2.4 非臨床試験の概括評価

小野薬品工業株式会社

目次

用語及び略号一覧 3
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 5
2.4.3 薬物動態試験 6
2.4.4 毒性試験 6
2.4.5 総括及び結論 6
2.4.6 参考文献一覧 7

用語及び略号一覧

用語及び略号	内容又は日本語名称
ATP	アデノシン三リン酸
BRAF	B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase
CRC	結腸・直腸がん
EGFR	上皮成長因子受容体
MEK	Mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase

2.4 非臨床試験の概括評価

エンコラフェニブは経口投与可能な ATP 競合型の BRAF 阻害剤であり、MAP キナーゼ経路上の BRAF を阻害することにより腫瘍細胞の増殖を抑制する。また、エンコラフェニブは MEK 阻害剤であるビニメチニブとの併用により、単剤よりも強力で持続的な抗腫瘍効果を示す。本邦では、エンコラフェニブは「ビラフトビカプセル 50mg」として 2019 年 1 月に「BRAF 遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫」の効能・効果で製造販売承認されている。

BRAF 阻害剤と MEK 阻害剤の併用療法は、BRAF 遺伝子変異を有する悪性黒色腫や非小細胞肺がんに対して治療効果を示すものの[1) ~6)]、同変異を有する CRC に対しては効果が不十分である[7) 8)]。CRC では定常状態から EGFR を高発現しており、BRAF 阻害による EGFR を介した MAP キナーゼ経路の再活性化が効果不十分の原因と考えられている[8) ~10)]。したがって、BRAF 阻害剤と MEK 阻害剤に加えて、EGFR を阻害する薬剤を併用することで MAP キナーゼ経路の持続的な抑制が可能になり[8) ~10)]、治療効果の発現が期待される。

非臨床試験において、エンコラフェニブは BRAF 遺伝子変異を有するヒト CRC 細胞に対して増殖抑制作用を示した。また、エンコラフェニブはビニメチニブ又は抗 EGFR 抗体セツキシマブとの併用により、BRAF 遺伝子変異を有するヒト CRC 細胞の増殖を強力に抑制した。更に、エンコラフェニブとビニメチニブとセツキシマブの 3 剤併用は、BRAF 遺伝子変異を有するヒト CRC 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて、一般状態及び体重推移に明らかな影響を及ぼすことなく、それぞれの単剤及び 2 剤併用を上回る抗腫瘍効果を示した。

以上より、エンコラフェニブとビニメチニブ及びセツキシマブの併用は、BRAF 遺伝子変異を有する CRC に対して高い治療効果を示す新たな薬物療法になり得ると考えられた。

2.4.1 非臨床試験計画概略

本承認申請に際し、以下の非臨床試験を実施した。

薬理試験では、*in vitro* 及び *in vivo* 試験でエンコラフェニブの作用を検討した。また、エンコラフェニブとビニメチニブ及びセツキシマブの併用効果も検討した。

エンコラフェニブの効力を裏付ける試験として、*in vitro* では、BRAF V600E 変異を有する CRC 細胞を含む各種ヒトがん細胞に対する増殖抑制作用を検討した。*In vivo* では、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞を移植したマウスを用いて抗腫瘍効果を検討した。

エンコラフェニブとビニメチニブ及びセツキシマブとの併用での効力を裏付ける試験として、*in vitro* では、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞に対する増殖抑制作用を検討し

た。*In vivo* では、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞を移植したマウスを用いて抗腫瘍効果を検討した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 *In vitro* 試験

エンコラフェニブは野生型 BRAF を有するがん細胞株には作用せず［2.6.2.2.1.1］、BRAF V600E 又は V600K 変異を有するヒト CRC 細胞株の増殖を抑制した［2.6.2.2.1.1、2.6.2.2.3.1］。

2.4.2.1.2 *In vivo* 試験

BRAF V600E 変異を有する 3 種類のヒト CRC 細胞株を用いた異種移植モデルにて、エンコラフェニブの抗腫瘍効果を検討した。COLO 205 細胞株移植マウスを用いた検討において、エンコラフェニブは 5 mg/kg 以上で 1 日 2 回、あるいは 10 mg/kg 以上で 1 日 1 回、反復経口投与することにより、投与開始日よりも腫瘍を縮小させた［2.6.2.2.2.1］。また、LS411N 細胞株移植マウスを用いた検討において、エンコラフェニブは 5 mg/kg 以上で 1 日 2 回、反復経口投与することにより、腫瘍の増殖を抑制した［2.6.2.2.2.2］。一方、HT-29 細胞株移植マウスを用いた検討において、エンコラフェニブは検討したいずれの用量においても、腫瘍の増殖を抑制しなかった［2.6.2.2.2.3］。これらの検討において、エンコラフェニブは一般状態及び体重推移に明らかな影響を及ぼさなかった。

2.4.2.1.3 *In vitro* 試験（併用）

エンコラフェニブとビニメチニブの併用は、BRAF V600E 変異を有する種々のヒト CRC 細胞株を用いた検討において、顕著な増殖抑制作用を示した［2.6.2.2.3.1］。また、エンコラフェニブとセツキシマブの併用は、BRAF V600E 変異を有する 2 種類のヒト CRC 細胞株を用いた検討において、顕著な増殖抑制作用を示した［2.6.2.2.3.2］。

