TABLE OF CONTENTS

LIST OF FIGURES 1
1. 緒言 2

LIST OF FIGURES

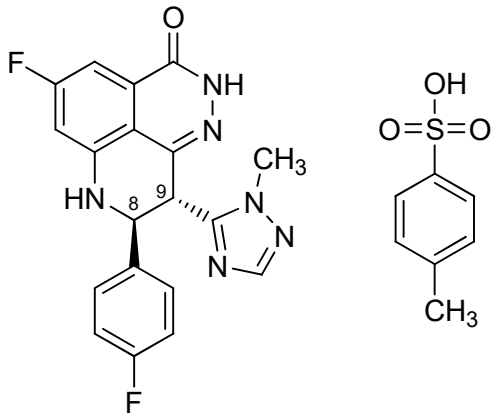
Figure 1. タラゾパリブトシル酸塩の化学構造式 2

1. 緒言

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，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された，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。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。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]。

卵巣癌，乳癌および前立腺癌の患者を対象とした臨床試験結果から，特に BRCA1 または BRCA2 変異陽性の患者に対して PARP 阻害薬が有効であることが示されている[4,5,6,7,8]。このことから，PARP 阻害薬が BRCA 変異陽性の癌患者において合成致死を誘導することが臨床的にも裏付けられている。

今回の申請にあたり，タラゾパリブの有効性および安全性に関する特徴を明らかにする目的で，薬理，薬物動態および毒性の各非臨床試験を実施した。

タラゾパリブの効能・効果および用法・用量は添付文書（案）（1.8.1 項）に記載した。

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 Fong PC, Boss DS, Yap TA, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. N Engl J Med 2009;361(2):123-34.

5 Audeh MW, Carmichael J, Penson RT, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. Lancet 2010;376(9737):245-51.

6 Tutt A, Robson M, Garber JE, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. Lancet 2010;376(9737):235-44.

7 Fong PC, Yap TA, Boss DS, et al. Poly(ADP)-ribose polymerase inhibition: frequent durable responses in BRCA carrier ovarian cancer correlating with platinum-free interval. J Clin Oncol 2010;28(15):2512-9.

8 Mateo J, Carreira S, Sandhu S, et al. DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer. N Engl J Med 2015;373(18):1697-708.

TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 2
LIST OF FIGURES 3
本項で使用する用語・略号 4
1. まとめ 6
1.1. 背景 6
1.2. 非臨床試験の概要 8
1.2.1. 効力を裏付ける試験 8
1.2.2. 副次的薬理試験 9
1.2.3. 安全性薬理試験 9
2. 効力を裏付ける試験 10
2.1. In vitro 試験 10
2.1.1. PARP に対するタラゾパリブの選択性および阻害能 10
2.1.2. 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 10
2.1.3. 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
2.1.4. PARP トラッピングに対するタラゾパリブの作用 12
2.1.5. 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
2.1.5.1. 細胞周期分布 16
2.1.5.2. dsDNA 切断 16
2.1.5.3. 早期アポトーシス 17
2.1.5.4. 細胞増殖抑制 17
2.2. In vivo 薬理試験 17
2.2.1. 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 17
2.2.2. 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 18
2.2.3. 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 20
2.2.3.1. T168 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性と PK 解析 21
2.2.3.2. HBCx-10 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性と PK 解析 22

2.2.3.3. HBCx-6 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性と PK 解析 23
2.2.3.4. HBCx-12B 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性と PK 解析 23
2.2.3.5. HBCx-9 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性と PK 解析 24
2.2.3.6. 乳癌 PDX モデルにおけるタラゾパリブの血中濃度 24
3. 副次的薬理試験 26
4. 安全性薬理試験 26
4.1. 中枢神経系 26
4.2. 呼吸系 27
4.3. 心血管系 27
4.3.1. hERG チャネルへの作用 27
4.3.2. イヌを用いた検討 29
5. 薬力学的薬物相互作用試験 29
6. 考察及び結論 30
7. 図表 31
8. 参考文献 31

LIST OF TABLES

Table 1. 酵素アッセイにおける PARP 阻害の選択性 10
Table 2. タラゾパリブの細胞傷害作用 11
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 12
Table 4. In vitro におけるタラゾパリブおよび他の PARP 阻害薬の PARP 阻害および細胞傷害性 13
Table 5. 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 6. 添加 24 時間後の ACC 値 16
Table 7. 乳癌 PDX モデルに対するタラゾパリブの抗腫瘍活性 21
Table 8. 乳癌 PDX モデルにおけるタラゾパリブの C_{min}, C_{max} および C_{av} 25
Table 9. タラゾパリブの安全性薬理試験の概要 26

LIST OF FIGURES

Figure 1. PARP 阻害薬の 2 つの細胞傷害性機序 6
Figure 2. タラゾパリブとカルボプラチンの抗腫瘍効果の比較 18
Figure 3. LNCaP 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍効果 19

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
AR	androgen receptor：アンドロゲン受容体
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_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
BER	base excision repair：塩基除去修復
BRCA	breast cancer gene：乳癌感受性遺伝子
C_{av}	average concentration：平均血漿中濃度
CC3	cleaved caspase 3：切断型カスパーゼ 3
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
DDR	DNA damage response：DNA 損傷応答
DMSO	dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
DNA	deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
dsDNA	double-stranded DNA：二本鎖 DNA
EC_{50}	50% effective concentration：50%有効濃度
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
FEN	flap endonuclease：フラップエンドヌクレアーゼ
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
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
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
HR	homologous recombination：相同組換え
HRP	horseradish peroxidas：西洋ワサビペルオキシダーゼ
IC_{50}	50% inhibitive concentration：50%阻害濃度
IC_{90}	90% inhibitive concentration：90%阻害濃度
IP	intraperitoneal administration：腹腔内投与
MCF	mean channel fluorescence：平均蛍光強度
mCRPC	metastatic castration-resistant prostate cancer：転移性去勢抵抗性前立腺癌
MMS	methyl methane sulfonate：メチルメタンスルホン酸
MLH1	MutL protein homolog 1：MutL ホモログ 1
MRE11	meiotic recombination 11
MSH2	MutS protein homolog 2：MutS タンパク質ホモログ 2
NAD^+	nicotinamide adenine dinucleotide：ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
NBN	nibrin
PALB2	partner and localizer of BRCA2
PAR	poly(ADP-ribose)：ポリ（ADP-リボース）

略号，用語	省略していない表現または定義
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
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
PK	pharmacokinetics：薬物動態
PO	per ou：経口投与
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
QW	quaque a week：週 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
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
TFS	tumor-free survival：試験終了時に完全退縮が認められた動物数
TNKS	tankyrase：タンキラーゼ
TS	tumor stabilization：腫瘍サイズが投与前値より少なくとも 3 回連続で腫瘍サイズが一定であった動物数
XRCC	X-ray Repair Cross Complementing Protein 1：X 線修復交差補完タンパク質

1. まとめ

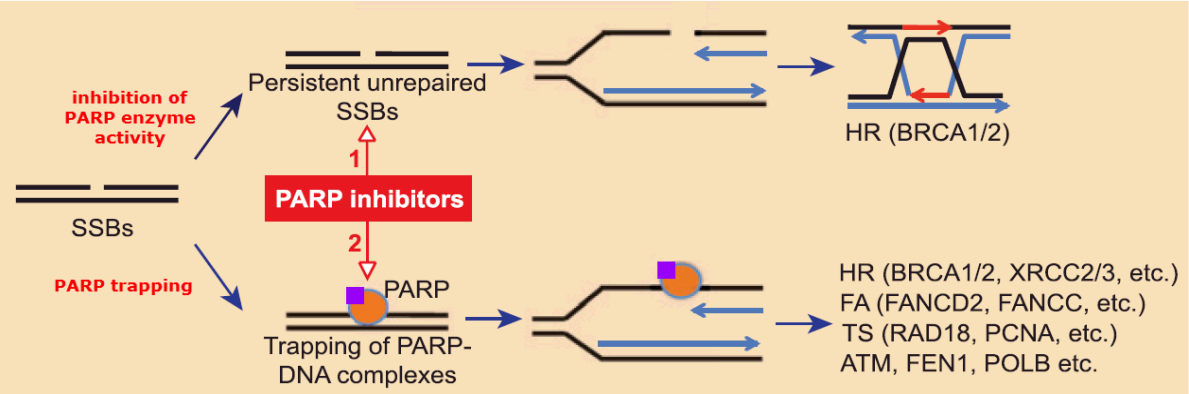
1.1. 背景

タラゾパリブ（PF-06944076，MDV3800，BMN 673）は，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癌の治療薬として開発中の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）阻害薬である。

