2.6.2.4.2 in vivo 安全性薬理試験

2.6.2.4.2.1 麻酔下及び覚醒イヌにおける心血管機能

添付資料番号：4.2.1.3-2（参考）、-3（評価）

覚醒下のテレメトリー送信器を埋め込んだイヌを用いた GLP 試験において、雌雄各 4 頭にラテン方格デザインで niraparib の 0、3、6 及び 15 mg/kg を 1 週間間隔で経口投与し、niraparib の心血管系に及ぼす影響を評価した（4.2.1.3-3）。その結果、心拍数、脈圧、心電図パラメータ（PR 間隔、QRS 幅、QT 間隔及び QTc 間隔）、心電図定性評価及び体温に投与後 24 時間まで投薬起因の変化はみられなかった。血圧（収縮期、拡張期及び平均血圧）については、15 mg/kg の投与後 1 から 7 時間に軽度かつ一過性の上昇が認められた。イヌの 1 カ月 GLP 試験において、3、6 及び 15 mg/kg/日を経口投与したときの初回 C_{max} の雌雄平均値はそれぞれ 74.24、165.1 及び 422.4 ng/mL であった（4.2.3.2-5）。

麻酔下の迷走神経切断イヌを用いた非 GLP 試験において、3 頭に niraparib の 1、3 及び 10 mg/kg を 30 分ずつかけて順次静脈内投与し、心血管系に及ぼす影響を検討した（4.2.1.3-2）。投与の影響を、当該投与動物の投与前のベースライン値及び別のイヌ 4 頭に溶媒を投与した結果と比較した。心拍数、平均動脈血圧、血流及び心電図パラメータ（PR 間隔、QRS 幅、QT 間隔及び QTc 間隔）を、投与前及び各用量の 30 分間点滴静注中に測定した。その結果、血流、PR 間隔、QT 間隔及び QTc 間隔に対する影響は、最高用量の 10 mg/kg まで認められなかった。一方、niraparib は心拍数及び平均動脈血圧を用量依存性に増加させた（1、3 及び 10 mg/kg でそれぞれ心拍数：+5%、+9%及び+17%、平均動脈血圧：+16%、+21%及び+20%）。また、10 mg/kg 投与時にのみ QRS 幅の軽度の延長（+6%）が認められた。1、3 及び 10 mg/kg の点滴静注中に測定した最高血漿中薬物濃度平均値（結合及び未結合の総薬物濃度）はそれぞれ 1.2 μmol/L（384 ng/mL）、3.9 μmol/L（1,248 ng/mL）及び 15.3 μmol/L（4,896 ng/mL）であった。

イヌを用いた 1 及び 3 ヵ月間 GLP 毒性試験では、niraparib の最高用量はそれぞれ 15 及び 12 mg/kg/日であった。これらの覚醒イヌにおいて niraparib の心電図に及ぼす影響を検討した（2.6.6.3.5 項及び 2.6.6.3.6 項）。その結果、niraparib に関連した心電図異常は認められなかった。

2.6.2.4.2.2 覚醒ラットにおける呼吸機能

添付資料番号：4.2.1.3-4（評価）

覚醒下の雌性 Spraque-Dawley ラット（6 匹／群）に niraparib の 0、10、50 及び 100 mg/kg を単回経口投与し、niraparib の呼吸系に及ぼす影響を評価した（4.2.1.3-4）。ラットをヘッドアウト式プレチスモグラフィに収容し、呼吸パラメータ（一回換気量、呼吸数及び分時換気量）を投与前並びに投与後 2、4 及び 24 時間に測定した。その結果、投与後 24 時間までいずれの呼吸パラメータにも niraparib の影響は認められなかった。

2.6.2.4.2.3 覚醒ラットにおける神経機能

添付資料番号：4.2.1.3-5（評価）

覚醒下の雌雄 Sprague Dawley ラット（8 匹／性／群）に niraparib の 0、5、10 及び 30 mg/kg を単回経口投与し、機能観察総合評価法（FOB）により niraparib の中枢神経系に及ぼす影響を評価した（4.2.1.3-5）。FOB 検査は投与前、投与後 4、6 及び 24 時間に実施した。その結果、いずれの用量においても投与後 24 時間まで FOB の定性及び定量的パラメータに影響は認められなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