2.4.2.1.4 *In vivo* 試験（併用）

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞を移植したマウスを用いて、エンコラフェニブとビニメチニブ及びセツキシマブの併用効果を検討した。3 種類のモデルいずれにおいても、3 剤併用が最も強い抗腫瘍効果を示した［2.6.2.2.4.1、2.6.2.2.4.2、2.6.2.2.4.3］。このうち HT-29 細胞株移植マウスを用いた検討において、エンコラフェニブは単剤で抗腫瘍効果を示さなかったが、セツキシマブとの 2 剤併用では腫瘍増殖を抑制し、ビニメチニブ及びセツキ

シマブとの3剤併用では腫瘍縮小効果を示した［2.6.2.2.4.1］。これらの検討において、被験化合物による一般状態及び体重推移に対する明らかな影響はみられなかった。

以上より、エンコラフェニブとビニメチニブとセツキシマブの 3 剤併用は、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞の増殖を強力に抑制することが示された。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.4 毒性試験

以上、新たな該当資料なし。

2.4.5 総括及び結論

エンコラフェニブは野生型 BRAF を発現するヒトがん細胞に作用せず、BRAF V600E 又は V600K 変異を有するヒト CRC 細胞の増殖を抑制したことから、BRAF 遺伝子変異を有する CRC 患者で治療効果を示すと考えられた。

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞を用いたマウス異種移植モデルでの検討において、エンコラフェニブの効果は移植した細胞株の種類により大きく異なり、抗腫瘍効果が認められなかったモデルも存在した。

BRAF V600E 変異を有する CRC 細胞の BRAF 阻害剤に対する低感受性の原因として、フィードバック機構による MAP キナーゼ経路の再活性化が報告されている[8)~10)]。CRC 細胞では定常状態から EGFR を高発現しており、BRAF を阻害することで EGFR の更なる活性化及び MAP キナーゼ経路を介したシグナル伝達が誘発される[8)~10)]。臨床においても、BRAF 阻害剤と MEK 阻害剤の併用療法は、BRAF V600E 変異を有する悪性黒色腫に対して高い治療効果を示すが[1)~4)]、CRC に対する効果が不十分である[7) 8)]。したがって、CRC では、BRAF 阻害剤と MEK 阻害剤に EGFR を阻害する薬剤を併用することで、MAP キナーゼ経路の持続的な抑制が可能となり[8)~10)]、治療効果の発現が期待される。

エンコラフェニブはビニメチニブ又はセツキシマブとの併用により、*in vitro* で BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞の増殖を強力に抑制した。また、エンコラフェニブとビニメチニブとセツキシマブの 3 剤併用は、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて、一般状態及び体重推移に明らかな影響を及ぼすことなく、それぞれの単剤及び 2 剤併用を上回る抗腫瘍効果を示した。以上より、エンコラフェニブとビニメチニブとセツキシマブの3剤併用は、MAP キナーゼ経路上の BRAF と MEK を同時に阻害することでシグナル伝達を効果的に遮断するとともに、EGFR の活性化を抑制することで同経路の再活性化を阻止することが示された。

これまでに得られている非臨床試験成績から、エンコラフェニブとビニメチニブ及びセツキシマブの併用は強力な抗腫瘍効果を示す新たな治療選択肢になり得ると考えられた。

2.4.6 参考文献一覧

1) Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, Atkinson V, Liszkay G, Maio M, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. N Engl J Med. 2014;371:1867-76.

2) Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H, Levchenko E, de Braud F, Larkin J, et al. Combined BRAF and MEK inhibition versus BRAF inhibition alone in melanoma. N Engl J Med. 2014;371:1877-88.

3) Robert C, Karaszewska B, Schachter J, Rutkowski P, Mackiewicz A, Stroiakovski D, et al. Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib. N Engl J Med. 2015;372:30-9.

4) Dummer R, Ascierto PA, Gogas HJ, Arance A, Mandala M, Liszkay G, et al. Overall survival in patients with BRAF-mutant melanoma receiving encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. Lancet Oncol. 2018;19:1315-27.

5) Planchard D, Besse B, Groen HJM, Souquet PJ, Quoix E, Baik CS, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAF(V600E)-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. Lancet Oncol. 2016;17:984-93.

6) Planchard D, Smit EF, Groen HJM, Mazieres J, Besse B, Helland Å, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAFV600E-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial. Lancet Oncol. 2017;18:1307-16.

7) Corcoran RB, Atreya CE, Falchook GS, Kwak EL, Ryan DP, Bendell JC, et al. Combined BRAF and MEK inhibition with dabrafenib and trametinib in BRAF V600-mutant colorectal cancer. J Clin Oncol. 2015;33:4023-31.

8) Corcoran RB, André T, Atreya CE, Schellens JHM, Yoshino T, Bendell JC, et al. Combined BRAF, EGFR, and MEK inhibition in Patients with BRAFV600E-mutant colorectal cancer. Cancer Discov. 2018;8:428-43.

9) Corcoran RB, Ebi H, Turke AB, Coffee EM, Nishino M, Cogdill AP, et al. EGFR-mediated re-activation of MAPK signaling contributes to insensitivity of BRAF-mutant colorectal cancers to RAF inhibition with vemurafenib. Cancer Discov. 2012;2:227-35.

10) Prahallad A, Sun C, Huang S, Di Nicolantonio F, Salazar R, Zecchin D, et al. Unresponsiveness of colon cancer to BRAF(V600E) inhibition through feedback activation of EGFR. Nature. 2012;483:100-3.