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[1,2]。DNA 損傷，特に DNA の一本鎖（ssDNA）切断は，損傷 DNA への PARP1/2 の動員と結合を引き起こす[1,2,3]。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，ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（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）[4,5,6,7]。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[5]。

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 1）。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[8,9,10]。

Figure 1.　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[9]（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。

PARP 阻害薬の存在下では，DNA 損傷細胞内の ssDNA 切断が修復されず，複製フォークの進行阻害および ssDNA 切断から二本鎖 DNA（dsDNA）切断が誘発される。正常な DDR 経路を有する細胞では，このような dsDNA 切断には相同組換えまたは非相同末端結合により修復される。一方，dsDNA 切断が修復されない場合は細胞死に至る。すなわち，BRCA1 や BRCA2 などの相同組換え遺伝子の欠損細胞では，PARP 阻害薬の PARP 触媒活性阻害により ssDNA 切断が持続すると dsDNA 切断へと移行するが，相同組換えまたは非相同末端結合による損傷 DNA の修復が起こらないため合成致死に至る [10]。さらに，PARP 阻害薬は，PARP タンパク質複合体の DNA 上への結合を持続させ（PARP トラッピング），DNA 修復，複製および転写の阻害により，dsDNA 切断の誘発と細胞死を引き起こすことで細胞傷害性を示す。

DNA の不安定性は乳癌を含む多くのがん腫でみられる重要な特徴であり，それは DDR 経路の欠損に起因することが少なくない[11]。細胞における単一の DNA 修復経路の欠陥は必ずしも致死的ではないが，2 つの修復経路に障害があると致死的となり，合成致死に至る可能性が高まる [12]。PARP 阻害薬は，相同組換えまたは他の DDR 経路に関与する遺伝子［BRCA1，BRCA2，ファンコニ貧血相補群 A（FANCA），ホスファターゼ・テンシンホモログ（PTEN），DNA 修復タンパク質 RAD51，MutL ホモログ 1（MLH1），MutS タンパク質ホモログ 2（MSH2），毛細血管拡張性運動失調症変異（ATM），meiotic recombination 11（MRE11），partner and localizer of BRCA2（PALB2）など］に変異または欠損がある腫瘍細胞で合成致死を誘導する [13,14,15,16,17,18,19,20,21]。

がん抑制遺伝子である BRCA1 または BRCA2 の機能を欠損した細胞の PARP1 および PARP2 を阻害すると合成致死が引き起こされる。PARP 阻害薬は BRCA 遺伝子が欠損した腫瘍細胞を選択的に標的とすることができる [12]。BRCA1 および BRCA2 欠損細胞に HR を介した dsDNA 修復機能に障害があると，DDR 経路が正常に機能せず，PARP 阻害薬により細胞周期停止（主に G2 期）ならびに dsDNA 切断，アポトーシスおよび細胞死が誘導される [10,20,21,22]。卵巣癌，乳癌および前立腺癌患者を対象とした臨床試験では，特に BRCA1 および BRCA2 変異を有する患者に対して PARP 阻害薬はより高い効果を示し [13,23,24,25,26]，BRCA 変異陽性癌患者で PARP 阻害薬が誘導する合成致死の臨床的意義が示された。

PARP1 発現がみられない細胞に対してより PARP1 発現細胞に対する PARP 阻害薬の細胞傷害活性の方が高いこと，PARP1 に遺伝的欠損がある場合には PARP 阻害薬による細胞傷害性はみられないことの理由として，PARP トラッピングの機序が提唱されている [8,9,27]。PARP は通常，DNA 損傷修復の過程で一時的に DNA と複合体を形成し触媒活性を示すが，PARP 阻害薬の結合により PARP-DNA 複合体の解離が妨げられ，DNA 修復，複製および転写が効果的に阻害される。PARP-DNA 複合体を捕捉するための PARP 阻害薬の結合親和性（トラッピング能）は PARP 阻害薬の種類によって大きく異なり，PARP 触媒活性の阻害能とは相関しない [9]。Veliparib は PARP 触媒活性を強力に阻害するが，そのトラッピング活性はタラゾパリブ，オラパリブおよび Niraparib と比較して低い [9]。PARP 阻害薬の細胞傷害性の程度は触媒活性よりも PARP トラッピング能と相関し，タラゾパリブはオラパリブや rucaparib より高い PARP トラッピング活性を示した [15]。前立腺癌細胞株 DU145 にタラゾパリブ，オラパリブまたは rucaparib の存在下または非存在下で 0.01%メチルメタンスルホン酸（MMS：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）を添加したときの損傷 DNA のクロマチンと PARP1 および PARP2 の結合量を測定し，PARP トラッピング能を評価した[27]。PARP 阻害薬（タラゾパリブ，オラパリブまたは rucaparib）で処理したところ，クロマチンと PARP1 および PARP2 複合体との結合量は濃度依存的に増加し，タラゾパリブが最も高い PARP トラッピング活性を示した[27]。

1.2. 非臨床試験の概要

In vitro および in vivo 試験により，タラゾパリブの薬理学的特性を評価した（2.6.3.1 項，2.6.3.2 項）。なお，in vivo 試験には，市販製剤に用いられるタラゾパリブトシル酸塩を用いた。特記ない限り，本概要文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。

1.2.1. 効力を裏付ける試験

タラゾパリブは PARP1 および PARP2 の触媒活性に対する強力な阻害薬であり，in vitro で PARP1 および PARP2 に対する阻害能と選択性を示し，DDR 経路に関連する遺伝子を欠損した細胞株パネルに対して強力な細胞傷害性を示した。13 種類の PARP パネルを用いた酵素阻害試験でタラゾパリブの阻害能および選択性を評価したところ，PARP1 および PARP2 に対する IC_{50} 値はそれぞれ 0.7 nmol/L および 0.3 nmol/L であった。また，タラゾパリブの PARP3，タンキラーゼ（TNKS）1（PARP5a）および TNKS2（PARP5b）に対する IC_{50} 値 は，それぞれ 22，13.5 および 4.7 nmol/L であった。DDR 経路に関連する遺伝子を欠損した乳癌，前立腺癌および膵癌細胞株パネルを用いてタラゾパリブの細胞傷害性を評価したところ，IC_{50} 値は 10 nmol/L 未満であった。

患者に投与した際の非結合型 C_{av} および PAR 化阻害の 90%阻害濃度（IC_{90} 値）の両方を含む濃度範囲でタラゾパリブを乳癌細胞株に添加し，PARP トラッピング能を測定した。その結果，ssDNA 切断を誘発するアルキル化薬である MMS の存在下で，タラゾパリブの細胞傷害性に対して高感受性の BRCA1 変異陽性 MDA-MB-436 細胞株では PARP トラッピング活性が上昇したが，低感受性の BRCA1 変異陽性 HCC1954 細胞株での PARP トラッピング活性の上昇の程度は MDA-MB-436 細胞株と比べて低かった。BRCA2 変異を有する前立腺癌細胞株 DU145 を用いて臨床用量の濃度範囲のタラゾパリブの単独処理または DNA アルキル化薬であるテモゾロミドを併用処理したときの DDR に関する種々のパラメータ（S 期での細胞周期停止，アポトーシス，細胞傷害性）を検討し，タラゾパリブの機能的作用をさらに評価した。タラゾパリブ処理により，S 期での細胞周期停止が誘導され，S 期特異的な dsDNA 切断［H2A ヒストンファミリー member X，γサブユニット（γH2AX）を指標に測定］および早期のアポトーシス（切断型カスパーゼ 3 を指標に測定）が増加し，その結果，溶媒対照と比較して細胞増殖が抑制された。

乳癌異種移植モデルを用いた in vivo 試験でタラゾパリブを 0.3 mg/kg の用量で 1 日 1 回単独投与したところ，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。

その他の乳癌異種移植モデル（BRCA1 変異陽性：1 モデル，BRCA2 変異陽性：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，34 日間または 35 日間投与したときの抗腫瘍活性を評価した。タラゾパリブは BRCA1 変異

