2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

小野薬品工業株式会社

目次

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表 3
2.6.1　緒言 3

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

エンコラフェニブは強力かつ選択的な BRAF 阻害剤である。

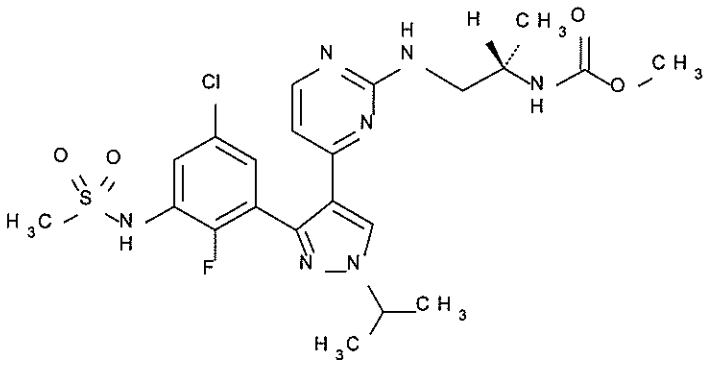
MAP キナーゼ経路（RAS/RAF/MEK/ERK）は、細胞の分化、増殖、生存などを制御するシグナル伝達機構である。RAF には 3 種類のサブタイプ（ARAF、BRAF、CRAF）が知られており、結腸・直腸がんの約 4.6～20.6%で BRAF V600E 変異が認められる。本変異により MAP キナーゼ経路のシグナル伝達が亢進するため、細胞が異常に増殖する。したがって、BRAF を阻害する薬剤は、BRAF 変異を有する結腸・直腸がんに対する抗腫瘍効果が期待できる。また、BRAF と MEK を同時に阻害すると MAP キナーゼ経路のシグナル伝達を効率的に遮断するため、単剤投与時よりも強力な抗腫瘍効果が期待できる。しかし、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に対して効果を示すものの、結腸・直腸がんに対する治療効果は不十分である。BRAF 遺伝子変異を有する結腸・直腸がんでは、悪性黒色腫と比較して EGFR が高発現しており、BRAF を阻害することで EGFR を介したフィードバック機構が強く働くことが原因として考えられている。したがって、BRAF 阻害剤及び 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となり、治療効果が期待できる。

エンコラフェニブは、ヒト変異型 BRAF のキナーゼ活性を阻害することで BRAF 変異を有する結腸・直腸がん細胞の増殖を抑制した。また、エンコラフェニブと MEK 阻害剤であるビニメチニブの併用は、単剤よりも強力な抗腫瘍効果を示した。更に、エンコラフェニブ、ビニメチニブ及び抗 EGFR 抗体であるセツキシマブの 3 剤併用は、それぞれの単剤及び 2 剤併用よりも強力な抗腫瘍効果を示した。

これらのことから、エンコラフェニブは BRAF 変異を有する結腸・直腸がんに対する新たな治療薬になり得ると考えた。

2.6.1 緒言
エンコラフェニブ mCRC

【構造式】



【化学名】

Methyl *N*-{(2*S*)-1-[(4-{3-[5-chloro-2-fluoro-3-(methanesulfonamido)phenyl]-1-(propan-2-yl)-1*H*-pyrazol-4-yl}pyrimidin-2-yl)amino]propan-2-yl}carbamate

本申請における効能・効果及び用法・用量の案は以下のとおりである。

【効能・効果（案）】

BRAF 遺伝子変異を有する治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌

【用法・用量（案）】

ビニメチニブ及びセツキシマブとの併用において、通常、成人にはエンコラフェニブとして 300mg を 1 日 1 回経口投与する。なお、患者の状態により適宜減量する。

2.6.2 薬理試験の概要文

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 3
2.6.2.1 まとめ 4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.2.3 副次的薬理試験 17
2.6.2.4 安全性薬理試験 17
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 17
2.6.2.6 考察及び結論 17
2.6.2.7 図表 18
2.6.2.8 参考文献 18

2.6.2 薬理試験の概要文

本項で使用した用語及び略号を表 2.6.2-1 に、関連化合物の名称を表 2.6.2-2 に示す。

表 2.6.2-1 用語及び略号一覧

用語及び略号	内容又は日本語名称
BID	1 日 2 回投与
Binimetinib	ビニメチニブ
BRAF	B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase
Cetuximab	セツキシマブ
CI	コンビネーションインデックス
CMC	カルボキシメチルセルロース
CRC	結腸・直腸がん
EGFR	上皮成長因子受容体
Encorafenib	エンコラフェニブ
IC_{50}	50%阻害濃度
IV	静脈内投与
MEK	Mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase
PO	経口投与
QD	1 日 1 回投与
QOD	隔日投与
SS	シナジースコア
TGI	腫瘍増殖抑制率
2QW	週 2 回投与

表 2.6.2-2 関連化合物の一覧

名称	その他の名称
エンコラフェニブ	LGX818

2.6.2 薬理試験の概要文
エンコラフェニブ mCRC

2.6.2.1 まとめ

薬理試験では、*in vitro* 試験及び *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 MEK 阻害剤ビニメチニブ及び抗 EGFR 抗体セツキシマブの併用効果も検討した。

効力を裏付ける試験（単剤）

In vitro 試験では、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、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。

In vivo 試験では、エンコラフェニブは、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株を用いたマウス異種移植モデルにおいて、用いた細胞株により大きく異なる抗腫瘍効果を示した。

効力を裏付ける試験（併用）

In vitro 試験では、エンコラフェニブは、ビニメチニブ又はセツキシマブと併用することで、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株の増殖を単剤よりも低濃度から強力に抑制した。

In vivo 試験では、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、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、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できると考えられた。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vitro* 試験

CRC を含む各種ヒトがん細胞株に対するエンコラフェニブの増殖抑制作用を検討した。

2.6.2.2.1.1 各種ヒトがん細胞株に対する増殖抑制作用

［参考資料：4.2.1.1-1］

BRAF 変異の有無が確認されている 512 種類の細胞株で構成されるパネルを用いて、各種ヒトがん細胞株に対するエンコラフェニブの増殖抑制作用を検討した。

エンコラフェニブを含む培地中で各細胞株を 72 時間培養した後、CellTiter-Glo アッセイ法により生細胞数を測定し、エンコラフェニブの増殖抑制作用を評価した。IC_{50} 値が 1000 nmol/L 未満の結果を、増殖抑制作用を示すと定義した。

エンコラフェニブは、BRAF V600 変異（V600E、V600D 又は V600K）を有するがん細胞 38 株中の 28 株（74%）に対して増殖抑制作用を示した。このうち BRAF V600E 又は V600K 変異を有する CRC の 6 株中では 4 株に対して増殖抑制作用を示した。一方、野生型 BRAF を有する 455 細胞株中にエンコラフェニブが増殖抑制作用を示した株はほとんどなかった。

