TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 3
LIST OF FIGURES 3
本項で使用する用語・略号 4
1. 非臨床試験計画概略 7
2. 薬理試験 10
2.1. 効力を裏付ける試験 10
2.1.1. In vitro 10
2.1.1.1. PARP に対するタラゾパリブの選択性および阻害能 10
2.1.1.2. DNA 修復経路に関連する遺伝子の欠損を有する細胞株に対するタラゾパリブの細胞傷害作用 11
2.1.1.3. 前立腺癌細胞株に対するタラゾパリブの細胞傷害作用 12
2.1.1.4. PARP トラッピングに対するタラゾパリブの作用 13
2.1.1.5. ヒト前立腺癌細胞株 DU145 の DNA 損傷応答に対するタラゾパリブの作用 14
2.1.2. In vivo 16
2.1.2.1. 乳癌異種移植モデルにおけるタラゾパリブまたはカルボプラチンの抗腫瘍活性の比較 16
2.1.2.2. 前立腺癌異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性 16
2.1.2.3. 乳癌 PDX モデルを用いたタラゾパリブの抗腫瘍活性および薬物動態学的解析 16
2.2. 副次的薬理試験 17
2.3. 安全性薬理試験 18
2.4. 薬力学的薬物相互作用 19
3. 薬物動態試験 19
3.1. 分析法 19
3.2. 吸収 20
3.2.1. 単回投与 20
3.2.2. 反復投与（トキシコキネティクス） 20
3.2.3. In vitro 20
3.3. 分布 21
3.3.1. マウス脳への移行 21
3.3.2. 組織移行 21

3.3.3. 血漿蛋白結合および血球移行 21
3.4. 代謝（動物種間の比較） 22
3.4.1. In vivo 22
3.4.2. In vitro 23
3.5. 排泄 23
3.5.1. In vivo 23
3.5.2. In vitro 24
3.6. 薬物動態学的薬物相互作用 24
4. 毒性試験 25
4.1. 単回投与毒性 27
4.2. 反復投与毒性 27
4.3. 遺伝毒性試験 29
4.4. がん原性 30
4.5. 生殖発生毒性 30
4.6. 局所刺激性試験 30
4.7. その他の毒性試験 30
4.7.1. 光毒性試験 30
4.7.2. 抗原性 30
4.7.3. 免疫毒性 31
4.7.4. 毒性発現機序 31
4.7.4.1. 遺伝毒性機序検討試験 31
4.7.4.2. 骨髄抑制機序検討試験 31
4.7.5. 依存性 31
4.7.6. 代謝物 32
4.7.7. 不純物 32
4.8. 認められた所見と薬物動態の関連 32
4.9. 標的臓器毒性 37
4.9.1. リンパ造血系 38
4.9.2. 消化管 39
4.9.3. 雄性生殖器 39
4.9.4. 肝臓 39
4.9.5. 雌性生殖器 40

4.9.6. 発生毒性 40
4.9.7. 遺伝毒性 40
4.9.8. 標的臓器毒性まとめ 40
5. 総括及び結論 41
6. 参考文献 43

LIST OF TABLES

Table 1. 酵素アッセイにおける PARP 阻害の選択性 11
Table 2. タラゾパリブの細胞傷害作用 12
Table 3. 前立腺癌細胞株に対するタラゾパリブの細胞傷害作用 13
Table 4. 乳癌細胞株にタラゾパリブと 0.01% MMS を添加したときの細胞傷害作用，PAR 化阻害濃度および PARP トラッピング能の上昇比 14
Table 5. 添加 24 時間後の ACC 値 15
Table 6. 乳癌 PDX モデルに対するタラゾパリブの抗腫瘍活性 17
Table 7. タラゾパリブの安全性薬理試験の概要 18
Table 8. タラゾパリブの毒性試験一覧 25
Table 9. 主な所見が認められたときのタラゾパリブの曝露量 32

LIST OF FIGURES

Figure 1. タラゾパリブトシル酸塩の化学構造式 7
Figure 2. PARP 阻害薬の 2 つの細胞傷害性機序 10
Figure 3. タラゾパリブのラット，イヌおよびヒトにおける血漿中代謝物 23

本項で使用する用語・略号

略号，用語	省略していない表現または定義
ACC	activity concentration at cut-off：活性濃度のカットオフ値
ADP	adenosine diphosphate：アデノシン二リン酸
ALP	alkaline phospahatase：アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransfearase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AR	androgen receptor：アンドロゲン受容体
AST	aspartate aminotrasnsferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATM	ataxia telangiectasia mutated：毛細血管拡張性運動失調症変異
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{24}	area under the plasma concentration-time curve from zero to 24 hours： 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_t	area under the plasma concentration-time curve from zero to t hours：0 時間から t 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein：乳癌耐性蛋白質
BER	base excision repair：塩基除去修復
BRCA	breast cancer gene：乳癌感受性遺伝子
BSA	bovine serum albumin：ウシ血清アルブミン
BSEP	bile salt export pump
C_{av}	average concentration：平均血漿中濃度
C_b/C_p	ratio of drug concentration in blood/plasma：血液/血漿中濃度比
CC3	cleaved caspase 3：切断型カスパーゼ 3
CFR	Code of Federal Regulation：連邦規則集
CL_{tot}	total systemic clearance：全身クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CMC	carboxymethyl cellulose：カルボキシメチルセルロース
C_{min}	minimum plasma concentration：最低血漿中濃度
CYP	cytochrome P450
DDR	DNA damage response：DNA 損傷応答
DMAC	dimethylethanamide：ジメチルアセトアミド
DMSO	dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
DNA	deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
DPBS	Dulbecco’s Phosphate Buffered Saline：ダルベッコ リン酸緩衝衝生理食塩水
dsDNA	double-stranded DNA：二本鎖 DNA
EMA	European Medicines Agency：欧州医薬品庁
FA	fanconi anemia：ファンコニ貧血
FACS	florescence activating cell sorting：蛍光活性化セルソーティング
FANC	fanconi anemia complementation group：ファンコニ貧血相補群
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
FEN	flap endonuclease：フラップエンドヌクレアーゼ
f_u	fraction unbound：非結合型分率
γH2AX	H2A histone family, member X, gamma subunit：H2A ヒストンファミリーmember X, γサブユニット
GALT	gut-associated lymphoid tissue：腸管関連リンパ組織
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
HEK	human embryonic kidney：ヒト胎児由来腎臓
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid

略号，用語	省略していない表現または定義
HER2	human epidermal growth factor receptor 2：ヒト上皮増殖因子受容体 2
hERG	human ether-à-go-go-related gene：ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HNSTD	highest non-severely toxic dose：重篤な毒性が発現しない最大投与量
HPLC	High performance liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィ
HR	homologous recombination：相同組換え
IC_{50}	50% inhibitive concentration：50%阻害濃度
IC_{90}	90% inhibitive concentration：90%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
LOAEL	lowest observed adverse effect level：最小毒性量
MATE	multidrug and toxin extrusion
MCF	mean channel fluorescence：平均蛍光強度
MHLW	Ministry of Health, Labour and Welfare：厚生労働省
MMS	methyl methane sulfonate：メチルメタンスルホン酸
MLH-1	MutL protein homolog 1：MutL ホモログ 1
mRNA	messenger ribonucleic acid：メッセンジャーRNA
MS/MS	tandem mass spectrometry：タンデム質量分析法
MTD	Maximum human exposure：最大耐量
NAD^+	nicotinamide adenine dinucleotide：ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
NBN	nibrin
NOAEL	no observed adverse effect level：無毒性量
NOEL	no observed effect level：無作用量
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
PALB2	partner and localizer of BRCA2
PAR	poly(ADP-ribose)：ポリ（ADP-リボース）
PAR 化	poly-ADP-ribosylation：ポリ ADP-リボシル化
PARP	poly(ADP-ribose) polymerase：ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ
PBS	Phosphate buffered salts：リン酸緩衝生理食塩水
PCNA	Proliferating Cell Nuclear Antigen：増殖細胞核抗原
PDX	patient-derived xenograft：患者由来異種移植片
P-gp	P-glycoprotein：P-糖蛋白質
PK	pharmacokinetics：薬物動態
POLB	DNA Polymerase β：DNA ポリメラーゼβ
PTEN	phosphatase and tensin homolog：ホスファターゼ・テンシンホモログ
QD	quaque die：1 日 1 回
SMCC	silicified microcrystalline cellulose：ケイ酸処理結晶セルロース
SSB	single strand break：一本鎖切断
ssDNA	single-stranded DNA：一本鎖 DNA
STD_{10}	severely toxic dose in 10% of the animals：供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する投与量
$t_{½}$	apparent terminal elimination half-life：終末相の見かけの消失半減期
T/C%	percent ratio between the mean tumor volume of the treated group and the mean tumor volume of the control group：投与群と対照群の腫瘍体積比
TGI	tumor growth inhibition：腫瘍増殖抑制

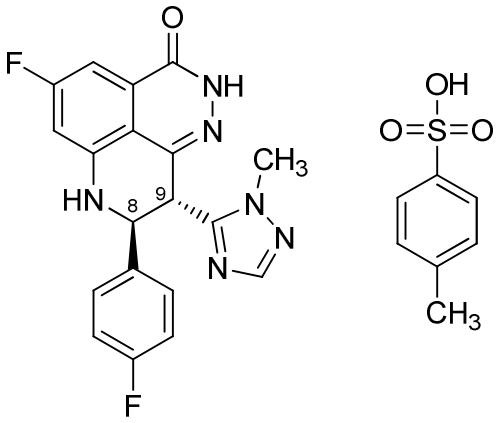
略号，用語	省略していない表現または定義
TFS	tumor-free survival：試験終了時に完全退縮が認められた動物数
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス
TNKS	tankyrase：タンキラーゼ
UGT	uridine diphosphate glucuronosyl transferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
UV	ultraviolet light：紫外線
V_{ss}	volume of distribution at steady state：定常状態における分布容積
XRCC	X-ray Repair Cross Complementing Protein 1：X 線修復交差補完タンパク質

1. 非臨床試験計画概略

タラゾパリブ（開発番号：PF-06944076，化学名：(8*S*,9*R*)-5-Fluoro-8-(4-fluorophenyl)-9-(1-methyl-1*H*-1,2,4-triazol-5-yl)2,7,8,9-tetrahydro-3*H*-pyrido[4,3,2-*de*]phthalazin-3-one 4-methylbenzenesulfonate (1:1)）は，強力かつ経口投与可能な低分子ポリ［アデノシン二リン酸（ADP）-リボース］ポリメラーゼ（PARP）阻害薬で，Pfizer 社により BRCA 遺伝子変異陽性かつ HER2 陰性の手術不能または再発乳癌，および DNA 損傷応答（DDR）遺伝子変異の有無によらない去勢抵抗性前立腺癌を含む種々の固形癌の治療薬として開発中である（Figure 1）。

タラゾパリブは，4-メチルベンゼンスルホン酸（トシル酸）塩として供給される。医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）非適用の反復投与毒性試験でタラゾパリブ遊離塩基を用いたことを除いて，すべての毒性試験でタラゾパリブトシル酸塩を使用した。また，in vivo 薬理試験および薬物動態試験の一部で，タラゾパリブトシル酸塩を用いた。なお，ラットおよびイヌにタラゾパリブの遊離塩基または臨床試験で使用されたトシル酸塩の遊離塩基相当量を経口投与したとき，タラゾパリブの曝露量はいずれの場合も同等であった。特記ない限り，非臨床概要におけるタラゾパリブの濃度および用量は，遊離塩基相当量で表記した。臨床試験においても市販製剤と同一のタラゾパリブトシル酸塩製剤を用いた。

Figure 1.　タラゾパリブトシル酸塩の化学構造式



PARP 阻害薬は 2 つの機序，すなわち（1）PARP 触媒活性の阻害（PAR 化の阻害を含む）による DNA 修復阻害，および（2）PARP トラッピング（PARP 阻害薬に結合した PARP タンパク質が DNA 損傷部位から解離しにくくなり，DNA の修復，複製および転写が妨げられる）によって，癌細胞に対する細胞傷害作用を発揮する。PARP 阻害薬の作用は最終的にアポトーシスまたは細胞死を引き起こす[1,2,3]。

PARP によりヒストンタンパク質に転移される ADP リボースポリマーへと取り込まれるビオチン標識ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD^+）を指標とした生化学的試験により，13 種類の PARP パネルに対するタラゾパリブの阻害能を評価した。DNA 修復経路に関連する遺伝子の欠損を有するヒト癌細胞株，および DNA 修復関連の変異が報告されていない細胞株を用いて，タラゾパリブの細胞傷害作用を評価した。メチルメタンスルホン酸［MMS：DNA の一本鎖（ssDNA）切断を誘発し，PARP トラッピングを促進する DNA アルキル化薬］を用いてヒト前立腺癌 DU145 細胞株を処理したときの，損傷 DNA 中のクロマチンと結合した PARP1 および

PARP2 のレベルを指標として，タラゾパリブが PARP トラッピングに及ぼす影響を評価した。DU145 細胞を用いて DDR に関する種々のパラメータを分析し，タラゾパリブの薬理作用をさらに検討した。すなわち，フローサイトメトリーを用い，二本鎖 DNA（dsDNA）切断（γH2AX），細胞周期分布（ヨウ化プロピジウム染色），アポトーシスのシグナル伝達カスケード（CC3）および細胞増殖（細胞増殖の変化率を対照群と比較）を評価した。

In vivo では，乳癌 PDX モデルを用いて，タラゾパリブとカルボプラチンの抗腫瘍活性を比較した。また，前立腺癌異種移植モデルを用いて，タラゾパリブ単独投与による抗腫瘍活性を評価した。さらに，5 種類のトリプルネガティブ乳癌異種移植モデルを用いて，タラゾパリブ単独投与による抗腫瘍活性を評価した。併せて投与最終日の投与前後に血漿試料を採取し PK 解析を実施した。

なお，DDR 遺伝子変異の有無によらない去勢抵抗性前立腺癌に対してはエンザルタミドとの併用投与を予定している。タラゾパリブとエンザルタミドを併用した非臨床試験は実施していないが，文献情報に基づくとこれらの併用投与は相同組換え修復遺伝子変異の有無に関わらず，去勢抵抗性前立腺癌に対する治療選択肢となり得ると考える。PARP 阻害薬とアンドロゲン受容体（AR）シグナル伝達経路阻害薬の併用投与が有益である根拠としては，非臨床モデルおよび臨床検体より得られた結果から以下の 3 つが考えられる。①AR シグナル伝達経路阻害により BRCA1 などの相同組換え修復遺伝子の発現が抑制され（BRCAness），PARP 阻害薬の感受性が高まる[4,5]。②PARP1 活性は AR が最大限に機能するために必要であることが報告されており，PARP を阻害することによって AR シグナル伝達が抑制され，AR 阻害薬に対する感受性が高まると予想される[6]。③AR 阻害に対する臨床的耐性および網膜芽細胞腫（Rb）1/BRCA2 の共欠失が関連する場合があり，ひいては PARP 阻害に対する感受性が生じる[7]。

副次的薬理試験では，72 種類の受容体，酵素およびイオンチャネルに対するタラゾパリブ（10 μmol/L）のオフターゲット作用を in vitro で評価した。

安全性薬理試験では，タラゾパリブの心血管系，呼吸系および中枢神経系への影響を評価した。これらの試験はいずれも GLP に準拠して実施した。また，イヌを用いた最長 13 週間の GLP 適用反復投与毒性試験に心電図評価を追加し，タラゾパリブが心血管系に及ぼす影響を in vivo でさらに評価した。

タラゾパリブの吸収，分布，代謝および排泄の特性を明らかにするために，種々の in vivo および in vitro 試験を実施して評価した。In vivo 試験は主として毒性試験で使用した動物種であるラットおよびイヌを用いて検討し，血漿中濃度推移および中枢移行の検討にはマウスも用いた。投与経路は，静脈内または臨床投与経路である経口投与とした。タラゾパリブは遊離塩基または臨床試験で使用されたトシル酸塩として投与し，用量は遊離塩基相当量に換算して表記した。吸収，代謝および薬物トランスポーターに関する検討には目的に応じた in vitro 試験系を用いた。分布，代謝および排泄の検討には[^{14}C]タラゾパリブも使用した。血漿中のタラゾパリブ濃度の定量には高速液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析法（HPLC/MS/MS）を用いた。

タラゾパリブは 2 つの不斉炭素を有する。In vivo 試験では，ラットおよびヒトにおいてエナンチオマーまたは 2 種のシス異性体への生体内変換は認められなかった。このことから，非臨床および臨床におけるタラゾパリブの定量方法として，キラル分離法を用いなかった。