陽性乳癌異種移植モデルに対して最も高い抗腫瘍活性を示し，タラゾパリブ投与群と溶媒対照群の平均腫瘍体積比（T/C%）は 0.15 mg/kg で 0.39%であった。また，試験終了時のすべてのマウスに腫瘍の完全退縮が認められた（TFS）。BRCA2 変異モデルでは統計的に有意な T/C%（3.48%）の減少および TFS（60%）が認められた。タラゾパリブ 0.15 mg/kg を投与した BRCA1/2 野生型の 3 モデル中 1 モデルでも同様の結果が得られたが（T/C%：0.32%，TFS：80%），残りの 2 モデルでの抗腫瘍性活性は中程度であった。患者由来異種移植片（PDX）モデルにタラゾパリブを 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg の用量で投与したときの非結合型 C_{av} はほぼ投与量に比例して上昇し，それぞれ 0.852 nmol/L および 1.86 nmol/L であった。

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[28,29]。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[30]。③AR 阻害に対する臨床的耐性および網膜芽細胞腫（Rb）1/BRCA2 の共欠失が関連している場合があり，ひいては PARP 阻害に対する感受性が生じる[31]。

1.2.2. 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からなる広範なパネルを用いて，タラゾパリブのオフターゲット作用を評価したところ，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。

1.2.3. 安全性薬理試験

安全性薬理試験において，タラゾパリブによる心血管系，中枢神経系および呼吸系への影響はみられなかった。

これらの非臨床薬理試験結果に基づき，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などのヒトの様々ながん腫に対して，タラゾパリブが有効である可能性が示された。

2. 効力を裏付ける試験

2.1. In vitro 試験

2.1.1. PARP に対するタラゾパリブの選択性および阻害能

報告書番号 PF-06944076_[redacted]_092045

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。PARP の基質となるヒストンタンパク質をコーティングした 96 穴プレートにタラゾパリブおよび PARP を添加し，室温で 1 時間インキュベートし dupulicate で測定した。このビオチンを含むタンパク重合体は，西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）標識ストレプトアビジンを用いて検出した。HRP による化学発光はビオチン-ADP-リボース-ヒストン生成物濃度に比例し，発光測定用プレートリーダーで測定した。

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 (PF-06944076)**
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）。

2.1.2. 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

報告書番号 BMN673-[redacted]-093

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。0.128～10,000 nmol/L の範囲でタラゾパリブを添加して PC-3 細胞および

HCT-116 細胞は 5 日間，他の細胞株は 12 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。DNA 修復経路に障害を生じる遺伝子変異を有する細胞株として，膵臓癌細胞 Capan-1（BRCA2 変異），乳癌細胞 MX-1（BRCA1 変異）および MDA-MB-468（PTEN 変異），前立腺癌細胞 LNCap（PTEN/ATM 変異）および PC-3（PTEN 変異）ならびに大腸癌細胞 HCT-116（MLH-1 変異）について評価した（Table 2）。本試験では，正常なヒト初代培養細胞株 MRC-5 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（肺癌細胞株 A549，大腸癌細胞 LoVo，乳癌細胞 MDA-MB-231）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。

2.1.3. 前立腺癌細胞株に対するタラゾパリブの細胞傷害作用

報告書番号 MDV3800P017

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。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, 2018[32]
c Mendes-Pereira, 2009[19]

2.1.4. PARP トラッピングに対するタラゾパリブの作用

報告書番号 PF-06944076_[redacted]_091646

PARP–DNA 複合体に対するトラッピング能は PARP 阻害薬の種類により大きく異なるが，PARP 触媒活性の阻害能とは相関しないことが報告されている[9]。Shen らの報告[15]から，各 PARP 阻害薬の細胞傷害性プロファイルはそれぞれの PARP トラッピング能と相関し，PARP 触媒活性の阻害能とは相関しないと考えられた（Table 4）。

Table 4. In vitroにおけるタラゾパリブおよび他のPARP阻害薬のPARP阻害および細胞傷害性

PARP阻害薬	PARP1酵素阻害[a] (IC_{50}, nmol/L)	細胞内PAR合成[b] (EC_{50}, nmol/L)	Capan-1（$BRCA2^{-/-}$）細胞傷害性[c] (IC_{50}, nmol/L)
Veliparib	4.73	5.9	>10000
Rucaparib	1.98	4.7	609
オラパリブ	1.94	3.6	259
タラゾパリブ	0.57	2.5	5

BRCA：乳癌感受性遺伝子，EC_{50}：50%有効濃度，IC_{50}：50%阻害濃度，PAR：ポリ（ADP-リボース），PARP：ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ
出典：Shen et al, 2013[15]（一部改変）
a. 無細胞系PARP酵素アッセイで，PARP1酵素活性の阻害に対するIC_{50}値を算出した。
b. LoVo細胞（ヒト結腸腺癌細胞株）を用いて，細胞内PAR合成の阻害に対するEC_{50}値を算出した。
c. Capan-1細胞（膵臓腺癌細胞株，BRCA2 -/-）を用いて，細胞傷害性に対するIC_{50}値を算出した。

ssDNA 切断を誘発することで PARP トラッピングを増強する DNA アルキル化剤である 0.01% MMS を用いて前立腺癌 DU145 細胞を処理したときの，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，オラパリブまたは rucaparib が PARP トラッピングに及ぼす影響を評価した [27]。クロマチンと結合した PARP1 および PARP2 レベルは，いずれも PARP 阻害薬（タラゾパリブ，オラパリブ，rucaparib）の濃度依存的に増加した [27]。

さらに，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 C_{av} 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 5）。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 5）。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 5.　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。

2.1.5. 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

報告書番号 [redacted]GR323

ヒト前立腺癌細胞株 DU145 細胞にタラゾパリブ，オラパリブ，rucaparib および niraparib 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。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[33,34]，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[15,35]。

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 6）。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。

臨床的に意味のある曝露量ならびに無作用量および最大作用を示す用量を含む 24 濃度のタラゾパリブで細胞株を処理した。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。96 穴プレートで細胞を培養し，各時点において 4 つのプレートを調製した。プレート 1 は対照プレートとして，溶媒対照（ジメチルスルホキシド：DMSO），陽性対照（カンプトテシン：トポイソメラーゼ阻害薬），および 43 µmol/L または 128 µmol/L の

テモゾロミドで単独処理した。プレート 2 は PARP 阻害薬で単独処理した。プレート 3 は PARP 阻害薬および 43 μmol/L テモゾロミドで，プレート 4 は PARP 阻害薬および 128 μmol/L テモゾロミドでそれぞれ併用処理した。処理後 4 時間および 24 時間に解析を行った。ハイスループットスクリーニングデータを処理するために設計された R パッケージである ToxCast pipeline を用いて，統計学的な用量反応についてモデリングした。ToxCast pipeline により有効と判断された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[36]。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。評価したパラメータごとの結果を以下に示す。

Table 6.　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。

2.1.5.1. 細胞周期分布

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 6）。

2.1.5.2. dsDNA 切断

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[37]。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。

陽性対照であるカンプトテシン（トポイソメラーゼ阻害薬）で処理した細胞のγH2AX の MCF は溶媒対照と比較して 3 倍増加した。タラゾパリブで単独処理した細胞での dsDNA 切断および S 期特異的 dsDNA 切断の ACC 値はそれぞれ 0.87 μmol/L および 0.20 μmol/L であった（Table 6）。タラゾパリブおよび 43 μmol/L テモゾロミドで併用処理した細胞では，γH2AX の MCF の増加率は最大値（対照群と比較して 2.2 倍）を示し，dsDNA 切断および S 期特異的 dsDNA 切断の ACC 値はそれぞれ 0.002 μmol/L および 0.008 μmol/L であった（Table 6）。またタラゾパリブおよび 128 μmol/L テモゾロミドで併用処理した細胞では，γH2AX の最大値は 43 μmol/L テモゾロミドで併用処理した細胞と同程度であったが，dsDNA 切断および S 期特異的 dsDNA 切断の ACC 値はより低値を示し，それぞれ 0.0005 μmol/L および 0.0003 μmol/L であった（Table 6）。

2.1.5.3. 早期アポトーシス

切断型カスパーゼ 3（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，CC3 発現細胞の割合はテモゾロミド濃度の上昇に伴い増加し，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 6）。

2.1.5.4. 細胞増殖抑制

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 6）。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，細胞増殖抑制の最大値は約 50%であった。