Niraparib を用いた薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。ICH S9 の推奨に従うと、提案されている患者集団を対象とする新薬承認申請又は販売承認申請の根拠として、これらの試験は必須ではない。

2.6.2.6 考察及び結論

Niraparib は PARP-1 及び PARP-2 を強力かつ選択的に阻害し、酵素阻害の IC_{50} はそれぞれ 3.8 及び 2.1 nmol/L であった。これらの値は、他の PARP ファミリー分子に対する IC_{50}（PARP-3、v-PARP 及び tankyrase-1 に対してそれぞれ 1,300 nmol/L、330 nmol/L 及び 570 nmol/L）の約 1/100 以下であった。Niraparib のポリ ADP-リボシル化に対する IC_{90} は、HeLa 細胞において 37 nmol/L、Jurkat 細胞において 56 nmol/L であり、これらは一本鎖切断修復の機能的抑制と相関した。

Niraparib の BRCA 欠損がん細胞に対する増殖抑制作用は、ポリ ADP-リボシル化に対する IC_{90} に相当する用量で認められる。Niraparib は、遺伝的背景が同じ isogenic な細胞株ペアのうち BRCA 機能欠損細胞株の増殖を選択的に阻害し、BRCA 機能を取り戻すことによって、増殖抑制作用を回復させる。一連の BRCA 欠損細胞株に対する niraparib の CC_{50} は 18～73 nmol/L であった。正常初代培養細胞は niraparib に高い抵抗性を示し、CC_{50} は上皮細胞の 2,900 nmol/L 超から巨核球の 460 nmol/L までの幅があったが、最小でも 14 倍の選択性マージンがあることになる。

Niraparib の in vivo の効力は、BRCA1 又は BRCA2 機能変異を有する複数の細胞株由来ヒト腫瘍異種移植モデルにおいて証明された。継続的投与を行わずに、顕著な抗腫瘍活性が認められたが、niraparib を腫瘍内 PARP 活性の 90%が抑制される用量で 1 日 1 回連日経口投与した場合に、最大効果が得られ、これは末梢血単核細胞中の PARP 活性の 50%阻害に相当した。

27 種類の PDX モデルを含むコホートにおいて、myChoice® HRD 腫瘍分類指標によって niraparib 感受性腫瘍が集積されるかどうかを前向きに検討した。BRCA1/2 機能変異又はその他の相同組換え修復遺伝子変異の結果として生じるゲノム不安定性の程度に基づき、事前に設定したカットオフ値を用いると[1]、*BRCA* 変異腫瘍及び HRD 陽性腫瘍は HRD 陰性腫瘍よりも高い割合で niraparib 投与に反応し、より深い奏効を示した。この結果は、NOVA 試験において、集団全体の無増悪生存期間へのベネフィットが、*BRCA* 変異腫瘍、HRD 陽性/*BRCA* 野生型腫瘍及び HRD 陰性腫瘍の患者サブグループ間で差が認められたことによっても確認された。

安全性薬理試験では、in vitro 心血管系試験において hERG 電流阻害（IC_{50}=15 μmol/L）がみられたが、in vivo 心血管系試験では経口投与の 15 mg/kg 及び静脈内投与の 10 mg/kg まで QT 間隔の延長は認められなかった。in vivo 心血管系試験として覚醒下のイヌに niraparib を経口投与して心血管系に及ぼす影響を評価し、15 mg/kg まで心拍数、脈圧及び心電図に投薬起因の変化がないことを確認した。一方、高用量（15 mg/kg）においては血圧が軽度かつ一過性に上昇している。麻酔下のイヌに niraparib を静脈内投与した試験においても血圧上昇がみられており、niraparib の曝露が高くなると血圧が上昇する可能性がある。また、麻酔下の静脈内投与試験においては低用量から心拍数の上昇及び高用量（10 mg/kg）で QRS 幅の軽度の延長（+6%）が認められている。これらの変化は覚醒下の経口投与試験においてはみられておらず、麻酔下の迷走神経遮断の条件又は niraparib の高曝露によって発生した可能性がある。ラットにおける呼吸系及び中枢神経系の試験ではそれぞれ 100 及び 30 mg/kg まで投薬起因の変化は認められなかった。

2.6.2.7 図表

本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献一覧

[1] Telli ML, Timms KM, Reid J, Hennessy B, Mills GB, Jensen KC, et al. Homologous Recombination Deficiency (HRD) Score Predicts Response to Platinum-Containing Neoadjuvant Chemotherapy in Patients with Triple-Negative Breast Cancer. Clin Cancer Res. 2016;22(15):3764-73.