血漿蛋白結合率は，マウス，ラット，イヌ，サルおよびヒト血漿を用いて平衡透析により測定した。組織分布は，アルビノ Sprague Dawley ラットおよび有色 Long Evans ラットに [^{14}C]タラゾパリブを経口投与し，定量全身オートラジオグラフィーで評価した。 Mdr1a/b-Bcrp トリプルノックアウトマウスを用いてタラゾパリブの脳組織への分布を評価し，野生型マウスと比較した。

ラット，イヌおよびヒトの肝ミクロソームまたは肝細胞と[^{14}C]タラゾパリブをインキュベートしてタラゾパリブの in vitro 代謝について検討した。ラット，イヌおよびヒトに[^{14}C]タラゾパリブを単回経口投与したときの血漿，尿および糞試料を用いて代謝プロファイルを評価し，代謝物を同定した。

ラット（無処置および胆管カニューレ挿入）およびイヌに[^{14}C]タラゾパリブを単回経口投与し，放射能の排泄を検討した。

薬物相互作用の検討に関する厚生労働省ガイドライン（MHLW 2018）[8]，米国食品医薬品局ガイダンス（FDA 2017）[9]および欧州医薬品庁ガイドライン（EMA 2012）[10]に準拠し，タラゾパリブが P450 分子種，UGT 分子種および薬物トランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性について in vitro で検討した。

タラゾパリブの非臨床毒性プロファイルを Table 8 に示す一連の試験により評価した。これらの試験は，標的臓器の特定，曝露-反応関係および所見の回復性を含むタラゾパリブの毒性プロファイルを明らかにすることを目的として計画した。毒性試験に用いるげっ歯類および非げっ歯類として，薬物動態プロファイルが適切であり，肝ミクロソームを用いた in vitro 試験で同程度の代謝安定性が認められたこと，ヒトで予測される代謝および消失経路が認められたことから，それぞれラットおよびイヌを選択した。

ラットおよびイヌを用いた反復投与毒性試験（Sprague Dawley ラットおよびビーグル犬，最長 13 週間），in vitro（Ames 試験および染色体異常試験）および in vivo（Sprague Dawley ラットを用いた小核試験）の遺伝毒性試験，妊娠 Sprague Dawley ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験，ならびに in vitro（Balb/C 3T3 細胞）および in vivo（雌 Long Evans 有色ラット）の光毒性試験を実施した。さらに，タラゾパリブによる遺伝毒性および骨髄毒性の機序を明らかにするために追加の探索的試験を実施した。

試験デザインおよび検査項目は，医薬品規制調和国際会議（ICH），経済協力開発機構（OECD）および各国の規制（米国 FDA，欧州連合 EMA および厚生労働省）にて概説された一般原則ならびに実施基準を遵守した。すべての重要な試験（一般毒性試験，生殖発生毒性試験，遺伝毒性試験，光毒性試験，hERG 試験および安全性薬理試験）は，米国 FDA の GLP に従って実施した。重要な試験以外の試験（GLP 非適用）は，GLP または施設標準操作手順書を遵守する試験施設で実施した。一連の毒性試験は，ICH S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」[11]，ICH S2 (R1)「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス」[12]，ICH S5A (R2)「医薬品の生殖発生毒性試験についてのガイドライン」[13]，ICH S10「医薬品の光安全性評価ガイドライン」[14]および ICH S7A「安全性薬理試験ガイドライン」[15]に従って実施した。

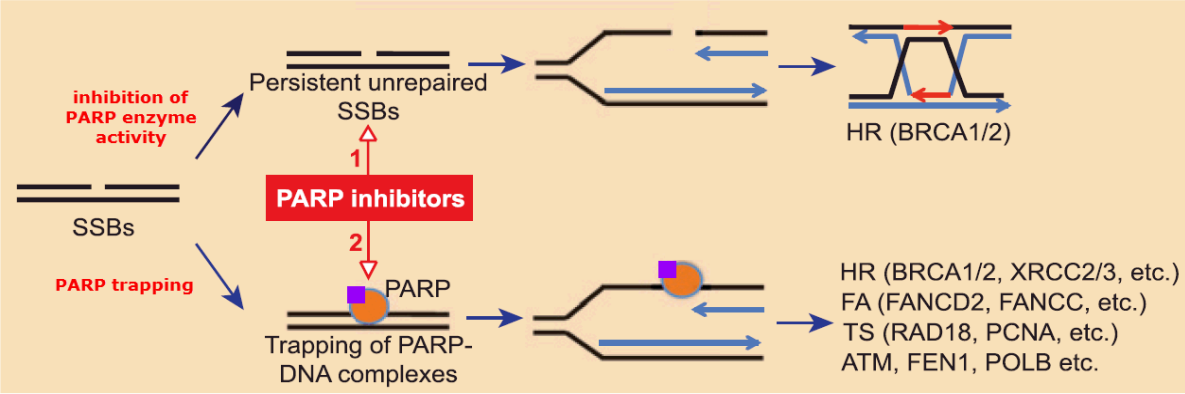
以上の非臨床試験は，進行がんを適応としたタラゾパリブの承認申請を目的として計画した。

2. 薬理試験

PARP は，DNA 修復などの様々な細胞内プロセスを調節するために ADP-リボース基を標的タンパク質に転移する酵素で，17 種類以上のファミリーが知られている。PARP1 および PARP2 は DNA 修復に重要な役割を果たしている[16,17]。DNA 損傷，特に ssDNA 切断は，損傷 DNA への PARP1/2 の動員と結合を引き起こす[16,17,18]。PARP1/2 が ssDNA 切断部位に結合することによりその PARP 触媒活性が誘導され，NAD^+を加水分解し，多数の ADP-リボース基のポリマー鎖を PARP1/2 および DNA 損傷部位に動員された DDR タンパク質に付加する（PAR 化）[19,20,21,22]。その結果，DNA 損傷部位に強い負電荷を帯びたタンパク質複合体が形成され，これにより主に塩基除去修復（BER）経路を介した DNA 鎖の巻き戻しおよび損傷 ssDNA の修復が行われる[20]。

PARP 阻害薬は 2 つの機序，すなわち（1）PARP 触媒活性の阻害（PAR 化の阻害を含む）による DNA 修復阻害，および（2）PARP トラッピング（PARP 阻害薬に結合した PARP タンパク質が DNA 損傷部位から解離しにくくなり，DNA の修復，複製および転写が妨げられる）によって，癌細胞に対する細胞傷害作用を発揮する（Figure 2）。PARP 阻害薬の作用は最終的にアポトーシスまたは細胞死を引き起こす[1,2,3]。

Figure 2.　PARP 阻害薬の 2 つの細胞傷害性機序



ATM：毛細血管拡張性運動失調症変異，BRCA：乳癌感受性遺伝子，DNA：デオキシリボ核酸，
FA：ファンコニ貧血，FANC：ファンコニ貧血相補群，FEN：フラップエンドヌクレアーゼ，HR：相同組換え，PARP：ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ，PCNA：増殖細胞核抗原，POLB：DNAポリメラーゼβ，
SSB：一本鎖切断，TS：テンプレートスイッチ，XRCC：X線修復交差補完タンパク質
出典：Murai et al, 2012[2]（一部改変）
PARP触媒活性の阻害（上の経路）は，一本鎖切断の修復を妨げ，細胞生存のために相同組換えによるDNA修復が必要となる複製フォークの損傷へと至る。PARP阻害薬によるトラッピング（下の経路，PARP阻害薬を■で示す）は複製フォークでのPARP-DNA複合体の停滞を誘発し，細胞生存のためにさらに多くのDNA修復プロセスが必要となる。

2.1. 効力を裏付ける試験

2.1.1. In vitro

2.1.1.1. PARP に対するタラゾパリブの選択性および阻害能

PARP によりヒストンタンパク質に転移される ADP リボースポリマーへと取り込まれるビオチン標識 NAD^+を指標とした生化学的試験により，13 種類の PARP パネルに対するタラゾパリブの阻害能を評価した（報告書番号 PF-06944076_[redacted]_092045）。

各 PARP 分子に対するタラゾパリブの IC_{50} 値を Table 1 に示す。タラゾパリブは 10 nmol/L 未満の IC_{50} 値で PARP1（IC_{50} 値：0.7 nmol/L），PARP2（IC_{50} 値：0.3 nmol/L）および TNKS2（IC_{50} 値：4.7 nmol/L）を，25 nmol/L 未満の IC_{50} 値で PARP3 および TNKS1 を阻害したが，検討した残りの分子に対する阻害能は弱いか認められなかった。なお，細胞レベルにおける TNKS およびその下流にある Wnt/β-カテニン経路に対するタラゾパリブの作用は十分に評価していない。

Table 1.　酵素アッセイにおける PARP 阻害の選択性

IC_{50} (nmol/L)	
PARP 酵素	**タラゾパリブ**
PARP1	0.7
PARP2	0.3
PARP3	22.0
TNKS1	13.5
TNKS2	4.7
PARP6	574
PARP8	225
PARP11	517
PARP12	9600
PARP7, PARP10, PARP14, PARP15	>10000

IC_{50}：50%阻害濃度，PARP：ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ，TNKS：タンキラーゼ
種々の PARP 阻害薬の PARP に対する IC_{50} 値は，11 濃度で duplicate にて測定し，全 22 点のデータから濃度反応曲線を作成して算出した（n = 1）。

2.1.1.2. DNA 修復経路に関連する遺伝子の欠損を有する細胞株に対するタラゾパリブの細胞傷害作用

DNA 修復経路に関連する遺伝子の欠損を有するヒト癌細胞株を用いて，タラゾパリブの細胞傷害作用を評価した（報告書番号 BMN673-[redacted]-093）。DNA 修復経路に障害を生じる遺伝子変異を有する細胞株について評価した（Table 2）。また，正常なヒト初代培養細胞株および DNA 修復経路に対して直接影響する変異を有さない癌細胞株を含めて比較した。

BRCA 欠損を有する Capan-1 細胞株および MX-1 細胞株に対してタラゾパリブは細胞増殖抑制作用を示し，IC_{50} 値はそれぞれ 5.0 nmol/L および 0.3 nmol/L であった（Table 2）。タラゾパリブは PTEN が欠損した MDA-MB-468 細胞株，LNCaP 細胞株および PC-3 細胞株ならびに MLH-1 が変異した HCT-116 細胞株に対しても高い細胞傷害作用を示し，IC_{50} はそれぞれ 3.7，4.3，4.4 nmol/L および 10.6 nmol/L であった（Table 2）。一方，正常なヒト初代培養細胞株 MRC-5 および DNA 修復関連の変異が報告されていない他の癌細胞株（LoVo 細胞株，MDA-MB-231 細胞株および A549 細胞株）におけるタラゾパリブの IC_{50} 値は極めて高かった（250～1000 nmol/L 超）。

Table 2.　タラゾパリブの細胞傷害作用

ヒト細胞株	腫瘍の種類	遺伝子変異	IC_{50} (nmol/L)
Capan-1	膵癌	BRCA-2	5.0
MX-1	乳癌	BRCA-1	0.3
MDA-MB-468	乳癌	PTEN	3.7
LNCaP	前立腺癌	PTEN/ATM	4.3
PC-3	前立腺癌	PTEN	4.4
HCT-116	大腸癌	MLH-1	10.6
MDA-MB-231	乳癌	DNA 修復異常の報告なし	261.8
LoVo	大腸癌	DNA 修復異常の報告なし	257.7
A549	腺癌	DNA 修復異常の報告なし	>1000
MRC-5	肺胞基底上皮細胞 正常な初代培養細胞	DNA 修復異常の報告なし	306.0

報告書番号 BMN673-[redacted]-093
IC_{50}：50%阻害濃度
10000，2000，400，80，16，3.2，0.64[a]および 0.128 nmol/L の濃度範囲において triplicate で測定した。
GraphPad Prism 5 ソフトウェアを用いて濃度反応曲線を作成し，IC_{50} 値を算出した（n = 1）。
a. 試験報告書の数値の誤記を修正した。

2.1.1.3. 前立腺癌細胞株に対するタラゾパリブの細胞傷害作用

異なる特性を有する 5 種のヒト前立腺癌細胞株を用いて，タラゾパリブの細胞傷害作用を評価した（報告書番号 MDV3800P017）。4.1～3000 nmol/L の範囲でタラゾパリブを添加して 13 日間インキュベートした後，CellTiter-Glo®により生存細胞数を測定した。LNCaP 細胞株は前立腺癌に由来し，アンドロゲン依存的に増殖する。C4-2 細胞株は LNCaP 細胞株から派生したアンドロゲン非依存性の細胞株である。PC-3 細胞は AR を発現せず，アンドロゲン非依存性である。VCaP 細胞は，骨転移したホルモン不応性前立腺癌に由来し，野生型 AR および TMPRSS2-ERG 融合癌遺伝子を発現することが知られている。

5 種の細胞株のうち 4 種で臨床曝露量のタラゾパリブ濃度範囲で細胞傷害作用が認められ，IC_{50} 値は 10 nmol/L 未満であった（Table 3）。

Table 3.　前立腺癌細胞株に対するタラゾパリブの細胞傷害作用

ヒト細胞株	腫瘍の種類	AR 発現	遺伝子変異	IC_{50} (nmol/L)
LNCaP	前立腺癌	陽性	BRCA2/PTEN/ATM [a, b]	<4.1
C4-2	前立腺癌	陽性	BRCA2/ATM [a]	<4.1
PC-3	前立腺癌	陰性	PTEN [c]	7.3
VCaP	前立腺癌	陽性	DNA 修復異常の報告なし	268.5
22RV1	前立腺癌	陽性	BRCA2/ATM/PALB2/NBN [a, b]	6.6

報告書番号 MDV3800P017
IC_{50}：50%阻害濃度
3000，1000，333，111，37，12 および 4.1 nmol/L の濃度範囲において triplicate で測定した。GraphPad Prism 5 ソフトウェアを用いて濃度反応曲線を作成し，IC_{50} 値を算出した（n = 1）。
a COSMIC database
b Feiersinger GE, et al. 2018[23]
c Mendes-Pereira AM, et al.2009[24]

2.1.1.4. PARP トラッピングに対するタラゾパリブの作用

4 種類の乳癌細胞株（MDA-MB-436，JIMT1，HCC1954 および HCC1143）に対して， ヒトにおける非結合型 Cav および PAR 化阻害に対する IC_{90} 値を含む濃度範囲でタラゾパリブを処理し，PARP トラッピング能を評価した（報告書番号 PF-06944076_[redacted]_091646）。クロマチンと PARP1 の結合量を評価するために，細胞溶解物から分画したクロマチン結合画分中の PARP1 をウエスタンブロット法で測定した。なお DNA 損傷の基礎レベルを上昇させるため，PARP 阻害薬と低濃度の MMS を併用した。

2 種類の BRCA1 変異陽性細胞株（MDA-MB-436 細胞株および HCC1954 細胞株）のうち，MDA-MB-436 細胞株に対する細胞傷害作用の IC_{50} 値は 1 nmol/L であり，HCC1954 細胞株と比して強い PARP トラッピング能を示した。MDA-MB-436 細胞株では PAR 化に対する IC_{90} 値における PARP トラッピング能の上昇比は 36 倍（無処置対照群との比較，以下同様）であったのに対して，HCC1954 細胞株の細胞傷害作用は MDA-MB-436 細胞株と比して弱く（IC_{50} 値 = 32 nmol/L），その PARP トラッピング能の上昇比は 12 倍であった（Table 4）。JIMT1（細胞傷害作用の IC_{50} 値 = 34 nmol/L）および HCC1143（細胞傷害作用の IC_{50} 値 = 119 nmol/L）は，BRCA 以外の DDR 変異を有する可能性はあるものの，野生型 BRCA を有する細胞株である。タラゾパリブで処理した JIMT1 および HCC1143 細胞株の PARP トラッピング能はそれぞれ 45 倍および 46 倍上昇した（Table 4）。BRCA1 変異陽性細胞株ではタラゾパリブの細胞傷害作用と PARP トラッピング能は相関すると考えられたが，BRCA 野生型細胞株で相関はみられなかった。MDA-MB-436 についてさらに 2 回の PARP トラッピング試験を実施した結果，試験ごとに絶対値の変動がみられたものの，いずれの試験においても PARP トラッピング能の上昇が認められた。タラゾパリブに対する感受性や BRCA1 の変異の有無に関係なく，MMS 非存在下におけるこれらの 4 種の乳癌細胞株の PARP トラッピング能は極めて弱かった。

Table 4.　乳癌細胞株にタラゾパリブと 0.01% MMS を添加したときの細胞傷害作用，PAR 化阻害濃度および PARP トラッピング能の上昇比

	タラゾパリブ ＋0.01% MMS				
	細胞傷害性 (nmol/L)		PAR 化 (nmol/L)		PAR 化阻害濃度（IC_{90} 値）での PARP トラッピング能の上昇比 [b]
乳癌細胞株	IC_{50} (n = 1)	IC_{90} (n = 1)	IC_{50}[a] (n = 3)	IC_{90} (n = 3)	
MDA-MB-436	1	16	15 ± 6	104 ± 44	36 倍
HCC1954	32	677	6 ± 4	89 ± 33	12 倍
JIMT1	34	180	9 ± 3	61 ± 16	45 倍
HCC1143	119	2298	9 ± 1	75 ± 26	46 倍