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。

2.2. In vivo 薬理試験

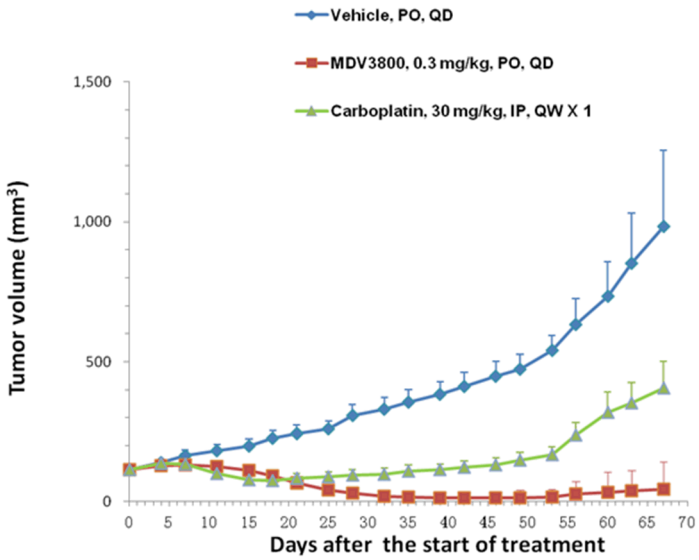
2.2.1. 乳癌異種移植モデルにおけるタラゾパリブまたはカルボプラチンの抗腫瘍活性の比較

報告書番号 MDVT-20[redacted]0830B（MDV3800P058）

BR-05-0028 乳癌細胞を雌 BALB/c ヌードマウスに異種移植した乳癌 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。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。

Figure 2.　タラゾパリブとカルボプラチンの抗腫瘍効果の比較



PO = 経口投与; IP = 腹腔内投与; QD = 1 日 1 回; QW x 1 = 週 1 回

BR-05-0028 乳癌細胞を雌 BALB/c ヌードマウスに異種移植した乳癌 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。試験 67 日まで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 回腹腔内投与を投与した（雌 7 匹/群，計 3 群）。データは平均値±標準誤差で示した。

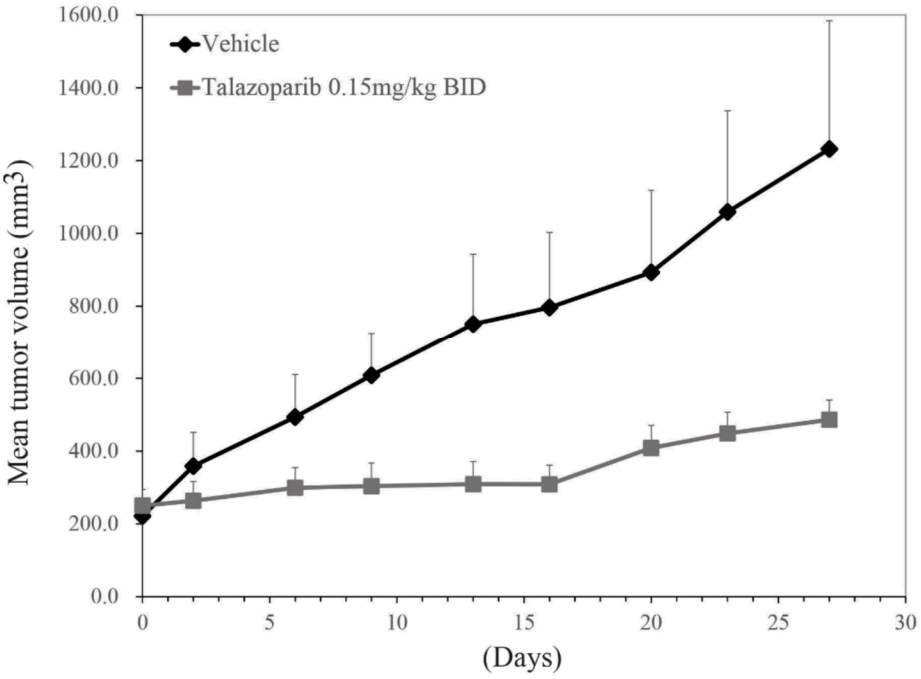
2.2.2. 前立腺癌異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性

報告書番号 MDV3800P014

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）。

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（Figure 3）。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。

Figure 3.　LNCaP 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍効果



Day 0 = 初回投与日; BID= 1 日 2 回

LNCaP 前立腺癌細胞を雄 BALB/c ヌードマウスに異種移植した前立腺癌 PDX モデルを用いて，タラゾパリブの抗腫瘍活性を評価した。LNCaP 細胞株を異種移植し，平均腫瘍容積が 217～221 mm^3 となったマウスに，溶媒またはタラゾパリブ 0.15 mg/kg を 1 日 2 回 28 日間投与した（雄 6 匹/群）。データは平均値±標準誤差で示した。

2.2.3. 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

報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]22，C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]24，C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]23，C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]25，C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]26

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 T/C%を用いて評価し，腫瘍退縮作用も評価した。TS は，腫瘍サイズが投与前値より少なくとも 3 回連続で腫瘍サイズが一定であった動物数と定義した。部分退縮および完全退縮は，腫瘍サイズが投与前値より 3 回以上連続で 30%以上および 80%以上縮小した動物数とそれぞれ定義した。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 7 に示す。

Table 7.　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（%）

2.2.3.1. T168 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性と PK 解析

報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]24

T168 細胞は，BRCA1 変異陽性の原発性乳管癌から採取した。T168 細胞はアドリアマイシン/シクロホスファミドに高い感受性を，niraparib，ドセタキセルおよびカペシタビンに感受性を示すが，フルベストラントには感受性を示さない。

雌 BALB/c ヌードマウスに BRCA1 変異陽性 T168 細胞を異種移植したモデル（腫瘍サイズ：62.5～288.0 mm^3）に，溶媒（0.5% CMC）あるいはタラゾパリブを 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg の用量で試験 1～33 日に 1 日 2 回経口投与し，試験最終日である試験 34 日には 1 日 1 回投与した（2.6.2.2.2.3 項）。体重および一般状態観察に基づく 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg のタラゾパリブの忍容性は良好で，投与に起因する明らかな一般状態変化は認められなかった。

タラゾパリブ 0.07 mg/kg 投与群では，統計学的に有意な TGI が認められ（試験 14 日の溶媒対照群との比較：p <0.001，T/C%の最良値：試験 18 日の 1.26%），定着した腫瘍の完全退縮は試験 21 日以降に 100%に達し，試験終了時の TFS は 100%であった（Table 7）。

タラゾパリブ 0.15 mg/kg 投与群では，統計学的に有意な TGI が認められ（試験 11 日の溶媒対照群との比較：p <0.001，T/C%の最良値：試験 18 日の 0.39%），試験 14 日以降に完全退縮が 100%に達し，試験 34 日の TFS は 100%であった。タラゾパリブの抗腫瘍効果は用量依存的であり，腫瘍体積はタラゾパリブ 0.07 mg/kg 投与群と比べて 0.15 mg/kg 投与群で統計学的に有意に縮小した（試験 14 日：p <0.001）。

試験 34 日におけるタラゾパリブの曝露量は概ね用量に比例して増加した。試験 34 日における 0.07 mg/kg および 0.15 mg/kg のタラゾパリブの C_{max} は，それぞれ 17.0 ng/mL および 37.2 ng/mL であり，投与前から 6 時間における血漿中濃度 - 時間曲線下面積（AUC_6）は 58.8 ng•h/mL および 128 ng•h/mL，非結合型 C_{av} は 1.14 nmol/L および 2.48 nmol/L であった（Table 8）。

2.2.3.2. HBCx-10 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性と PK 解析

報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]22

HBCx-10 細胞は，BRCA2 変異陽性の原発性乳管癌から採取した。HBCx-10 細胞はアドリアマイシン/シクロホスファミド，niraparib またはオラパリブに高い感受性を，カペシタビンに感受性を示したが，ドセタキセルには感受性を示さなかった。

雌 BALB/c ヌードマウスに BRCA2 変異陽性 HBCx-10 細胞を異種移植したモデル（腫瘍サイズ：62.5～196.0 mm^3）に，溶媒（0.5% CMC）あるいはタラゾパリブを 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg の用量で試験 1～34 日には 1 日 2 回経口投与し，試験最終日である試験 35 日には 1 日 1 回投与した（2.6.2.2.2.3 項）。体重および一般状態観察に基づく 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg のタラゾパリブの忍容性は良好で，投与に起因する明らかな一般状態変化は認められなかった。