[2] 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):913-7.

[3] 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(7035):917-21.

[4] Jones P, Wilcoxen K, Rowley M, Toniatti C. Niraparib: A Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP) Inhibitor for the Treatment of Tumors with Defective Homologous Recombination. J Med Chem. 2015;58(8):3302-14.

[5] Amé JC, Rolli V, Schreiber V, Niedergang C, Apiou F, Decker P, et al. PARP-2, A Novel Mammalian DNA Damage-dependent Poly(ADP-ribose) Polymerase. J Biol Chem. 1999;274(25):17860-8.

[6] Shieh WM, Amé JC, Wilson MV, Wang ZQ, Koh DW, Jacobson MK, et al. Poly(ADP-ribose) Polymerase Null Mouse Cells Synthesize ADP-ribose Polymers. J Biol Chem. 1998;273(46):30069-72.

[7] Sun K, Mikule K, Wang Z, Poon G, Vaidyanathan A, Smith G, et al. A comparative pharmacokinetic study of PARP inhibitors demonstrates favorable properties for niraparib efficacy in preclinical tumor models. Oncotarget. 2018;9(98):37080-96.

[8] Han DD, Gu HH. Comparison of the monoamine transporters from human and mouse in their sensitivities to psychostimulant drugs. BMC Pharmacol. 2006;6:6.

[9] Giros B, el Mestikawy S, Godinot N, Zheng K, Han H, Yang-Feng T, et al. Cloning, Pharmacological Characterization, and Chromosome Assignment of the Human Dopamine Transporter. Mol Pharmacol. 1992;42(3):383-90.

目次

2.6.3 薬理試験概要表 2
2.6.3.1 薬理試験：一覧表 2
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 10
2.6.3.4 安全性薬理試験 13
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 15

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

薬理試験の一覧表　　被験物質：Niraparib

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	添付資料番号	区分
効力を裏付ける試験					
Mechanism of Action (Potency and Selectivity)	Recombinant human PARP enzymes	in vitro	Merck & Co. Inc., Rome, Italy	4.2.1.1-1	評価
Mechanism of Action (Potency and Selectivity)	Recombinant human PARP enzymes	in vitro	[redacted], [redacted], [redacted], USA	4.2.1.1-2	参考
Mechanism of Action (Potency and Selectivity)	Recombinant human PARP enzymes	in vitro	[redacted], [redacted], [redacted], USA	4.2.1.1-3	参考
Mechanism of Action (cell-based assays)	HeLa cell line	in vitro	Merck & Co. Inc., Rome, Italy	4.2.1.1-4	評価
Mechanism of Action (cell-based assay)	Jurkat cells	in vitro	[redacted], [redacted], USA	4.2.1.1-5	参考
Mechanism of Action (cell-based growth assay)	Wild-type HeLa, HeLa BRCA-1 deficient, wild- type A549 and A549 BRCA-2 deficient cell lines *BRCA*-1 mutant cell lines: MDA-MB-436, SUM149PT and SUM1315MO2 *BRCA*-2 mutant cell lines: CAPAN-1 Normal cell lines: HRE, PREC, and HMEC	in vitro	Merck & Co. Inc., Rome, Italy	4.2.1.1-6	評価
Mechanism of Action (Hematotoxicity)	Human and mouse erythroid, myeloid and megakaryocyte progenitor cells	in vitro	[redacted], [redacted], USA	4.2.1.1-7	評価
Efficacy	Mouse (Nude)/ *BRCA*-1mut MDA-MB-436 Xenograft	Oral	Merck & Co. Inc., Rome, Italy	4.2.1.1-8	評価
Efficacy	Mouse (Nude)/ *BRCA*-1mut MDA-MB-436 Xenograft	Oral	Merck & Co. Inc., Rome, Italy	4.2.1.1-9	評価