2.6.2.2.2 *In vivo* 試験

エンコラフェニブのマウス異種移植モデルにおける抗腫瘍効果を検討した。媒体には 0.5 vol%Tween 80 含有 0.5 w/v%CMC 溶液を用い、投与経路は経口とした。

2.6.2.2.2.1 ヒト CRC 細胞株 COLO 205 移植マウスにおける抗腫瘍効果

［評価資料：4.2.1.1-2］

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株 COLO 205 を用いたマウス異種移植モデルにおけるエンコラフェニブの抗腫瘍効果を検討した。

1×10^6 個の COLO 205 を雌性ヌードマウス（HSD:Athymic Nude-Foxn1^{nu}）の皮下に移植し、8 日後に 1 群当たり 10 例を無作為に割り付けた。割り付け後、媒体あるいはエンコラフェニブを 5、25 及び 150 mg/kg で 1 日 2 回又は 10、50 及び 300 mg/kg で 1 日 1 回、28 日間反復投与した。一般状態観察及び体重測定を行うとともに、腫瘍体積を週に 2 回測定した。腫瘍縮小率は、投与開始日から評価日までの腫瘍体積の減少を投与開始日の腫瘍体積に対する割合として示した。

結果を表 2.6.2.2.2.1-1 及び図 2.6.2.2.2.1-1 に示した。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ず、すべての投与量で投与開始日よりも腫瘍を縮小させた。

表 2.6.2.2.2.1-1 ヒト CRC 細胞株 COLO 205 移植マウスにおける腫瘍縮小率

投与物質	投与用量、投与回数	腫瘍体積変化 (mm^3)	ΔT/ΔC (%)	腫瘍縮小率 (%)
媒体	1 日 2 回	438	100	-
エンコラフェニブ	5 mg/kg、1 日 2 回	-18**	-	12
エンコラフェニブ	10 mg/kg、1 日 1 回	-36***	-	25
エンコラフェニブ	25 mg/kg、1 日 2 回	-69***	-	48
エンコラフェニブ	50 mg/kg、1 日 1 回	-50**	-	35
エンコラフェニブ	150 mg/kg、1 日 2 回	-71**	-	50
エンコラフェニブ	300 mg/kg、1 日 1 回	-80***	-	56
パクリタキセル	30 mg/kg、隔日、5 回	-81###	-	56

ΔC は、媒体投与マウスの投与開始日から最終評価日までの腫瘍体積変化（平均値）を示した。ΔT は、エンコラフェニブ又はパクリタキセル投与マウスの投与開始日から最終評価日までの腫瘍体積変化（平均値）を示した。腫瘍縮小率は、腫瘍体積の減少（-ΔT）を投与開始日の腫瘍体積に対する割合として示した。

** p<0.01、*** p<0.001：Kruskal-Wallis 検定後の媒体群に対する Dunn 検定

p<0.001：Mann-Whitney U 検定

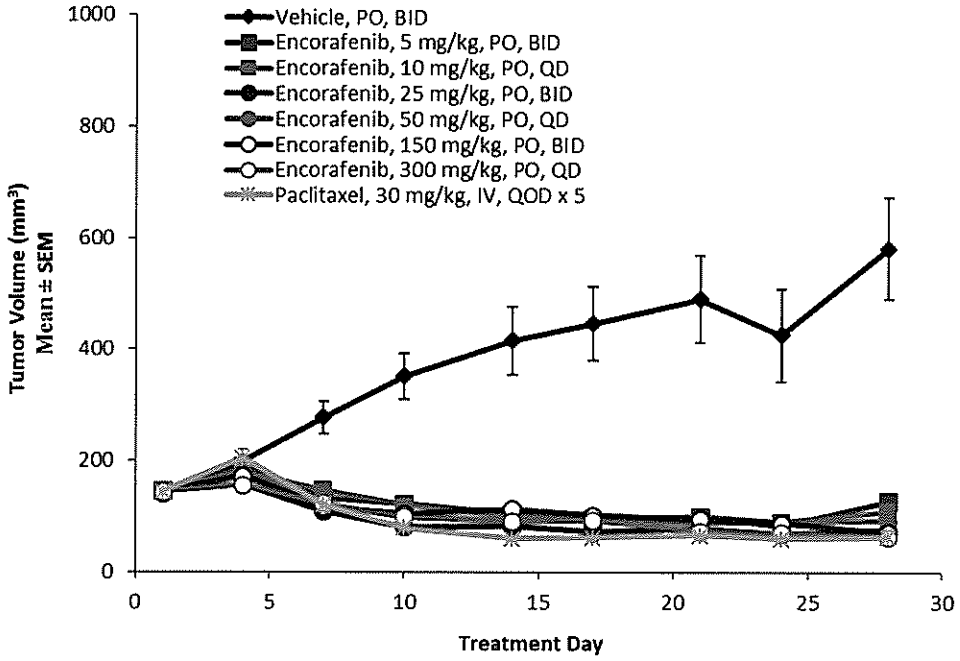


図 2.6.2.2.2.1-1　ヒト CRC 細胞株 COLO 205 移植マウスにおける抗腫瘍効果

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株 COLO 205 を雌性ヌードマウスの皮下に移植した。移植 8 日後から、エンコラフェニブを 28 日間反復投与した。パクリタキセルは隔日に 5 回、反復静脈内投与した。データは 10 例の平均値及び標準誤差を示した。

2.6.2.2.2.2　ヒト CRC 細胞株 LS411N 移植マウスにおける抗腫瘍効果

［評価資料：4.2.1.1-3］

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株 LS411N を用いたマウス異種移植モデルにおけるエンコラフェニブの抗腫瘍効果を検討した。

5×10^6 個の LS411N を雌性ヌードマウス（Crl:NU(Ncr)-Foxn1^{nu}）の皮下に移植し、7 日後に 1 群当たり 10 例を無作為に割り付けた。割り付け後、媒体あるいはエンコラフェニブを 5、25 及び 150 mg/kg で 1 日 2 回又は 10、50 及び 300 mg/kg で 1 日 1 回、28 日間反復投与した。一般状態観察及び体重測定を行うとともに、腫瘍体積を週に 2 回測定した。

結果を表 2.6.2.2.2.2-1 及び図 2.6.2.2.2.2-1 に示した。エンコラフェニブは 5 mg/kg 以上で 1 日 2 回投与することにより、腫瘍の増殖を抑制した。すべての群で一般状態及び体重推移に明らかな影響はみられなかった。

2.6.2 薬理試験の概要文
エンコラフェニブ mCRC

表 2.6.2.2.2.2-1　ヒト CRC 細胞株 LS411N 移植マウスにおける腫瘍体積変化

投与物質	投与用量、投与回数	腫瘍体積変化 (mm^3)	ΔT/ΔC (%)
媒体	1 日 2 回	1017	100
エンコラフェニブ	5 mg/kg、1 日 2 回	574*	56
エンコラフェニブ	10 mg/kg、1 日 1 回	787	77
エンコラフェニブ	25 mg/kg、1 日 2 回	490*	48
エンコラフェニブ	50 mg/kg、1 日 1 回	650	64
エンコラフェニブ	150 mg/kg、1 日 2 回	342**	34
エンコラフェニブ	300 mg/kg、1 日 1 回	705	69
パクリタキセル	30 mg/kg、隔日、5 回	54###	5

ΔC は、媒体投与マウスの投与開始日から最終評価日までの腫瘍体積変化（平均値）を示した。ΔT は、エンコラフェニブ又はパクリタキセル投与マウスの投与開始日から最終評価日までの腫瘍体積変化（平均値）を示した。

* $p<0.05$、** $p<0.01$：一元配置分散分析後の媒体群に対する Dunnett 検定

$p<0.001$：Welch 検定

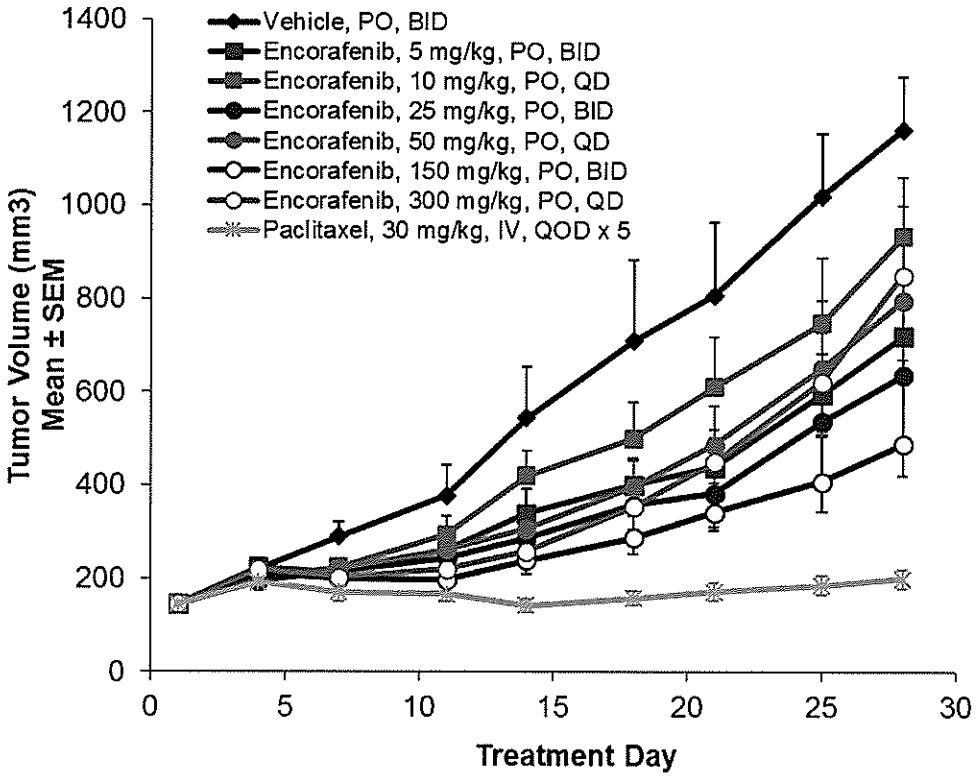


図 2.6.2.2.2.2-1　ヒト CRC 細胞株 LS411N 移植マウスにおける抗腫瘍効果

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株 LS411N を雌性ヌードマウスの皮下に移植した。移植 7 日後から、エンコラフェニブを 28 日間反復投与した。パクリタキセルは隔日に 5 回、反復静脈内投与した。データは 10 例の平均値及び標準誤差を示した。

2.6.2.2.2.3 ヒト CRC 細胞株 HT-29 移植マウスにおける抗腫瘍効果

［評価資料：4.2.1.1-4］

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株 HT-29 を用いたマウス異種移植モデルにおけるエンコラフェニブの抗腫瘍効果を検討した。

ドナーマウスより摘出した HT-29 腫瘍組織片（1 mm^3）を雌性ヌードマウス（nu/nu）の皮下に移植し、35 日後に 1 群当たり 8 例を無作為に割り付けた。割り付け後、媒体あるいはエンコラフェニブを 5 及び 50 mg/kg で 1 日 1 回、28 日間反復投与した。一般状態観察及び体重測定を行うとともに、腫瘍体積を週に 2 回測定した。

結果を表 2.6.2.2.2.3-1 及び図 2.6.2.2.2.3-1 に示した。エンコラフェニブはいずれの投与量でも腫瘍の増殖を抑制しなかった。すべての群で一般状態及び体重推移に明らかな影響はみられなかった。

表 2.6.2.2.2.3-1　ヒト CRC 細胞株 HT-29 移植マウスにおける腫瘍体積変化

投与物質	投与用量、投与回数	腫瘍体積変化（mm^3）	ΔT/ΔC（%）
媒体	1 日 1 回	562	100
エンコラフェニブ	5 mg/kg、1 日 1 回	584	104
エンコラフェニブ	50 mg/kg、1 日 1 回	422	75

ΔC は、媒体投与マウスの投与開始日から最終評価日までの腫瘍体積変化（平均値）を示した。ΔT は、エンコラフェニブ投与マウスの投与開始日から最終評価日までの腫瘍体積変化（平均値）を示した。

エンコラフェニブはいずれの投与量でも腫瘍体積を有意に（Kruskal-Wallis 検定後の媒体群に対する Dunn 検定）抑制しなかった。

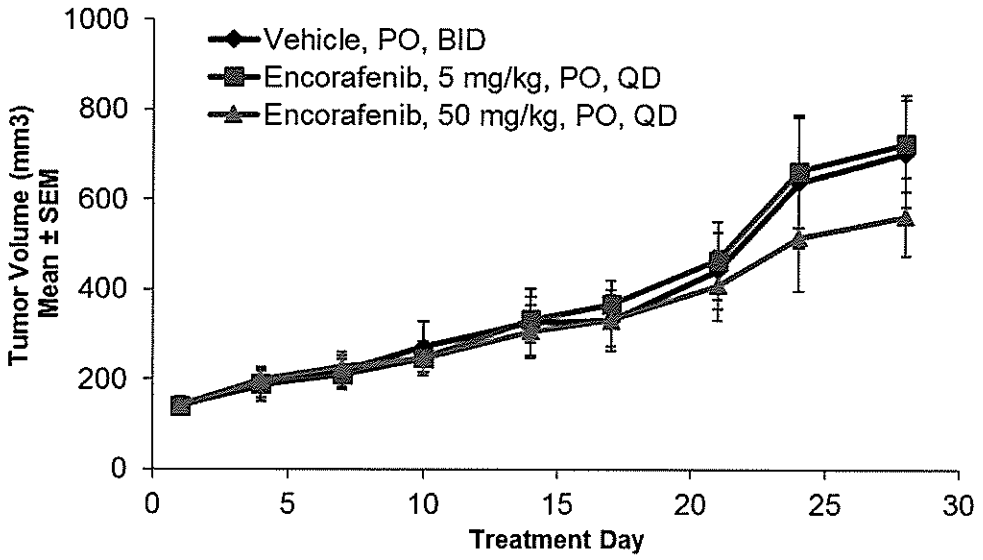


図 2.6.2.2.2.3-1　ヒト CRC 細胞株 HT-29 移植マウスにおける抗腫瘍効果

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株 HT-29 を雌性ヌードマウスの皮下に移植した。移植 35 日後から、エンコラフェニブを 28 日間反復投与した。データは 8 例の平均値及び標準誤差を示した。

2.6.2.2.3　　*In vitro* 試験（併用）

ヒト CRC 細胞株に対するエンコラフェニブとビニメチニブの 2 剤併用並びにエンコラフェニブとセツキシマブの 2 剤併用の増殖抑制作用を検討した。

2.6.2.2.3.1　　ヒト CRC 細胞株に対する増殖抑制作用（ビニメチニブとの併用）

［評価資料：4.2.1.1-5］

BRAF 変異の有無が確認されている 10 種類のヒト CRC 細胞株を用いて、エンコラフェニブとビニメチニブの併用による増殖抑制作用を検討した。

エンコラフェニブ及びビニメチニブを含む培地中で各細胞株を 72 時間培養した後、CellTiter-Glo アッセイ法により生細胞数を測定し、増殖抑制作用を評価した。単剤では IC_{50} 値が 1000 nmol/L 未満の結果を、増殖抑制作用を示すと定義した。Lehár らの報告 [1] を参考に SS 及び CI を算出し、表 2.6.2.2.3.1-1 に示すように、SS 及び CI の組み合わせにより併用効果を判定した。相乗又は相加／相乗と判定された結果を、顕著な併用効果を示すと定義した。

結果を表 2.6.2.2.3.1-2 に示した。エンコラフェニブ及びビニメチニブは、BRAF V600E 変異を有する 5 細胞株のうち、それぞれ 4 株に対して単剤で増殖抑制作用を示した。一方、エンコラフェニブは BRAF 野生型の 5 細胞株すべてに対して単剤で作用を示さず、ビニメチニブも 3 株で作用を示さなかった。エンコラフェニブとビニメチニブの併用効果は、検討した

すべての細胞株で確認された。このうち顕著な併用効果を示したのは 4 株で、すべて BRAF V600E 変異を有する株であった。

表 2.6.2.2.3.1-1　併用効果の判定基準

SS 及び CI の組み合わせ	併用効果
SS＞2.0、CI＜0.5	相乗
SS＞2.0、CI＞0.5	相加／相乗
1.0＜SS＜2.0、CI＜0.5	相加／相乗
SS＜1.0、CI＜0.5	相加
SS＜2.0、CI＞0.5	相加

表 2.6.2.2.3.1-2　ヒト CRC 細胞株に対する増殖抑制作用（併用）

細胞株名	エンコラフェニブ IC_{50}(nmol/L)	ビニメチニブ IC_{50}(nmol/L)	SS	CI	併用効果	BRAF 変異
OUMS23	>2700	>2700	0.17	nc	相加	V600E
SW1417	15.0	24.01	2.55	1.34	相加／相乗	V600E
COLO 205	3.7	15.71	2.05	1.05	相加／相乗	V600E
LS411N	3.6	19.42	2.01	0.89	相加／相乗	V600E
HT-29	4.1	32.00	3.32	1.43	相加／相乗	V600E
KM12	>2700	231.6	0.19	1.30	相加	なし
CW2	>2700	>2700	0.14	nc	相加	なし
NCIH716	>2700	>2700	0.93	nc	相加	なし
C2BBE1	>2700	>2700	0.50	0.63	相加	なし
SNUC1	>2700	10.2	0.35	2.23	相加	なし

nc, not calculated

2.6.2.2.3.2　ヒト CRC 細胞株に対する増殖抑制作用（セツキシマブとの併用）

［参考資料：4.2.1.1-6］

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株 HT-29 及び SW1417 を用いて、エンコラフェニブとセツキシマブの併用による増殖抑制作用を検討した。

エンコラフェニブ及びセツキシマブを含む培地中で各細胞株を 72 時間培養した後、CellTiter-Glo アッセイ法により生細胞数を測定し、増殖抑制作用を評価した。

結果を図 2.6.2.2.3.2-1 に示した。いずれの細胞株でも、エンコラフェニブの増殖抑制作用はセツキシマブ（50 nmol/L）存在下で増強した。

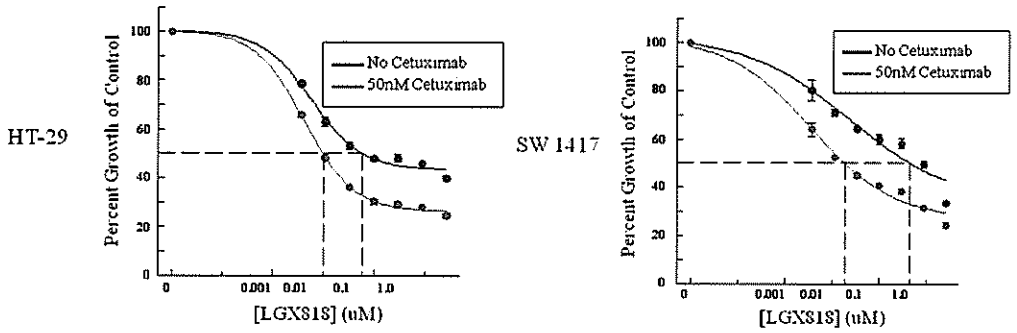


図 2.6.2.2.3.2-1　ヒト CRC 細胞株 HT-29 及び SW1417 に対する増殖抑制作用（併用）
エンコラフェニブ及びセツキシマブを含む培地中で、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株 HT-29 及び SW1417 を 72 時間培養した。CellTiter-Glo アッセイ法により生細胞数を測定した。データは 3 例の平均値及び標準偏差を示した。

2.6.2.2.4　*In vivo* 試験（併用）

エンコラフェニブとビニメチニブ及びセツキシマブ併用のマウス異種移植モデルにおける抗腫瘍効果を検討した。媒体には 0.5 vol%Tween 80 含有 1 w/v%CMC 溶液を用い、投与経路は経口とした。

2.6.2.2.4.1　ヒト CRC 細胞株 HT-29 移植マウスにおける抗腫瘍効果（ビニメチニブ及びセツキシマブとの併用）

［評価資料：4.2.1.1-7］

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株 HT-29 を用いたマウス異種移植モデルにおける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による抗腫瘍効果を検討した。

5×10^6 個の HT-29 を雌性ヌードマウス（HSD:Athymic Nude-Foxn1^{nu}）の皮下に移植し、22 日後に 1 群当たり 9 例を無作為に割り付けた。割り付け後、表 2.6.2.2.4.1-1 に示す被験化合物を 21 日間反復投与した。一般状態観察及び体重測定を行うとともに、腫瘍体積を週に 1～2 回測定した。

結果を表 2.6.2.2.4.1-1 及び図 2.6.2.2.4.1-1 に示した。それぞれの単剤投与及びエンコラフェニブとビニメチニブの 2 剤併用は腫瘍の増殖を抑制しなかったが、セツキシマブを含む併用は持続的に腫瘍の増殖を抑制した。特に、エンコラフェニブとビニメチニブとセツキシマブの 3 剤併用は投与開始日よりも腫瘍を縮小させた。なお、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。

表 2.6.2.2.4.1-1 ヒト CRC 細胞株 HT-29 移植マウスにおける腫瘍縮小率及び体重変化率（併用）

群	投与物質（投与用量、投与経路、投与回数）	ΔT/ΔC（%）	腫瘍縮小率（%）	体重変化率（%）
1	媒体（経口、1 日 2 回） コントロール IgG（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	100	-	-0.4±0.8
2	セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	95	-	2.3±1.5
3	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回）	42	-	0.6±1.2
4	ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回）	28	-	-0.5±1.3
5	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回） ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回）	22	-	0.8±1.2
6	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回） セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	6*	-	3.1±1.1
7	ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回） セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	5*	-	-0.2±2.1
8	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回） ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回） セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	-	14**	-1.1±1.5

ΔC は、媒体投与マウスの投与開始日から最終評価日までの腫瘍体積変化（平均値）を示した。ΔT は、各被験化合物投与マウスの投与開始日から最終評価日までの腫瘍体積変化（平均値）を示した。腫瘍縮小率は、腫瘍体積の減少（-ΔT）を投与開始日の腫瘍体積に対する割合として示した。体重変化率は、投与開始日から最終評価日までの体重変化を投与開始日の体重に対する割合（平均値及び標準誤差）として示した。

* $p<0.05$：一元配置分散分析後の媒体群及びセツキシマブ群に対する Dunn 検定

** $p<0.05$：一元配置分散分析後の媒体群、セツキシマブ群及びエンコラフェニブ群に対する Dunn 検定

2.6.2 薬理試験の概要文
エンコラフェニブ mCRC

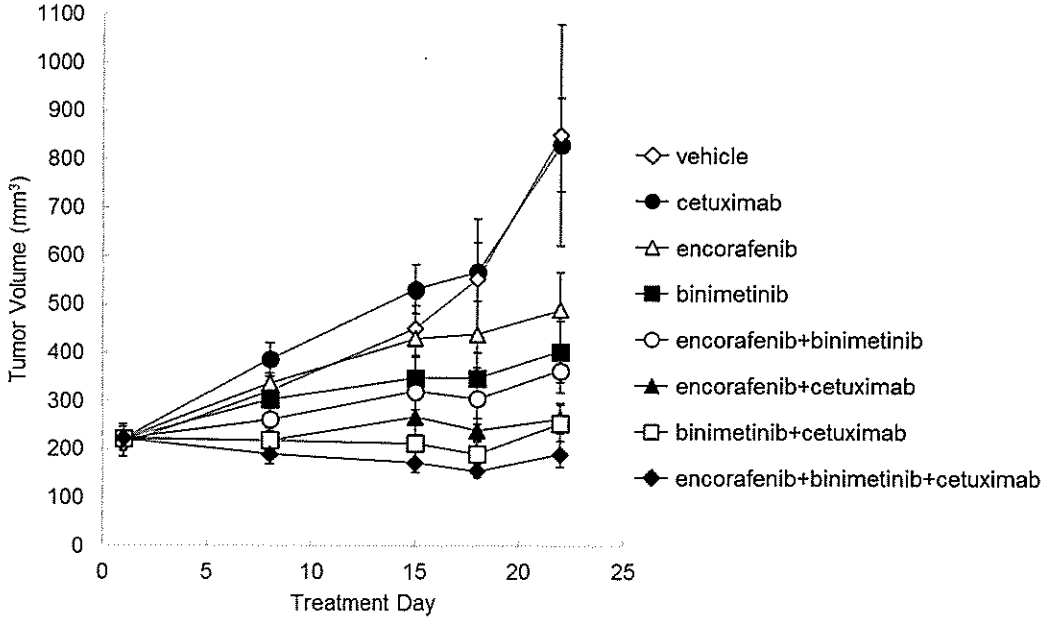


図 2.6.2.2.4.1-1　ヒト CRC 細胞株 HT-29 移植マウスにおける抗腫瘍効果（併用）
BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株 HT-29 を雌性ヌードマウスの皮下に移植した。移植 22 日後から、各被験化合物を 21 日間反復投与した。評価最終日までに除外規定を満たした媒体群（群 1）及びエンコラフェニブとセツキシマブの 2 剤併用群（群 6）の各 1 例を解析から除外した。データは 8（群 1 及び 6）又は 9 例（群 2～5、7 及び 8）の平均値及び標準誤差を示した。

2.6.2.2.4.2　ヒト CRC 由来細胞 CRC563 移植マウスにおける抗腫瘍効果（ビニメチニブ及びセツキシマブとの併用）

［評価資料：4.2.1.1-8］

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 由来細胞 CRC563 を用いた patient-derived xenograft モデルにおける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による抗腫瘍効果を検討した。

ドナーマウスより摘出した腫瘍組織片を雌性ヌードマウス（NCr nu/nu）の皮下に移植し、腫瘍が定着した時点で 1 群当たり 8 例を無作為に割り付けた。割り付け後、表 2.6.2.2.4.2-1 に示す被験化合物を 21 日間反復投与した。一般状態観察及び体重測定を行うとともに、腫瘍体積を週に 2 回測定した。TGI は、媒体群の腫瘍体積と被験化合物群の腫瘍体積との差を媒体群の腫瘍体積に対する割合として示した。

結果を表 2.6.2.2.4.2-1 及び図 2.6.2.2.4.2-1 に示した。エンコラフェニブ、ビニメチニブ及びセツキシマブ単剤の TGI は、それぞれ 45%、68%及び 0%であった。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（群 8）の抗腫瘍効果が最も顕著であり、TGI は 75%であった。なお、すべての群で体重減少がみられたが、媒体群（群 1）で最も顕著であ

り、被験化合物による影響ではないと考えられた。その他、一般状態に明らかな影響はみられなかった。

表 2.6.2.2.4.2-1　ヒト CRC 由来細胞 CRC563 移植マウスにおける TGI 及び体重変化率（併用）

群	投与物質（投与用量、投与経路、投与回数）	TGI（%）	体重変化率（%）
1	媒体（経口、1 日 2 回）	-	-19.7
2	ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回）	68	-11.3
3	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回）	45	-5.5
4	セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	0	-9.7
5	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回） ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回）	58	-10.6
6	ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回） セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	59	-8.9
7	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回） セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	43	-2.9
8	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回） ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回） セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	75	-3.3

TGI は、媒体群の腫瘍体積と被験化合物群の腫瘍体積との差を媒体群の腫瘍体積に対する割合（平均値）として示した。体重変化率は、投与開始日から最終評価日までの体重変化を投与開始日の体重に対する割合（平均値）として示した。

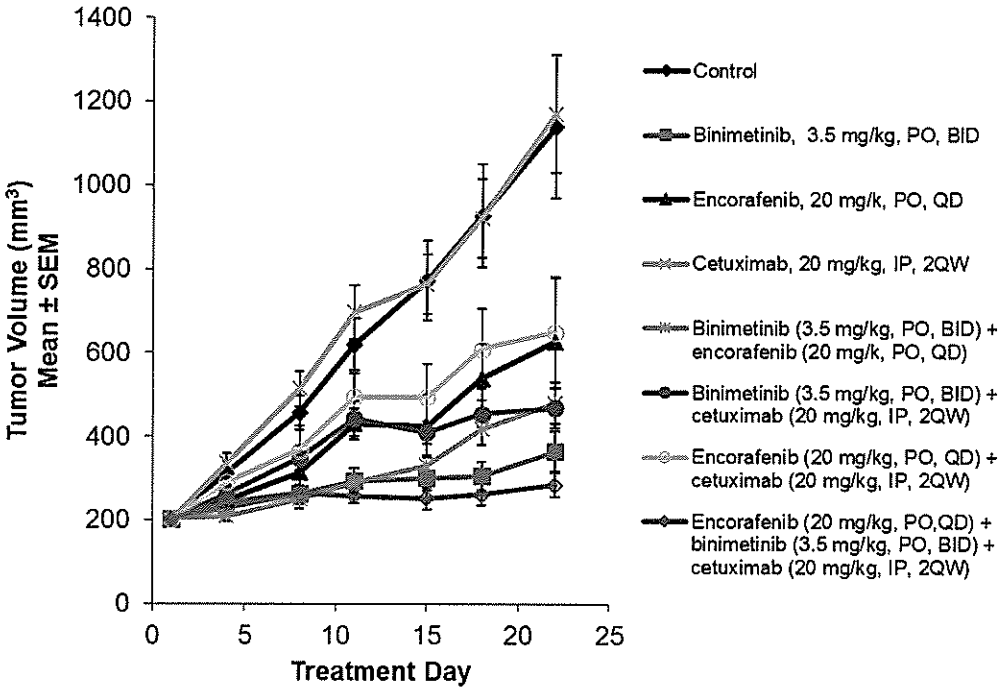


図 2.6.2.2.4.2-1　ヒト CRC 由来細胞 CRC563 移植マウスにおける抗腫瘍効果（併用）
BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 由来細胞 CRC563 を雌性ヌードマウスの皮下に移植した。腫瘍が定着した時点から、各被験化合物を 21 日間反復投与した。データは 8 例の平均値及び標準誤差を示した。

2.6.2.2.4.3　ヒト CRC 由来細胞 CRC769 移植マウスにおける抗腫瘍効果（ビニメチニブ及びセツキシマブとの併用）

［評価資料：4.2.1.1-9］

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 由来細胞 CRC769 を用いた patient-derived xenograft モデルにおける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による抗腫瘍効果を検討した。

ドナーマウスより摘出した腫瘍組織片を雌性ヌードマウス（NCr nu/nu）の皮下に移植し、腫瘍が定着した時点で 1 群当たり 8 例を無作為に割り付けた。割り付け後、表 2.6.2.2.4.3-1 に示す被験化合物を 21 日間反復投与した。一般状態観察及び体重測定を行うとともに、腫瘍体積を週に 2 回測定した。TGI は、媒体群の腫瘍体積と被験化合物群の腫瘍体積との差を媒体群の腫瘍体積に対する割合として示した。

結果を表 2.6.2.2.4.3-1 及び図 2.6.2.2.4.3-1 に示した。エンコラフェニブ、ビニメチニブ及びセツキシマブ単剤の TGI は、それぞれ 56%、43%及び 0%であった。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（群 8）の抗腫瘍効果が最も顕著であり、TGI は 80%であった。なお、すべての群で一般状態及び体重推移に明らかな影響はみられなかった。

表 2.6.2.2.4.3-1　ヒト CRC 由来細胞 CRC769 移植マウスにおける TGI 及び体重変化率（併用）

群	投与物質（投与用量、投与経路、投与回数）	TGI（%）	体重変化率（%）
1	媒体（経口、1 日 2 回）	-	-8.1
2	ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回）	43	-8.1
3	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回）	56	-3.8
4	セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	0	-5.5
5	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回） ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回）	76	-9.7
6	ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回） セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	48	-7.2
7	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回） セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	56	-5.4
8	エンコラフェニブ（20 mg/kg、経口、1 日 1 回） ビニメチニブ（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回） セツキシマブ（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回）	80	-6.2

TGI は、媒体群の腫瘍体積と被験化合物群の腫瘍体積との差を媒体群の腫瘍体積に対する割合（平均値）として示した。体重変化率は、投与開始日から最終評価日までの体重変化を投与開始日の体重に対する割合（平均値）として示した。

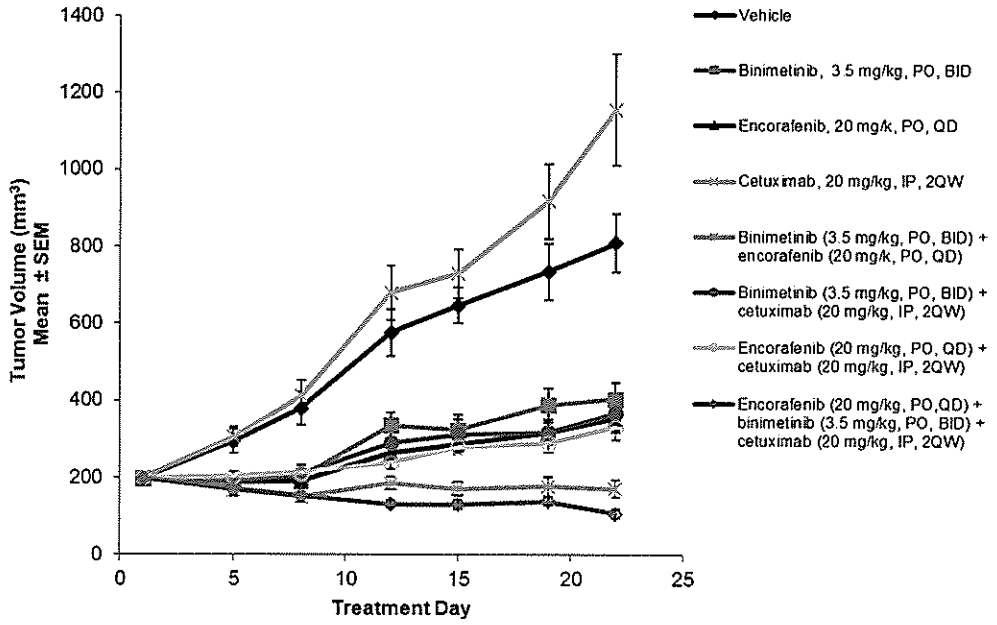


図 2.6.2.2.4.3-1　ヒト CRC 由来細胞 CRC769 移植マウスにおける抗腫瘍効果（併用）

2.6.2 薬理試験の概要文
エンコラフェニブ mCRC

BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 由来細胞 CRC769 を雌性ヌードマウスの皮下に移植した。腫瘍が定着した時点から、各被験化合物を 21 日間反復投与した。データは 8 例の平均値及び標準誤差を示した。

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.4 安全性薬理試験

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

以上、新たな該当資料なし。

2.6.2.6 考察及び結論

効力を裏付ける試験（単剤）

In vitro 試験では、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、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。

In vivo 試験では、エンコラフェニブは、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株を用いたマウス異種移植モデルにおいて、抗腫瘍効果を示した。効果の程度は 3 種類の細胞株で大きく異なり、COLO 205 細胞株を用いた検討ではすべての投与量で投与開始日よりも腫瘍を縮小させたのに対して、HT-29 細胞株を用いた検討では抗腫瘍効果が認められなかった。

HT-29 細胞株の 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[2) 3)]。BRAF V600E 変異を有する CRC 細胞では、悪性黒色腫細胞と比較して、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[2) 4) 5)]。すなわち、BRAF V600E 変異を有する CRC 細胞において、BRAF 阻害剤単剤及び BRAF 阻害剤と MEK 阻害剤の併用による MAP キナーゼ経路の抑制は一過的に留まるが、EGFR を阻害する薬剤との併用により持続的な抑制が可能となる[2) 4) 5)]。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[6) ~9)]、同変異を有する CRC に対する効果が不十分であった[5) 10)]。実際に、BRAF V600E 変異を有する CRC 患者由来組織では、活性化した EGFR が高頻度に検出される[2)]。

効力を裏付ける試験（併用）

In vitro 試験では、エンコラフェニブとビニメチニブの併用は、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株の増殖を単剤よりも低濃度から強力に抑制した。また、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞株に対するエンコラフェニブの増殖抑制作用は、セツキシマブ存在下で増強した。

In vivo 試験では、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抗腫瘍効果を示した。HT-29 細胞株を用いた検討では、エンコラフェニブ単剤が抗腫瘍効果を示さなかったのに対して、セツキシマブとの 2 剤併用は腫瘍増殖を抑制した。更に、ビニメチニブ及びセツキシマブとの 3 剤併用は投与開始日よりも腫瘍を縮小させた。

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、フィードバック機構による EGFR の活性化を抑制することで同経路の再活性化を阻止し、BRAF V600E 変異を有するヒト CRC 細胞の増殖を強力に抑制すると考えられた。

2.6.2.7 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

1) Lehár J, Krueger AS, Avery W, Heilbut AM, Johansen LM, Price ER, et al. Synergistic drug combinations tend to improve therapeutically relevant selectivity. Nat Biotechnol. 2009;27:659-66.

2) 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.

3) Herr R, Halbach S, Heizmann M, Busch H, Boerries M, Brummer T. BRAF inhibition upregulates a variety of receptor tyrosine kinases and their downstream effector Gab2 in colorectal cancer cell lines. Oncogene. 2018;37:1576-93.

4) 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.

5) 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.

6) 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.

7) 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.

8) 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.

9) 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.

10) 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.

2.6.3 薬理試験の概要表

小野薬品工業株式会社

目次

2.6.3 Pharmacology Tabulated Summary 3
2.6.3.1 Pharmacology: Overview 3
2.6.3.2 Primary Pharmacodynamics: Overview of the data 4
2.6.3.3 Secondary Pharmacodynamics: Overview of the data 7
2.6.3.4 Safety Pharmacology: Overview of the data 7
2.6.3.5 Pharmacodynamic Drug Interactions: Overview of the data 7

2.6.3 Pharmacology Tabulated Summary

2.6.3.1 Pharmacology: Overview

Test Article: Encorafenib; Internal code names: LGX818, NVP-LGX818-NX-10, NVP-LGX818-NX-11, NVP-LGX818-NX-12, LGX818-NX

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics					
各種ヒトがん細胞株に対する増殖抑制作用	各種ヒトがん細胞株（512 種類）	*In vitro*	Novartis Pharma.	RD-20[redacted]-50435	4.2.1.1-1
ヒト CRC 細胞株 COLO 205 移植マウスにおける抗腫瘍効果	細胞：ヒト CRC 細胞株 COLO 205 モデル：マウス皮下移植	経口	[redacted]	Colo205-e293	4.2.1.1-2
ヒト CRC 細胞株 LS411N 移植マウスにおける抗腫瘍効果	細胞：ヒト CRC 細胞株 LS411N モデル：マウス皮下移植	経口	[redacted]	LS411N-e202	4.2.1.1-3
ヒト CRC 細胞株 HT-29 移植マウスにおける抗腫瘍効果	細胞：ヒト CRC 細胞株 HT-29 モデル：マウス皮下移植	経口	[redacted]	HT-29-e375	4.2.1.1-4
Primary Pharmacodynamics (Combination with binimetinib/cetuximab)					
ヒト CRC 細胞株に対する増殖抑制作用（ビニメチニブ併用）	ヒト CRC 細胞株（10 種類）	*In vitro*	Novartis Pharma.	RD-20[redacted]-50576	4.2.1.1-5
ヒト CRC 細胞株に対する増殖抑制作用（セツキシマブ併用）	ヒト CRC 細胞株（2 種類）	*In vitro*	Novartis Pharma.	RD-20[redacted]-50088	4.2.1.1-6
ヒト CRC 細胞株 HT-29 移植マウスにおける抗腫瘍効果（ビニメチニブ及びセツキシマブ併用）	細胞：ヒト CRC 細胞株 HT-29 モデル：マウス皮下移植	経口	Novartis Pharma.	RD-20[redacted]-50350	4.2.1.1-7

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
ヒト CRC 由来細胞 CRC563 移植マウスにおける抗腫瘍効果（ビニメチニブ及びセツキシマブ併用）	細胞：ヒト CRC 由来細胞 CRC563 モデル：マウス皮下移植	経口	Array BioPharma Inc.	060304-1678	4.2.1.1-8
ヒト CRC 由来細胞 CRC769 移植マウスにおける抗腫瘍効果（ビニメチニブ及びセツキシマブ併用）	細胞：ヒト CRC 由来細胞 CRC769 モデル：マウス皮下移植	経口	Array BioPharma Inc.	060304-1681	4.2.1.1-9

2.6.3.2 Primary Pharmacodynamics: Overview of the data

Test Article: Encorafenib; Internal code names: LGX818, NVP-LGX818-NX-10, NVP-LGX818-NX-11, NVP-LGX818-NX-12, LGX818-NX

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Doses	Noteworthy Findings	Study Number
Primary Pharmacodynamics					
各種ヒトがん細胞株に対する増殖抑制作用	各種ヒトがん細胞株（512 種類）	*In vitro*	2.5 nmol/L～8 μ mol/L	エンコラフェニブは、BRAF V600 変異を有するがん細胞 38 株中の 28 株（74%）に対して増殖抑制作用を示した。このうち BRAF V600E 又は V600K 変異を有する CRC の 6 株中では 4 株に対して増殖抑制作用を示した。一方、野生型 BRAF を有する 455 細胞株中にエンコラフェニブが増殖抑制作用を示した株はほとんどなかった。	RD-20[redacted]-50435

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Doses	Noteworthy Findings	Study Number
ヒト CRC 細胞株 COLO 205 移植マウスにおける抗腫瘍効果	細胞：ヒト CRC 細胞株 COLO 205 モデル：マウス皮下移植	経口	5、25 及び 150 mg/kg（1 日 2 回、28 日間反復投与） 10、50 及び 300 mg/kg（1 日 1 回、28 日間反復投与）	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ず、すべての投与量で投与開始日よりも腫瘍を縮小させた。	Colo205-e293
ヒト CRC 細胞株 LS411N 移植マウスにおける抗腫瘍効果	細胞：ヒト CRC 細胞株 LS411N モデル：マウス皮下移植	経口	5、25 及び 150 mg/kg（1 日 2 回、28 日間反復投与） 10、50 及び 300 mg/kg（1 日 1 回、28 日間反復投与）	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ず、5 mg/kg 以上で 1 日 2 回投与することにより、腫瘍の増殖を抑制した。	LS411N-e202
ヒト CRC 細胞株 HT-29 移植マウスにおける抗腫瘍効果	細胞：ヒト CRC 細胞株 HT-29 モデル：マウス皮下移植	経口	5 及び 50 mg/kg（1 日 1 回、28 日間反復投与）	エンコラフェニブはいずれの投与量でも腫瘍の増殖を抑制しなかった。すべての群で一般状態及び体重推移に明らかな影響はみられなかった。	HT-29-e375
Primary Pharmacodynamics (Combination with binimetinib/cetuximab)					
ヒト CRC 細胞株に対する増殖抑制作用（ビニメチニブ併用）	ヒト CRC 細胞株（10 種類）	*In vitro*	エンコラフェニブ：0.037～2.7 μ mol/L ビニメチニブ：0.037～2.7 μ mol/L	エンコラフェニブとビニメチニブの併用効果は、検討したすべての細胞株で確認された。顕著な併用効果を示した 4 株は、すべて BRAF V600E 変異を有する株であった。	RD-20[redacted]-50576
ヒト CRC 細胞株に対する増殖抑制作用（セツキシマブ併用）	ヒト CRC 細胞株（2 種類）	*In vitro*	エンコラフェニブ：0.037～2.7 μ mol/L セツキシマブ：50 nmol/L	いずれの細胞株でも、エンコラフェニブの増殖抑制作用はセツキシマブ存在下で増強した。	RD-20[redacted]-50088

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Doses	Noteworthy Findings	Study Number
ヒト CRC 細胞株 HT-29 移植マウスにおける抗腫瘍効果（ビニメチニブ及びセツキシマブ併用）	細胞：ヒト CRC 細胞株 HT-29 モデル：マウス皮下移植	経口	エンコラフェニブ単剤（20 mg/kg、1 日 1 回、21 日間反復投与） ビニメチニブ単剤（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回、21 日間反復投与） セツキシマブ単剤（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回、3 週間反復投与） 上記の各 2 剤併用及び 3 剤併用	それぞれの単剤投与及びエンコラフェニブとビニメチニブの 2 剤併用は腫瘍の増殖を抑制しなかったが、セツキシマブを含む併用は持続的に腫瘍の増殖を抑制した。特に、エンコラフェニブとビニメチニブとセツキシマブの 3 剤併用は投与開始日よりも腫瘍を縮小させた。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。	RD-20[redacted]-50350
ヒト CRC 由来細胞 CRC563 移植マウスにおける抗腫瘍効果（ビニメチニブ及びセツキシマブ併用）	細胞：ヒト CRC 由来細胞 CRC563 モデル：マウス皮下移植	経口	エンコラフェニブ単剤（20 mg/kg、1 日 1 回、21 日間反復投与） ビニメチニブ単剤（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回、21 日間反復投与） セツキシマブ単剤（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回、3 週間反復投与） 上記の各 2 剤併用及び 3 剤併用	エンコラフェニブ、ビニメチニブ及びセツキシマブ単剤の TGI は、それぞれ 45%、68%及び 0%であった。3 剤併用の抗腫瘍効果が最も顕著であり、TGI は 75%であった。すべての群で体重減少がみられたが、被験化合物による影響ではないと考えられた。一般状態に明らかな影響はみられなかった。	060304-1678

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Doses	Noteworthy Findings	Study Number
ヒト CRC 由来細胞 CRC769 移植マウスにおける抗腫瘍効果（ビニメチニブ及びセツキシマブ併用）	細胞：ヒト CRC 由来細胞 CRC769 モデル：マウス皮下移植	経口	エンコラフェニブ単剤（20 mg/kg、1 日 1 回、21 日間反復投与） ビニメチニブ単剤（3.5 mg/kg、経口、1 日 2 回、21 日間反復投与） セツキシマブ単剤（20 mg/kg、腹腔内、週 2 回、3 週間反復投与） 上記の各 2 剤併用及び 3 剤併用	エンコラフェニブ、ビニメチニブ及びセツキシマブ単剤の TGI は、それぞれ 56%、43%及び 0%であった。3 剤併用の抗腫瘍効果が最も顕著であり、TGI は 80%であった。すべての群で一般状態及び体重推移に明らかな影響はみられなかった。	060304-1681

2.6.3.3 Secondary Pharmacodynamics: Overview of the data

2.6.3.4 Safety Pharmacology: Overview of the data

2.6.3.5 Pharmacodynamic Drug Interactions: Overview of the data

以上、新たな該当資料なし。