タラゾパリブ投与により，統計学的に有意かつ用量依存的な抗腫瘍効果が認められた（Table 7）。タラゾパリブ 0.07 mg/kg 投与群では，統計学的に有意な TGI が認められた（試験 24～28 日の溶媒対照群との比較：p <0.001，T/C%の最良値：試験 24 日の 34.27%）。タラゾパリブ 0.15 mg/kg 投与群でも統計学的に有意な TGI が認められた（試験 14～28 日の溶媒対照群との比較：p <0.001，T/C%の最良値：試験 24 日の 3.48%）。さらに，0.15 mg/kg 群では全動物で腫瘍退縮が認められ，部分退縮は 40%，完全退縮は 60%であった。この完全退縮は試験終了まで持続したため，TFS は 60%であった。タラゾパリブの抗腫瘍効果は用量依存的であり，腫瘍体積はタラゾパリブ 0.07 mg/kg 投与群と比べて 0.15 mg/kg 投与群で統計学的に有意に縮小した（試験 17～35 日：p <0.001）。

試験 35 日におけるタラゾパリブの曝露量は概ね用量に比例して増加した。試験 35 日における 0.07 mg/kg および 0.15 mg/kg のタラゾパリブの C_{max} は，それぞれ 12.4 ng/mL および 26.5 ng/mL であり，AUC_6 は 47.5 ng•h/mL および 97.4 ng•h/mL，非結合型 C_{av} は 0.92 nmol/L および 1.89 nmol/L であった（Table 8）。

2.2.3.3. HBCx-6 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性と PK 解析

報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]23

HBCx-6 細胞は，BRCA1/2 野生型の原発性乳管癌から採取した。HBCx-6 細胞はアドリアマイシン/シクロホスファミド，カペシタビンおよびシスプラチンに高い感受性を示したが，ドセタキセルには感受性を示さなかった。

雌 BALB/c ヌードマウスに BRCA1/2 野生型 HBCx-6 細胞を異種移植したモデル（腫瘍サイズ：75.0～126.0 mm^3）に，溶媒（0.5% CMC）あるいはタラゾパリブを 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg の用量で試験 1～34 日には 1 日 2 回経口投与し，最終日である試験 35 日には 1 日 1 回投与した（2.6.2.2.2.3 項）。体重および一般状態観察に基づく 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg のタラゾパリブの忍容性は良好で，投与に起因する明らかな一般状態変化は認められなかった。

タラゾパリブ投与群では，持続的な抗腫瘍効果が認められた（Table 7）。タラゾパリブ 0.07 mg/kg 投与群では，統計学的に有意な TGI が認められ（試験 17～35 日の溶媒対照群との比較：$p < 0.001$，T/C%の最良値：試験 35 日の 1.63%），部分退縮は 80%，完全退縮は 20%であった。また試験終了時（試験 35 日）の TFS は 20%であった。タラゾパリブ 0.15 mg/kg 投与群では，統計学的に有意かつ持続的な TGI が認められ（試験 14～35 日の溶媒対照群との比較：$p < 0.001$，T/C%の最良値：試験 35 日の 0.32%），試験期間中の部分退縮は 20%，完全退縮は 80%であり，完全退縮は試験終了時（試験 35 日）まで持続したため TFS は 80%であった。タラゾパリブの抗腫瘍効果は用量依存的であり，腫瘍体積はタラゾパリブ 0.07 mg/kg 投与群と比較して 0.15 mg/kg 投与群で統計学的に有意に縮小した（試験 14 日：$p < 0.001$，試験 17/20 日：$p < 0.01$，試験 24 日：$p < 0.001$）。

試験 35 日におけるタラゾパリブの曝露量は概ね用量に比例して増加した。試験 35 日における 0.07 mg/kg および 0.15 mg/kg のタラゾパリブの C_{max} は，それぞれ 10.9 ng/mL および 16.7 ng/mL であり，AUC_6 は 43.6 ng•h/mL および 77.5 ng•h/mL，非結合型 C_{av} は 0.84 nmol/L および 1.50 nmol/L であった（Table 8）。

2.2.3.4. HBCx-12B 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性と PK 解析

報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]26

HBCx-12B 細胞は，BRCA1/2 野生型の転移性の浸潤性乳管癌から採取した。HBCx-12B 細胞はアドリアマイシン/シクロホスファミドおよびカペシタビンに高い感受性を示したが，ドセタキセルおよび niraparib には感受性を示さなかった。

雌 BALB/c ヌードマウス（8 匹/群）に BRCA1/2 野生型 HBCx-12B 細胞を異種移植したモデル（腫瘍サイズ：62.5～196.0 mm^3）に，溶媒（0.5% CMC）あるいはタラゾパリブを 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg の用量で試験 1～34 日には 1 日 2 回経口投与し，最終日である試験 35 日には 1 日 1 回投与した（2.6.2.2.2.3 項）。体重および一般状態観察に基づく 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg のタラゾパリブの忍容性は良好で，投与に起因する明らかな一般状態変化は認められなかった。

タラゾパリブ 0.07 mg/kg 投与群では，統計学的に有意な TGI が認められた（Table 7，試験 28～35 日の溶媒対照群との比較：p <0.05，試験 35 日の T/C%：47.7%，T/C%の最良値：試験 31 日の 44.4%）。また，タラゾパリブ 0.15 mg/kg 投与群においても，統計学的に有意な TGI が認められた（Table 7，試験 28～35 日の溶媒対照群との比較：p <0.01，試験 35 日の T/C%：27.3%，T/C%の最良値：試験 31 日の 26.6%）。

試験 35 日におけるタラゾパリブの曝露量は概ね用量に比例して増加した。試験 35 日における 0.07 mg/kg および 0.15 mg/kg のタラゾパリブの C_{max} は，それぞれ 8.34 ng/mL および 21.5 ng/mL であった。十分な濃度-時間データが得られなかったことから AUC_6 は算出できず，また非結合型 C_{av} も得られなかった（Table 8）。

2.2.3.5. HBCx-9 異種移植モデルにおけるタラゾパリブの抗腫瘍活性と PK 解析

報告書番号 C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]25

HBCx-9 細胞は，BRCA1/2 野生型の原発性乳管癌から採取した。HBCx-9 細胞はアドリアマイシン/シクロホスファミド併用およびドセタキセルに高い感受性を示したが，セツキシマブ，カルボプラチンまたは niraparib には感受性を示さなかった。

雌 BALB/c ヌードマウス（8 匹/群）に BRCA1/2 野生型 HBCx-9 細胞を異種移植したモデル（腫瘍サイズ：62.5～196.0 mm^3）に，溶媒（0.5% CMC）あるいはタラゾパリブを 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg の用量で試験 1～34 日には 1 日 2 回経口投与し，最終日である試験 35 日には 1 日 1 回投与した（2.6.2.2.2.3 項）。体重および一般状態観察に基づく 0.07 mg/kg または 0.15 mg/kg のタラゾパリブの忍容性は良好で，投与に起因する明らかな一般状態変化は認められなかった。

タラゾパリブを 0.07 mg/kg 投与群では，わずかな抗腫瘍効果が認められた（Table 7，T/C%の最良値：試験 25 日の 73.8%）。一方，タラゾパリブ 0.15 mg/kg 投与群では統計学的に有意かつ用量依存的な抗腫瘍効果が認められた（Table 7，試験 18 日の溶媒対照群との比較：p <0.01，T/C%の最良値：試験 25 日の 46.25%）。タラゾパリブの抗腫瘍効果は用量依存的であり，タラゾパリブ 0.07 mg/kg 投与群および 0.15 mg/kg 投与群の TS は 10%および 60%であった。また，腫瘍体積はタラゾパリブ 0.07 mg/kg 投与群と比較して 0.15 mg/kg 投与群で統計学的に有意に縮小した（試験 18 日～32 日：p <0.05）。

試験 35 日におけるタラゾパリブの曝露量は概ね用量に比例して増加した。試験 35 日における 0.07 mg/kg および 0.15 mg/kg のタラゾパリブの C_{max} は，それぞれ 7.16 ng/mL および 23.3 ng/mL，AUC_6 は 26.3 ng•h/mL および 79.8 ng•h/mL，非結合型 C_{av} は 0.51 nmol/L および 1.55 nmol/L であった（Table 8）。

2.2.3.6. 乳癌 PDX モデルにおけるタラゾパリブの血中濃度

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。0.07 mg/kg 群および 0.15 mg/kg 群のタラゾパリブの最終投与後における C_{min}，C_{max} および C_{av} を Table 8 に示す。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。