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）　　薬理試験の一覧表　　被験物質：Niraparib

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	添付資料番号	区分
Efficacy	Mouse (SCID)/ Patient- Derived HGS Xenograft	Oral	[redacted], USA	4.2.1.1-10	参考
Efficacy	Mouse (SCID)/ Patient- Derived HGS Xenograft	Oral	[redacted], USA	4.2.1.1-11	参考
Efficacy	Mouse (Nude)/ *BRCA*- 2mut CAPAN-1 Xenograft	Oral	Merck & Co. Inc., Rome, Italy	4.2.1.1-12	評価
Efficacy	Mouse (Nude)/ *BRCA*- 1mut MDA-MB-436 Xenograft	Oral	Merck & Co. Inc., Rome, Italy	4.2.1.1-13	評価
副次的薬理試験					
Selectivity	Human[a]	in vitro	[redacted], Taiwan	4.2.1.2-1	参考
Selectivity	Recombinant human DAT and NET	in vitro	[redacted], Taiwan	4.2.1.2-2	参考
Brain Monoamine Levels	Mouse (ICR)	IP	Merck Research Laboratories, PA, USA	4.2.1.2-3	参考
Brain Distribution of niraparib	Rat (Sprague-Dawley)	Oral	[redacted], USA	4.2.1.2-4	評価
DAT Binding in Mouse Brain	Mouse (Swiss Webster)	IP	Merck Research Laboratories, PA, USA	4.2.1.2-5	参考
Locomotor Behavior	Mouse (CD1)	IP	Merck Research Laboratories, PA, USA	4.2.1.2-6	参考
安全性薬理試験					
Cardiovascular (hERG assay)	HEK-293 cells	in vitro	[redacted], USA	4.2.1.3-1	評価
Cardiovascular	Dog (Mongrel, anesthetized)	IV Infusion (3 sequential 30- minute infusions)	Merck Research Laboratories, USA	4.2.1.3-2	参考
Cardiovascular	Dog (Beagle, conscious)	Oral	[redacted], Canada	4.2.1.3-3	評価
Respiratory	Rat (Sprague-Dawley)	Oral	[redacted], Canada	4.2.1.3-4	評価
Neurobehavioral	Rat (Sprague-Dawley)	Oral	[redacted], Canada	4.2.1.3-5	評価

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）　　薬理試験の一覧表　　被験物質：Niraparib

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	添付資料番号	区分
薬力学的薬物相互作用試験					
該当なし。					

a. Bovine, chicken, guinea pig, hamster, mouse, rabbit or rat radioligand binding assays used when human not available

CHO=Chinese hamster ovary, DAT=dopamine transporter; HEK=Human Embryonic Kidney, hERG=human ether-a-go-go related gene; HGS=High-grade serous; PARP=Poly (ADP-ribose) polymerase

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

被験物質：Niraparib

試験の種類	種／系統	投与方法	投与量(mg/kg)	性／例数	特記すべき所見	添付資料番号
Mechanism of Action (Potency and Selectivity)	Recombinant human PARP enzymes	in vitro	0.1 to 50 nmol/L	NA	Niraparib was a potent and selective PARP-1/-2 inhibitor with an IC_{50} of 3.8 and 2.1 nmol/L, respectively. It displayed ≥100-fold window over the other PARP-family members with IC_{50} of 1300, 330, and 570 nmol/L on PARP-3, v-PARP, and Tankyrase-1, respectively.	4.2.1.1-1
Mechanism of Action (Potency and Selectivity)	Recombinant human PARP enzymes	in vitro	0.3 to 10,000 nmol/L	NA	Niraparib (TRS2) was potent and selective PARP-1/-2 inhibitor with an IC_{50} of 2.8 and 0.6 nmol/L, respectively. IC_{50}s >1400 nmol/L were observed against PARP3, TNKS1/2, and PARP 6/7/8/10/11/12/14/15.	4.2.1.1-2
Mechanism of Action (Potency and Selectivity)	Recombinant human PARP enzymes	in vitro	0.3 to 10,000 nmol/L	NA	Niraparib was potent and selective PARP-1/-2 inhibitor with an IC_{50} of 1.1 and 0.4 nmol/L, respectively. M1 IC_{50} was >10,000 nmol/L for PARP-1/-2.	4.2.1.1-3
Mechanism of Action (in vitro)	HeLa cell line	in vitro	0.3 nmol/L to 100 nmol/L	NA	Niraparib is a potent inhibitor of intracellular PARP activity with an IC_{50} and IC_{90} of about 4 and 37 nmol/L, respectively.	4.2.1.1-4
Mechanism of Action (in vitro)	Jurkat cells	in vitro	Niraparib and Olaparib: 0.3 to 3,000 nmol/L	NA	Both niraparib and olaparib suppressed PAR levels and induced accumulation of unrepaired DNA breaks in a dose-dependent manner. The EC_{50} for suppression of DNA damage repair induced by H_2O_2 is 0.38 µmol/L and 1.89 µmol/L for niraparib and olaparib, respectively. In both cases, blockage of DNA repair (≥5%) was achieved when PAR levels were suppressed by about 90%.	4.2.1.1-5

