1 緒言

ダブラフェニブメシル酸塩（以下，ダブラフェニブ）は，BRAF の選択的阻害薬であり，アデノシン三リン酸（ATP）との競合阻害により，その作用を発揮する。本邦ではタフィンラー®の販売名で「BRAF 遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫」及び「BRAF 遺伝子変異を有する切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌」の効能・効果で承認を得ている。トラメチニブ ジメチルスルホキシド付加物（以下，トラメチニブ）は，MEK1/2（以下，MEK）の活性化及び同キナーゼ活性に対する選択的阻害薬である。本邦ではメキニスト®の販売名で「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・効果でダブラフェニブとの併用において承認を得ている。今回，BRAF 遺伝子変異を有する固形腫瘍患者においてダブラフェニブ及びトラメチニブの併用による有効性及び安全性が確認されたことから，その治療薬としての効能・効果追加の製造販売承認事項一部変更承認申請を行う。

種々のがん種において BRAF 遺伝子の変異が高頻度に認められており，その変異の多くは BRAF の立体構造の変化をもたらし，下流シグナルである MEK 及び ERK を活性化する。中でも最頻度に認められる V600 変異陽性の BRAF は，野生型と比較して高い活性を有しており，RAS の活性化に関係なく恒常的に MEK 及び ERK を活性化してがん細胞の増殖を促進すると考えられている。

既に承認を取得している BRAF 遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫及び BRAF V600E 遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌と同様にその他の固形腫瘍においても，ダブラフェニブとトラメチニブを併用し，MAPK 経路の BRAF 及び MEK を同時に阻害することで，抗腫瘍効果を示すと考えられる。

ダブラフェニブ及びトラメチニブの化学構造を Figure 1-1，Figure 1-2 に示す。

Figure 1-1　　ダブラフェニブメシル酸塩の構造式

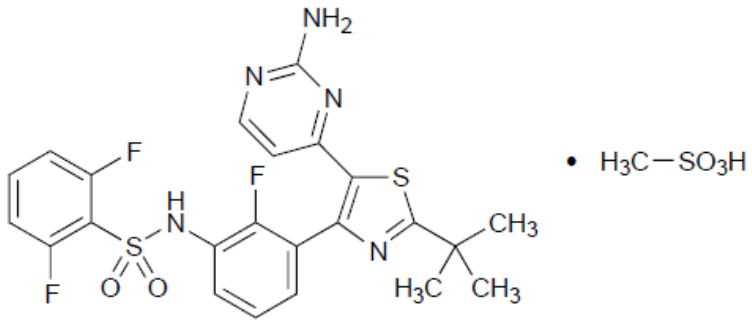
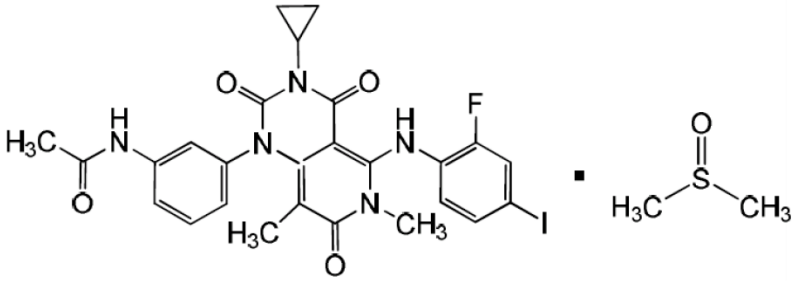


Figure 1-2　　トラメチニブ ジメチルスルホキシド付加物の構造式



目　次

目　次 2
図 一 覧 2
略号一覧 3
1 薬理試験の概要文 4
1.1 まとめ 4
2 効力を裏付ける試験 4
2.1 未分化甲状腺癌に対する効果 5
2.1.1 BRAF V600E 遺伝子変異陽性ヒト未分化甲状腺癌細胞に対する *in vitro* 作用 5
3 副次的薬理試験 6
4 安全性薬理試験 6
5 薬力学的薬物相互作用試験 6
6 考察及び結論 6
7 参考文献 7