IC_{50}：50%阻害濃度，IC_{90}：90%阻害濃度，MMS：メチルメタンスルホン酸，PAR 化：ポリ ADP-リボシル化，PARP：ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ
a. IC_{50} 値は平均値 ± 標準偏差を示す。
b. PAR 化阻害濃度付近での PARP トラッピング能の上昇比は，ヒストン H3 で補正し，実薬群のトラッピング能を無処置対照群のトラッピング能で除して算出した。

2.1.1.5. ヒト前立腺癌細胞株 DU145 の DNA 損傷応答に対するタラゾパリブの作用

ヒト前立腺癌細胞株 DU145 細胞にタラゾパリブを添加したときの DDR に関する種々のパラメータを分析し，PARP 阻害薬の作用をさらに評価した（報告書番号 [redacted]GR323）。ssDNA 損傷により塩基除去修復反応が促され DNA 修復および細胞生存のために PARP への依存が高まることが知られていることから[25,26]，ssDNA 切断などの DNA 損傷を誘発するために，DNA アルキル化薬であるテモゾロミドを使用した。In vitro において，ヒト結腸腺癌細胞である LoVo ならびに前立腺癌細胞である DU145 および LNCaP などの癌細胞株に対するタラゾパリブにより誘導される細胞傷害作用は，細胞傷害性を示さない濃度のテモゾロミドにより増強されることが報告されている[27,28]。

フローサイトメトリーを用い，dsDNA 切断（γH2AX），細胞周期分布（ヨウ化プロピジウム染色），アポトーシスのシグナル伝達カスケード（CC3）および細胞増殖（細胞増殖の変化率を対照群と比較）を評価した（Table 5）。培地中のタラゾパリブの最終濃度が 2.4×10^{-6} ～ 20.0 µmol/L の範囲となるように処理し，臨床曝露量未満（43 µmol/L）または臨床曝露量（128 µmol/L）の濃度でテモゾロミドを添加した。テモゾロミド存在下で PARP を阻害すると，未修復の DNA 損傷が増加すると考えられる。また，PARP により修復される DNA 損傷が増加すると，PARP と DNA が結合してトラップされた，PARP-DNA 複合体が増加する。

用量反応曲線を用いて，タラゾパリブの最小有効濃度である活性濃度のカットオフ値（ACC 値）を算出した[29]。ACC 値とは，用量反応曲線において溶媒対照よりも統計学的に高値となるタラゾパリブの最低濃度であり，バックグラウンド値より，その中央絶対偏差の 3 倍高い値とした。

Table 5.　添加 24 時間後の ACC 値

評価項目	タラゾパリブ 0 µmol/L テモゾロミド	タラゾパリブ 43 µmol/L テモゾロミド	タラゾパリブ 128 µmol/L テモゾロミド
dsDNA 切断 [a]	0.87	0.002	0.0005
S 期特異的 dsDNA 切断 [a]	0.20	0.008	0.0003
S 期細胞の蓄積 [b]	2.5	0.02	0.002
早期アポトーシス [c]	3.84	0.009	0.0016
細胞増殖抑制 [d]	0.0005	0.0022	0.0004

各評価項目の値は，用量反応曲線において溶媒対照の値よりも高値となるタラゾパリブの最低濃度（ACC 値：活性濃度のカットオフ値）を示す。
各値は n = 1 のデータを示す。
a. dsDNA 切断：γH2AX を検出する Alexa 647 標識抗体の蛍光シグナルを測定した。
b. S 期細胞の蓄積量は，溶媒対照と比較して 2 倍以上増加した最低濃度を示す。
c. 早期アポトーシス：切断型カスパーゼ 3（CC3）を検出する Alexa488 標識抗体の蛍光シグナルを測定した。
d. 細胞増殖：溶媒対照に対する細胞数の割合を測定した。

タラゾパリブで単独処理した場合，処理後 4 時間における細胞周期に変化はみられなかった。処理後 24 時間において，タラゾパリブの単独処理により S 期細胞の蓄積がみられた。S 期細胞の蓄積は，タラゾパリブの単独処理と比してテモゾロミド 43 µmol/L で併用処理した場合に増強し，テモゾロミド 128 µmol/L で併用処理した場合にさらに増強した（Table 5）。

dsDNA 切断の指標であるヒストン H2AX のリン酸化（γH2AX）のフォーカス形成を測定することで，PARP1/2 阻害薬による複製フォークの停止および損傷の発生頻度を評価可能である[30]。蛍光活性化セルソーティング（FACS）を用いて，DU145 細胞をタラゾパリブで処理した細胞におけるγH2AX の平均蛍光強度（MCF）の増加量を溶媒対照と比較することで，dsDNA 切断の誘導を評価した。テモゾロミドの存在下および非存在下でのタラゾパリブの dsDNA 切断および S 期特異的 dsDNA 切断の総数に対する ACC 値を Table 5 に示す。DU145 細胞において，テモゾロミドは dsDNA 切断を増加させ，タラゾパリブの作用を増強した。

CC3 は早期アポトーシスのマーカーである。Alexa Fluor 488 標識抗 CC3 抗体を用いた FACS 解析により，CC3 陽性細胞の割合を評価した。溶媒対照における CC3 発現細胞の割合は 3.2%であった。タラゾパリブ単独処理では，処理後 24 時間における CC3 発現細胞の割合はタラゾパリブを最高濃度で添加した場合に最大となり，約 13%増加した。タラゾパリブおよびテモゾロミド併用処理では，テモゾロミド 128 µmol/L で処理した場合の ACC 値はテモゾロミド 43 µmol/L で処理した場合と比べて低値を示した（Table 5）。

各プレートの細胞増殖を，溶媒対照と比較した。ハイスループット画像解析処理により，DNA 染色した細胞核の同定と定量を行った。テモゾロミドとの併用処理により，タラゾパリブは処理後 24 時間における細胞増殖を抑制した（Table 5）。より高濃度のテモゾロミドと併用することにより，タラゾパリブはより低濃度で細胞増殖抑制作用を示した。

以上のように，S 期の蓄積，dsDNA 切断，アポトーシスおよび細胞増殖を指標としたタラゾパリブの作用は，テモゾロミドでの併用処理により増強した。概して，より高濃度でのテモゾロミドの併用処理により，タラゾパリブはより低濃度で反応を示した。DDR 解析における評価結

果はタラゾパリブの作用機序である PARP 触媒活性の阻害および PARP トラッピングと符合していた。

2.1.2. In vivo

2.1.2.1. 乳癌異種移植モデルにおけるタラゾパリブまたはカルボプラチンの抗腫瘍活性の比較

乳癌 PDX モデルを用いて，タラゾパリブとカルボプラチンの抗腫瘍活性を比較した［報告書番号 MDVT-20[redacted]0830B（MDV3800P058）］。溶媒またはタラゾパリブを 0.3 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与し，カルボプラチンを 30 mg/kg の用量で週 1 回腹腔内投与した（雌 7 匹/群，計 3 群）。カルボプラチンによる腫瘍増殖抑制作用（TGI：67%，p = 0.178）と比べて，タラゾパリブは有意に強い TGI（108%，p = 0.031）を示した。

2.1.2.2. 前立腺癌異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性

雄 BALB/c ヌードマウスに LNCaP 細胞を異種移植したモデル（腫瘍サイズ：217～221 mm^3）に，溶媒またはタラゾパリブを 0.15 mg/kg の用量で 1 日 2 回 28 日間経口投与した（雄 6 匹/群，報告書番号 MDV3800P014）。タラゾパリブを投与したラットでは，溶媒対照群と比較して腫瘍増殖抑制が認められた。溶媒対照群と比較して体重変化は認められず，0.15 mg/kg のタラゾパリブの忍容性は良好であった。

2.1.2.3. 乳癌 PDX モデルを用いたタラゾパリブの抗腫瘍活性および薬物動態学的解析

5 種類のトリプルネガティブ乳癌異種移植モデルを用いて，タラゾパリブ単独投与による抗腫瘍活性を評価した。併せて投与最終日の投与前後に血漿試料を採取し PK 解析を実施した。BRCA1 変異陽性 T168 PDX モデル（報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]24），BRCA2 変異陽性 HBC-x10 PDX モデル（報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]22）および 3 つの BRCA1/2 野生型 PDX モデル［HBC-x6（報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]23），HBC-x9（報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]25）および HBC-x12B（報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]26）］の計 5 種類の癌細胞株を用いて評価した。

乳癌を異種移植した雌 BALB/c ヌードマウス（8 または 10 匹/群）に対して，溶媒［対照：0.5% カルボキシメチルセルロース（CMC）］またはタラゾパリブを 0.07 mg/kg もしくは 0.15 mg/kg の用量で試験 1～34 日（T168 モデルは試験 1～33 日）に 1 日 2 回経口投与し，試験最終日である試験 35 日（T168 モデルは試験 34 日）には PK 評価のため 1 日 1 回経口投与した。PK 評価用の血漿は，試験最終日の投与前，投与後 1 時間および 6 時間に採取した。

TGI は投与群と対照群の平均腫瘍体積比（T/C%）を用いて評価し，腫瘍退縮作用も評価した。TFS は，試験終了時に完全退縮が認められた動物数と定義した。結果を Table 6 に示す。

Table 6.　乳癌 PDX モデルに対するタラゾパリブの抗腫瘍活性

細胞モデル	BRCA	N/群	タラゾパリブ (mg/kg)	腫瘍増殖抑制 T/C% 溶媒対照群に対する統計的有意性	TFS (%)	非結合型 C_{av} (nmol/L)	AUC_6 (ng•h/mL)
T168	BRCA1 変異	10	0.07	T/C% = 1.26%，試験 18 日 p <0.001，試験 14 日	100	1.14	58.8
		10	0.15	T/C% = 0.39%，試験 18 日 p <0.001，試験 11 日	100	2.48	128.0
HBCx-10	BRCA2 変異	10	0.07	T/C% = 34.27%，試験 24 日 p <0.001，試験 24～28 日	0	0.92	47.5
		10	0.15	T/C% = 3.48%，試験 24 日 p <0.001，試験 14～28 日	60	1.89	97.4
HBCx-6	BRCA1/2 野生型	10	0.07	T/C% = 1.63%，試験 35 日 p <0.001，試験 17～35 日	20	0.84	43.6
		10	0.15	T/C% = 0.32%，試験 35 日 p <0.001，試験 14～35 日	80	1.50	77.5
HBCx-12B	BRCA1/2 野生型	8	0.07	T/C% = 44.4%，試験 31 日 p<0.05，試験 28～35 日	0	ND	ND
		8	0.15	T/C% = 26.6%，試験 31 日 p <0.01，試験 28～35 日	0	ND	ND
HBCx-9	BRCA1/2 野生型	10	0.07	T/C% = 73.8%，試験 25 日	0	0.51	26.3
		10	0.15	T/C% = 46.25%，試験 25 日 p <0.01，試験 18 日	0	1.55	79.8

AUC_6：0 時間から 6 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積，BRCA：乳癌感受性遺伝子，C_{av}：平均血漿中濃度，ND：測定せず，T/C%：投与群と対照群の平均腫瘍体積比, TFS：試験終了時に完全退縮が認められた動物数（%）

乳癌患者由来異種移植モデルマウスにタラゾパリブを経口投与したときの試験 35 日（T168 モデル：試験 34 日）におけるタラゾパリブの曝露量は，投与量にほぼ比例して増加した。総濃度および非結合型濃度での C_{min}，C_{max} および C_{av} を測定したところ，タラゾパリブを 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg の用量で 1 日 2 回投与したときの非結合型 C_{min} はほぼ同程度であったが，非結合型 C_{av} は投与量にほぼ比例して増加し，それぞれ 0.852 nmol/L および 1.86 nmol/L であった。各モデルの非結合型 C_{av} および AUC_6 を Table 6 に示す。

2.2. 副次的薬理試験

72 種類の受容体，酵素およびイオンチャネルに対するタラゾパリブ（10 µmol/L）のオフターゲット作用を in vitro で評価した（報告書番号 AA86818，AA87288）。タラゾパリブによる結合親和性または酵素活性に対する阻害率は，いずれの分子に対しても 50%未満であった。またタラゾパリブが最大反応の 50%を上回る活性を示す項目は認められなかった。これら in vitro 試験の結果から，臨床用量での曝露量でタラゾパリブが副次的薬理作用（オフターゲット作用）を示す可能性は低いことが示された。なお，PARP ファミリーに対するタラゾパリブの選択性については，2.4.2.1.1.1 項に記載した。

2.3. 安全性薬理試験

タラゾパリブの心血管系，呼吸系および中枢神経系への影響を評価した（Table 7）。これらの試験はいずれも GLP に準拠して実施した。また，イヌを用いた最長 13 週間の GLP 適用反復投与毒性試験に心電図評価を追加し，タラゾパリブが心血管系に及ぼす影響を in vivo でさらに評価した。

Table 7.　タラゾパリブの安全性薬理試験の概要

試験の種類（試験番号）	GLP[a]	投与経路	動物種/系	投与量[b]
中枢神経系（報告書番号 8227534）	適用	経口投与	ラット/SD	0, 0.3, 1.0, 3.0[c]
呼吸系（報告書番号 8229153）	適用	経口投与	ラット/SD	0, 0.3, 1.0, 3.0 [c]
心血管系 hERG 導入細胞を用いたパッチクランプ法（報告書番号 8229172）	適用	in vitro	hERG カリウムチャネルを発現させた HEK293 細胞	0, 10, 30, 100 µmol/L[d]

GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，HEK：ヒト胎児由来腎臓，
hERG：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子，SD：Sprague-Dawley
a. すべての GLP 試験は，相互データ受け入れ制度が適用となる経済協力開発機構（OECD）加盟国で実施した。
b. 特に明記しない限り，単位は mg/kg とする。
c. 溶媒として 0.5% CMC を使用した。
d. 溶媒として 0.3% DMSO を添加した HEPES 緩衝生理食塩水を使用した。

雄 Sprague Dawley ラット（6 匹/群）にタラゾパリブを 0（溶媒対照：0.5% CMC），0.3，1 または 3 mg/kg の用量で単回経口投与し，タラゾパリブが神経系に及ぼす影響を評価した（報告書番号 8227534）。Irwin の変法を用いて投与前から投与後 24 時間までの行動を観察し，中枢および末梢神経系への影響を評価した。Irwin 変法の神経行動学的評価項目としてホームケージ，ハンドリング，オープンフィールドおよび刺激に対する反応などを観察したところ，いずれの用量においてもタラゾパリブによる影響は認められなかった。本試験ではトキシコキネティクス（TK）パラメータを測定しなかったが，ラットを用いた 5 日間投与試験で 3 mg/kg/日を投与したときの非結合型 C_{max} は 70.6 ng/mL であり（報告書番号 8227540，2.6.6.3.2 項），これは臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型 C_{max}（5.46 ng/mL）[a]の 12.9 倍であった。なお，いずれの反復投与毒性試験においても脳の病理組織学的変化は認められなかった（2.4.4.2 項）。

雄 Sprague Dawley ラット（8 匹/群）にタラゾパリブを 0（溶媒対照：0.5% CMC），0.3，1 または 3 mg/kg の用量で単回経口投与したときの呼吸系への影響について，全身プレチスモグラフィーを用いて評価した（報告書番号 8229153）。全身プレチスモグラフィーは投与前，投与後

[a] 固形がん患者に乳癌における臨床推奨用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの定常状態（サイクル 1 の投与 35 日）における C_{max} は 21 ng/mL（非結合型：5.46 ng/mL）であった［PRP-001（C3441007）試験］。なお，前立腺癌における臨床推奨用量は 0.5 mg/日である。

0.5 時間から 5.5 時間，投与後 24 時間に測定した。対照群と比較してすべてのタラゾパリブ投与群で 1 回換気量が減少（最大 12%）した。1 回換気量の減少は用量に依存せず，呼吸数の増加（統計学的な有意性なし）により相殺されたため，概して分時換気量の変化は認められなかった。本試験では TK パラメータを測定しなかったが，ラットを用いた 5 日間投与試験で検討した最高用量である 3 mg/kg/日を投与したときの非結合型 C_{max} は 70.6 ng/mL であり（報告書番号 8227540，2.6.6.3.2 項），これは臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型 C_{max}（5.46 ng/mL）の 12.9 倍であった。なお，ラットおよびイヌを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験では，タラゾパリブ投与による呼吸系と関連した一般状態の変化は認められなかった（2.4.4.2 項）。