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：Niraparib

試験の種類	種／系統	投与方法	投与量(mg/kg)	性／例数	特記すべき所見	添付資料番号
Mechanism of Action (in vitro)	Wildtype HeLa cells, HeLa BRCA-1 deficient cells[a], wildtype A549 cells, and A549 BRCA-2 deficient cells[a] *BRCA*-1 mutant cell lines: MDA-MB-436, SUM149PT and SUM1315MO2 *BRCA*-2 mutant cell lines: CAPAN-1 Normal cell lines: HRE, PREC, and HMEC	in vitro	NR	NA	Niraparib selectively inhibited proliferation of a range of BRCA-1 and BRCA-2 deficient cell lines. Niraparib had a CC_{50} of 34 nmol/L for HeLa BRCA-1-deficient cells and a 25-fold window for the BRCA-1 matched pair HeLa wild-type cells. Niraparib had a CC_{50} of 11 nmol/L for A549 BRCA-2-deficient cells with more than a 100-fold window for the BRCA-2 matched pair A549 wild-type cells. In three cell lines carrying BRCA-1 mutations. CC_{50}'s were between 18-24 nmol/L, whereas the CAPAN-1 cells, which are BRCA-2-mutant, displayed a CC_{50} of 73 nmol/L. Niraparib had weak activity on normal human cells, with human renal, prostate and mammary epithelial cells resistant to niraparib (CC_{50}'s > 2 µmol/L)	4.2.1.1-6
Mechanism of Action (Hematotoxicity)	Human and mouse erythroid, myeloid and megakaryocyte progenitor cells	in vitro	Niraparib: 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3 or 10 µmol/L Olaparib: 0.1, 0.3, 1, 3 10 or 30 µmol/L	NA	The IC_{50} values were 1.3, 1.1, and 0.46 µmol/L for niraparib and 3.8, 2.9, and 0.49 µmol/L for olaparib on erythroid, myeloid, and megakaryocyte progenitors, respectively. Human megakaryocyte progenitors were considered the most sensitive population to both compounds. Based on the C_{max} (4 µmol/L) for niraparib and the niraparib IC_{90} for human megakaryote progenitors of 1 µmol/L, and using the ECVAM predictive model, these results suggested that there is a high risk of thrombocytopenia (similar findings observed for olaparib). Niraparib displayed IC_{50} values for mouse progenitors of 1.0 µmol/L for both myeloid and megakaryocyte progenitor proliferation, which was slightly lower than the olaparib IC_{50} values of 5.4 and 1.7 µmol/L, respectively.	4.2.1.1-7