図 一 覧

Figure 2-1 BRAF V600E 遺伝子変異陽性ヒト未分化甲状腺癌由来細胞株 8505C，8305C，及び B-CPAP に対するダブラフェニブ及びトラメチニブの増殖抑制作用（併用効果） 5
Figure 2-2 BRAF V600E 遺伝子変異陽性ヒト未分化甲状腺癌由来細胞株 8505C，8305C，及び B-CPAP に対するダブラフェニブ及びトラメチニブの MAPK 経路分子発現及びアポトーシスに及ぼす影響 6

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ARAF	A-Raf proto-oncogene serine/threonine kinase	—
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
BRAF	B-Raf proto-oncogene serine/threonine kinase	—
CRAF	C-Raf proto-oncogene serine/threonine kinase	—
ERK	extracellular signal-regulated kinase	—
MAPK	mitogen-activated protein kinase	—
MEK	mitogen-activated extracellular signal-related kinase	マイトジェン活性化細胞外シグナル関連キナーゼ
RAF	serine threonine-protein kinase activating downstream effectors involved in tumorigenesis	—
RAS	protein activating signaling cascades （promoting cell proliferation, neoplastic transformation and oncogenesis）	—

1 薬理試験の概要文

1.1 まとめ

ダブラフェニブメシル酸塩（以下，ダブラフェニブ）は，BRAF の選択的阻害薬であり，アデノシン三リン酸（ATP）との競合阻害により，その作用を発揮する。本邦ではタフィンラー®の販売名で「BRAF 遺伝子変異を有する悪性黒色腫」及び「BRAF 遺伝子変異を有する切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌」の効能・効果で承認を得ている。

トラメチニブジメチルスルホキシド付加物（以下，トラメチニブ）は，MEK1/2（以下，MEK）の活性化及び同キナーゼ活性に対する選択的阻害薬である。本邦ではメキニスト®の販売名で「BRAF 遺伝子変異を有する悪性黒色腫」及び「BRAF 遺伝子変異を有する切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌」の効能・効果でダブラフェニブとの併用において承認を得ている。

細胞増殖因子により，受容体型チロシンキナーゼが刺激されると，RAS，続いて RAF，MEK1/2 さらに ERK1/2（MAPK シグナル伝達経路）が活性化される。RAF には 3 種類のサブタイプ（ARAF，BRAF，及び CRAF）が知られており，ホモ又はヘテロ二量体を形成して，下流に位置する MEK1/2 の 2 つのセリン残基をリン酸化する。MEK1/2 は，セリン／スレオニンキナーゼであり，RAF により活性化した MEK1/2 は，ERK1/2 のスレオニン及びセリン残基をリン酸化する。リン酸化 ERK は核内へ移行し，細胞周期及び細胞増殖関連遺伝子の転写を制御することにより，細胞の成長，増殖や生存を調節する（Cargnello and Roux 2011，Lito et al. 2013）。

種々のがん種において BRAF 遺伝子の変異が高頻度に認められており，その変異の多くは BRAF の立体構造の変化をもたらし，下流シグナルである MEK 及び ERK を活性化する。中でも最頻度に認められる V600 変異陽性の BRAF は，野生型と比較して高いキナーゼ活性を持つことが報告されており（Wan et al. 2004），RAS の活性化に関係なく恒常的に MEK 及び ERK を活性化してがん細胞の増殖を促進すると考えられている。

既に承認を取得している BRAF 遺伝子変異を有する悪性黒色腫及び切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌と同様に BRAF 遺伝子変異を有するその他の固形腫瘍においても，ダブラフェニブとトラメチニブを併用し，MAPK 経路の BRAF 及び MEK を同時に阻害することで，抗腫瘍効果を示すと考えられる。

2 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験では，未分化甲状腺癌に対するダブラフェニブ及びトラメチニブ併用での作用を記載する。

2.1 未分化甲状腺癌に対する効果

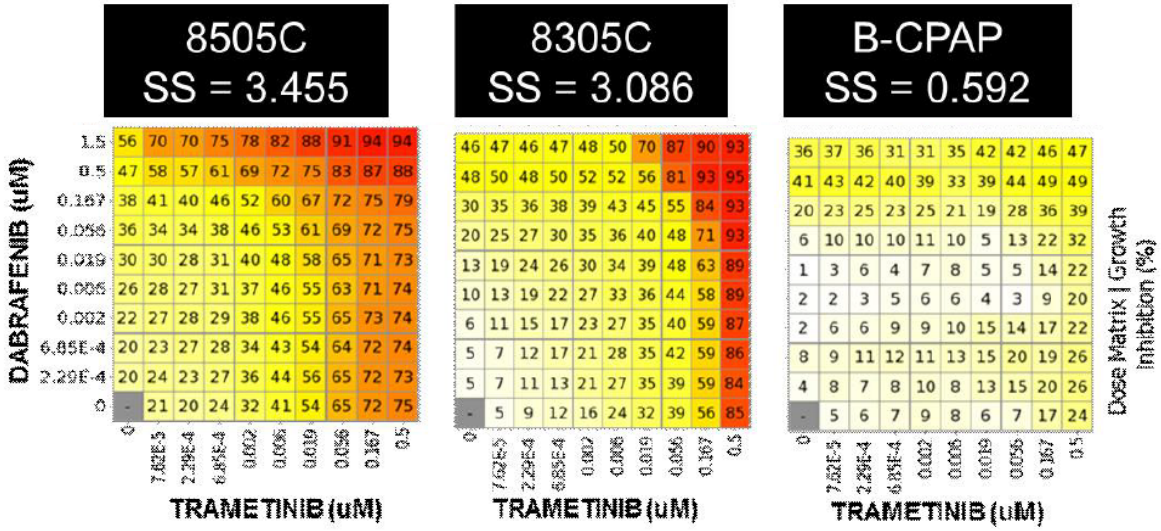
2.1.1 BRAF V600E 遺伝子変異陽性ヒト未分化甲状腺癌細胞に対する *in vitro* 作用

未分化甲状腺癌に対するダブラフェニブ及びトラメチニブの抗腫瘍効果を，BRAF V600E 遺伝子変異陽性のヒト未分化甲状腺癌細胞株である 8505C，8305C，及び B-CPAP を用いて *in vitro* で検討した。

ダブラフェニブ及びトラメチニブは，いずれも単独で 8505C 及び 8305C に対して増殖抑制作用を示した。ダブラフェニブ及びトラメチニブの併用時には，より強い増殖抑制作用が認められた。B-CPAP に対しては，ダブラフェニブにより増殖抑制作用がみられた一方で，トラメチニブによる増殖抑制作用は認められず，ダブラフェニブ及びトラメチニブの併用による増殖抑制作用の増大はみられなかった（Figure 2-1）。

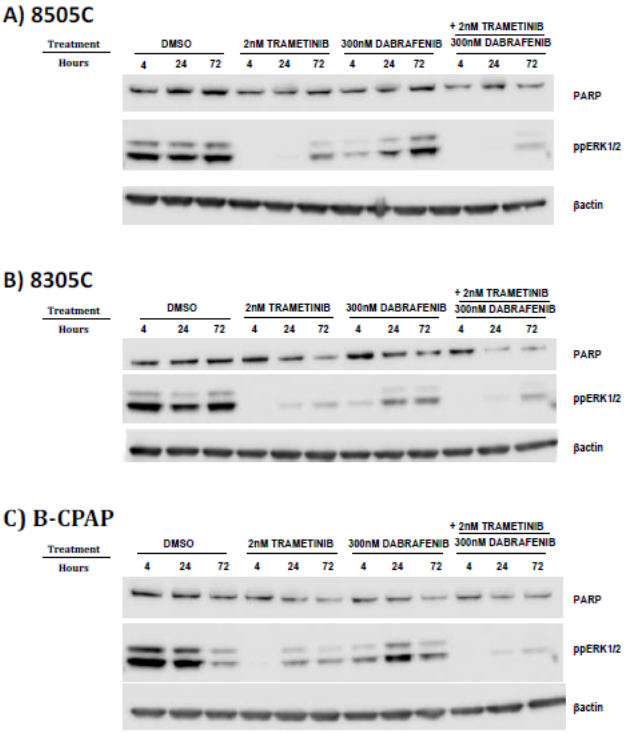
ダブラフェニブ及びトラメチニブは，いずれも単独で 8505C 及び 8305C に対して，MAPK 経路の ERK のリン酸化を抑制した。ダブラフェニブ及びトラメチニブの併用時には，より持続的なリン酸化抑制作用が認められた。特に 8305C に対しては，併用によりアポトーシス誘導の指標である完全長 PARP の減少がみられた。また，ダブラフェニブ及びトラメチニブの併用により，B-CPAP に対して各々を単独で用いた場合と比較して ERK のリン酸化を抑制したが，完全長 PARP 発現における併用効果はみられなかった（Figure 2-2）。

Figure 2-1 BRAF V600E 遺伝子変異陽性ヒト未分化甲状腺癌由来細胞株 8505C，8305C，及び B-CPAP に対するダブラフェニブ及びトラメチニブの増殖抑制作用（併用効果）



8505C，8305C，及び B-CPAP 細胞株において各濃度のダブラフェニブ及びトラメチニブを添加し，添加直後（Day 0）及び 144 時間培養後に，CellTiter-Glo アッセイにより生細胞数を計測した。Day 0 での生細胞数との比較で調整後，溶媒（DMSO）群を比較対照とした。

Figure 2-2 **BRAF V600E 遺伝子変異陽性ヒト未分化甲状腺癌由来細胞株 8505C，8305C，及び B-CPAP に対するダブラフェニブ及びトラメチニブの MAPK 経路分子発現及びアポトーシスに及ぼす影響**



ダブラフェニブ（300 nM）及びトラメチニブ（2 nM）の単独及び併用において 8505C，8305C，及び B-CPAP 細胞株を 4，24，72 時間培養した。ウエスタンブロット法によりリン酸化 ERK 及び PARP のタンパク レベルを測定した。

3 副次的薬理試験

該当資料なし。

4 安全性薬理試験

該当資料なし。

5 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし。

6 考察及び結論

BRAF V600E 遺伝子変異陽性のヒト未分化甲状腺癌細胞株を用いた検討の結果，ダブラフェニブとトラメチニブの併用による増殖抑制効果が認められ，MAPK 経路の抑制，及びアポトーシス関連分子の変化が確認された。

以上の結果から，ダブラフェニブとトラメチニブを併用し，MAPK 経路の BRAF 及び MEK を同時に阻害することで，未分化甲状腺癌に対して優れた効果を示すと考えられ，BRAF 遺伝子変異を有するその他の固形腫瘍においても抗腫瘍効果を示すことが期待される。

7 参考文献

[Cargnello M and Roux PP (2011)] Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. Microbiol Mol Biol Rev; 75(1):50-83.

[Lito P, Rosen N, Solit DB (2013)] Tumor adaptation and resistance to RAF inhibitors. Nat Med; 19(11):1401-9.

[Wan PTC, Garnett MJ, Roe SM, et al. (2004)] Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. Cell; 116(6):855-67.

目　次

目　次 2
略号一覧 3
2.6.3.1　薬理試験一覧表 4
2.6.3.2　薬効を裏付ける試験 5
2.6.3.3　副次的薬理試験 5
2.6.3.4　安全性薬理試験 5
2.6.3.5　薬力学薬物相互作用試験 5

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
BRAF	B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase	—

2.6.3.1 薬理試験一覧表

Type of study	Test system or protocol	Method of administration	Test facility	Report number	Location in CTD
効力を裏付ける試験					
>*In vitro* 薬理試験					
In vitro assessment of sensitivity of several BRAF-mutant anaplastic thyroid cancer cell line models to combined dabrafenib and trametinib	BRAF-mutant cell lines 8305C, 8505C, and B-CPAP which harbor the $BRAF^{V600E}$ mutation	*In vitro*	Novartis, USA	[RD-2017-00062]	4.2.1.1-1

2.6.3.2　薬効を裏付ける試験

2.6.3.1 に記載

2.6.3.3　副次的薬理試験

該当試験なし

2.6.3.4　安全性薬理試験

該当試験なし

2.6.3.5　薬力学薬物相互作用試験

該当試験なし