安定的に hERG チャネルを発現させたヒト胎児由来腎臓（HEK）293 細胞を用いて，タラゾパリブが hERG チャネルを介したカリウム電流に及ぼす影響を評価した（報告書番号 8229172）。タラゾパリブは 10，30 および 100 µmol/L の濃度で hERG 電流をそれぞれ 6.7%，14.2%および 33.4%阻害した。溶解度の限界のため評価可能な最高濃度は 100 µmol/L であり，評価した濃度で阻害率は 50%に達しなかったため，IC_{50} 値を算出できなかった。したがって，hERG チャネル阻害の IC_{50} 値は 100 µmol/L（38,000 ng/mL）を上回ると考えられ，これは臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの定常状態における非結合型 C_{max}（5.46 ng/mL）の約 6966 倍超であった。

イヌを用いた最長 13 週間の GLP 適用反復投与毒性試験に心電図評価を追加し，タラゾパリブが心血管系に及ぼす影響を in vivo でさらに評価した（報告書番号 8227539，8227532，8279298）。これらの試験では，検討した最高用量（0.1 mg/kg）まで心電図に対する影響は認められず，このときの非結合型 C_{max} は 19.1 ng/mL であり（報告書番号 8227539，2.6.6.3.6 項），これは臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの定常状態における非結合型 C_{max}（5.46 ng/mL）の 3.5 倍であった。

2.4. 薬力学的薬物相互作用

薬理学的薬物相互作用試験は実施していない。

3. 薬物動態試験

3.1. 分析法

マウス，ラットおよびイヌの血漿中におけるタラゾパリブ濃度を HPLC/MS/MS を用いた分析法により定量した。

単回投与による薬物動態試験および毒性試験における血漿中濃度を定量するため，ラットおよびイヌ血漿中のタラゾパリブ濃度の定量法として HPLC/MS/MS を用いた分析法のバリデーションを，それぞれ 10～10,000 pg/mL および 5～5,000 pg/mL の濃度範囲で実施した（報告書番号 8225814，8225815）。

[^{14}C]タラゾパリブを用いたラットの組織分布試験（報告書番号 BMN673-[redacted]-069）では，定量全身オートラジオグラフィーにより組織中の放射能濃度を定量した。また，[^{14}C]タラゾパリブを用いたラットおよびイヌの排泄試験（報告書番号 BMN673-[redacted]-069，BMN673-[redacted]-070）で得られた血漿，尿，糞または胆汁中の放射能は液体シンチレーション計測法により測定した。

3.2. 吸収

3.2.1. 単回投与

タラゾパリブをラットおよびイヌに単回静脈内投与したとき，CL_{tot} は肝血流量と比べて低くそれぞれ 120～133 mL/min/kg および 96.3～96.9 mL/min/kg，V_{ss} はそれぞれ 586～700 mL/kg および 3543～3835 mL/kg，$t_{½}$はそれぞれ 25.7 および 48.5 時間であった。V_{ss} はいずれの動物種においても総体液量と同等もしくはそれ以上であり，タラゾパリブが体組織に広範に分布することが示唆された。タラゾパリブをラットおよびイヌに単回経口投与したときのバイオアベイラビリティは，それぞれ 43%～73%および 51%～87%であった。また，ラットおよびイヌにタラゾパリブの遊離塩基または臨床試験で使用されたトシル酸塩の遊離塩基相当量を経口投与したとき，タラゾパリブの曝露量はいずれの場合も同等であった。

3.2.2. 反復投与（トキシコキネティクス）

雌雄 Sprague Dawley ラットを用いた 5 日間（報告書番号 8227540），14 日間（参考資料 VQZ00001），28 日間（報告書番号 8227533）および 13 週間（報告書番号 8279299）の経口投与毒性試験ならびに 12 日間の胚・胎児発生毒性試験（報告書番号 20074799）および雌 Long-Evans ラットを用いた 3 日間の光毒性試験（報告書番号 20116618）においてトキシコキネティクスを評価した。

ビーグル犬を用いたタラゾパリブの 5 日間（報告書番号 8227539），14 日間（参考資料 VQZ00002），28 日間（報告書番号 8227532）および 13 週間（報告書番号 8279298）の経口投与毒性試験においてトキシコキネティクス評価を行った。

ラットおよびイヌを用いたトキシコキネティクス試験では，曝露量はラットでは概して用量比を上回って増加し，イヌでは概して用量に比例して増加した。ラットおよびイヌへの反復投与により，タラゾパリブの蓄積性が認められ，経口投与後 3～4 週間以内で定常状態に達することが示唆された。ラットおよびイヌの曝露量に明確な性差は認められなかった。

3.2.3. In vitro

タラゾパリブの Caco-2 細胞に対する膜透過性は中等度であった（報告書番号 BMN673-[redacted]-101）。タラゾパリブは P-糖蛋白質（P-gp，MDR1）または乳癌耐性蛋白質（BCRP）の基質となるものの（報告書番号 BMN673-[redacted]-071，MDV3800P004），ラットおよびイヌのバイオアベイラビリティは中等度から高度であり，ヒトでの消化管吸収率は高いと推定されることから，経口吸収に及ぼす影響はわずかであると考えられた。

3.3. 分布

3.3.1. マウス脳への移行

タラゾパリブが P-gp および BCRP の基質となることから， Mdr1a/b-Bcrp トリプルノックアウトマウスおよび FVB/NTac 野生型マウスを用いて，タラゾパリブの脳組織への取り込みを評価したところ（報告書番号 BMN673-[redacted]-043），Mdr1a/b-Bcrp トリプルノックアウトマウスの血漿中および脳内におけるタラゾパリブ曝露量はいずれも野生型マウスと比べて高かったことから，in vivo でもタラゾパリブが P-gp および BCRP の基質となることが示唆された。野生型マウスでは，血漿中曝露量に対するタラゾパリブの脳内曝露量は 3%程度であった。Mdr1a/b-Bcrp トリプルノックアウトマウスにおいても血漿中曝露量に対するタラゾパリブの脳内曝露量は 22.5%と概して低かった。

3.3.2. 組織移行

雄の Sprague Dawley ラットでは，経口投与後 1 時間に C_{max} に達し，投与後 12 時間まで[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能が検出された。[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能は広範な組織に分布し，ラットで V_{ss} が総体液量と同等であることと符合した（2.4.3.2.1 項）。Sprague Dawley ラットでは，放射能は 41 の組織に分布し，投与後 24 時間までの組織内濃度は血漿中濃度の約 0.1 倍～14 倍であった。消化管以外では，肝臓，腎臓，腎臓髄質，腎臓皮質および副腎で高い放射能濃度が認められた。投与後 48 時間までに，放射能は大部分の組織から完全に消失した。

雄の Long Evans ラットに[^{14}C]タラゾパリブを経口投与したところ，血中では[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能は投与 4 時間後に C_{max} に達し，投与後 1～8 時間まで定量可能な濃度として検出された。[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能は広範な組織に分布した（報告書番号 BMN673-[redacted]-069）。Long Evans ラットの 42 の組織中に放射能が認められ，投与後 24 時間までの濃度は少なくとも血漿中の 0.06 倍～39 倍であった。消化管以外では，眼のブドウ膜，肝臓，腎臓，腎臓髄質，腎臓皮質および副腎で高い放射能濃度が認められた。[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能は投与後 72 時間までに，消化管内容物，眼のブドウ膜，リンパ節，有色素皮膚，無色素皮膚および脾臓を除くすべての組織から消失した。ブドウ膜では投与後 72 時間まで[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能の取り込みおよび滞留が認められたため，タラゾパリブはメラニンに結合することが示唆された。しかし，[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能は投与後 168 時間までに眼のブドウ膜を含むすべての組織から完全に消失したことから，メラニンとの結合は可逆的であると考えられた。

Sprague Dawley ラットおよび Long Evans ラットに[^{14}C]タラゾパリブを投与したところ，中枢神経系組織中の[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能濃度はおおむね定量下限未満であったことから，血液脳関門を介した脳への分布はわずかであることが示唆された。このことは，タラゾパリブが in vitro において P-gp および BCRP トランスポーターの基質となることならびに FVB/NTac 野生型マウスを用いた脳内移行性に関する試験結果と符合している。

3.3.3. 血漿蛋白結合および血球移行

CD1 マウス，Sprague Dawley ラット，ビーグル犬，カニクイザルおよびヒトの血漿蛋白質に対するタラゾパリブの蛋白結合率を平衡透析法により in vitro で評価した（報告書番号 MDV3800P005）。タラゾパリブの血漿蛋白結合率はマウスおよびラットで高く，イヌ，サルおよびヒトで中等度であり，これらの動物種の非結合型分率（f_u）はそれぞれ 0.0442，0.101，

0.365，0.329 および 0.260 であった。検討したタラゾパリブの濃度範囲で各動物種の f_u に顕著な違いはみられなかった。

ラット，イヌおよびヒトに[^{14}C]タラゾパリブを経口投与した後に採血した全血を用いて，タラゾパリブの血球移行性を評価した（報告書番号 BMN673-[redacted]-069，BMN673-[redacted]-070，MDV3800-03）。タラゾパリブの血液/血漿中濃度比（C_b/C_p）を指標として血球移行性を評価したところ，ラット，イヌおよびヒトの C_b/C_p はそれぞれ 0.572，0.924 および 1.05 であった。この結果から，ラットではタラゾパリブの血球移行は低く，イヌおよびヒトではタラゾパリブが全血中で均等に分布することが示唆された。

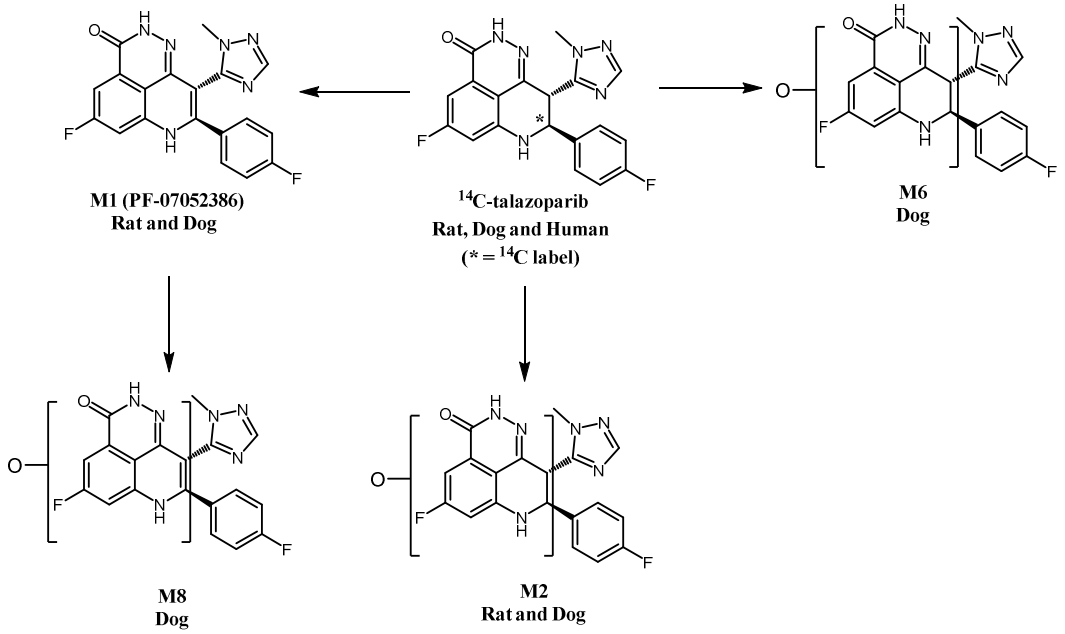
3.4. 代謝（動物種間の比較）

3.4.1. In vivo

ラット（報告書番号 BMN673-[redacted]-088），イヌ（報告書番号 BMN673-[redacted]-089）およびヒト［CSR MDV3800-03（C3441003）］に[^{14}C]タラゾパリブを単回経口投与したときの代謝を評価した。各動物種から採取した血漿，尿および糞試料を用いて代謝プロファイルを評価し，代謝物を同定した。

概して，動物およびヒトでは，代謝による消失はわずかであり（ラットで 2%未満，イヌで 20%未満，ヒトで 15%未満）であり，タラゾパリブは主に未変化体として尿中または糞中に排泄された。水酸化および脱水素化により生成する微量代謝物が認められた。ラット，イヌおよびヒトの血漿中で認められたタラゾパリブの代謝物の推定構造ならびに推定代謝経路を Figure 3 に示す。ヒトで認められた微量の酸化代謝物は，ラットまたはイヌでも認められた。ヒトの尿中には，動物では認められない一脱フッ素化代謝物のシステイン抱合体が認められた。しかしながら，イヌの尿中の高分解能 LC-MS データを再検討した結果（報告書番号 BMN673-[redacted]-089），同様の保持時間において類似の分子量の代謝物が確認され（5 ppm 未満），イヌでもヒトと類似する代謝経路の存在が認められた。さらに，ヒト尿中に脱水素化代謝物（M1，PF-07052386）と共に溶出した微量のグルクロン酸抱合体が認められたが，その代謝物は動物では認められなかった。ヒト排泄物中の同定された代謝物（投与量の 6.5%）および未同定の代謝物（投与量の 5.8%）は，合わせて投与量の 12.3%を占めていた。排泄機序および代謝経路のヒトとの類似性から，ラットおよびイヌはタラゾパリブの安全性評価に用いる動物種として適切であると考えられた。なお，ラットおよびヒトの血漿を用いたタラゾパリブのキラル反転に関する in vivo 評価結果から，タラゾパリブのエナンチオマーまたはシス異性体への生体内変換は起きないと考えられた。

Figure 3.　タラゾパリブのラット，イヌおよびヒトにおける血漿中代謝物



M = 代謝物，M1 および M8 は LC-MS でのみごく微量が検出された。

3.4.2. In vitro

In vitro において，ヒト肝ミクロソームまたはヒト肝細胞とインキュベートしたとき，いずれにおいてもタラゾパリブは高い代謝安定性を示した。また，毒性試験に用いた動物種の肝ミクロソームとインキュベートしたとき，いずれの動物種においても代謝物はほとんど認められなかった（報告書番号 BMN673-[redacted]-013，BMN673-[redacted]-015，BMN673-[redacted]-083）。マウスおよびラットで微量の脱水素化体（M1，PF-07052386）が，マウスでのみ *N*-脱メチル化体（M9，PF-07052922）が認められた。In vivo および in vitro のいずれにおいても代謝物はほとんど生成されず，酸化的代謝はタラゾパリブの主な消失機序ではないと考えられたことから，これらの微量代謝物の生成に関与する代謝酵素を同定するための試験は実施しなかった。

3.5. 排泄

3.5.1. In vivo

ラット（報告書番号 BMN673-[redacted]-069）およびイヌ（報告書番号 BMN673-[redacted]-070）に[^{14}C]タラゾパリブを経口投与したとき，[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能の主要な排泄経路は糞中であり，それぞれ投与量の 70.9%～73.6%および 66.6%～68.0%が糞中に排泄された。またラットおよびイヌでは，それぞれ 19.5%～25.8%および 21.1%～24.4%が尿中に排泄された。一方，ヒトでは主要な排泄経路は尿中であり，放射能の 68.7%が尿中に排泄され，19.7%が糞中に排泄された。

3.5.2. In vitro

サンドイッチ培養肝細胞を用いて胆汁中排泄を in vitro で評価したところ，本試験で検討した濃度範囲でのタラゾパリブの胆汁中排泄は，肝臓の総取り込み量の 25%未満と推定された（報告書番号 BMN673-[redacted]-004）。

3.6. 薬物動態学的薬物相互作用

薬物相互作用の検討に関する厚生労働省ガイドライン（MHLW 2018）[8]，米国食品医薬品局ガイダンス（FDA 2017）[9]および欧州医薬品庁ガイドライン（EMA 2012）[10]に準拠し，タラゾパリブが P450 分子種，UGT 分子種および薬物トランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性について in vitro で検討した。

ヒト肝ミクロソームを用いた検討において，タラゾパリブの CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 または CYP3A4/5（ミダゾラムおよびテストステロン）の阻害能を評価した結果（報告書番号 BMN673-[redacted]-004），これらの P450 分子種の基質となる薬剤との併用において，タラゾパリブが薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えらえた。

ヒト肝細胞を用いた検討において，タラゾパリブの CYP1A2，CYP2B6 または CYP3A4 の mRNA の発現および酵素活性の誘導を評価した結果（報告書番号 BMN673-[redacted]-003），臨床で想定される濃度でタラゾパリブが CYP1A2，CYP2B6 および CYP3A4 を誘導する可能性は低いと考えられた。

ヒト肝ミクロソームを用いて，2%ウシ血清アルブミン（BSA）存在下または非存在下で UGT1A1，UGT1A4，UGT1A6，UGT1A9，UGT2B7 および UGT2B15 に対するタラゾパリブの阻害能を評価した結果（報告書番号 PF-06944076_[redacted]_035822），臨床で想定されるタラゾパリブ濃度においてこれらの UGT 分子種の阻害を介した薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