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：Niraparib

試験の種類	種／系統	投与方法	投与量(mg/kg)	性／例数	特記すべき所見	添付資料番号
Efficacy	Mouse (Nude)/ *BRCA*-1mut MDA-MD-436 Xenograft	Oral (33 days)	100 mg/kg/day or 50 mg/kg BID	5F	Niraparib when dosed orally at either 100 mg/kg/day or 50 mg/kg BID caused tumor regression which was mirrored by >90% reduction in tumor weight compared to control. Both dosing regimens, 100 mg/kg/day or 50 mg/kg BID, were well tolerated and less than 10% body weight loss was seen over the duration of the study.	4.2.1.1-8
Efficacy	Mouse (Nude)/ *BRCA*-1mut MDA-MB-436 Xenograft	Oral (daily dosing for up to 4 weeks)	80	7F	Treatment for 1, 2, 3, or 4 weeks. Significant inhibition of tumor growth was observed after only 1 or 2 weeks of dosing. However, continuous dosing for 3 or 4 weeks was more efficacious and induced significant reduction of tumor volume, with the four weeks dosing regimen being slightly more efficacious. The treatment was well tolerated for up to 4 weeks as indicated by the <10% reduction in body weight.	4.2.1.1-9
Efficacy	Mouse (SCID)/ Patient-Derived HGS Xenograft	Oral (up to 28 days)	60	1-10F	Tumor regressions were induced by niraparib in 7/27 models, all were HR deficient. Regressions were observed in 3/4 *BRCA* mutant models, and in 4/12 HR deficient models that are wild-type *BRCA*.	4.2.1.1-10

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：Niraparib

試験の種類	種／系統	投与方法	投与量(mg/kg)	性／例数	特記すべき所見	添付資料番号
Efficacy	Mouse (SCID)/ Patient-Derived HGS Xenograft	Oral (niraparib) IP (carboplatin, paclitaxel)	Singlet= niraparib (60 mg/kg/day) Doublet= carboplatin (50 mg/kg) and paclitaxel (15 mg/kg) Triplet (weekly)= niraparib (30 mg/kg), carboplatin (50 mg/kg), paclitaxel (15 mg/kg) Maintenance therapy= triplet therapy for 4-cycles (28 days); followed by niraparib (30 mg/kg/day) for 25 weeks	Singlet therapy: NR Doublet therapy: 10 Triplet therapy: 9 Maintenanc e therapy: 9 (niraparib= 5; control=4)	Both PDX models, PH077 and PH039 exhibited robust sensitivity to niraparib singlet therapy with no significant change to body weight. PH077 tumor shrank by 36% of baseline, while PH039 tumor shrank to within 8% of baseline. At day 28, triplet therapy on PH039 resulted in tumors that were 2% of baseline vs. 8% of baseline for doublet therapy (p=0.051). In the maintenance groups, 1/5 mice receiving triplet therapy died unexpectedly at week 5. Following 25 weeks of treatment, carcinomas undergoing maintenance niraparib therapy were undetectable in the remaining four mice, while PDXs randomized to no maintenance therapy (n=4) or previously treated with doublet therapy (n=10) began to grow at 15 weeks and had reached their baseline size by 25 weeks.	4.2.1.1-11
Efficacy	Mouse (Nude)/ *BRCA*-2mut CAPAN-1 Xenograft	Oral (single dose)	50 or 100	NR[b]	Both oral doses of niraparib (50 and 100 mg/kg) inhibited PARP activity in tumors effectively; however, inhibition was reversible and faster at 50 mg/kg. Following a 50 mg/kg dose, PARP activity was inhibited to more than 90% for at least 8 hours, whereas at 100 mg/kg, there was inhibition of tumor growth and PARP activity at around 90% for 24 hours. Only after 48 hours (~70% inhibition) does activity start returning to normal levels.	4.2.1.1-12

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：Niraparib

試験の種類	種／系統	投与方法	投与量(mg/kg)	性／例数	特記すべき所見	添付資料番号
Efficacy	Mouse (Nude)/ *BRCA*-1mut MDA-MB-436 Xenograft	Oral (single dose)	50 or 100	5F[c]	At 50 mg/kg, PARP activity in tumors was inhibited at greater than 90% for 8 hours and then started to return to normal levels by 24 hours (~65% inhibition), whereas at 100 mg/kg, >90% inhibition was seen for a full 24-hour interval. At 50 mg/kg, PARP activity in PBMCs was shown to be inhibited by 80%, 60%, and 40% at 4, 8, and 24 hours post-dose, respectively. At 100 mg/kg, 90%, 65%, and 55% inhibition were observed at 4, 8, and 24 hours post-dose, respectively. Therefore, the 100 mg/kg dose results in ≥50% inhibition of PARP activity in PBMCs over 24-hour period post-dose.	4.2.1.1-13

a. Silenced for BRCA-1 or BRCA-2 using lentivirus expressing shRNA

b. Animals sacrificed at 4, 8, 24, 48, 72, and 96 hours post-dose

c. At 4, 8, and 24 hours post-dose, mice were sacrificed tumors dissected and blood collected to isolate PBMCs in order to determine PARP1 activity for both matrices