Table 8.　乳癌 PDX モデルにおけるタラゾパリブの C_{min}, C_{max} および C_{av}

細胞モデル	BRCA	タラゾパリブ (mg/kg)	総濃度 C_{min} (nmol/L)	非結合型 C_{min} (nmol/L)	総濃度 C_{max} (nmol/L)	非結合型 C_{max} (nmol/L)	総濃度 C_{av} (nmol/L)	非結合型 C_{av} (nmol/L)
T168	BRCA1 変異	0.07	0.815	0.0360	44.7	1.98	25.8	1.14
		0.15	1.14	0.0504	97.8	4.32	56.1	2.48
HBCx-10	BRCA2 変異	0.07	0.964	0.0426	32.6	1.44	20.8	0.92
		0.15	1.157	0.0511	69.7	3.08	42.7	1.89
HBC-x6	BRCA1/2 野生型	0.07	0.973	0.0430	28.7	1.27	19.1	0.84
		0.15	1.18	0.0522	43.9	1.94	34.0	1.50
HBC-x12B	BRCA1/2 野生型	0.07	1.43	0.0632	21.9	0.969	ND	ND
		0.15	1.30	0.0575	56.5	2.50	ND	ND
HBC-x9	BRCA1/2 野生型	0.07	1.72	0.0760	18.8	0.832	11.5	0.51
		0.15	1.18	0.0522	61.3	2.71	35.0	1.55
平均値		0.07	1.18	0.0522	29.3	1.298	19.3	0.852
		0.15	1.19	0.0527	65.8	2.91	42.0	1.86

C_{av}：平均血漿中濃度，C_{max}：最高血漿中濃度，C_{min}：最小血漿中濃度，ND：算出せず
非結合型濃度=総濃度 x0.0442（マウス非結合型分率），タラゾパリブ分子量=380.35

3. 副次的薬理試験

報告書番号 AA86818（BMN673-[redacted]-022），AA87288（BMN673-[redacted]-024），概要表 2.6.3.3

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。

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，2.6.2.2.1.1 項に記載した。

4. 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 9）。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 9. 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-à-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。

4.1. 中枢神経系

報告書番号 8227534（BMN673-[redacted]-052），概要表 2.6.3.4

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。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（2.6.6.3 項）。

4.2. 呼吸系

報告書番号 8229153（BMN673-[redacted]-068），概要表 2.6.3.4

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。全身プレチスモグラフィーは投与前，投与後 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（2.6.6.3 項）。

4.3. 心血管系

4.3.1. hERG チャネルへの作用

報告書番号 8229172（BMN673-[redacted]-075），概要表 2.6.3.4

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。

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

[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。

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。

4.3.2. イヌを用いた検討

報告書番号 8227539（BMN673-[redacted]-051），8227532（BMN673-[redacted]-049），8279298（BMN673-[redacted]-001），概要表 2.6.7.7 D-F

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。5 日間投与毒性試験（報告書番号 8227539）では，0（溶媒対照：0.5% CMC），0.003，0.01，0.03 または 0.1 mg/kg/日の用量で，28 日間投与毒性試験（報告書番号 8227532）では，0（溶媒対照：0.5% CMC），0.0005，0.0015，0.005 mg/kg/日または 0.01 mg/kg/日の用量で，13 週間投与毒性試験（報告書番号 8279298）では，0（溶媒対照：1.877 mg/mL の Prosolve® SMCC HD90 を用いて調製した 0.5% CMC），0.0015，0.005 または 0.01 mg/kg/日の用量でビーグル犬にタラゾパリブトシル酸塩を投与した。

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 [BMN673-[redacted]-051]，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。

5. 薬力学的薬物相互作用試験

薬理学的薬物相互作用試験は実施していない。

6. 考察及び結論

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，50%阻害濃度（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。

GLP に準拠して実施された安全性薬理試験において，ラットにタラゾパリブを単回経口投与したところ，呼吸系および中枢神経系パラメータに影響は認められなかった。また hERG カリウムチャネルへの作用の評価およびイヌにタラゾパリブを反復投与した心電図評価において，心血管系パラメータに対するタラゾパリブの影響は認められなかった。

これらの非臨床薬理試験結果に基づき，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などのヒトの様々ながん腫に対して，タラゾパリブが有効である可能性が示された。

7. 図表

図表は，本文の適切な箇所および薬理試験の概要表（2.6.3 項）に記載した。

8. 参考文献

1 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.

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

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

4 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.

5 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.

6 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.

7 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.

8 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.

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

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

11 Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011;144(5):646-74.

12 Ashworth A. A synthetic lethal therapeutic approach: poly(ADP) ribose polymerase inhibitors for the treatment of cancers deficient in DNA double-strand break repair. J Clin Oncol. 2008;26(22):3785-90.

[13] Mateo J, Carreira S, Sandhu S, et al. DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer. N Engl J Med. 2015;373(18):1697-708.

[14] Swisher E, Brenton J, Kaufmann S, et al. Updated clinical and preliminary correlative results of ARIEL2, a phase 2 study to identify ovarian cancer patients likely to respond to rucaparib. Eur J Cancer. 2014;50:73.

[15] 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.

[16] Dedes KJ, Wetterskog D, Mendes-Pereira AM, et al. PTEN deficiency in endometrioid endometrial adenocarcinomas predicts sensitivity to PARP inhibitors. Sci Transl Med. 2010;2(53):53ra75.

[17] Williamson CT, Muzik H, Turhan AG, et al. ATM deficiency sensitizes mantle cell lymphoma cells to poly(ADP-ribose) polymerase-1 inhibitors. Mol Cancer Ther. 2010;9(2):347-57.

[18] Vilar Sanchez E, Chow A, Raskin L, et al. Preclinical testing of the PARP inhibitor ABT-888 in microsatellite instable colorectal cancer. J Clin Oncol. 2009;27(15)(Suppl):11028.

[19] 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.

[20] Bryant HE, Schultz N, Thomas HD. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase. Nature. 2005;434(7035):913-7.

[21] Farmer H, McCabe N, Lord CJ. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. Nature. 2005;434(7035):917-21.

[22] Hay T, Clarke AR. DNA damage hypersensitivity in cells lacking BRCA2: a review of in vitro and in vivo data. Biochem Soc Trans. 2005;33(Pt 4):715-7.

[23] Audeh MW, Carmichael J, Penson RT, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: a proof-of-concept trial. Lancet. 2010;376(9737):245-51.

[24] Fong PC, Yap TA, Boss DS, et al. Poly(ADP)-ribose polymerase inhibition: frequent durable responses in BRCA carrier ovarian cancer correlating with platinum-free interval. J Clin Oncol. 2010;28(15):2512-9.

[25] Tutt A, Robson M, Garber JE, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. Lancet. 2010;376(9737):235-44.

[26] Fong PC, Boss DS, Yap TA, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers. N Engl J Med. 2009;361(2):123-34.

[27] 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.

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

[29] 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.

[30] 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.

[31] 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.

[32] 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):561-76.

[33] 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.

[34] 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.

[35] 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.

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

[37] 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.

TABLE OF CONTENTS

2.6.3.1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW 2
2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS 5
2.6.3.3. SECONDARY PHARMACODYNAMICS 12
2.6.3.4. SAFETY PHARMACOLOGY 13

2.6.3.1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06944076

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
Primary Pharmacodynamics				
Selectivity of talazoparib,(IC_{50}) for a panel of 13 PARP enzymes	Biochemical assay for incorporation of biotin-NAD^+ in ADP-ribose polymers onto histone proteins	In Vitro	[redacted][a]	PF-06944076_[redacted]_092045
Cytotoxic Activity of Talazoparib in a Panel of Cell Lines	Cell Viability	In Vitro	[redacted][b]	BMN673-[redacted]-093
Cytotoxic Activity of Talazoparib in a Panel of Prostate Cancer Cell Lines	Cell Viability	In Vitro	[redacted][c]	MDV3800P017
PARP Trapping in talazoparib Sensitive and Insensitive Breast Cancer Cell Lines with and without MMS	Detection of PARPi bound PARP-DNA chromatin complexes	In Vitro	Pfizer WRD	PF-06944076_[redacted]_091646
Multiparametric DNA Damage Repair Assays following Talazoparib Treatment in the Presence or Absence of TMZ	Cell cycle distribution (propidium iodide staining), dsDNA breaks (γH2AX), apoptosis signaling cascade (cleaved caspase 3) and cell growth (DNA stain)	In Vitro	Pfizer WRD	[redacted]GR323
Talazoparib single agent antitumor activity compared to carboplatin in a breast cancer PDX model	Breast Cancer PDX Model BR-05-0028	Talazoparib: PO; Carboplatin: IP	[redacted][d]	MDVT-20[redacted]0830B (MDV3800P058)
Talazoparib single agent antitumor activity in a prostate cancer xenograft model	Prostate LNCaP model	PO	[redacted][e]	MDV3800P014
Talazoparib single agent antitumor activity and PK analysis in a BRCA1-mutated Breast Cancer PDX Model	Breast Cancer PDX model T168	PO	[redacted][f]	C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]24
Talazoparib single agent antitumor activity and PK analysis in a BRCA2-mutated Breast Cancer PDX Model	Breast Cancer PDX model HBCx-10	PO	[redacted][f]	C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]22
Talazoparib single agent antitumor activity and PK analysis in a BRCA1/2 Wild Type Breast Cancer PDX Model	Breast Cancer PDX model HBCx-6	PO	[redacted][f]	C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]23