In vitro 試験の結果から（報告書番号 BMN673-[redacted]-071），タラゾパリブが OCT1，OATP1B1，OATP1B3，OAT1，OAT3， OCT2，BSEP，MATE1 および MATE2-K の基質とはならないことが示唆された。

In vitro 試験の結果から（報告書番号 PF-06944076_[redacted]_051609，BMN673-[redacted]-070）タラゾパリブが P-gp，BCRP，OCT1，OATP1B1，OATP1B3，OAT1，OAT3，OCT2，BSEP，MATE1 および MATE2-K を阻害しないことが示唆された。

4. 毒性試験

タラゾパリブの非臨床毒性プロファイルを Table 8 に示す一連の試験により評価した。

Table 8.　タラゾパリブの毒性試験一覧

試験の種類および期間（報告書番号）	投与経路	動物種	投与量 [a]	GLP[b]
反復投与毒性試験				
ラットを用いた 5 日間および 14 日間反復投与試験（参考資料 VQZ00001）	経口	ラット／Sprague Dawley	5 日間：0.3, 3.0, 10, 30[c] 14 日間：0, 0.1, 0.3, 1.0[c,d]	非適用
ラットを用いた 5 日間反復投与試験（報告書番号 8227540）	経口	ラット／Sprague Dawley	0, 0.3[g], 1.0, 3.0[d,f]	適用
ラットを用いた 28 日間反復投与試験（報告書番号 8227533）	経口	ラット／Sprague Dawley	0, 0.005, 0.015, 0.05[d,f,g]	適用
ラットを用いた 13 週間反復投与試験（報告書番号 8279299）	経口	ラット／Sprague Dawley	0, 0.005, 0.015[g], 0.05/0.04[f]	適用
イヌを用いた 5 日間および 14 日間反復投与試験（参考資料 VQZ00002）	経口	イヌ／ビーグル犬	5 日間：0, 0.1, 1.0 14 日間：　0, 0.01, 0.03, 0.1[c]	非適用
イヌを用いた 5 日間反復投与試験（報告書番号 8227539）	経口	イヌ／ビーグル犬	0, 0.003, 0.01, 0.03[g], 0.1[e,f]	適用
イヌを用いた 28 日間反復投与試験（報告書番号 8227532）	経口	イヌ／ビーグル犬	0, 0.0005, 0.0015, 0.005, 0.01[e,f,g]	適用
13 週間反復投与試験（報告書番号 8279298）	経口	イヌ／ビーグル犬	0, 0.0015, 0.005, 0.01[f,g,h]	適用
遺伝毒性試験				
細菌を用いる復帰突然変異試験（報告書番号 [redacted]）	In vitro	細菌／*Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli*	100, 333, 1000, 3333, 5000 µg/plate[f,i]	適用
染色体異常試験（報告書番号 [redacted]）	In vitro	ヒト末梢血リンパ球	4 時間：10, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 380 µg/mL[f,i] 20 時間：0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 µg/mL[j]	適用
小核試験（報告書番号 [redacted]）	経口	ラット／Sprague Dawley	24 時間：0, 150, 300, 600 mg/kg[d,f] 48 時間：600 mg/kg[d,f]	適用
生殖発生毒性試験				
胚・胎児発生に関する試験（報告書番号 20074799）	経口	ラット／Sprague Dawley	妊娠 6～17 日：0, 0.015, 0.05, 0.15 [h]	適用 [k]

Table 8.　タラゾパリブの毒性試験一覧

試験の種類および期間（報告書番号）	投与経路	動物種	投与量 [a]	GLP[b]
その他の毒性試験				
In vitro ニュートラルレッド取り込み試験（報告書番号 20054208）	In vitro	BALB/c 3T3 細胞	0.6, 1.0, 1.8, 3.2, 5.7, 10.1, 17.9, 31.9 µg/mL	適用
有色ラットを用いた反復経口投与光毒性試験（報告書番号 20116618）	経口	ラット／Long-Evans	0, 0.015, 0.05 mg/kg	適用
ヒト DU145 細胞を用いたタラゾパリブによる DNA 切断および細胞毒性マーカーを 3 種類の PARP 阻害薬と比較する in vitro 試験（参考資料 [redacted]GR323）	In vitro	DU145 前立腺癌細胞株	2.4～20 µmol/L	非適用
タラゾパリブによる骨髄抑制の機序に関する試験（参考資料 [redacted]LJ085）	In vitro	末梢血単核球，初代骨髄細胞	0.1～1000 nmol/L	非適用

CFR：連邦規則集，CMC：カルボキシメチルセルロース，DMAC：ジメチルアセトアミド，DMSO：ジメチルスルホキシド，DPBS：ダルベッコ リン酸緩衝生理食塩水，FDA：米国食品医薬品局，GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，hERG：ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子，HNSTD：重篤な毒性が発現しない最大投与量，ICH：医薬品規制調和国際会議，OECD：経済協力開発機構，PBS：リン酸緩衝生理食塩水

a. 特記ない限り mg/kg/日として表記し，下線の用量は HNSTD であることを示す
b. すべての GLP 試験は，相互データ受け入れ制度が適用となる OECD 加盟国で実施した
c. タラゾパリブの遊離塩基を投与
d. 溶媒：0.5% CMC
e. 溶媒：10% DMAC，6% solutol，84% PBS
f. タラゾパリブトシル酸塩を投与し，遊離塩基相当量を記載した
g. HNSTD の用量を下線で示した
h. 0.5%（w/v）CMC で調製した 1.8776 mg/mL の Prosolv SMCC HD90 溶液を溶媒として使用した
i. 溶媒：DMSO
j. 溶媒：1% DMSO を添加した DPBS（Ca^{2+}および Mg^{2+}含有）
k. 米国 FDA の GLP 規則（CFR 21 Part 58）および ICH S5A（R2）[13] に従って実施した

投与経路は臨床適用経路である経口投与を用いた。薬物動態プロファイル（2.6.4.3.1 項），肝ミクロソームでの in vitro 代謝安定性（2.6.4.5.2.1 項）ならびに代謝経路および消失経路がヒトと類似していること（2.6.4.5 項および 2.6.4.6 項）を踏まえ，一般毒性試験に用いるげっ歯類および非げっ歯類の動物種としてそれぞれラットおよびイヌを選択した。すべての重要な試験を含むほとんどの毒性試験は，臨床試験で使用するタラゾパリブの市販用製剤に用いられるタラゾパリブトシル酸塩を用いた。重要な試験以外の反復投与試験ではタラゾパリブの遊離塩基を使用した。用量および濃度についてはすべて遊離塩基に換算して表記した。ほとんどの毒性試験で，逆浸透水で調製した 0.5%CMC 溶液（400～800 cps）にタラゾパリブを懸濁した経口投与製剤を投与した。GLP 適用の 13 週間投与試験，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験および in vivo 光毒性試験には，タラゾパリブとの重量比が 1:71（w/w）となるようにケイ酸処理結晶セ

ルロース（SMCC）を加えた 0.5% CMC 溶液（0.5%）にタラゾパリブを懸濁した経口投与製剤を投与した。

反復投与毒性試験および遺伝毒性試験（in vivo 小核試験）ならびに生殖発生毒性試験の母動物においてトキシコキネティクス評価を行い，また光毒性試験では血漿中タラゾパリブ濃度測定を実施した。ラットおよびイヌに単回投与したときのタラゾパリブの見かけの消失半減期（$t_{1/2}$）は長く，半減期はラットで 25.7 時間，イヌでは 48.5 時間であった（2.6.4.3.1 項）。ラットおよびイヌを用いた反復投与毒性試験では（2.6.4.3.3 項），タラゾパリブの曝露量は概して用量の増加に伴い増加し，明らかな性差はみられず（2 倍未満），反復投与後に蓄積が認められた（5 倍以下）。血漿蛋白結合率は，ラット（89.9%），イヌ（63.5%）およびヒト（74%）で異なっていた（2.6.4.4.3 項）。固形がん患者に臨床推奨用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの定常状態（サイクル 1 の投与 35 日）における C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 21 ng/mL（非結合型：5.46 ng/mL），および 202 ng•h/mL（非結合型：52.5 ng•h/mL）であった［PRP-001（C3441007）試験］。患者に 1 mg/日の用量で反復投与したとき，タラゾパリブの蓄積性が認められた（単回投与時の約 2.3 倍）。毒性試験における動物とヒトとの曝露量比（動物／ヒト）は，動物に特定の影響が認められた用量または無毒性量（NOAEL）を投与したときの非結合型曝露量と，ヒトに臨床推奨用量である 1 mg/日を投与したときの非結合型曝露量とを比較して算出した。

4.1. 単回投与毒性

タラゾパリブの単回投与毒性試験は実施していない。

4.2. 反復投与毒性

ラットおよびイヌを用いてタラゾパリブの探索的および重要な反復投与毒性試験を実施した（参考資料 VQZ00001，VQZ00002，報告書番号 8227540，8227533，8279299，8227539，8227532，8279298）。試験結果の詳細を 2.6.6.3 項に示す。反復投与毒性試験で認められた標的臓器毒性のリスク評価を 2.4.4.9 項に示す。ラットおよびイヌで認められた主な所見と薬物動態の関連を 2.4.4.8 項および Table 9 に示す。ラットおよびイヌの GLP 非適用の試験は GLP 適用試験の結果と同様であり，詳細については 2.6.6.3.1 項および 2.6.6.3.5 項に示す。

反復投与毒性試験で認められたタラゾパリブに関連した主な毒性は，血液毒性（骨髄，脾臓およびリンパ器官），消化管毒性（食道，胃および腸管）および生殖器毒性（精巣）であった。血液および生殖器での所見はすべての反復投与試験（最長 13 週間）で認められ，消化管の所見は 28 日間以内の試験で認められた。毒性所見のみられた標的組織は，ラットを用いた全身オートラジオグラフィー試験（報告書番号 8228660）でタラゾパリブが臓器および組織へ広範に分布したことからも裏付けられた。タラゾパリブの薬理作用は，PARP1/2 阻害作用および DNA 損傷部位での強力な PARP トラッピング作用に起因する，腫瘍細胞に対する細胞傷害作用であるが，反復投与毒性試験で認められた主な臓器毒性も，タラゾパリブの強力な PARP トラッピング作用と関連している可能性がある（報告書番号 [redacted]LJ085）。13 週間投与試験では，血液学的所見（臨床における用量制限毒性）はラットで回復傾向を示したがイヌでは完全回復が認められ，精巣の所見はラットおよびイヌのいずれの動物種でも回復傾向が認められた。13 週間投与試験では，ラットおよびイヌの AUC_{24} の曝露量比がヒトにおける非結合型曝露量のそれぞれ 0.4 倍および 0.3 倍まで消化管毒性は認められなかった。

5 日間投与試験（休薬期間：28 日間）において高用量のタラゾパリブをラットまたはイヌに投与したところ，死亡が認められた。休薬期間中のラット（0.3 mg/kg/日以上，AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍以上）およびイヌ（0.1 mg/kg/日，AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍）で死亡が認められ，死因は複数臓器での敗血症であった。敗血症は，極めて重度の骨髄細胞減少および複数リンパ組織でのリンパ球減少を含むリンパ造血器系に対する毒性の二次的変化と考えられた。早期死亡の原因となった敗血症に加え，3 mg/kg/日のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：12.6 倍）および 0.1 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍）で，腸症を示唆する一般状態の変化が認められた。さらに全身毒性を示唆する複数臓器の出血および血小板数減少に加えて，極めて重度の消化管の絨毛萎縮も認められた。GLP 非適用の 14 日間投与試験においても，リンパ造血器系の所見に起因する死亡が認められ，高用量では消化管毒性も認められた。0.3 mg/kg/日以上のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍以上）および 0.03 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.1 倍）で，血小板数減少および凝固パラメータの上昇に関連した複数組織での出血が認められ，全身毒性を伴った。また 13 週間投与試験では，高用量群である 0.05 mg/kg/日のラットにリンパ造血器系への毒性を伴う瀕死状態が認められたため早期安楽殺し，生存動物は休薬期間を設けた後，用量を 0.04 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.41 倍）に減量して試験を継続した。

この薬剤クラスの用量制限毒性でもある血液学的所見および血小板減少症[31,32,33]はすべての反復投与毒性試験で認められ，発現時期，重症度および回復性はおおむね用量依存的であった。リンパ造血器系の毒性に関連した死亡がラットの 0.05 mg/kg/日以上およびイヌの 0.03 mg/kg/日以上で認められた。リンパ造血器系の毒性として，用量依存的な汎血球減少，軽微から重度の骨髄細胞減少および複数のリンパ器官のリンパ球減少が認められた。重要な 5 日間投与試験では，休薬期間中（ラットでは休薬 6～7 日目，イヌでは休薬 7～8 日目）に 1 mg/kg/日以上のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：5 倍以上）および 0.1 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍）で死亡が認められ，これらは極めて重度の骨髄細胞減少ならびに胸腺または種々のリンパ組織［リンパ節，腸管関連リンパ組織（GALT），脾臓］の胚中心のリンパ球減少を含む重篤なリンパ造血系毒性に起因する合併症によるものであった。5 日間投与試験の低用量群［0.3 mg/kg/日のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍）および 0.03 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.1 倍）］で認められた所見は休薬後に回復傾向を示し，いずれの個体も 28 日間の休薬期間終了時の剖検予定日まで生存した。また 1 mg/kg/日以上のラットでは，休薬後に極めて重度の骨髄過形成が認められた。ラットを用いた 28 日間投与試験では，0.05 mg/kg（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）で，赤血球パラメータおよび白血球数（好中球数，リンパ球数，単球数，大型非染色細胞数など）の減少が認められた。これらのリンパ造血器系の変化に関連する胸腺重量の減少，胸腺，脾臓およびリンパ節のリンパ球減少ならびに軽微からごく軽度の骨髄細胞減少は，休薬により回復した。イヌを用いた 28 日間投与試験では，0.005 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.2 倍）で病理組織学的所見を伴わず毒性学的意義の乏しいリンパ球数減少が認められ，また 0.01 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）では汎血球数減少が認められた。これらのリンパ造血器系の所見は，リンパ組織のリンパ球減少および胸骨の骨髄細胞減少と符合していた。13 週間投与試験では，0.015 mg/kg/日以上のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.16 倍以上）および 0.01 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.30 倍）で汎血球減少が認められ，これらに関連した病理組織学的所見としてラットで骨髄細胞減少およびリンパ節のリンパ球減少，イヌで骨髄内の顆粒球系：赤芽球系比（M:E 比）の上昇が認め

られたが，いずれも休薬後に回復した。リンパ造血器系の所見の重症度は，おおむね投与期間の延長に伴って増加し，生存例では回復または回復傾向が認められた。

消化管毒性は，ラットおよびイヌを用いた 5 日間および 28 日間投与試験で認められたが，13 週間投与試験では認められなかった。5 日間投与試験では，3 mg/kg/日のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：12.6 倍）および 0.1 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍）で早期の死亡が認められ，腸症を示唆する一般状態変化およびそれに伴う敗血症が認められた。早期の短期間投与試験で，高い曝露量比で重症度の最も高い消化管毒性が認められた。1 mg/kg/日のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：5 倍）では，腸症を伴わない敗血症が認められた。これらの動物では，絨毛萎縮およびアポトーシス増加が消化管全体にみられ小腸で最も顕著であったが，これらの所見は低用量群の動物では休薬後に回復傾向を示した。5 日間投与試験での 0.3 mg/kg/日以上のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍以上）および 0.01 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）ならびに 28 日間投与試験での 0.05 mg/kg/日のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.28 倍）および 0.005 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.17 倍）では，死亡および腸症は認められなかったものの，消化管でのアポトーシス/壊死の発現頻度の用量依存的な増加，GALT の退縮，あるいは腸間膜リンパ節のリンパ球減少が認められ，いずれも休薬後に回復した。13 週間投与試験では，長期投与のためタラゾパリブの総曝露量が増加したものの，短期投与試験でみられた消化管毒性は認められなかった。

イヌを用いた 28 日間投与試験を除く最長 13 週間投与試験では，ラットおよびイヌの雄性生殖器での所見として，毒性変化と考えられる精巣の精細管における萎縮および変性が認められ,休薬後に回復傾向が認められた。また，これらに起因した精巣上体の精子減少および精子肉芽腫が認められた。これら精巣での所見の重症度は，タラゾパリブの用量および投与期間と関連していた。イヌを用いた 28 日間投与試験では精巣の所見は認められなかった。0.05/0.04 mg/kg/日以上のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.41 倍以上），0.01 mg/kg/日以上のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.30 倍以上）で精巣の所見が認められ，休薬後に回復傾向を示した。精子肉芽腫はラットを用いた 28 日間投与試験の 0.005 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.03 倍以上）のみで認められた。ラットを用いた 5 日間投与試験の 1 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍以上）では，雌の生殖器官の所見として，軽微からごく軽度の卵巣の卵胞閉鎖が認められた。卵巣所見は，28 日間投与試験（曝露量比：0.28 倍以下）および 13 週間投与試験（曝露量比 0.41 倍以下）では認められなかった。

その他の所見として，ラットでは，5 日間投与試験の 1 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍以上）で軽微から中等度の肝細胞壊死，GLP 非適用 14 日間投与試験の 0.3 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.9 倍）で軽微から軽度の肝細胞の限局性凝固壊死，28 日間投与試験の 0.05 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）で軽微からごく軽度の肝細胞壊死が認められた。肝細胞壊死は，イヌを用いた試験およびラットを用いた 13 週間投与試験では認められなかった。

4.3. 遺伝毒性試験

Ames 試験（報告書番号 [redacted]），in vitro 染色体異常試験（報告書番号 [redacted]）および in vivo ラット小核試験（報告書番号 [redacted]）の一連の遺伝毒性試験でタラゾパリブの遺伝毒性を評価した。

In vitro 遺伝毒性試験において，タラゾパリブは Ames 試験では変異原性を示さなかった。しかし，健康ドナーから採取したヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験（重要な試験），DDR が欠損した DU145 前立腺癌細胞株を用いた in vitro 探索的試験およびラット骨髄を用いた in vivo 小核試験（重要な試験）で，タラゾパリブは染色体構造異常を誘発した。これらの試験でみられた染色体構造異常の誘発は，タラゾパリブの薬理作用（PARP1/2 の阻害）によるものと考えられ，他の PARP 阻害薬でも認められていることからクラスエフェクトであると考えられた。

4.4. がん原性

ICH S9[11] に従い，タラゾパリブを用いたがん原性試験は実施しなかった。

4.5. 生殖発生毒性

ICH S9[11] に従い，タラゾパリブを用いた受胎能および初期胚発生に関する試験は実施しなかった。

妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（報告書番号 20074799）では，0.015 mg/kg/日（母動物での AUC_{24} に基づく曝露量比：0.09 倍）で，母動物の体重および摂餌量の減少を含む一般状態変化が認められ，胚・胎児毒性が認められた。0.015 mg/kg/日で認められた胚・胎児毒性は，胚・胎児死亡率の顕著な増加，胎児奇形（眼部隆起の扁平化，小眼球，胸骨分節の分離および頸椎椎弓の癒合）および骨格変異（頬骨弓の変形，胸骨分節の骨化不全または変形，過剰肋骨ならびに頸椎椎弓の骨化不全または変形）の増加であった。

ICH S9[11] に従い，タラゾパリブを用いた出生前および出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった。

4.6. 局所刺激性試験

タラゾパリブを用いた局所刺激性試験は実施しなかった。

4.7. その他の毒性試験

4.7.1. 光毒性試験

3T3 ニュートラルレッド取り込み試験（報告書番号 20054208）により，タラゾパリブの光毒性誘発能を評価した。BALB/c 3T3 細胞において，紫外線非照射時にタラゾパリブは細胞毒性を示さなかったが，紫外線照射時に光毒性陽性を示した。

次いで，Long-Evans 有色ラットを用いた in vivo 光毒性試験によりタラゾパリブを評価した（報告書番号 20116618）。タラゾパリブを最高 0.05 mg/kg/日まで 3 日間経口投与した後，試験 3 日にキセノンランプによる紫外線 A 波（10.29 J/cm^2），紫外線 B 波（145 mJ/cm^2）および可視光を照射した結果，皮膚反応および病理組織学的所見を含めた眼科学的所見は認められず，タラゾパリブは光毒性を有さないことが示された。

4.7.2. 抗原性

タラゾパリブを用いた抗原性試験は実施しなかった。

4.7.3. 免疫毒性

ラットおよびイヌの反復投与試験において，血液学的検査の末梢リンパ球数評価およびリンパ組織の病理組織学的検査により，タラゾパリブの免疫毒性を評価した（2.4.4.2 項）。

4.7.4. 毒性発現機序

遺伝毒性および骨髄毒性の機序検討試験を実施した。

4.7.4.1. 遺伝毒性機序検討試験

多数の DDR 変異を有する DU145 前立腺癌細胞株を用いて，タラゾパリブ単独またはタラゾパリブと ssDNA 切断などの DNA 損傷を誘発する DNA アルキル化薬であるテモゾロミドで併用処理したときの，遺伝毒性の発現機序を検討した（参考資料 [redacted]GR323）。試験の結果から，小核誘発に至る DNA 損傷は，DNA 合成阻害を引き起こす嵩高い DNA 複合体（PARP-DNA 複合体）形成に必要な濃度よりも低濃度の PARP 阻害薬によって生じると考えられた。PARP トラッピングによる毒性発現には，PARP-DNA 複合体形成が複合体の除去および複製再開の閾値に達する必要があり，この閾値に達した細胞は，二本鎖 DNA 切断の増加により，S 期停止および細胞死に至ると考えられる。このように，PARP-DNA 複合体または未修復の一本鎖 DNA 損傷による細胞毒性が細胞複製機構の閾値を超える濃度よりも低濃度で小核が誘発されることから，小核誘発は PARP 阻害薬の毒性の指標となる可能性が高い。テモゾロミド併用処理では，PARP トラッピングの増強により細胞増殖反応を含む DDR 反応評価項目の用量反応曲線が左方へシフトし，小核形成もより低濃度にシフトした。テモゾロミド単独処理では，小核形成は誘導されなかった。

4.7.4.2. 骨髄抑制機序検討試験

非臨床毒性試験および臨床試験において，タラゾパリブの用量制限毒性として骨髄抑制に伴う血液学的毒性が認められた。このことから，末梢血単核球，骨髄単核球細胞のヘテロな培養細胞または CD34 陽性骨髄細胞を用いて，タラゾパリブによる骨髄抑制の分子機序，感受性の種差および細胞系統特異的な影響を及ぼす可能性について in vitro で検討した（参考資料 [redacted]LJ085）。試験の結果から，タラゾパリブに関連した血液毒性は，骨髄細胞に対するアポトーシスの誘導および増殖抑制作用に起因することが示唆された。タラゾパリブとテモゾロミドの併用により，骨髄における相乗的な細胞毒性が認められ，骨髄細胞の回復が妨げられる可能性が示唆された。

4.7.5. 依存性

依存性試験は実施していない。マウスにおける脳移行性試験ならびにラットにおける組織分布試験の結果から，血液脳関門を介した脳への分布はわずかであることが示唆された（2.4.3.3.1 項および 2.4.3.3.2 項）。タラゾパリブは薬物乱用に関連した中枢神経系の副次的薬理作用を示さず（2.4.2.2 項），また，反復投与毒性試験において中枢神経系に関連する一般状態変化は認められなかった（2.4.4.2 項）。このように，さらなるタラゾパリブの依存性を評価する必要性は示唆されなかった。

4.7.6. 代謝物

タラゾパリブの代謝プロファイルはラット，イヌおよびヒトで同様であり，主要なヒト特異的な代謝物は特定されていないため，代謝物を投与する独立した試験は実施していない（2.4.3.4 項）。

4.7.7. 不純物

製剤に含まれる 2 つの不純物［ *不純物A および *不純物B ］の構造はタラゾパリブと類似しているため，独立した不純物の毒性試験は実施していない。なお，タラゾパリブ自体が染色体異常誘発性を示すことから，特定の不純物が製剤中に 1%含有される場合においても，それが患者に及ぼすリスクは無視できると考えられる。

4.8. 認められた所見と薬物動態の関連

ラットおよびイヌにおけるタラゾパリブの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，検討した用量の範囲で用量の増加に伴い増加した。曝露量に明らかな性差は認められず，反復投与試験ではラットおよびイヌのいずれにおいても反復投与後に蓄積性が認められた（2.4.3.2.2 項）。タラゾパリブの血漿蛋白結合率には種差が認められ，ラット，イヌおよびヒトの非結合型分率（f_u）はそれぞれ 0.101，0.365 および 0.260 であったことから（2.4.3.3.3 項），非結合型曝露量を用いて安全域を算出した。

ラットおよびイヌで認められた主な所見と関連する非結合型曝露量（雌雄合算値）を Table 9 に示す。動物とヒトとの曝露量比（動物／ヒト）は，安全性薬理試験では無作用量（NOEL），毒性試験では NOAEL を投与したときの非結合型曝露量と，ヒトに臨床推奨用量である 1 mg/日を投与したときの非結合型曝露量とを比較して算出した。固形がん患者に臨床推奨用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの定常状態（サイクル 1 の投与 35 日）における C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 21 ng/mL（非結合型：5.46 ng/mL），および 202 ng•h/mL（非結合型：52.5 ng•h/mL）であった［PRP-001（C3441007）試験］。

Table 9.　主な所見が認められたときのタラゾパリブの曝露量

主な所見 [a]	投与量 (mg/kg/日)	C_{max} [b] (ng/mL)	AUC_{24} [b] (ng•h/mL)	曝露量比 [c] (C_{max}/AUC_{24})
安全性薬理試験				
hERG 試験（8229172 試験）				
IC_{50} 値	>100 µmol/L	38035	NA	6966/NA
Sprague Dawley ラットを用いた中枢神経系試験（8227534 試験）				
特記すべき所見なし	0.3	NA	NA	2.3[d]
同上	1	NA	NA	6.0[d]
同上	3 (NOEL)	NA	NA	12.9[d]
Sprague Dawley ラットを用いた呼吸系試験（8229153 試験）				
換気量↓（各測定時点で 9%減少）	0.3	NA	NA	2.3[d]
換気量↓（各測定時点で 11%減少）	1	NA	NA	6.0[d]
換気量↓（各測定時点で 12%減少）	3	NA	NA	12.9[d]
反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）				

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Table 9.　主な所見が認められたときのタラゾパリブの曝露量

主な所見 [a]	投与量 (mg/kg/日)	C_{max} [b] (ng/mL)	AUC_{24} [b] (ng•h/mL)	曝露量比 [c] (C_{max}/AUC_{24})
Sprague Dawley ラットを用いた試験（VQZ00001 試験，第 1 期：3 匹/性/群，第 2 期：5 匹/性/群）				
5 日間投与（第 1 期）： 体重↓，体重増加量↓	3	ND	ND	ND
上記に加えて，軟便/粘液便	10	ND	ND	ND
上記に加えて，死亡/瀕死，円背位，嗜眠	30	ND	ND	ND
14 日間投与（第 2 期）： 体重↓，摂餌量↓，大部分の赤血球および白血球パラメータ↓，AST ↓，ALP ↓，脾臓および胸腺重量↓	0.1 (NOAEL/ STD_{10}/ MTD)	4.29	28.2	0.8/0.5
上記に加えて，死亡/瀕死状態，PT ↑，フィブリノゲン↑，アルブミン（雌）↓，鼻および眼周囲の汚れおよび腫脹，頸部の潰瘍，副腎重量↑，出血を伴う様々な組織の暗変色，様々な組織の出血，骨髄および赤脾臓の造血組織の完全退縮，リンパ節および胸腺のリンパ球減少，肝細胞の凝固壊死巣	0.3	14.0	99.0	2.6/1.9
上記に加えて，全動物の瀕死，精巣，頸部および足蹠での皮膚の内出血および挫傷，口周囲の潰瘍/痂疲，円背位，削痩，体温↓，AST ↑，ALT ↑	1	ND[e]	ND[e]	ND[e]
ビーグル犬を用いた試験（VQZ00002 試験，第 1 期：2 匹/性/群，第 2 期：4 匹/性/群）				
5 日間投与（第 1 期）： 軽微から中等度の血液学的変化	0.1	ND	ND	ND
上記に加えて，死亡，糞便の変化，側臥位，嘔吐，自発運動量低下，浅速呼吸，体重↓，極めて重度の臨床病理学的変化，多数の組織での出血および全身毒性を示唆する剖検所見	1	ND	ND	ND
14 日間投与期（第 2 期）： 網状赤血球↓，血小板数↓，白血球数↓	0.01 (NOAEL/ HNSTD/ MTD)	2.29	21.7	0.4/0.4
上記に加えて，全動物を瀕死のため安楽殺，血液が混入した変色便，軟便および粘液便，嘔吐，体重↓，血液学的検査値の毒性変化（骨髄の造血細胞の減少と関連），ALT ↑，AST ↑，ALP ↑，胸腺，腸間膜リンパ節および脾臓のリンパ濾胞のリンパ球枯渇，消化管出血	≧0.03	ND[e]	ND[e]	ND[e]
反復投与毒性試験（重要な試験）				
Sprague Dawley ラットを用いた 5 日間反復投与毒性試験（8227540 試験，18 匹/性/群）				

Table 9.　主な所見が認められたときのタラゾパリブの曝露量

主な所見 [a]	投与量 (mg/kg/日)	C_{max} [b] (ng/mL)	AUC_{24} [b] (ng•h/mL)	曝露量比 [c] (C_{max}/AUC_{24})
休薬期間中に 1 例死亡，体重↓，摂餌量↓，赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン，ヘマトクリット値）↓，白血球パラメータ（好中球数，リンパ球数，単球数，大型非染色細胞数）↓，血小板数↓，グルコース↑，カリウム↓，AST↓，ALT↓，脾臓および胸腺重量↓，骨髄細胞減少，胃および腸管のアポトーシス増加，GALT の退縮，リンパ節胚中心の退縮，胸腺リンパ球の減少，肝臓の髄外造血↑，精巣の萎縮/変性	0.3 (STD_{10})	12.3	86.5	2.3/1.6
上記に加えて，極めて重度の一般状態の変化，休薬 6～7 日の敗血症による死亡/瀕死，骨髄細胞減少および一般状態の悪化と関連した血液学的検査値および血液生化学検査値の変化，剖検所見として下顎唾液腺の変化，脳の変色，精巣の斑状化および精巣上体の変色，骨髄過形成，小腸の絨毛萎縮，脾臓および肝臓の髄外造血↑，脾臓のマクロファージ浸潤，下顎リンパ節，唾液腺，脳，腎臓および肺での病巣内の細菌の有無を問わない炎症または出血，精巣および精巣上体の出血，肝細胞壊死，卵巣の卵胞閉鎖，脾臓および下顎唾液腺重量↑，胸腺重量↓	1	33.0	261.5	6.0/5.0
上記に加えて，休薬 1～3 日の腸症（絨毛萎縮，アポトーシス増加）による死亡，水様便，アルブミン↓，肺胞上皮過形成，脾臓リンパ球数↓，脾臓重量↓	3	70.6	661.1	12.9/12.6
Sprague Dawley ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験（8227533 試験，18 匹/性/群）				
精巣上体の精子肉芽腫	0.005 (LOAEL)	0.106	1.55	0.02/0.03
上記に加えて，特記すべき所見なし	0.015	0.547	5.03	0.1/0.1
上記に加えて，体重↓，摂餌量↓，被毛の汚れ，網状赤血球数↓，赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン，ヘマトクリット値）↓，白血球パラメータ（リンパ球数，好中球数）↓，精巣および胸腺重量↓，心臓重量↑，精巣上体の黄褐色化，精巣の変性および精巣上体管腔内の細胞残屑，骨髄細胞減少，下顎および腸間膜リンパ節の胚中心，脾臓および胸腺のリンパ球減少，腺胃および十二指腸のアポトーシス増加，肝臓の単細胞壊死，精巣の萎縮/変性	0.05	2.19	14.9	0.4/0.3

Table 9.　主な所見が認められたときのタラゾパリブの曝露量

主な所見 [a]	投与量 (mg/kg/日)	C_{max} [b] (ng/mL)	AUC_{24} [b] (ng•h/mL)	曝露量比 [c] (C_{max}/AUC_{24})
Sprague Dawley ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（8279299 試験，18 匹/性/群）				
特記すべき所見なし	0.005	0.212	2.80	0.04/0.05
体重↓，摂餌量↓，赤血球数↓，平均赤血球容積↑，網状赤血球数↓，腸間膜リンパ節のリンパ球↓	0.015 (NOAEL)	0.817	8.43	0.1/0.2
上記に加えて，瀕死，重度の赤血球パラメータ↓ならびに一般状態の変化（眼，耳および足の蒼白）による投与量減量，ヘモグロビン↓，ヘマトクリット値↓，平均赤血球容積↑，平均赤血球ヘモグロビン量↑，白血球パラメータ↓（好酸球以外のサブタイプ），血小板数↑，脾臓重量↑，胸腺重量↓およびリンパ球減少，精巣および精巣上体の重量↓，精巣の変性/萎縮，精巣上体の管腔内精子数減少，胸骨/大腿骨骨髄の M:E 比↑または肥満細胞浸潤↑，腸間膜リンパ節のリンパ球↓，髄外造血↑	0.05/0.04	2.95	21.3	0.5/0.4
ビーグル犬を用いた 5 日間反復投与毒性試験（8227539 試験，7 匹/性/群）				
胸腺のリンパ球↓	0.003 (NOAEL)	0.203	3.80	0.04/0.1
網状赤血球数↓，白血球数↓，胸腺重量↓，胸腺のリンパ球↓，腸管のアポトーシス↑，GALT，リンパ節および脾臓の胚中心のリンパ球減少，骨髄細胞減少	0.01	1.08	15.9	0.2/0.3
上記に加えて，体温上昇，自発運動量低下，摂餌量↓，糞便の異常，好中球数↓，単球数↓，好塩基球数↓，大型非染色細胞数↓，赤血球数↓，ヘモグロビン↓，ヘマトクリット値↓，血小板数↓	0.03 (HNSTD)	4.37	58.8	0.8/1.1

Table 9.　主な所見が認められたときのタラゾパリブの曝露量

主な所見 [a]	投与量 (mg/kg/日)	C_{max} [b] (ng/mL)	AUC_{24} [b] (ng•h/mL)	曝露量比 [c] (C_{max}/AUC_{24})
上記に加えて，好酸球数↓，死亡/瀕死，体重↓，過剰な流涎，消化管の変色（赤色または暗赤色），リンパ節の変色（暗変色），胸腺，心臓および肺の変色（赤色），腹部脂肪組織，乳房組織および胸腺のゼラチン状外観またはゼラチン状物質の付着，結腸の重積，腸間膜リンパ節の赤色/褐色の斑紋，アポトーシスを起こした細胞残屑を伴う腸陰窩の拡張，複数組織（副腎皮質，胃，十二指腸，空腸，盲腸，結腸，直腸，リンパ節，胸腺，腎臓，心臓，精巣）での出血，複数組織（肺，脂肪組織，直腸）での細菌を伴う出血，肝臓のグリコーゲン減少，精巣の精細管変性，骨髄およびリンパ組織の変化に続発した細菌性敗血症	0.1	19.1	258	3.5/4.9
ビーグル犬を用いた 28 日間反復投与毒性試験（8227532 試験，7 匹/性/群）				
特記すべき所見なし	0.0005	0.0467	0.836	0.01/0.02
特記すべき所見なし	0.0015	0.141	2.49	0.03/0.05
リンパ球数↓，GALT，リンパ節および脾臓の胚中心のリンパ球減少	0.005 (NOAEL)	0.475	8.83	0.1/0.2
上記に加えて，赤血球数↓，ヘマトクリット値↓，血小板数↓，網状赤血球数↓，白血球数↓，リンパ球数↓，単球数↓，骨髄の細胞減少，十二指腸のアポトーシス増加，回腸，盲腸および結腸での GALT の退縮	0.01 (HNSTD)	1.27	15.9	0.2/0.3
ビーグル犬を用いた 13 週間反復投与毒性試験（8279298 試験，7 匹/性/群）				
特記すべき所見なし	0.0015	0.110	2.06	0.02/0.04
赤血球パラメータ↓	0.005 (NOAEL)	0.420	7.86	0.1/0.2
上記に加えて，白血球パラメータ↓（好酸球以外の全系列），平均赤血球容積↑，平均赤血球ヘモグロビン濃度↓，精巣の精細管上皮の変性/萎縮，精巣上体の内腔細胞残屑，大腿骨骨髄のごく軽度の M:E 比↑	0.01 (HNSTD)	0.894	15.7	0.2/0.3
生殖発生毒性試験				
Sprague Dawley ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（20074799 試験，雌 25 匹/群）				

Table 9.　主な所見が認められたときのタラゾパリブの曝露量

主な所見 [a]	投与量 (mg/kg/日)	C_{max} [b] (ng/mL)	AUC_{24} [b] (ng•h/mL)	曝露量比 [c] (C_{max}/AUC_{24})
母動物の体重↓，摂餌量↓，赤色膣分泌物，吸収胚（同腹児の 90.7%），胎児重量↓，胎児奇形（眼部隆起の扁平化，小眼球，胸骨分節の分離，頸椎椎弓の癒合）および骨格変異（頬骨弓の変形，胸骨分節の骨化不全または変形，過剰肋骨，頸椎椎弓の骨化不全または変形）	0.015	0.397	4.97	0.07/0.09
上記に加えて，脱水，円背位，生存胎児なし	0.05	1.83	20.3	0.3/0.4
上記に加えて，母動物 25 例中 8 例が死亡または早期安楽殺，接触時の冷感，自発運動量低下，削痩，半眼または眼の蒼白，足の皮膚の蒼白	0.15	3.86	34.4	0.7/0.7
遺伝毒性試験				
Sprague Dawley ラットを用いた小核試験（[redacted] 試験，5 匹/性/群）				
小核を有する多染性赤血球数↑	150	ND	ND	ND
同上	300	ND	ND	ND
同上	600	ND	ND	ND
光毒性試験				
In vivo 光毒性試験（20116618 試験，雌 5 匹/群）				
特記すべき所見なし	0.015	0.296	1.35	0.05/0.03
同上	0.05	1.87	8.48	0.3/0.2

ALP：アルカリホスファターゼ，ALT：アラニンアミノトランスフェラーゼ，AST：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ，AUC_{24}：0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積，C_{max}：最高血漿中濃度，
GALT：腸管関連リンパ組織，hERG：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子，
HNSTD：重篤な毒性が発現しない最大投与量，IC_{50}：50%阻害濃度，LOAEL：最小毒性量，
M:E：顆粒球系:赤血球系，MTD：最大耐量，NA：該当せず，ND：算出せず，NOAEL：無毒性量，
NOEL：無影響量，PT：プロトロンビン時間，　STD_{10}：供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する投与量
a. 特に明記しない限り，各試験の低用量で認められた所見は高用量でも同様に認められた。
b. 特に明記しない限り，非結合型の値を示す。非結合型の値は f_u（ラット：0.101，イヌ：0.365）に基づき算出した。特に明記しない限り，反復投与試験の AUC および C_{max} は雌雄合算値を示す。特に指定のない限り，試験終了時付近の値を示す。
c. 総濃度の C_{max}/非結合型 C_{max} に基づく曝露量比は，［$C_{max\ 投与量}/C_{max\ ヒト\ 1\ mg\ QD}$］により算出した。ヒトの f_u（0.260）に基づき，非結合型 $C_{max\ ヒト\ 1\ mg\ QD}$ は 5.46 ng/mL とした。総 AUC/非結合型 AUC に基づく曝露量比は，［$AUC_{投与量}/AUC_{ヒト\ 1\ mg\ QD}$］により算出した。ヒトの f_u（0.260）に基づき，非結合型 $AUC_{ヒト\ 1\ mg\ QD}$ は，52.5 ng•h/mL であった。
d. 本試験では TK 解析を実施していないため，本試験と同量を投与したラットを用いた重要な 5 日間反復投与試験（8227540 試験）の TK パラメータ（C_{max}）を用いて曝露量比を算出した。
e. 死亡または瀕死のため，剖検予定日付近の TK パラメータを算出できなかった。

4.9. 標的臓器毒性

毒性試験では，タラゾパリブの主な毒性として，リンパ造血器系，雄性生殖器および消化管への影響，ならびに遺伝毒性および胚・胎児毒性が認められた。その他の毒性として，ラットでは雌性生殖器および肝臓への影響が認められた。死亡および瀕死状態は，反復投与試験の高用

量（ラットでは 0.05 mg/kg/日以上，イヌでは 0.03 mg/kg/日以上）で認められた。これらの死亡は感染症（複数組織での細菌感染）とそれに伴う敗血症によるもので、重度のリンパ造血器系の変化に続発したものであった。瀕死の動物では、多数の臓器から出血（全身毒性を示唆）および血小板数減少のほか，腸症を示す一般状態の変化（水様便など）や，消化管における重度の絨毛萎縮が認められた。

4.9.1. リンパ造血系

ラットおよびイヌを用いた最長 13 週間の重要な反復投与毒性試験では，骨髄およびリンパ組織に対する毒性が認められた。ラットおよびイヌを用いたすべての重要な試験で認められた所見は，用量依存的な汎血球減少（赤血球パラメータ，白血球数および血小板数の減少）およびこれに関連した軽微から重度の骨髄細胞減少および多数のリンパ組織でのリンパ球減少であった。これらの所見の発現時期，重症度および回復性は用量依存的であった。複数の試験で白血球パラメータの減少を引き起こす骨髄およびリンパ組織の変化が認められており，多数の組織で細菌が検出されたことから，これらの変化により敗血症に罹患しやすくなったと考えられた。5 日間投与試験では，ラットの 1 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：5 倍以上）およびイヌの 0.1 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍）で休薬期間中（ラットでは試験 6～7 日，イヌでは試験 7～8 日）に敗血症に伴う死亡が認められた。5 日間投与試験で生存した休薬群の動物［ラットの 0.3 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍）およびイヌの 0.03 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.1 倍）］では，リンパ造血系組織の所見は休薬後に回復傾向が認められた。また，ラットの 1 mg/kg/日以上では，休薬期間に極めて重度の骨髄過形成が認められた。ラットを用いた 28 日間投与試験では，0.05 mg/kg（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）で赤血球パラメータおよび白血球数（好中球，リンパ球，単球，大型非染色細胞など）の減少が認められた。これらのリンパ造血器系の変化に関連した胸腺重量の減少，胸腺，脾臓およびリンパ節のリンパ球減少ならびに軽微からごく軽度の骨髄細胞減少は休薬により回復した。イヌを用いた 28 日間投与試験では，0.005 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.2 倍）ではリンパ球数減少が認められ，0.01 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）では汎血球数減少が認められた。これらのリンパ造血器系の変化は，リンパ組織での軽微からごく軽度のリンパ球減少ならびに胸骨および大腿骨での軽微から重度の骨髄細胞減少と符合していた。13 週間投与試験ではラットの 0.015 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.16 倍以上）およびイヌの 0.01 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.30 倍）でも汎血球減少が認められた。関連した病理組織学的所見としてラットで骨髄細胞減少およびリンパ節のリンパ球減少，イヌで骨髄の M:E 比上昇が認められたが，いずれも休薬後に回復した。また，in vitro 細胞毒性試験（報告書番号 [redacted]LJ085）で評価した動物種のうち，ラットの骨髄細胞がタラゾパリブの細胞毒性に対して最も高い感受性を示し（ラット，マウスおよびヒトの IC_{50} 値はそれぞれ 2.9，5.4 および 6.9 nmol/L），この結果は低い曝露量比で汎血球数減少が認められたことと符合していた。

肝臓および脾臓では代償性の髄外造血が認められた。28 日間および 13 週間投与試験でのリンパ造血器系へのタラゾパリブの影響（骨髄およびリンパ組織の変化）は可逆的であり，休薬後に全細胞系列の再生が認められた。以上より，これらの血液毒性は臨床でモニタリング可能かつ回復性を示すことが示唆された。ラットを用いた 13 週間反復投与試験では，最高用量である 0.05 mg/kg/日で赤血球パラメータの減少による瀕死や死亡が認められたため，投与中断後に 0.04 mg/kg/日まで減量して投与を再開した。このことから，減量によりタラゾパリブの投与が継続可能，すなわち管理可能な毒性であることが裏付けられた。臨床におけるタラゾパリブおよ

びその他の PARP 阻害薬の用量制限毒性は血液毒性（骨髄抑制）であるが，減量により血液毒性が緩和され，投与の継続が可能であることが報告されている [32]。

4.9.2. 消化管

消化管毒性がラットおよびイヌを用いた 5 日間および 28 日間投与試験で認められたが，13 週間投与試験では認められなかった。14 日以下の短期間投与試験では，高い曝露量比（AUC_{24} に基づく曝露量比：5 倍以上）において，重症度の高い消化管毒性が認められた。5 日間投与試験では，ラットの 3 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：12.6 倍）およびイヌの 0.1 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：5 倍）で死亡が認められ，敗血症を伴った腸症を示す一般状態変化が認められた。これらの生存例では，その他の消化管毒性である絨毛萎縮または粘膜上皮細胞のアポトーシス増加が消化管全体で認められ，小腸で最も顕著であった。低用量群では，これら所見は休薬後に回復傾向を示した。5 日間投与試験でのラットの 0.3 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍以上）およびイヌの 0.01 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍以上）ならびに 28 日間投与試験でのラットの 0.05 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.28 倍）およびイヌの 0.005 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.17 倍）で，死亡および腸症を伴わない腺胃および十二指腸でのアポトーシス/壊死の用量依存的な発現頻度の増加，軽微からごく軽度の回腸，盲腸および結腸における GALT の退縮，あるいは腸間膜リンパ節のリンパ球減少が認められ，いずれも休薬後に回復した。13 週間投与試験では，ラットおよびイヌに対するタラゾパリブの総曝露量は長期投与のため増加し，試験終了時の AUC_{24} は他の試験と同程度またはそれ以上であったものの，消化管毒性は認められなかった。臨床では，種々の PARP 阻害薬で消化管毒性が認められており，PARP 阻害薬のクラスエフェクトと考えられた[34]。

4.9.3. 雄性生殖器

ラットを用いた 5 日間，28 日間および 13 週間投与試験ならびにイヌを用いた 5 日間および 13 週間投与試験において，雄性生殖器に対する毒性が認められた。イヌを用いた 28 日間投与試験では精巣の所見は認められなかった。雄性生殖器の変化として，精巣の精細管の萎縮/変性およびこれに伴う精巣上体の精子減少が認められ，休薬後に回復傾向を示した。精巣上体の精子肉芽腫はラットを用いた 28 日間投与試験の 0.005 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.03 倍）で認められた。これらの精巣の所見の重症度は，用量および投与期間と相関していた。13 週間投与試験では，ラットの 0.05/0.04 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.4 倍以上）およびイヌの 0.01 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍以上）で精巣の毒性所見が認められ，休薬後に回復傾向を示した。以上のように，精巣および精巣上体に所見が認められたことから，男性患者への潜在的リスクが示唆された。なお，ラットおよびイヌの雄性生殖器への影響が認められたことは，添付文書案（1.8.1）にて注意喚起を行っている。

4.9.4. 肝臓

ラットを用いた 5 日間および 28 日間投与試験では，1 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍以上）および 0.05 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍以上）で肝細胞壊死が認められた。また，ラットを用いた GLP 非適用 14 日間投与試験の 0.3 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.9 倍）で軽微から軽度の肝細胞の限局性凝固壊死が認められた。しかし，イヌを用いた試験およびラットを用いた 13 週間投与試験で肝細胞壊死は認められなかった。非臨床毒

性試験で一貫した肝臓の所見は認められなかったものの，これらの所見に基づき臨床での肝毒性の潜在的リスクが示唆された。

4.9.5. 雌性生殖器

ラットを用いた 5 日間投与試験では，雌の生殖器官の所見として 1 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍以上）で卵巣の卵胞閉鎖が認められた。ラットを用いた 28 日間投与試験（曝露量比：0.3 倍以下）および 13 週間投与試験（曝露量比 0.4 倍）では，卵巣での所見は認められなかった。非臨床毒性試験で一貫した卵巣の所見は認められなかったものの，本所見に基づき女性患者への潜在的リスクが示唆された。なお，ラットの雌性生殖器への影響が認められたことは，添付文書案（1.8.1）にて注意喚起を行っている。

4.9.6. 発生毒性

妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，妊娠ラットに 0.015 mg/kg/日以上を投与したとき（母動物の AUC_{24} に基づく曝露量比：0.09 倍以上）タラゾパリブによる胚・胎児毒性が認められた。母動物に 0.015 mg/kg/日を投与後に生存した胎児に認められた毒性は，胚・胎児の死亡，胎児奇形（眼部隆起の扁平化，小眼球，胸骨分節の分離および頸椎椎弓の癒合）および骨格変異（頬骨弓の変形，胸骨分節の骨化不全または変形，過剰肋骨ならびに頸椎椎弓の骨化不全および変形）の増加であった。以上，これらの所見によりヒト胚・胎児発生の潜在的リスクが示唆された。なお，ラットで胚・胎児発生への影響が認められたことは，添付文書案（1.8.1）にて注意喚起を行っている。

4.9.7. 遺伝毒性

細菌を用いる復帰突然変異試験では，タラゾパリブは変異原性を示さなかった。しかし健康ドナーから採取したヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 試験では，タラゾパリブは染色体構造異常誘発性を示し，ラットを用いた in vivo 小核試験では 150 mg/kg 以上で小核を有する多染性赤血球の発現頻度が統計学的に有意に増加した。以上，in vitro と in vivo で評価したすべての濃度および用量でタラゾパリブは小核形成を誘発した。

また DDR 欠損および BRCA2 変異を有する DU145 前立腺癌細胞株を用いてタラゾパリブを評価した。DU145 細胞をタラゾパリブ単独で処理したところ，タラゾパリブは 0.0005 µmol/L から dsDNA 切断，S 期での細胞周期停止および細胞増殖阻害を誘発し，タラゾパリブの DDR への寄与が示唆された。染色体異常誘発性のマーカーである小核誘発は，0.0007 µmol/L から認められた。DDR および染色体異常誘発作用はいずれもテモゾロミド（128 µmol/L）の併用処理によって増強され，細胞増殖の阻害および小核誘発はそれぞれ 0.0004 µmol/L および 0.0001 µmol/L から認められた。テモゾロミド単独処理では，128 µmol/L まで DDR または小核誘発は認められなかった。以上，タラゾパリブが示した染色体構造異常誘発性はタラゾパリブの主な薬理作用（PARP1/2 触媒活性の阻害および PARP トラッピング）によるものであり，クラスエフェクトと考えられた [1,3,35]。なお，遺伝毒性試験において染色体構造異常誘発性および in vivo 小核誘発性が認められたことは，添付文書案（1.8.1）にて注意喚起を行っている。

4.9.8. 標的臓器毒性まとめ

以上，非臨床試験の主な毒性は臨床曝露量以下で認められた骨髄やリンパ組織の細胞減少などのリンパ造血器系の所見であり，これにより汎血球数減少がみられた。これらの血液学的所見

は，血液毒性の高感度な初期マーカーであり，NOAEL および重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）では休薬後に概して回復性が認められたことから，休薬により回復する可能性が示唆された。休薬後に回復傾向を示した精巣の限局性萎縮および変性ならびに精巣上体の精子減少も臨床曝露量以下で認められ，患者の受胎能への影響や避妊の必要性が示唆された。高い曝露量比で認められたその他の毒性として，反復投与毒性試験で用量依存的な消化管のアポトーシス/壊死，卵巣の卵胞閉鎖および肝細胞壊死が認められた。これらの所見およびタラゾパリブにより認められた遺伝毒性は，概してタラゾパリブの薬理作用と符合していた。タラゾパリブ投与に関連する影響は，臨床的にモニタリング可能であるか，本薬の適応対象である患者への投与に際しては許容できるリスクであると考えられた。

5. 総括及び結論

タラゾパリブは，強力かつ経口投与可能な低分子 PARP 阻害薬であり，BRCA 遺伝子変異陽性かつ HER2 陰性の手術不能または再発乳癌および去勢抵抗性前立腺癌を含むヒトの様々ながん腫の治療薬として開発中である。PARP 阻害薬は，PAR 化の阻害を含む PARP 触媒活性の阻害および PARP トラッピングによって抗腫瘍活性を示す。

酵素レベルの in vitro 試験において，タラゾパリブは PARP1 および PARP2 の触媒活性を強力かつ選択的に阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 0.7 nmol/L および 0.3 nmol/L であった。DNA 損傷修復経路の遺伝子に欠損を有する乳癌，前立腺癌，膵癌および大腸癌由来の細胞株パネルをタラゾパリブで処理したところ，タラゾパリブは強力な細胞傷害作用を示した。タラゾパリブの PARP トラッピング能を評価するため，ssDNA 切断を誘発する MMS の存在下で乳癌および前立腺癌由来の細胞株をタラゾパリブで処理した結果，PARP トラッピング能が上昇した。細胞傷害感受性の高い BRCA1 変異陽性乳癌細胞株 MDA-MB-436 は，細胞傷害感受性の低い BRCA1 変異陽性乳癌細胞株 HCC1954 細胞株と比して，高い PARP トラッピング能を示した。BRCA2 変異陽性前立腺癌細胞株 DU145 細胞株を用いて DDR に関する種々のパラメータを検討したところ，タラゾパリブにより S 期での細胞周期停止が誘導され，S 期特異的および細胞周期全体の dsDNA 切断（γH2AX を指標に測定），早期のアポトーシス（CC3 を指標に測定）の増加，ならびに細胞増殖の減少が認められた。DDR 解析における評価結果は，タラゾパリブの作用機序である PARP 触媒活性の阻害および PARP トラッピングと符合していた。

乳癌 PDX モデルを用いた in vivo 試験でタラゾパリブを 0.3 mg/kg の用量で 1 日 1 回単独経口投与したところ，タラゾパリブはカルボプラチンより高い抗腫瘍活性を示した。また，前立腺癌異種移植モデルを用いた in vivo 試験でタラゾパリブを 0.15 mg/kg の用量で 1 日 2 回単独経口投与したところ，溶媒対照群と比較してタラゾパリブは高い抗腫瘍活性を示した。乳癌 PDX モデル（BRCA1 変異および BRCA2 変異：各 1 モデル，BRCA1/2 野生型：3 モデル）にタラゾパリブを 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg の用量で 1 日 2 回経口投与したところ，タラゾパリブは BRCA1 変異乳癌 PDX モデルに対して最も顕著な抗腫瘍効果を示し，溶媒対照群と比して統計学的に有意かつ用量依存的な TGI を示した（TFS：100%）。また，BRCA2 変異モデルおよび BRCA1/2 野生型モデルに対しても統計学的に有意な TGI を示したが，DDR に関連する他の未知の変異が関与している可能性が考えられた。

副次的薬理試験において，72 種類の受容体，酵素およびイオンチャネルからなる広範なパネルを用いて，タラゾパリブ濃度のオフターゲット作用を評価した結果，タラゾパリブが副次的薬理作用（オフターゲット作用）を示す可能性は低いと考えられた。

マウス，ラット，イヌおよびヒト組織を用いてタラゾパリブの吸収，分布，代謝および排泄を評価した。ラットおよびイヌでは，中等度から高い経口バイオアベイラビリティ，低度のクリアランスおよび中等度の V_{ss} が認められた。タラゾパリブの血漿蛋白結合率はマウスおよびラットで高く，イヌ，サルおよびヒトで中等度であった。[^{14}C]タラゾパリブは有色ラットにおいて，ほとんどの組織および体液に広く分布し，投与後 168 時間までに眼のブドウ膜を含むすべての組織から完全に消失した。ラットおよびマウスにおいてタラゾパリブの血液脳関門を介した中枢への移行はわずかであった。

In vitro でマウス，ラット，イヌまたはヒトの肝ミクロソームおよび肝細胞とインキュベートしたところ，タラゾパリブは代謝安定性を示した。In vivo では，ラットおよびイヌの血漿中でタラゾパリブは主に未変化体として存在し，ヒト血漿中では未変化体のみが検出された。ラットおよびイヌで[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能の大部分は未変化体として糞中排泄され，尿中排泄はわずかであった。一方，ヒトでは[^{14}C]タラゾパリブ由来放射能は主に未変化体として尿中排泄され，糞中排泄はわずかであった。酸化的代謝は軽微な消失経路であり，尿中および糞中で認められた数種類の微量酸化代謝物は，ラットまたはイヌとヒトで同様であった。ラットおよびヒトへの投与後に，タラゾパリブのキラル反転は認められなかった。

In vitro では，タラゾパリブが主要な P450 分子種および UGT 分子種の阻害あるいは誘導を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いことが示された。また in vitro では，タラゾパリブはトランスポーターの阻害を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いことが示された。一方，In vitro 試験およびマウスを用いた in vivo 試験から，タラゾパリブは P-gp および BCRP の基質となることが示されたが，ラット，イヌおよびヒトに経口投与したときのバイオアベイラビリティは中等度から高度と良好であり，タラゾパリブの消化管吸収は排出トランスポーターによる制限をほとんど受けないと考えられた。

ICH S9[11] ガイドラインに従い，ラットおよびイヌを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験，遺伝毒性試験（in vitro および in vivo），ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験ならびに光毒性試験を実施し，タラゾパリブの非臨床毒性プロファイルを検討した。また安全性薬理試験におけるラットを用いた単回経口投与による呼吸系および中枢神経系パラメータ，イヌを用いた反復投与による心血管系パラメータおよび心電図パラメータに，タラゾパリブによる影響は認められなかった。ラットおよびイヌを用いた反復投与試験で眼の所見にタラゾパリブの影響はみられず，in vivo 光毒性試験においてもタラゾパリブによる影響は認められなかった。

一連の非臨床試験を実施した結果，ラットおよびイヌにおけるタラゾパリブの主な標的臓器への影響は，リンパ造血器系，雄性生殖器および消化管に関連するものであった。その他の標的臓器における所見として，ラットでは雌性生殖器および肝臓への影響が認められた。ヒト末梢血リンパ球およびがん細胞株を用いた in vitro 試験およびラットを用いた in vivo 試験において，タラゾパリブは染色体異常誘発性を示した。骨髄細胞を用いた探索的毒性試験の結果は，反復投与毒性試験で認められた血球に対する影響が細胞系統特異的ではなかったことと符合しており，また in vitro におけるタラゾパリブに対する感受性はラットの骨髄細胞で最も高く，ヒトの

骨髄細胞の感受性の 2 倍超であった。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，タラゾパリブによる明らかな胎児毒性が認められた。

タラゾパリブの経口投与による主な非臨床毒性プロファイルは，急速に分裂する細胞に対するタラゾパリブの薬理作用（タラゾパリブの PARP 阻害誘導）およびタラゾパリブが組織へ広範に分布することと概して符合していた。タラゾパリブの作用機序（細胞傷害性）は，PARP1/2 の触媒活性の阻害作用および DNA 損傷部位での PARP トラッピング能によって生じる S 期での二本鎖 DNA 切断と，これに続くアポトーシスまたは細胞死である。これまでに得られたタラゾパリブの毒性プロファイルから，臨床曝露量以下で認められたリンパ造血器系および精巣に対する影響，高い曝露量比で認められた消化管，肝臓および卵巣に対する影響ならびに遺伝毒性は，タラゾパリブによる PARP 阻害およびトラッピング活性の組み合わせにより生じたことが示唆された。妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験で認められた明らかな胚・胎児毒性は，タラゾパリブによる染色体異常誘発性および細胞毒性に起因するものと考えられる。

以上，タラゾパリブが BRCA 遺伝子変異陽性かつ HER2 陰性の手術不能または再発乳癌および去勢抵抗性前立腺癌を含む進行がん患者へ使用されることに対して，非臨床での薬理，薬物動態および毒性は充分に評価されていると考える。

6. 参考文献

1 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(362):362ps17.

2 Murai J, Huang SY, Das BB, et al. Trapping of PARP1 and PARP2 by Clinical PARP Inhibitors. Cancer Res. 2012;72(21):5588-99.

3 Lord CJ, Ashworth A. The DNA damage response and cancer therapy. Nature. 2012;481(7381):287-94.

4 Polkinghorn WR, Parker JS, Lee MX, et al. Androgen receptor signaling regulates DNA repair in prostate cancers. Cancer Discov. 2013;3(11):1245-53.

5 Li L, Karanika S, Yang G, et al. Androgen receptor inhibitor-induced "BRCAness" and PARP inhibition are synthetically lethal for castration-resistant prostate cancer. Sci Signal. 2017;10(480):eaam7479.

6 Schiewer MJ, Goodwin JF, Han S, et al. Dual roles of PARP-1 promote cancer growth and progression. Cancer Discov. 2012;2(12):1134-49.

7 Chakraborty G, Armenia J, Mazzu YZ, et al. Significance of BRCA2 and RB1 co-loss in aggressive prostate cancer progression. Clin Cancer Res. 2020;26(8):2047-64.

[8] 厚生労働省「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」平成 30 年 7 月 23 日付け薬生薬審発 0723 第 4 号

[9] In Vitro Drug Interaction Studies. Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-mediated Drug Interactions. In: Guidance for Industry. Silver Spring, MD: Food and Drug Administration;2017

[10] Guideline on the investigation of drug interactions. In: European Medicines Agency. Committee for Human Medicinal Products (CHMP). CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr. 2, 21 June 2012.

[11] Anonymous. Guidance for industry: S9 Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals. In: International Conference of Harmonisation. 2010:12 pages.

[12] Anonymous. Guidance for industry: S2 (R1) Nonclinical evaluation on genotoxicity testing and data interpretations for pharmaceuticals intended for human use. In: International Conference of Harmonisation. 2011:25 pages.

[13] Anonymous. Guidance for industry: S5A (R2) Detection of toxicity to reproduction for medicinal products and toxicity to male fertility. In: International Conference of Harmonisation. 2005:21 pages.

[14] Anonymous. Guidance for industry: S10 Photosafety evaluation of pharmaceuticals. In: International Conference of Harmonisation. 2013:15 pages.

[15] Anonymous. Guidance for industry: S7A Safety Pharmacology studies for human pharmaceuticals. In: International Conference of Harmonisation. 2000:9 pages.

[16] Schreiber V, Dantzer F, Ame JC, et al. Poly(ADP-ribose): Novel functions for an old molecule. Nat Rev Mol Cell Biol. 2006;7(7):517-28.

[17] Curtin NJ. PARP inhibitors for cancer therapy. Expert Rev Mol Med. 2005;7(4):1-20.

[18] Rouleau M, Patel A, Hendzel MJ, et al. PARP inhibition: PARP1 and beyond. Nat Rev Cancer. 2010;10(4):293-301.

[19] Gibson BA, Kraus WL. New insights into the molecular and cellular functions of poly(ADP-ribose) and PARPs. Nat Rev Mol Cell Biol. 2012;13(7):411-24.

[20] Schreiber V, Amé JC, Dollé P, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase-2 (PARP-2) is required for efficient base excision DNA repair in association with PARP-1 and XRCC1. J Biol Chem. 2002;277(25):23028-36.

[21] Amé JC, Rolli V, Schreiber V, et al. PARP-2, A novel mammalian DNA damage-dependent poly(ADP-ribose) polymerase. J Biol Chem. 1999;274(25):17860-8.

[22] Johansson M. A human poly(ADP-ribose) polymerase gene family (ADPRTL): cDNA cloning of two novel poly(ADP-ribose) polymerase homologues. Genomics. 1999;57(3):442-5.

[23] Feiersinger GE, Trattnig K, Leitner PD, et al. Olaparib is effective in combination with, and as maintenance therapy after, first-line endocrine therapy in prostate cancer cells. Mol Oncol. 2018;12(4):561-576.

[24] Mendes-Pereira AM, Martin SA, Brough R, et al. Synthetic lethal targeting of PTEN mutant cells with PARP inhibitors. EMBO Mol Med. 2009;1(6-7):315-22.

[25] Tentori L, Leonetti C, Scarsella M, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase prevents irinotecan-induced intestinal damage and enhances irinotecan/temozolomide efficacy against colon carcinoma. FASEB J. 2006;20(10):1709-11.

[26] Tahara M, Inoue T, Sato F, et al. The use of Olaparib (AZD2281) potentiates SN-38 cytotoxicity in colon cancer cells by indirect inhibition of Rad51-mediated repair of DNA double-strand breaks. Mol Cancer Ther. 2014;13(5):1170-80.

[27] Shen Y, Rehman FL, Feng Y, et al. BMN 673, a novel and highly potent PARP1/2 inhibitor for the treatment of human cancers with DNA repair deficiency. Clin Cancer Res. 2013;19(18):5003-15.

[28] Murai J, Zhang Y, Morris J, et al. Rationale for poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors in combination therapy with camptothecins or temozolomide based on PARP trapping versus catalytic inhibition. J Pharmacol Exp Ther. 2014;349(3):408-16.

[29] Filer DL, Kothiya P, Setzer RW, et al. tcpl: the ToxCast pipeline for high-throughput screening data. Bioinformatics. 2017;33(4):618-20.

[30] Redon CE, Nakamura AJ, Zhang Y-W, et al. Histone gammaH2AX and poly(ADP-ribose) as clinical pharmacodynamic biomarkers. Clin Cancer Res. 2010;16(18):4532-42.

[31] Drew Y. The development of PARP inhibitors in ovarian cancer: from bench to bedside. British Journal of Cancer. 2015;113(Suppl 1):S3-S9.

[32] Evans T, Matulonis U. PARP inhibitors in ovarian cancer: evidence, experience and clinical potential. Ther Adv Med Oncol. 2017;9(4):253-67.

[33] de Bono J, Ramanathan RK, Mina L, et al. Phase I, dose-escalation, two-part trial of the PARP inhibitor talazoparib in patients with advanced germline BRCA1/2 mutations and selected sporadic cancers. Cancer Discov. 2017;7(6):620-9.

[34] Bao Z, Cao C, Geng X, et al. Effectiveness and safety of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors in cancer therapy: A systematic review and meta-analysis. Oncotarget. 2015;7(7):7629-39.

[35] Murai J, Huang SY, Renaud A, et al. Stereospecific PARP trapping by BMN 673 and comparison with olaparib and rucaparib. Mol Cancer Ther. 2014;13(2):433-43.