BID=twice a day, CC_{50}=median cytotoxic concentration; HGS=High-grade serous, HMEC=Human mammary epithelial, HRD=Homologous recombination deficient, HRE=human renal epithelial, IC_{50}=median inhibitory concentration; IC_{90}=concentration needed to inhibit 90%; NR=not reported; PARP=poly ADP ribose polymerase; PBMC=Peripheral blood mononuclear cells, PDX=Patient derived xenograft, PREC=human prostate epithelial, QD=once a day, shRNA=Short hairpin RNA

2.6.3.3 副次的薬理試験

被験物質：Niraparib

試験の種類	種／系統	投与方法	投与量（mg/kg）	性／例数	特記すべき所見	添付資料番号
Selectivity	Human[a]	in vitro	Primary Screen: up to 100 µmol/L Dose Response: 0.01 to 100 µmol/L	NA	The primary radioligand binding assays in rank order of potency (K_i values) are DAT (0.0404 µmol/L), serotonin 5-HT_4 (0.163 µmol/L), SERT (0.193 µmol/L), NET (0.237 µmol/L), calcium channel L-type, benzothiazepine (2.87 µmol/L), Histamine H_1 (4.28 µmol/L), Adrenergic α_{2B} (4.39 µmol/L), Calcium channel L-Type, phenylalkylamine (7.22 µmol/L), and Adrenergic α_2, non- selective (8.41 µmol/L). The primary enzyme assays in rank order of potency (IC_{50} values) are MAO-B (0.751 µmol/L), Protein serine/threonine kinase, PKA, non-selective (29.1 µmol/L), Phosphodiesterase PDE3 (36.6 µmol/L), Protein serine/threonine kinase, PRKCA (PKCα, 47.7 µmol/L), and phosphodiesterase PDE2 (77.3 µmol/L).	4.2.1.2-1

2.6.3.3 副次的薬理試験（続き）

被験物質：Niraparib

試験の種類	種／系統	投与方法	投与量（mg/kg）	性／例数	特記すべき所見	添付資料番号
Selectivity	Human CHO-K1 cell (rhDAT) and MDCK cell (rhNET)	in vitro	0.01, 0.1, 1 or 10 µmol/L	NA	Niraparib IC_{50} values for DAT based on binding and EC_{50}/IC_{50} values for uptake assays were 63 and 24 nmol/L, respectively. Similarly, IC_{50} values for NET based on binding and EC_{50}/IC_{50} values for uptake assays were 192 and 130 nmol/L, respectively.	4.2.1.2-2
Brain Monoamine Levels	Mouse (ICR)	IP	Niraparib: 20, 30, or 40 Amphetamine: 10	4F	Niraparib did not induce the typical biochemical changes associated with amine transporter blockers as demonstrated by amphetamine (e.g. no change in levels of DA, monoamine/metabolite levels, or DA turnover). However, niraparib showed increased DA, DOPAC, and HVA levels in the cortex without impacting DA release. Niraparib can cause a build-up of intracellular DA in the cortex, but not enhance DA availability in the CNS.	4.2.1.2-3
Brain Distribution of niraparin	Rat (Sprague-Dawley)	Oral	10 or 30	16M	Niraparib was distributed in brain in rodent.	4.2.1.2-4
DAT Binding in Mouse Brain	Mouse (Swiss Webster)	IP	Niraparib: 25 GBR12909 (DAT reuptake inhibitor): 25	Baseline PET: 4F Niraparib: 5F GBR12909: 4F	No statistically significant change in DAT binding (BP=2.8 ± 0.6) was measured in animals administered niraparib compared to animals measured under baseline conditions. Niraparib does not occupy DAT in the striatum at exposures that provide anti-tumor activity.	4.2.1.2-5