2.6.3.1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06944076

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
Talazoparib single agent antitumor activity and PK analysis in a BRCA1/2 Wild Type Breast Cancer PDX Model	Breast Cancer PDX model HBCx-9	PO	[redacted][f]	C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]25
Talazoparib single agent antitumor activity and PK analysis in a BRCA1/2 Wild Type Breast Cancer PDX Model	Breast Cancer PDX model HBCx-12B	PO	[redacted][f]	C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]26
Secondary Pharmacodynamics				
Receptor binding and enzyme inhibition	Cloned cells and cell membranes expressing targets from human and other species	In Vitro	[redacted][g]	AA86818 (BMN673-[redacted]-022)
Receptor binding and enzyme inhibition	Cloned cells and cell membranes expressing targets from human and other species	In Vitro	[redacted][g]	AA87288 (BMN673-[redacted]-024)
Safety Pharmacology				
Cardiovascular Assessment (hERG)	HEK293 cells expressing hERG potassium channels	In Vitro	[redacted][h]	8229172 (BMN673-[redacted]-075)
Central Nervous System	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	[redacted][i]	8227534 (BMN673-[redacted]-052)
Respiratory System	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	[redacted][i]	8229153 (BMN673-[redacted]-068)
Pharmacodynamic Drug Interactions				
None				

2.6.3.1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06944076

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)

ADP = Adenosine diphosphate; Corp = Corporation; DNA = Deoxyribonucleic acid; dsDNA = Double stranded DNA; γH2AX = H2A histone family, member X, gamma subunit; HEK = Human embryonic kidney; hERG = Human ether-à-go-go related gene; IP = Intraperitoneal; MMS = Methyl methanesulfonate; NAD = Nicotinamide adenine dinucleotide; PARP = Poly ADP ribose polymerase; PARPi = PARP inhibitor; PDX = Patient-derived xenograft; PO = By mouth; TMZ = Temozolomide.

a. [redacted], [redacted]
b. [redacted], China.
c. [redacted], China.
d. [redacted], China.
e. [redacted], [redacted]
f. [redacted], France.
g. [redacted], Taiwan.
h. [redacted], [redacted]
i. [redacted], [redacted]

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06944076

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Biochemical assay for talazoparib activity in a panel of 13 PARP enzymes	In Vitro	In Vitro	In Vitro	N = 1 in duplicate	Talazoparib activity (IC_{50}): PARP1 0.7 nM, PARP2 0.3 nM, TNKS2 4.7 nM, TNKS1 13.5 nM, PARP3 22.0 nM, Weak to no inhibition (≥225 to >10,000 nM) for PARP 6, 7, 8, 10, 11, 12, 14 and 15	Non-GLP	PF-06944076_[redacted]_092045
Cytotoxicity in pancreatic, breast, prostate, and colon cancer cell lines, and normal lung fibroblasts	In Vitro	In Vitro	In Vitro	N = 1 in triplicate	Cell Line (Cancer Origin): Talazoparib IC_{50} Capan-1 (Pancreatic): 5.0 nM MX-1 (Breast): 0.3 nM MDA-MB-468 (Breast): 3.7 nM LNCap (Prostate): 4.3 nM PC-3 (Prostate): 4.4 nM HCT-116 (Colon): 10.6 nM MRC-5 (Normal): 306.0 nM	Non-GLP	BMN673-[redacted]-093
Cytotoxicity in prostate cancer cell lines	In Vitro	In Vitro	In Vitro	N = 1 in triplicate	Cell Line (Cancer Origin): Talazoparib IC_{50} LNCap (Prostate): <4.1 nM C4-2 (Prostate): <4.1 nM PC-3 (Prostate): 7.3 nM VCaP (Prostate): 268.5 nM 22RV1 (Prostate): 6.6 nM	Non-GLP	MDV3800P017

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06944076

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
PARP trapping in breast cancer cell lines	In Vitro	In Vitro	In Vitro	PARP trapping: N = 3 for MDA-MB-436; N = 1 for JIMT1, HCC1954, HCC1143;	MDA-MB-436 and HCC1954 BRCA1 mutant cell lines in presence of talazoparib + MMS: More PARP trapping observed in the MDA-MB-436 line which has a cytotoxicity IC_{50} of 1 nM;	Non-GLP	PF-06944076_[redacted]_091646
				PARylation IC_{50}/ IC_{90}: N = 3 for all 4 cell lines	Fold increase in PARP trapping (at the PARylation IC_{90}) was 36x for the MDA-MB-436 cell line compared to 12x for the HCC1954 (talazoparib cytoxicity IC_{50} = 32 nM) cell line;		
				Cytotoxicity IC_{50}/ IC_{90}: N = 1 for all 4 cell lines;	JIMT1 (Cytotoxicity IC_{50} = 34 nM) and HCC1143 (Cytotoxicity IC_{50} = 119 nM) BRCA wild type cell lines (although they may contain other DDR mutations): JIMT1 and HCC1143 showed 45x and 46x PARP trapping, respectively, in the presence of talazoparib and MMS		

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06944076

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
DDR multiparametric assay: dsDNA breaks (γH2AX) analysis following talazoparib with and without TMZ	In Vitro	In Vitro	In Vitro	N = 1	ACC[b] values for total and S-phase specific γH2AX increase following talazoparib treatment were 0.87 μM and at 0.20 μM. The maximum γH2AX increase (2.2x) was observed with talazoparib plus TMZ at 43 μM and the ACC values were 0.002 μM and 0.008 μM for total and S-phase, respectively. At the higher TMZ dose, the maximum increase in MCF did not change, but the ACC values shifted to a lower concentration (0.0005 μM and 0.0003 μM, respectively).	Non-GLP	[redacted]GR323
DDR multiparametric assay: Cell cycle analysis following talazoparib with and without TMZ	In Vitro	In Vitro	In Vitro	N = 1	At 24 hours, talazoparib caused an accumulation of cells in S-phase without TMZ. In presence of TMZ at 43 μM, accumulation in S-phase cells increased for talazoparib and the S-phase arrest was further potentiated in the presence 128 μM TMZ.	Non-GLP	[redacted]GR323

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06944076

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
DDR multiparametric assay: Cleaved caspase 3 analysis	In Vitro	In Vitro	In Vitro	N = 1	Vehicle control: Average of 3.2% cells expressing CC3. Talazoparib: CC3-expressing cells ~13% at the highest concentration (20.0 µM) at 24 hours post treatment. Potency of response increases with increasing concentrations of TMZ.	Non-GLP	[redacted]GR323
DDR multiparametric assay: Cell growth inhibition analysis	In Vitro	In Vitro	In Vitro	N = 1	Maximum 50% growth suppression; Upon co-treatment with TMZ, the response occurred at a lower concentration of talazoparib when the TMZ concentration was increased.	Non-GLP	[redacted]GR323
Antitumor Efficacy of Talazoparib compared to Carboplatin in the BR-05-0028 breast cancer PDX model	BALB/c nude mice	Talazoparib: PO; Carboplatin: IP	Talazoparib: 0.3 mg/kg once daily; Carboplatin: 30 mg/kg once weekly for 67 days	Female; N = 7/group	Talazoparib resulted in statistically significant TGI (108%; p = 0.031), while carboplatin activity was more modest and not statistically significant TGI (67%; p = 0.178).	Non-GLP	MDVT-20[redacted]0830B (MDV3800P058)
Antitumor Efficacy of Talazoparib in the LNCaP prostate cancer model	BALB/c nude mice	Talazoparib: PO;	Talazoparib: 0.15 mg/kg twice daily for 28 days	Male; N = 6/group	Talazoparib resulted in statistically significant TGI compared with vehicle control (p <0.05).	Non-GLP	MDV3800P014

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06944076

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Talazoparib single agent antitumor activity and PK analysis in a BRCA1-mutated T168 Breast Cancer PDX Model	BALB/c Nude Mice	PO	0.07 mg/kg or 0.15 mg/kg BID for 33 days, QD Day 34	Female; N = 10/group	0.07 mg/kg dose: T/C% = 1.26% D18; p <0.001 from D14; 100% CR starting D25; 100% TFS D34; Unbound C_{av}: 1.14 nM; AUC_6: 58.8 ng•h/mL 0.15 mg/kg dose: T/C% = 0.39% D18; p<0.001 from D11; 100% CR starting D14; 100% TFS D34; Unbound C_{av}: 2.48 nM; AUC_6: 128 ng•h/mL	Non-GLP	C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]24
Talazoparib single agent antitumor activity and PK analysis in a BRCA2-mutated HBCx-10 Breast Cancer PDX Model	BALB/c Nude Mice	PO	0.07 mg/kg or 0.15 mg/kg BID for 34 days, QD Day 35	Female; N = 10/group	0.07 mg/kg dose: T/C% 34.27% D24; p <0.001 D24 to D28; Unbound C_{av}: 0.92 nM; AUC_6: 47.5 ng•h/mL 0.15 mg/kg dose: T/C% = 3.48% D24; p <0.001 D14 to D28; 40% PR; 60% CR; 60% TFS D35; Unbound C_{av}: 1.89 nM; AUC_6: 97.4 ng•h/mL	Non-GLP	C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]22

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06944076

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Talazoparib single agent antitumor activity and PK analysis in a BRCA1/2 Wild Type HBCx-6 Breast Cancer PDX Model	BALB/c Nude Mice	PO	0.07 mg/kg or 0.15 mg/kg BID for 34 days, QD Day 35	Female; N = 10/group	0.07 mg/kg dose: T/C% = 1.63% D35; p <0.001 D17 to D35; 80% PR; 20% CR; 20% TFS D35 Unbound C_{av}: 0.84 nM; AUC_6: 43.6 ng•h/mL 0.15 mg/kg dose: T/C% = 0.32% D35; p <0.001 D14 to D35; 20% PR; 80% CR; 80% TFS D35; Unbound C_{av}: 1.50 nM; AUC_6: 77.5 ng•h/mL	Non-GLP	C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]23
Talazoparib single agent antitumor activity and PK analysis in a BRCA1/2 Wild Type HBCx-12B Breast Cancer PDX Model	BALB/c Nude Mice	PO	0.07 mg/kg or 0.15 mg/kg BID for 34 days, QD Day 35	Female; N = 8/group	0.07 mg/kg dose: T/C% = 44.4% D31; p<0.05 D28 to D35; Unbound C_{av}: ND; AUC_6: ND 0.15 mg/kg dose: T/C% = 26.6% D31; p<0.01 D28 to D35; Unbound C_{av}: ND; AUC_6: ND	Non-GLP	C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]26

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06944076

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Talazoparib single agent antitumor activity and PK analysis in a BRCA1/2 Wild Type HBCx-9 Breast Cancer PDX Model	BALB/c Nude Mice	PO	0.07 mg/kg or 0.15 mg/kg BID for 34 days, QD Day 35	Female; N = 10/group	0.07 mg/kg dose: T/C% = 73.8% D25; Unbound C_{av}: 0.51 nM; AUC_6: 26.3 ng•h/mL 0.15 mg/kg dose: T/C% = 46.25% D25; p <0.01 from D18; Unbound C_{av}: 1.55 nM; AUC_6: 79.8 ng•h/mL	Non-GLP	C[redacted]-356/[redacted]S-[redacted]25

ACC = Activity-concentration-at cut-off or derived minimal effect level; ADP = Adenosine diphosphate; AUC_6 = area-under-the-concentration-time-curve from pre-dose to last measureable concentration at 6 hours. BID = Twice daily; BRCA = Breast cancer gene; C_{av} = Average concentration; CC3 = Cleaved caspase 3; CR = Complete tumor regression, i.e. the number of mice presenting tumor size at least 80% lower than initial tumor size during at least 3 consecutive measurements; D = Day; DDR = DNA damage response; DNA = Deoxyribonucleic acid; γH2AX = H2A histone family, member X, gamma subunit; GLP = Good Laboratory Practice; IC_{50} = 50% Inhibitive concentration; IC_{90} = 90% Inhibitive concentration; IP = Intraperitoneal; MCF = Mean channel fluorescence; MMS = methyl methane sulfonate; N = Number; ND = Not determined; QD = Once daily; PARP = Poly ADP ribose polymerase; PDX = Patient derived xenograft; PK = Pharmacokinetics; PO = By mouth; PR = Partial tumor regression, i.e. the number of mice presenting a tumor size at least 30% lower than initial tumor size during at least 3 consecutive measurements; T/C% = percent ratio between the mean tumor volume of a treated group and the mean tumor volume of the control group; TFS = Tumor free survival, i.e. the number of complete tumor regressions recorded up to group day end; TGI = Tumor growth inhibition; TMZ = Temozolomide; TNKS = Tankyrase.

a. Single dose unless specified otherwise.

b. ACC value represents a point-of-departure on a dose-response curve where a response is statistically higher than background and the increase is biologically relevant. The statistical threshold for point-of-departure was set to 3 median absolute deviation of the negative control.

2.6.3.3. SECONDARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06944076

In Vitro

Type of Test	Test Cells/Tissues	Concentration	Results	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)
Receptor binding and enzyme inhibition	Cloned cells and cell membranes expressing targets from human and other species	10 μM	No activity greater than 50% observed.	No	AA86818 (BMN673-[redacted]-022)
Receptor binding and enzyme inhibition	Cloned cells and cell membranes expressing targets from human and other species	10 μM	No activity greater than 50% observed.	No	AA87288 (BMN673-[redacted]-024)

GLP = Good Laboratory Practice.

2.6.3.4. SAFETY PHARMACOLOGY

Test Article: PF-06944076

In Vitro

Type of Test	Test Cells/Tissues	Test Concentration (µM)	Results	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)
hERG Patch-clamp	HEK293 cells expressing hERG potassium channels	BMN 673ts: 0,10, 30, 100 µM Terfenadine (positive control): 60 nM	hERG current was inhibited by 6.7 ± 0.9% at 10 µM, 14.2 ± 0.4% at 30 µM, and 33.4 ± 1.6% at 100 µM (Mean ± SEM). The IC_{50} was estimated to be >100 µM. The vehicle control inhibited hERG current by 0.5 ± 0.1% (Mean ± SEM). Terfenadine inhibited hERG current by 80.5 ± 0.6% (Mean ± SD).	Yes	8229172 (BMN673-[redacted]-075)

BMN 673ts = Talazoparib; GLP = Good Laboratory Practice; HEK = Human embryonic kidney; hERG = Human ether-à-go-go-related gene; IC_{50} = 50% Inhibitive concentration.

2.6.3.4. SAFETY PHARMACOLOGY

Test Article: PF-06944076

In Vivo

Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle) Test Article Lot Number	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)
Central Nervous System FOB, BT, LA	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage, 5 mL/kg (0.5% Carboxymethylcellulose) Lot [redacted]	0 (Control)[b], 0.3, 1.0, 3.0	6M	None	Yes	8227534 (BMN673-[redacted]-052)
Pulmonary RR, TV, MV	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage, 5 mL/kg (0.5% Carboxymethylcellulose) Lot [redacted]	0 (Control)[b], 0.3, 1.0, 3.0	8M (plethysmography); 3M (test article exposure)	0.3, 1.0, and 3.0 mg/kg BMN 673ts decreased tidal volume by 9%, 11%, and 12% across timepoints	Yes	8229153 (BMN673-[redacted]-068)

BMN 673ts = Talazoparib; BT = Body temperature; FOB = Functional Observational Battery; GLP = Good Laboratory Practice; LA = Locomotor activity; M = Male; MV = Minute volume; RR = Respiratory rate; TV = Tidal volume.
a. Single dose unless specified otherwise.
b. Vehicle control article: 0.5% (w/v) carboxymethylcellulose (CMC) formulated in reverse osmosis (RO) water.