2.6.3.3 副次的薬理試験（続き）

被験物質：Niraparib

試験の種類	種／系統	投与方法	投与量（mg/kg）	性／例数	特記すべき所見	添付資料番号
Comparison of niraparib and d-amphetamine on locomotor behaviour	Mouse (CD1)	IP	Niraparib: 20, 30 or 40 Amphetamine: 1, 3.3 or 10	NR	Amphetamine increased locomotor activity (as measured by total distance traveled in 90 min), whereas niraparib decreased locomotor activity. Thus, it appears that niraparib does not have psychostimulant effects similar to amphetamine.	4.2.1.2-6

a. Bovine, chicken, guinea pig, hamster, mouse, rabbit or rat radioligand binding assays used when human not available.

BP=binding potentials, CNS=central nervous system, DA=dopamine, DAT=dopamine transporter, DOPAC=3, 4-Dihydroxyphenylacetic acid, HVA=homovanillic acid, IP= Intraperitoneal, IV=Intravenous, MOA-B=Monoamine Oxidase-B, NA=not applicable, NR=not reported, NET=Norepinephrine transporter, PBMC=peripheral mononuclear blood cell, PET=Positron emission tomography, rhDAT=Recombinant human DAT, rhNET=Recombinant human NET, SERT=Serotonin transporter

2.6.3.4 安全性薬理試験

被験物質：Niraparib

評価対象となる組織	動物種/系統	投与方法	投与量[a] (mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP 適用	添付資料番号
Cardiovascular (hERG assay)	HEK-293 cells	in vitro	3, 10, 30 or 100 µmol/L	n=3 cells	Niraparib inhibited hERG current in a concentration- dependent manner. hERG inhibition at 3, 10, 30, and 100 µmol/L. The IC_{50} was 15.2 µmol/L (Hill coefficient = 1.2).	GLP	4.2.1.3-1
Cardiovascular	Dog (Beagle, conscious)	Oral	3, 6 or 15	4M, 4F	No changes were observed in heart rate, pulse pressure, electrocardiographic intervals (PR, QRS, QT, and QTc intervals), qualitative electrocardiology or body temperature up to 24 hours postdose. A slight and transient increase in blood pressure (systolic, diastolic and mean arterial pressures) was observed approximately over the period of 1 through 7 hours postdose at 15 mg/kg.	GLP	4.2.1.3-3

2.6.3.4 安全性薬理試験（続き）

被験物質：Niraparib

評価対象となる組織	動物種/系統	投与方法	投与量[a] (mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	GLP 適用	添付資料番号
Cardiovascular	Dog (Mongrel, anesthetized)	IV	1, 3, or 10 (3 sequential 30-minute infusions)	3M	A dose-related increase in mean arterial pressure at 1 and 3 mg/kg (+16% and +21%, respectively) was observed with no further increase seen at 10 mg/kg (+20%). Niraparib increased heart rate dose- dependently (+5%, +9%, and +17%). No treatment-related changes in blood flow or PR and QTc intervals were seen but a small increase in the QRS interval (+6%) was observed at 10 mg/kg. Peak average plasma concentrations measured during infusion at 1, 3, and 10 mg/kg were 1.2 ± 0.1, 3.9 ± 0.7, and 15.3 ± 1.1 µmol/L (mean ± SD), respectively.	Non-GLP	4.2.1.3-2
Respiratory	Sprague Dawley Rat	Oral	10, 50 or 100	6F	Niraparib had no effect on the respiratory function (tidal volume, respiratory rate and derived minute volume)	GLP	4.2.1.3-4
Neurobehavioral	Sprague Dawley Rat	Oral	5, 10 or 30	8M, 8F	No test item-related changes were observed in any of the qualitative or quantitative parameters in functional observation battery tests up to 24 hours post dose.	GLP	4.2.1.3-5

a. Single dose unless otherwise specified

F = Female, GLP = Good Laboratory Practice, HEK = Human embryonic kidney, hERG = Human ether-à-go-go-related gene, IC_{50} = Median inhibitory concentration, IV = Intravenous, M = Male, SD = Standard deviation

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし。