第 2 部　CTD の概要

一般名：カピバセルチブ

版番号：[redacted]

2.6.1　緒言
カピバセルチブ

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ 1
目次 2
略語及び専門用語一覧表 3
2.6.1.1　緒言 5
2.6.1.2　図 8
2.6.1.3　参考文献 8

図目次

図 1　カピバセルチブの構造式 8

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
ADME	Absorption, distribution, metabolism and elimination：吸収、分布、代謝及び排泄
AGC	cAMP-dependent protein kinases A, cGMP-dependent protein kinases G, and phospholipid-dependent protein kinases C：cAMP-依存性プロテインキナーゼ A、cGMP-依存性プロテインキナーゼ G 及びリン脂質依存性プロテインキナーゼ C
AKT	Serine/threonine specific protein kinase：セリン／スレオニンプロテインキナーゼ
ATP	Adenosine triphosphate：アデノシン三リン酸
CDK4/6	Cyclin-dependent kinase：サイクリン依存性キナーゼ
CYP	Cytochrome P450：シトクロム P450
EGFR	Epidermal growth factor receptor：上皮成長因子受容体
ER	Estrogen receptor-positive：エストロゲン受容体
Erb2	Estrogen Receptor b2：エストロゲン受容体 b2
ERK	Extracellular signal-regulated kinase：細胞外シグナル調節キナーゼ
FGFR	Fibroblast growth factor receptor：線維芽細胞増殖因子受容体
Foxo	Forkhead Box O：飢餓ストレス応答因子
GPCR	G-protein-coupled receptor：G タンパク質共役受容体
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
GSK3β	Glycogen synthase kinase 3-β：グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3-β
GTP	Guanosine triphosphate：グアノシン三リン酸
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2：ヒト上皮細胞成長因子受容体 2
HR	Hormone receptor：ホルモン受容体
ICH	International Council for Harmonisation：医薬品規制調和国際会議
IGFR	Insulin like growth factor 1 receptor：インスリン様成長因子 1 受容体
IHC	Immunohistochemistry：免疫組織化学
ISH	*In situ* hybridization：*In situ* ハイブリダイゼーション
LPAR	Lysophosphatidic acid receptor：リゾホスファチジン酸受容体
mTOR	Mammalian target of rapamycin：哺乳類ラパマイシン標的タンパク質
mTORC1	mTOR Complex 1：ラパマイシン標的タンパク質複合体 1
mTORC2	mTOR Complex 2：ラパマイシン標的タンパク質複合体 2
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
p70S6K	70kDa ribosomal protein S6 kinase：70kDa リボソームタンパク質 S6 キナーゼ
PDK1	3-phosphoinositide dependent protein kinase 1：ホスホイノシチド依存性プロテインキナーゼ 1
PDGFR	Platelet-Derived Growth Factor Receptor：血小板由来成長因子
PHLPP	Pleckstrin-homology (PH) domain leucine-rich repeat protein phosphatase
PI3K	Phosphatidylinositol 3-kinase：ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ
PI3Kα	Phosphatidylinositol 3-kinase α：ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ α
PI3Kβ	Phosphatidylinositol 3-kinase β：ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ β

略語及び専門用語	用語の説明
PIK3CA	Phosphatidylinositol 3-kinase α catalytic polypeptide：ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ α 触媒ポリペプチド
PRAS40	Proline Rich AKT Substrate of 40kDa：40kDa のプロリンリッチ AKT 基質
pS6	Phosphorylated S6 ribosomal protein：リン酸化されたリボソームタンパク質 S6
PTEN	Phosphatase and tensin homolog：ホスファターゼ・テンシン・ホモログ
QWBA	Quantitative whole body autoradiography：定量的全身オートラジオグラフィー
RAC	Rho family small GTP binding protein：Rho ファミリー低分子量 GTP 結合タンパク質の一種
RAS	Rat sarcoma virus protein：ラット肉腫ウイルス
S6	S6 ribosomal protein：リボソームタンパク質 S6
SERD	Selective Estrogen Receptor Degrader：選択的エストロゲン受容体分解薬
UGT	Uridine di-phospho-glucuronosyl transferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素

2.6.1.1　緒言

カピバセルチブは、セリン／スレオニンプロテインキナーゼ（AKT）の 3 種類のアイソフォーム（AKT1、AKT2 及び AKT3）全てに対する強力な阻害薬であり、経口で間欠投与される。カピバセルチブはフルベストラントとの併用により、内分泌療法による治療中／治療後に再発又は病勢進行が認められた、局所進行又は転移性の HR 陽性/HER2 陰性（IHC 0 若しくは 1+、又は IHC 2+/ISH で陰性）乳癌の成人患者に対する治療薬として開発されている。

カピバセルチブは、α-置換ベンジルアミド族に属する新規の抗癌薬であり（図 1）、固形癌及び血液悪性腫瘍を適応として開発が進められている。カピバセルチブは AGC キナーゼ AKT1、AKT2 及び AKT3 に対する ATP 競合的な阻害薬である。

PI3K-AKT シグナル伝達経路は、乳癌において重要な役割を果たす。AKT は、細胞の増殖、生存、代謝、タンパク合成及び遺伝子発現を制御する主要な酵素である（Liu et al 2009、Vanhaesebroeck et al 2012、Engelman 2009）。この経路は、上皮細胞において EGFR、Erb2、FGFR、PDGFR、IGFR 及び GPCR（例 LPAR、トロンビン受容体）等の多くの細胞表面成長因子受容体チロシンキナーゼ並びに RAS 及び RAC 等の小分子 GTP アーゼによって活性化される（Manning and Toker 2017）。AKT は PI3K の下流の細胞内シグナル伝達イベントの複雑なカスケードによって活性化されるが、完全な活性化には PDK1 及び mTORC2 による二重の活性化が必要となる。AKT は、多くのタンパク質の活性と細胞機能を直接的又は間接的に制御する。これらには、細胞増殖／生存及び糖代謝を制御する GSK3β、S6 をリン酸化する p70S6K を負に制御する PRAS40、及び多くの転写物の発現を制御する転写因子 Foxo3A が含まれる。AKT の活性化は、PI3K アイソフォームレベルでシグナル伝達を制御する PTEN 等のホスファターゼ、及び AKT の活性化を直接コントロールする PHLPP によって負に制御される（Hoxhaj and Manning 2020、Manning and Toker 2017）。

腫瘍細胞内の PI3K/AKT/PTEN 経路の制御不全は、*PIK3CA*（PI3Kα の触媒サブユニット）の変異、腫瘍抑制因子 *PTEN* の欠損、及び *AKT1* の活性化変異等、複数のメカニズムにより起こる。HR 陽性乳癌は *PIK3CA* 変異の頻度が高く、*PTEN* 及び／又は *AKT1* の変異の頻度はそれより低いが（Bertucci et al 2019、Brandao et al 2019、Cancer Genome Atlas 2012、Ellis and Perou 2013、Millis et al 2016、Pereira et al 2016、Razavi et al 2018）、このことは、AKT シグナル伝達が ER 陽性乳癌で重要な役割を果たすことと合致する。非臨床の乳癌モデルにおいて、*PIK3CA* の活性化変異は PI3Kα 及び AKT 阻害薬に対する感受性上昇と関連するのに対し、*PTEN* の機能喪失変異は PI3Kβ 及び AKT 阻害薬に対する感受性上昇と関連していた（Davies et al 2012、Gris-Oliver et al 2020、Hancox et al 2015、Wee et al 2008）。このように遺伝子変異と PI3K-AKT 経路依存性に関連がある一方で、AKT 阻害薬は *PIK3CA*、*PTEN* 又は *AKT* に変異がない細胞株や腫瘍モデルでも活性を示すことから、AKT 経路がこの疾患の重要な要因であることが示唆される。

PI3K-AKT 経路の阻害薬は、進行乳癌患者において臨床的な有効性を示す（Verret et al 2019）。Alpelisib（PI3Kα 阻害薬）とフルベストラント（選択的エストロゲン受容体分解促進薬：SERD）の併用は、内分泌療法歴があり *PIK3CA* 変異が認められた HR 陽性／HER2 陰性の進行乳癌患者の治療選択肢である（Cardoso et al 2020）。カピバセルチブは 3 種類の AKT アイソフォーム全てを強力かつ選択的に阻害することから（Davies et al 2012）、ER 陽性/HER 陰性乳癌の患者を対象とした第 II 相試験（Jones et al 2020）、及び本承認申請の主要評価試験である第 III 相 CAPItello-291 試験において、フルベストラントとの併用により臨床的な有効性が示された。また、カピバセルチブ単独により、非臨床モデル並びに *AKT1*、*PIK3CA* 又は生殖細胞系列 *PTEN* に変異を有する乳癌の患者において有効性が示された（Banerji et al 2018、Davies et al 2015、Hyman et al 2017、Kingston et al 2019、Smyth et al 2020）。

PI3K シグナル伝達経路は複雑であり、標的が PI3K、AKT 又は mTOR のいずれかにより細胞の反応が異なる。特に PI3K 阻害薬はフィードバックにより経路が再活性化され、二次的な遺伝子変異により耐性を獲得することがある。急速なフィードバック及び PI3K-AKT 経路の再活性化は、受容体チロシンキナーゼや他の PI3K アイソフォームを介したシグナル伝達（Chandarlapaty et al 2011、Costa et al 2015、Schwartz et al 2015）、又は PTEN タンパクの発現低下（Mukherjee et al 2021、Razavi et al 2020）により起こる可能性がある。これらのメカニズムは全て AKT シグナル伝達の再活性化を促進する。特に *PIK3CA* 変異乳癌では、PI3Kα 阻害薬に対する耐性が PTEN 欠損と関連し、結果として PI3Kβ の活性化が起こることが非臨床及び臨床で示されている（Juric et al 2015、Ros et al 2020）。このような AKT シグナル伝達の再活性化につながる耐性及びフィードバックメカニズムは ERK 経路の潜在的な共活性化又は mTORC1 複合体を介したシグナル伝達に加え、AKT が細胞の生存維持に主要な役割を果たすことと一致する（Davies et al 2012、Elkabets et al 2013、Lynch et al 2018）。

PI3K-AKT シグナル伝達の変化は、ER 等の他のシグナル伝達促進要因と共に腫瘍増殖を促進する。また、AKT シグナル伝達経路と ER シグナル伝達経路の間のクロストークの可能性も考えられる。PI3Kα 又は AKT の阻害は、ER 依存性の遺伝子発現を増加させる可能性があり、PI3K 又は AKT 阻害薬と ER アンタゴニストの併用が ER 陽性乳癌で併用効果を示すもう一つのメカニズムとなっている（Bosch et al 2015、Ribas et al 2015）。PI3K シグナル伝達の活性化は、アロマターゼ阻害薬又は内分泌療法に対する耐性を促進するか（Fu et al 2014、Miller et al 2010）、若しくはアロマターゼ阻害薬に対する反応の低さと関連しており（Gao et al 2014、Tokunaga et al 2006）、AKT 阻害薬と ER 阻害薬の併用は内分泌療法耐性乳癌モデルに効果を示す（Ribas et al 2015、Yamnik et al 2009）。

ER シグナル伝達を標的とすることで腫瘍増殖は遅延するが、腫瘍細胞はサイクリン依存性キナーゼ（CDK）4 及び 6 に依存したメカニズムを介して ER 阻害を回避する可能性がある（Alves et al 2016、Finn et al 2016a、Miller et al 2011）。内分泌療法への CDK4/6 阻害薬の追加は ER 陽性腫瘍における治療効果をもたらし、現在臨床で広く用いられている（Finn et al 2016b、Finn et al 2020、Turner et al 2015）。ER 及び CDK4/6 阻害薬併用治療に対する耐性のメカニズムの研究から、クロストーク又は耐性の発現が PI3K-AKT 経路のシグナル伝達の亢進と関連する可能性が明らかとなっている。例として、リボシクリブ及びアロマターゼ阻害薬レトロゾールに対する耐性は PTEN 欠損と関連し、結果として PI3K-AKT シグナル伝達が活性化される（Costa et al 2020、Li et al 2022）。また、AKT の上流にある活性化因子 PDK1 が欠損すると、ER 陽性乳癌細胞株の CDK4/6 阻害薬に対する耐性が生じにくいことが示された（Jansen et al 2017）。種々のメカニズムにより活性化される PI3K-AKT シグナル伝達の役割は、CDK4/6 阻害薬耐性の ER 陽性乳癌の多くの試験及び種々の試験で認められている（Abu-Khalaf et al 2023、Alves et al 2021、Costa et al 2020、Li et al 2022、O'Brien et al 2020、Palafox et al 2022）。

これらの文献では、様々なシナリオにおいて AKT シグナル伝達が ER 陽性乳癌細胞の生存維持において広範な役割を果たすことが強調されている。*PIK3CA*、*PTEN* 又は *AKT1* に変異を有する腫瘍及び変異がない腫瘍の両方に加えて、ER アンタゴニスト単独及び CDK4/6 阻害薬との併用療法後に進行した腫瘍（の生存）にとっても、AKT シグナル伝達が重要な役割を果たしている。

カピバセルチブは、AKT に対する強力な選択的経口阻害薬であり、AKT のキナーゼドメインに結合し AKT の下流でシグナル伝達を阻害するように設計されている。カピバセルチブは単独で細胞増殖を抑制したが、最大の効果は併用で認められた。ER 陽性乳癌の細胞株及びモデルにおいて、カピバセルチブは単独で増殖抑制作用を示したが、SERD のフルベストラントとの併用により抗腫瘍効果が増強した。用量依存的な併用効果が *PIK3CA*、*PTEN* 又は *AKT1* に変異を有する *in vitro* 細胞株及び *in vivo* 腫瘍モデル、及びこれらに変異がないモデルの両方で認められた

が、その効果は変異モデルにおいてより顕著であった。さらに、CDK4/6 阻害薬に曝露された又は CDK4/6 阻害薬に耐性の細胞株及び *in vivo* 腫瘍モデルにおいても併用効果が示された。

開発期間中に、カピバセルチブのエーテル型グルクロン酸抱合体 AZ14102143 が、ヒトにおける主要な血中代謝物として同定された。この代謝物は細胞内で AKT 阻害活性を示さなかった。

カピバセルチブは、ラットでの最長 6 か月間及びイヌでの 9 か月間の経口反復投与毒性試験、一連の遺伝毒性試験、生殖毒性試験（6 か月間ラット毒性試験における雄受胎能、並びにラットにおける胚・胎児発生、並びに出生前及び出生後の発生に関する評価）、及び *in vitro* 光毒性試験において評価された。がん原性試験での用量設定のため、野生型 rasH2（CByB6F1-Tg（HRAS）2 Jic）マウスを用いた最長 1 か月間の反復投与毒性試験が実施された。2 年間のラットがん原性試験が実施中であり、投与は 20[redacted] 年 [redacted] 月に完了予定である。今後開発の可能性がある患者集団に対する裏付けとするため ICH M3 ガイドラインに準じラットの発がん性試験が実施中である。さらに、カピバセルチブの副次的薬理試験及び安全性薬理試験において、心血管系、呼吸器系、中枢神経系、消化器系、及び腎機能への影響が検討された。主要な非臨床安全性試験は全て OECD 加盟国で実施され、OECD の試験ガイドライン、GLP 及び関連する ICH に準じている。

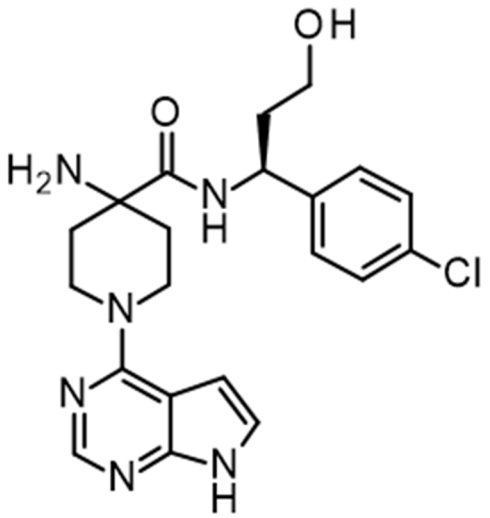
カピバセルチブの吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）の試験は、*in vivo* ではマウス、ラット及びイヌにおいて、各試験で同じ投与溶液を用いて行われ、*in vitro* ではマウス、ラット、イヌ及びヒト組織を用いて行われた。使用動物種及び系統は、薬理試験及び毒性試験で使用されたものと同じであったが、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験では Wistar Hannover ラットに加え partially pigmented rat を使用した。カピバセルチブは、血漿タンパク結合、動物種間の代謝、シトクロム P450 （CYP）及びウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）酵素との相互作用、トランスポーターとの相互作用の評価のための多くの *in vitro* 試験、及びリアクションフェノタイピング試験において検討された。1、6 及び 9 か月間反復投与毒性試験での TK 試験、安全性薬理試験、ラット胚胎児発生試験、ラットの QWBA 試験、及びラットのマスバランス試験は、GLP 準拠で実施され、その他の ADME 試験はいずれも非 GLP 準拠である。

非臨床試験の概要文では、非臨床薬理、安全性薬理、毒性、薬物動態及び薬物代謝試験における主要な結果を記述する。

一部の試験報告書において、カピバセルチブは AZD5363 又は AZ12952302 と記した。

2.6.1.2 図

図 1 カピバセルチブの構造式



2.6.1.3 参考文献

Abu-Khalaf et al 2023

Abu-Khalaf MM, Hodge KA, Hatzis C, Baldelli E, El Gazzah E, Valdes F, et al. AKT/mTOR signaling modulates resistance to endocrine therapy and CDK4/6 inhibition in metastatic breast cancers. NPJ Precis Oncol. 2023 Feb 16;7(1):18.

Alves et al 2016

Alves CL, Elias D, Lyng M, Bak M, Kirkegaard T, Lykkesfeldt AE, et al. High CDK6 Protects Cells from Fulvestrant-Mediated Apoptosis and is a Predictor of Resistance to Fulvestrant in Estrogen Receptor-Positive Metastatic Breast Cancer. Clin Cancer Res. 2016 Nov 15;22(22):5514-26.

Alves et al 2021

Alves CL, Ehmsen S, Terp MG, Portman N, Tuttolomondo M, Gammelgaard OL, et al. Co-targeting CDK4/6 and AKT with endocrine therapy prevents progression in CDK4/6 inhibitor and endocrine therapy-resistant breast cancer. Nat Commun. 2021 Aug 25;12(1):5112.

Banerji et al 2018

Banerji U, Dean EJ, Perez-Fidalgo JA, Batist G, Bedard PL, You B, et al. A Phase I Open-Label Study to Identify a Dosing Regimen of the Pan-AKT Inhibitor AZD5363 for Evaluation in Solid Tumors and in *PIK3CA*-Mutated Breast and Gynecologic Cancers. Clin Cancer Res. 2018 May 1;24(9):2050-9.

Bertucci et al 2019

Bertucci F, Ng CKY, Patsouris A, Droin N, Piscuoglio S, Carbuccia N, et al. Genomic characterization of metastatic breast cancers. Nature. 2019 May;569(7757):560-4.

Bosch et al 2015

Bosch A, Li Z, Bergamaschi A, Ellis H, Toska E, Prat A, et al. PI3K inhibition results in enhanced estrogen receptor function and dependence in hormone receptor-positive breast cancer. Sci Transl Med. 2015 Apr 15;7(283):283ra51.

Brandao et al 2019

Brandao M, Caparica R, Eiger D, de Azambuja E. Biomarkers of response and resistance to PI3K inhibitors in estrogen receptor-positive breast cancer patients and combination therapies involving PI3K inhibitors. Ann Oncol. 2019 Dec 1;30(Suppl_10):x27-x42.

Cancer Genome Atlas 2012

Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. Nature. 2012 Oct 4;490(7418):61-70.

Cardoso et al 2020

Cardoso F, Paluch-Shimon S, Senkus E, Curigliano G, Aapro MS, Andre F, et al. 5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5). Ann Oncol. 2020 Dec;31(12):1623-49.

Chandarlapaty et al 2011

Chandarlapaty S, Sawai A, Scaltriti M, Rodrik-Outmezguine V, Grbovic-Huezo O, Serra V, et al. AKT inhibition relieves feedback suppression of receptor tyrosine kinase expression and activity. Cancer Cell. 2011 Jan 18;19(1):58-71.

Costa et al 2015

Costa C, Ebi H, Martini M, Beausoleil SA, Faber AC, Jakubik CT, et al. Measurement of PIP3 levels reveals an unexpected role for p110β in early adaptive responses to p110α-specific inhibitors in luminal breast cancer. Cancer Cell. 2015 Jan 12;27(1):97-108.

Costa et al 2020

Costa C, Wang Y, Ly A, Hosono Y, Murchie E, Walmsley CS, et al. PTEN Loss Mediates Clinical Cross-Resistance to CDK4/6 and PI3Kα Inhibitors in Breast Cancer. Cancer Discov. 2020 Jan;10(1):72-85.

Davies et al 2012

Davies BR, Greenwood H, Dudley P, Crafter C, Yu DH, Zhang J, et al. Preclinical pharmacology of AZD5363, an inhibitor of AKT: pharmacodynamics, antitumor activity, and correlation of monotherapy activity with genetic background. Mol Cancer Ther. 2012 Apr;11(4):873-87.

Davies et al 2015

Davies BR, Guan N, Logie A, Crafter C, Hanson L, Jacobs V, et al. Tumors with AKT1E17K Mutations Are Rational Targets for Single Agent or Combination Therapy with AKT Inhibitors. Mol Cancer Ther. 2015 Nov;14(11):2441-51.

Elkabets et al 2013

Elkabets M, Vora S, Juric D, Morse N, Mino-Kenudson M, Muranen T, et al. mTORC1 inhibition is required for sensitivity to PI3K p110α inhibitors in PIK3CA-mutant breast cancer. Sci Transl Med. 2013 Jul 31;5(196):196ra99.

Ellis and Perou 2013

Ellis MJ, Perou CM. The genomic landscape of breast cancer as a therapeutic roadmap. Cancer Discov. 2013 Jan;3(1):27-34.

Engelman 2009

Engelman JA. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations. Nat Rev Cancer. 2009 Aug;9(8):550-62.

Finn et al 2016a

Finn RS, Aleshin A, Slamon DJ. Targeting the cyclin-dependent kinases (CDK) 4/6 in estrogen receptor-positive breast cancers. Breast Cancer Res. 2016 Feb 9;18(1):17.

Finn et al 2016b

Finn RS, Martin M, Rugo HS, Jones S, Im SA, Gelmon K, et al. Palbociclib and Letrozole in Advanced Breast Cancer. N Engl J Med. 2016 Nov 17;375(20):1925-36.

Finn et al 2020

Finn RS, Boer K, Bondarenko I, Patel R, Pinter T, Schmidt M, et al. Overall survival results from the randomized phase 2 study of palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone for first-line treatment of ER+/HER2- advanced breast cancer (PALOMA-1, TRIO-18). Breast Cancer Res Treat. 2020 Sep;183(2):419-28.

Fu et al 2014

Fu X, Creighton CJ, Biswal NC, Kumar V, Shea M, Herrera S, et al. Overcoming endocrine resistance due to reduced PTEN levels in estrogen receptor-positive breast cancer by co-targeting mammalian target of rapamycin, protein kinase B, or mitogen-activated protein kinase kinase. Breast Cancer Res. 2014 Sep 11;16(5):430.

Gao et al 2014

Gao Q, Patani N, Dunbier AK, Ghazoui Z, Zvelebil M, Martin LA, et al. Effect of aromatase inhibition on functional gene modules in estrogen receptor-positive breast cancer and their relationship with antiproliferative response. Clin Cancer Res. 2014 May 1;20(9):2485-94.

Gris-Oliver et al 2020

Gris-Oliver A, Palafox M, Monserrat L, Braso-Maristany F, Odena A, Sanchez-Guixe M, et al. Genetic Alterations in the PI3K/AKT Pathway and Baseline AKT Activity Define AKT Inhibitor Sensitivity in Breast Cancer Patient-derived Xenografts. Clin Cancer Res. 2020 Jul 15;26(14):3720-31.

Hancox et al 2015

Hancox U, Cosulich S, Hanson L, Trigwell C, Lenaghan C, Ellston R, et al. Inhibition of PI3Kβ signaling with AZD8186 inhibits growth of PTEN-deficient breast and prostate tumors alone and in combination with docetaxel. Mol Cancer Ther. 2015 Jan;14(1):48-58.

Hoxhaj and Manning 2020

Hoxhaj G, Manning BD. The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism. Nat Rev Cancer. 2020 Feb;20(2):74-88.

Hyman et al 2017

Hyman DM, Smyth LM, Donoghue MTA, Westin SN, Bedard PL, Dean EJ, et al. AKT Inhibition in Solid Tumors With AKT1 Mutations. J Clin Oncol. 2017 Jul 10;35(20):2251-9.

Jansen et al 2017

Jansen VM, Bhola NE, Bauer JA, Formisano L, Lee KM, Hutchinson KE, et al. Kinome-Wide RNA Interference Screen Reveals a Role for PDK1 in Acquired Resistance to CDK4/6 Inhibition in ER-Positive Breast Cancer. Cancer Res. 2017 May 1;77(9):2488-99.

Jones et al 2020

Jones RH, Casbard A, Carucci M, Cox C, Butler R, Alchami F, et al. Fulvestrant plus capivasertib versus placebo after relapse or progression on an aromatase inhibitor in metastatic, oestrogen receptor-positive breast cancer (FAKTION): a multicentre, randomised, controlled, phase 2 trial. Lancet Oncol. 2020 Mar;21(3):345-57.

Juric et al 2015

Juric D, Castel P, Griffith M, Griffith OL, Won HH, Ellis H, et al. Convergent loss of PTEN leads to clinical resistance to a PI(3)Kα inhibitor. Nature. 2015 Feb 12;518(7538):240-4.

Kingston et al 2019

Kingston B, Bailleux C, Delaloge S, Schiavon G, Scott V, Lacroix-Triki M, et al. Exceptional Response to AKT Inhibition in Patients With Breast Cancer and Germline PTEN Mutations. JCO Precis Oncol. 2019 Dec 5;3:PO.19.00130.

Li et al 2022

Li Q, Jiang B, Guo J, Shao H, Del Priore IS, Chang Q, et al. INK4 Tumor Suppressor Proteins Mediate Resistance to CDK4/6 Kinase Inhibitors. Cancer Discov. 2022 Feb;12(2):356-71.

Liu et al 2009

Liu P, Cheng H, Roberts TM, Zhao JJ. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. Nat Rev Drug Discov. 2009 Aug;8(8):627-44.

Lynch et al 2018

Lynch JT, Polanska UM, Hancox U, Delpuech O, Maynard J, Trigwell C, et al. Combined Inhibition of PI3Kβ and mTOR Inhibits Growth of PTEN-null Tumors. Mol Cancer Ther. 2018 Nov;17(11):2309-19.

Manning and Toker 2017

Manning BD, Toker A. AKT/PKB Signaling: Navigating the Network. Cell. 2017 Apr 20;169(3):381-405.

Miller et al 2010

Miller TW, Hennessy BT, Gonzalez-Angulo AM, Fox EM, Mills GB, Chen H, et al. Hyperactivation of phosphatidylinositol-3 kinase promotes escape from hormone dependence in estrogen receptor-positive human breast cancer. J Clin Invest. 2010 Jul;120(7):2406-13.

Miller et al 2011

Miller TW, Balko JM, Fox EM, Ghazoui Z, Dunbier A, Anderson H, et al. ERα-dependent E2F transcription can mediate resistance to estrogen deprivation in human breast cancer. Cancer Discov. 2011 Sep;1(4):338-51.

Millis et al 2016

Millis SZ, Ikeda S, Reddy S, Gatalica Z, Kurzrock R. Landscape of Phosphatidylinositol-3-Kinase Pathway Alterations Across 19 784 Diverse Solid Tumors. JAMA Oncol. 2016 Dec 1;2(12):1565-73.

Mukherjee et al 2021

Mukherjee R, Vanaja KG, Boyer JA, Gadal S, Solomon H, Chandarlapaty S, et al. Regulation of PTEN translation by PI3K signaling maintains pathway homeostasis. Mol Cell. 2021 Feb 18;81(4):708-23. e5.

O'Brien et al 2020

O'Brien NA, McDermott MSJ, Conklin D, Luo T, Ayala R, Salgar S, et al. Targeting activated PI3K/mTOR signaling overcomes acquired resistance to CDK4/6-based therapies in preclinical models of hormone receptor-positive breast cancer. Breast Cancer Res. 2020 Aug 14; 22(1):89.

Palafox et al 2022

Palafox M, Monserrat L, Bellet M, Villacampa G, Gonzalez-Perez A, Oliveira M, et al. High p16 expression and heterozygous RB1 loss are biomarkers for CDK4/6 inhibitor resistance in ER+ breast cancer. Nat Commun. 2022 Sep 7;13(1):5258.

Pereira et al 2016

Pereira B, Chin SF, Rueda OM, Vollan HKM, Provenzano E, Bardwell HA, et al. The somatic mutation profiles of 2,433 breast cancers refines their genomic and transcriptomic landscapes. Nat Commun. 2016 May 10; 7:11479.

Razavi et al 2018

Razavi P, Chang MT, Xu G, Bandlamudi C, Ross DS, Vasan N, et al. The Genomic Landscape of Endocrine-Resistant Advanced Breast Cancers. Cancer Cell. 2018 2018 Sep 10;34(3):427-38.e6.

Razavi et al 2020

Razavi P, Dickler MN, Shah PD, Toy W, Brown DN, Won HH, et al. Alterations in *PTEN* and *ESR1* promote clinical resistance to alpelisib plus aromatase inhibitors. Nat Cancer. 2020 Apr;1(4):382-93.

Ribas et al 2015

Ribas R, Pancholi S, Guest SK, Marangoni E, Gao Q, Thuleau A, et al. AKT Antagonist AZD5363 Influences Estrogen Receptor Function in Endocrine-Resistant Breast Cancer and Synergizes with Fulvestrant (ICI182780) *In Vivo*. Mol Cancer Ther. 2015 Sep;14(9):2035-48.

Ros et al 2020

Ros S, Wright AJ, D'Santos P, Hu DE, Hesketh RL, Lubling Y, et al. Metabolic Imaging Detects Resistance to PI3Kα Inhibition Mediated by Persistent FOXM1 Expression in ER^+ Breast Cancer. Cancer Cell. 2020 Oct 12;38(4):516-33. e9.

Schwartz et al 2015

Schwartz S, Wongvipat J, Trigwell CB, Hancox U, Carver BS, Rodrik-Outmezguine V, et al. Feedback suppression of PI3Kα signaling in PTEN-mutated tumors is relieved by selective inhibition of PI3Kβ. Cancer Cell. 2015 Jan 12;27(1):109-22.

Smyth et al 2020

Smyth LM, Tamura K, Oliveira M, Ciruelos EM, Mayer IA, Sablin MP, et al. Capivasertib, an AKT Kinase Inhibitor, as Monotherapy or in Combination with Fulvestrant in Patients with AKT1^{E17K}-Mutant, ER-Positive Metastatic Breast Cancer. Clin Cancer Res. 2020 Aug 1;26(15):3947-57.

Tokunaga et al 2006

Tokunaga E, Kataoka A, Kimura Y, Oki E, Mashino K, Nishida K, et al. The association between Akt activation and resistance to hormone therapy in metastatic breast cancer. Eur J Cancer. 2006 Mar;42(5):629-35.

Turner et al 2015

Turner NC, Ro J, André F, Loi S, Verma S, Iwata H, et al. Palbociclib in Hormone-Receptor-Positive Advanced Breast Cancer. New Engl J Med. 2015 Jul 16;373(3):209-19.

Vanhaesebroeck et al 2012

Vanhaesebroeck B, Stephens L, Hawkins P. PI3K signalling: the path to discovery and understanding. Nat Rev Mol Cell Biol. 2012 Feb 23;13(3):195-203.

Verret et al 2019

Verret B, Cortes J, Bachelot T, Andre F, Arnedos M. Efficacy of PI3K inhibitors in advanced breast cancer. Ann Oncol. 2019 Dec;30 Suppl 10:x12-x20.

Wee et al 2008

Wee S, Wiederschain D, Maira SM, Loo A, Miller C, deBeaumont R, et al. PTEN-deficient cancers depend on PIK3CB. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Sep 2;105(35):13057-62.

Yamnik et al 2009

Yamnik RL, Digilova A, Davis DC, Brodt ZN, Murphy CJ, Holz MK. S6 Kinase 1 regulates estrogen receptor alpha in control of breast cancer cell proliferation. J Biol Chem. 2009 Mar;284(10):6361-9.

2.6.2　薬理試験の概要文
一般名：カピバセルチブ
版番号：[redacted]

2.6.2　薬理試験の概要文
カピバセルチブ

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ 1
目次 2
略語及び専門用語一覧表 7
2.6.2.1　まとめ 10
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 15
2.6.2.2.1　*In vitro* 試験 15
2.6.2.2.1.1　酵素阻害活性 15
2.6.2.2.1.2　*In vitro* 腫瘍細胞株における AKT、p70S6K、PKA 及び ROCK に対するカピバセルチブの活性 17
2.6.2.2.1.2.1　AKT に対する阻害 17
2.6.2.2.1.2.2　p70S6K 活性に対する阻害 17
2.6.2.2.1.2.3　PKA 活性に対する阻害 18
2.6.2.2.1.2.4　ROCK 活性に対する阻害 18
2.6.2.2.1.2.5　内因性 *TSC1* 又は *TSC2* 変異細胞株における p70S6K に対する阻害 21
2.6.2.2.1.2.6　ヒト母集団 PK モデルに対する AKT、p70S6K 及び PKA 阻害の *in vitro* IC_{50} 値の整合性 23
2.6.2.2.1.3　細胞増殖抑制 24
2.6.2.2.1.3.1　腫瘍細胞株における増殖抑制 24
2.6.2.2.1.3.2　広範な腫瘍細胞パネルにおける細胞増殖抑制 26
2.6.2.2.1.3.3　乳癌細胞パネルにおける細胞増殖抑制 28
2.6.2.2.1.4　パルボシクリブ感受性及び耐性の ER 陽性乳癌細胞株におけるカピバセルチブとフルベストラントの併用による活性の比較 29
2.6.2.2.2　*In vivo* 試験 31
2.6.2.2.2.1　BT474c 腫瘍異種移植ヌードマウスにおける PK/PD 関係 31
2.6.2.2.2.2　PC3 腫瘍異種移植ヌードラットにおける PK/PD 関係 33
2.6.2.2.2.3　異種移植モデルにおけるカピバセルチブの効果 34
2.6.2.2.2.3.1　異種移植モデルにおけるカピバセルチブ単独投与時の抗腫瘍効果 34
2.6.2.2.2.3.2　BT474c 乳癌異種移植モデルにおけるカピバセルチブの間欠投与及び反復投与の抗腫瘍効果 37
2.6.2.2.2.3.3　BT474c 乳癌異種移植モデルにおけるカピバセルチブの 3 つの投与スケジュールの評価 38
2.6.2.2.2.3.4　乳癌異種移植モデルにおけるカピバセルチブとフルベストラント併用による内分泌療法に対する耐性の消失 41
2.6.2.2.2.3.5　ER 陽性乳癌 PDX モデルにおけるカピバセルチブ単独投与及びフルベストラントとの併用投与の *in vivo* 用量反応性 42
2.6.2.2.2.3.6　ER 陽性乳癌 PDX におけるカピバセルチブとフルベストラント併用の効果 44
2.6.2.2.2.3.7　ER 陽性乳癌異種移植モデル CTC174 にカピバセルチブとフルベストラントを併用投与後の薬力学的バイオマーカーの評価 59
2.6.2.2.2.3.8　ER 陽性乳癌 PDX モデルに増量したカピバセルチブをフルベストラントと併用投与後の薬力学的バイオマーカーの変化 62
2.6.2.2.2.4　AKT 阻害薬カピバセルチブ（AZD5363）のエーテル型グルクロン酸抱合体 AZ14102143 の *in vitro* 細胞活性 64

2.6.2.3 副次的薬理試験 66
2.6.2.3.1 *In vitro* 放射性リガンド結合、酵素及び電気生理学的試験における選択性スクリーニング（0895SY 試験） 66
2.6.2.4 安全性薬理試験 66
2.6.2.4.1 中枢神経系（2692SR 試験） 67
2.6.2.4.2 心血管系 67
2.6.2.4.2.1 hERG チャネルに対する作用（0354SZ 試験） 67
2.6.2.4.2.2 イヌ心室筋細胞に対する作用（2192SV 試験） 67
2.6.2.4.2.3 ラット摘出大動脈に対する作用（PH/E/12009 試験） 67
2.6.2.4.2.4 ウサギ摘出心臓に対する作用（0255SB 試験） 67
2.6.2.4.2.5 ラット摘出心臓に対する作用（CO100101 試験） 68
2.6.2.4.2.6 麻酔モルモットの心血管系への作用（0159SG 試験及び 0209SG 試験） 68
2.6.2.4.2.7 麻酔ラットの心血管系への作用（PH/E/13611 試験及び 3316SR 試験） 68
2.6.2.4.2.8 イヌの心血管系への作用（1101ZD 試験及び 1167ZD 試験） 69
2.6.2.4.3 呼吸器系（2692SR 試験） 69
2.6.2.4.4 消化器系（2692SR 試験） 70
2.6.2.4.5 腎機能（09-6713 試験） 70
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 70
2.6.2.6 考察及び結論 70
2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験 70
2.6.2.6.2 副次的薬理試験及び安全性薬理試験 71
2.6.2.6.2.1 心血管系における所見 71
2.6.2.6.2.2 腎臓における所見 74
2.6.2.6.2.3 その他の注目すべき所見 74
2.6.2.6.2.4 結論 74
2.6.2.7 参考文献 74

表目次

表 1 カピバセルチブの薬理試験の要約 12
表 2 単離酵素に対する酵素阻害活性（IC_{50} 値［nM］） 15
表 3 AKT アイソフォームに対するカピバセルチブの阻害活性（IC_{50} 値［nM］、繰り返し測定） 16
表 4 *In vitro* キナーゼ活性 16
表 5 p70S6K キナーゼに対するカピバセルチブの活性阻害（IC_{50} 値 nM） 17
表 6 *In vitro* 細胞における AKT、p70S6K、PKA 及び ROCK 阻害に関する推定 IC_{50} 値（μM）の要約 19
表 7 腫瘍細胞株の増殖に対するカピバセルチブの効果 24

表 8　カピバセルチブ、フルベストラント及びパルボシクリブの単独での活性の要約 29
表 9　カピバセルチブとフルベストラントを併用時の活性の要約 29
表 10　異種移植モデルにおけるカピバセルチブ反復経口投与後の腫瘍増殖抑制 36
表 11　*In vivo* PDX 確立前の変異状態と患者が受けた治療 43
表 12　ER 陽性乳癌 PDX 腫瘍モデルにおけるカピバセルチブ単独及び固定用量のフルベストラントとの併用時の TGI（%）及び統計値の要約 44
表 13　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 及び *PTEN* 非変異乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントの有無によるカピバセルチブの腫瘍増殖抑制に関するデータ及び統計値の要約 47
表 14　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントの有無によるカピバセルチブの腫瘍増殖抑制に関するデータ及び統計値の要約 49
表 15　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異乳癌モデルと非変異乳癌モデルのパネルにおける治療群の統計値の要約 56
表 16　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* N345K）：カピバセルチブ及びフルベストラントを投与後の AKT 及び mTOR 下流基質又は調節因子の pPRAS40（Thr246）、pS6（Ser235/236）及び p4EBP1（Thr37/46）の薬力学的変化（%） 59
表 17　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* N345K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の細胞周期調節因子 pRB1（S807/811）、サイクリン D1 及び ER の薬力学的変化（%） 60
表 18　ST1799PBRHI PDX（*ESR1*wt, *PIK3CA* E542K）4 日目の薬力学的変化：pAKT（Ser473）並びに mTOR 下流基質及び調節因子の PRAS40（Thr246）及び S6（Ser235/236）のリン酸化 63
表 19　ST3932 PDX（*ESR1*wt, *PIK3CA* R88Q, *PTEN*del）4 日目の薬力学的変化：pAKT（Ser473）並びに mTOR 下流基質及び調節因子の PRAS40（Thr246）及び S6（Ser235/236）のリン酸化 64
表 20　*In vitro* 放射性リガンド結合、酵素及び電気生理学的試験におけるカピバセルチブの作用 66

図目次

図 1　内因性 *TSC2* Null SNU878 細胞における MK2206、LY2584702 及びカピバセルチブによる pPRAS40 及び pS6 の阻害を示すウエスタンブロット 21
図 2　内因性 *TSC2* WT BT474 細胞における MK2206、LY2584702 及びカピバセルチブによる pPRAS40 及び pS6 の阻害を示すウエスタンブロット 22
図 3　内因性 *TSC1* null RT4 細胞における MK2206 及びカピバセルチブによる pS6 の阻害を示すウエスタンブロット 22

図 4　AKT、p70S6K 及び PKA に対するカピバセルチブの IC_{50} 値並びに母集団 PK モデルで予測された非結合形血漿中カピバセルチブ濃度 23
図 5　AKT、p70S6K 及び PKA に対するカピバセルチブの IC_{50} 値並びに母集団 PK モデルで予測された非結合形血漿中カピバセルチブ濃度の分布（1 週間の投与サイクル期間中の非結合形カピバセルチブ濃度の中央値の分布を示す） 24
図 6　種々の腫瘍細胞株（約 180 種）のカピバセルチブに対する感受性と *PIK3CA* 及び *PTEN* 遺伝子変異の有無との関係 26
図 7　Horizon 細胞パネルの腫瘍細胞株 145 種に対するカピバセルチブの活性及びカピバセルチブ単独での GI_{50} 値の要約 27
図 8　GDSC 細胞パネルの乳癌細胞株 44 種におけるカピバセルチブの活性及びカピバセルチブ単独での IC_{50} 値の要約 28
図 9　長期間の細胞コンフルエンスに対するカピバセルチブとフルベストラントの併用の効果 30
図 10　BT474c 腫瘍異種移植ヌードマウスにおけるカピバセルチブの薬力学的作用と血漿中薬物濃度との関係 31
図 11　ヌードマウスの血糖値に対するカピバセルチブ経口投与の作用 32
図 12　BT474c 腫瘍異種移植ヌードマウスにおける血漿中薬物濃度と pPRAS40 阻害の関係 32
図 13　PC3 腫瘍異種移植ヌードラットにおけるカピバセルチブの PD 及び血糖値への影響 33
図 14　PC3 腫瘍異種移植ヌードラットにおけるカピバセルチブの血漿中薬物濃度と pPRAS40 阻害の関係 34
図 15　BT474c 腫瘍異種移植ヌードマウスにおけるカピバセルチブの抗腫瘍効果 35
図 16　786-0 腫瘍異種移植ヌードマウスにおけるカピバセルチブの抗腫瘍効果 36
図 17　BT474c 乳癌異種移植モデルにおけるカピバセルチブの間欠及び反復投与の比較 37
図 18　BT474c 乳癌異種移植腫瘍における種々の用量及び投与スケジュールによるカピバセルチブの抗腫瘍効果 38
図 19　有効性試験のための観測及びモデル化データ 39
図 20　BT474c 異種移植腫瘍の腫瘍体積に対するカピバセルチブの種々の投与スケジュールの比較 40
図 21　内分泌療法耐性 HBCx22 OvaR 異種移植モデルにおけるカピバセルチブとフルベストラントの併用による効果の増強 42
図 22　ER 陽性乳癌モデルのカピバセルチブ、フルベストラント及び両薬併用による治療後の試験期間中の腫瘍体積の変化率 57
図 23　ER 陽性乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントを併用時又は非併用時のカピバセルチブに対する *in vivo* 反応 58

図 24　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* E542K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の pPRAS40（Thr246）及び総 PRAS40 60
図 25　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* E542K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の pS6（Ser235/236）及び総 S6 61
図 26　CTC174 PDX（*ESR1* D538G *PIK3CA* E542K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の p4EBP1（Thr37/46） 61
図 27　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* E542K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の pRB1（S807/811）、総 RB1 及び総サイクリン D1 62
図 28　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* E542K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の総 ER 62
図 29　カピバセルチブと AZ14102143 で 2 時間処理後の HCC70 細胞における AKT 経路バイオマーカーの用量依存的制御 65
図 30　カピバセルチブと AZ14102143 で 2 時間処理後の LNCaP 細胞における AKT 経路バイオマーカーの用量依存的制御 65
図 31　カピバセルチブの QTc 及び hERG データのオーバーレイプロット 72

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
AGC	cAMP-dependent protein kinases A, cGMP-dependent protein kinases G, and phospholipid-dependent protein kinases C：cAMP-依存性プロテインキナーゼ A、cGMP-依存性プロテインキナーゼ G 及びリン脂質依存性プロテインキナーゼ C：
AKT	Serine/threonine specific protein kinase：セリン／スレオニンプロテインキナーゼ
AML	Acute myeloid leukaemia：急性骨髄性白血病
ANOVA	Analysis of variance：分散分析
APDxx	Action potential duration at xx% repolarization：xx%再分極までの活動電位持続時間
ATP	Adenosine triphosphate：アデノシン三リン酸
AV	Atrioventricular：房室
bid	Twice daily (bis in die)：1 日 2 回
Cav1.2	L-type CaV1.2 calcium channel：L 型 Ca^{2+}チャネル
CDK	Cyclin-dependent kinase：サイクリン依存性キナーゼ
CI	Confidence interval：信頼区間
CLK	Clock domain crossing (CDC) like kinase：CDC 様キナーゼ
C_{max}	Maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CR	Complete response (according to RECIST)：完全奏効
del	Deletion：欠失
DMA	N,N-Dimethylacetamide：N,N-ジメチルアセトアミド
DMSO	Dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
EAD	Early after-depolarisation：早期後脱分極
ECG	Electrocardiogram：心電図
ER	Oestrogen receptor：エストロゲン受容体
ER+	Oestrogen receptor-positive：エストロゲン受容体陽性
ESR1	Estrogen receptor alpha：エストロゲン受容体 α
FGFR	Fibroblast growth factor receptor：線維芽細胞増殖因子受容体
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase：グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素
GDSC	Genomics of Drug Sensitivity in Cancer
GI_{50}	Concentration giving 50% of the drug-induced inhibitory effect：細胞増殖の 50%阻害濃度
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
GSK3β	Glycogen synthase kinase 3-β：グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3-β
HCC	Hepatocellular carcinoma：肝細胞癌
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2：ヒト上皮細胞成長因子受容体 2
hERG	Human ether-a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HOMDEL	Homozygous deletion：ホモ接合体欠失
HPBCD	2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin：2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
HR	Hormone receptor：ホルモン受容体
HSA	Highest single agent

略語及び専門用語	用語の説明
IC_{50}	Concentration giving 50% of the drug-induced inhibitory effect：50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation：医薬品規制調和国際会議
IHC	Immunohistochemistry：免疫組織化学
ISH	*In situ* hybridization：*In situ* ハイブリダイゼーション
K_i	Inhibition dissociation constant：阻害定数
KIT	KIT proto-oncogene, receptor tyrosine kinase
KO	Knockout：ノックアウト
LATS2	Large tumor suppressor kinase 2
LVdP/dt+	Integrated measure of left ventricular contractility：左室圧一次微分（心筋収縮力の指標）
$MAPD_{90}$	Monophasic action potential (MAP) duration at 90% repolarisation：単相性活動電位（MAP）90%再分極時間（$MAPD_{90}$）
MC5	Melanocortin 5：メラノコルチン 5
MKK	Mitogen-activated protein kinase kinase：分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ
MSK	Mitogen and stress activated protein kinase：分裂促進因子及びストレス活性化タンパク質キナーゼ
mTOR	Mammalian target of rapamycin：哺乳類ラパマイシン標的タンパク質
mTORC	mTOR Complex 1：mTOR 複合体
n 又は N	Number：例数又は回数
n.d	Not detectable：検出不能
NA	not applicable：該当なし、評価なし
NOAEL	No observed adverse effect level：無毒性量
NOEL	No observed effect level：無作用量
ns	Not Significant：有意差なし
p	Phosphorylated：リン酸化
p4EBP1	Phosphorylated eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1 (4EBP1)
p70S6K	Phosphorylated 70-kDa ribosomal protein S6 kinase：70-kDa リボソームタンパク質 S6 キナーゼ
PD	Pharmacodynamic(s)：薬力学
PDX	Patient derived xenograft：患者由来異種移植（片）
PEG400	Polyethylene glycol 400：ポリエチレングリコール 400
pH	Potential hydrogen：水素イオン指数
PI3K	Phosphatidylinositol 3-kinase：ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ
PIK3CA	Phosphatidylinositol 3-kinase catalytic α polypeptide
PK	Pharmacokinetic(s)：薬物動態
PKA	Protein kinase A：プロテインキナーゼ A
PKC	Protein kinase C：プロテインキナーゼ C
PKG	cGMP-dependent protein kinase or protein kinase G：cGMP 依存性プロテインキナーゼ又はプロテインキナーゼ G
PRAS40	Proline-rich AKT substrate of 40 kilodaltons：40kDa のプロリンリッチ AKT 基質
PRKX	Protein kinase cAMP-dependent X-linked catalytic subunit
pS6	Phosphorylated S6 ribosomal protein：リン酸化されたリボソームタンパク質 S6

略語及び専門用語	用語の説明
PTEN	Phosphatase and tensin homologue：ホスファターゼ・テンシン・ホモログ
p 値 $_{FDR}$	False discovery rate (FDR) adjusted p value：多重比較補正（FDR）した p 値
QD or qd	Once per day：1 日 1 回
QRS	ECG interval measured from the beginning of the Q wave to the end of the S wave：心電図における Q 波の開始から S 波の終了までの時間
QT	ECG interval measured from the beginning of the QRS complex to the end of the T wave：心電図における QRS 群の開始から T 波の終了までの時間
QTcF	QT interval calculated using Fridericia's formula：Fridericia 式により（心拍数で）補正した QT 間隔
QTcR	QT interval corrected for heart rate using an individual linear regression formula：個々の線形回帰法を用いて心拍数の変化について補正した QT 間隔
RB+-	Retinoblastoma protein (RB) positive (RB+) or negative (RB-)：網膜芽細胞腫タンパク質陽性（+）又は陰性（-）
Rb1	Retinoblastoma gene：網膜芽腫遺伝子
ROCK	Rho associated protein kinase：Rho キナーゼ
RSK	Ribosomal S6 kinase：リボソームタンパク質 S6 キナーゼ
S6	S6 ribosomal protein：リボソームタンパク質 S6
SD	Standard deviation：標準偏差
SEM	Standard error of the mean：標本平均の標準誤差
SERD	Selective estrogen receptor degrader：選択的エストロゲン受容体分解薬
TdP	Torsades de Pointes：トルサード・ド・ポアント
TGI	Tumor growth inhibition：腫瘍増殖抑制
TRUNC	Truncating mutation：短縮型変異
UDP	Uridine diphosphate：ウリジン二リン酸
UGT	Uridine diphosphate glucuronosyl transferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
VASP	Vasodilator-stimulated phosphoprotein：血管拡張因子刺激リン酸化タンパク質
VT	Ventricular tachycardia：心室性頻脈
WT or wt	Wild type：野生型
YES1	Cellular homolog of the Yamaguchi sarcoma virus oncogene
YSK4	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 19 (MAP3K19)：分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼキナーゼキナーゼ 19

2.6.2.1 まとめ

カピバセルチブの薬効薬理、副次的薬理及び安全性薬理的特性を明らかにするために計画した包括的な *in vitro* 及び *in vivo* 試験において、本化合物の評価を行った。カピバセルチブの代謝物の 1 つであるグルクロン酸代謝物 AZ14102143 は、特性を検討した結果、細胞内で不活性であることが示された。

カピバセルチブは AKT（セリン/スレオニンプロテインキナーゼ）の 3 種類のアイソフォーム（AKT1、AKT2 及び AKT3）の全てを強力に阻害する経口間欠投与薬である。カピバセルチブはフルベストラントとの併用により、内分泌療法による治療中／治療後に再発又は病勢進行が認められた、局所進行又は転移性の HR 陽性/HER2 陰性（IHC 0 若しくは 1+、又は IHC 2+/ISH で陰性）乳癌に対する治療薬として開発された。

一部の薬理試験報告書において、カピバセルチブは AZD5363 又は AZ12952302 と記されている。

一連の *in vitro* 及び *in vivo* 安全性及び副次的薬理試験の主な結果と共に、非臨床薬理試験における主な結果を以下に要約する。

- 単離酵素を用いた *in vitro* 生化学アッセイにおいて、カピバセルチブは AKT1、AKT2 及び AKT3 を強力に阻害し（IC_{50} 値：10 nM 未満）、同程度の活性で p70S6K 及び PKA を阻害することが示された。また、カピバセルチブは中程度の活性で ROCK1 及び ROCK2 を阻害した（IC_{50} 値はそれぞれ 126 nM 及び 55 nM）。また、75 種のキナーゼに対するカウンタースクリーニングにおいて、カピバセルチブは 16 種のキナーゼに対して活性を示し、1 μM での阻害率は 75%を上回った。
- 種々の細胞株において、カピバセルチブは AKT の基質である GSK3β 及び PRAS40 のリン酸化を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 80～760 nM 及び 250 nM～2.57 μM であった。また、カピバセルチブは AKT の distal バイオマーカーS6 のリン酸化を抑制し、IC_{50} 値は 70 nM～1.71 μM であった。p70S6 キナーゼにも活性を有し、IC_{50} 値は 800～850 nM であった。またカピバセルチブは、PKA のキナーゼ活性も阻害し、IC_{50} 値は 1.15～10.38 μM であった。母集団 PK モデルに重ね合わせた結果、カピバセルチブは AKT の効果的な阻害薬であるが、臨床曝露量において p70S6K 又は PKA の阻害を維持できないことが示唆された。
- カピバセルチブは単独で、複数の細胞株に対して *in vitro* 増殖抑制作用を示した。混合腫瘍細胞株の 2 種類の細胞パネルにおいてカピバセルチブは広範な活性を示した。感受性細胞株では *PIK3CA*、*PTEN* 又は *AKT1* 変異が多く認められたが、これらの遺伝子に変異がない細胞株においても活性が認められた。
- カピバセルチブとフルベストラントの併用により、ER 陽性乳癌細胞株 MCF-7 及び T47D、並びに *in vitro* で長期間培養後のパルボシクリブ耐性の MCF-7 及び T47D 派生株の増殖が抑制された。
- ヒト腫瘍異種移植モデルへのカピバセルチブ単独投与により、下流バイオマーカーのリン酸化抑制に対する PK/PD 関係が認められた。BT474c 及び PC3 異種移植腫瘍では、広範にわたる用量／血漿中曝露量において、AKT 基質 PRAS40 及び GSK3β、並びに下流バイオマーカーS6 のリン酸化が抑制された。
- 種々の細胞株異種移植片及び初代異種移植片、又は PDX を移植したヌードマウスへのカピバセルチブ長期経口投与の結果、用量依存的な腫瘍増殖抑制が認められた。

- BT474c 乳癌異種移植モデルを用いて単独投与の用量及び投与スケジュールを検討した。カピバセルチブ単独の 2 日間投与 5 日間休薬、又は 4 日間投与 3 日間休薬の間欠投与では同程度の抗腫瘍効果が認められた。連日投与と同程度の効果を維持するためには、連日投与より高い用量を間欠投与する必要があった。
- 内分泌療法耐性乳癌モデルにおいて、カピバセルチブとフルベストラントの併用により抗腫瘍効果が増強した。卵巣摘出マウスで増殖させた HBC x22OvaR 異種移植腫瘍において、カピバセルチブとフルベストラントの併用により、抗腫瘍効果の増強及び投与中止後の腫瘍増殖遅延が認められた（Ribas et al 2015）。
- ER 陽性乳癌異種移植片及び PDX モデルにおいて、カピバセルチブとフルベストラントの併用により広範な活性が示された。CDK4/6 阻害薬パルボシクリブに低反応性又は耐性のモデルを含む、治療歴のある患者由来のモデルで活性が認められた。
- カピバセルチブは ER 陽性乳癌 PDX 腫瘍の増殖を用量依存的に抑制し、固定用量のフルベストラントとの併用下、130 mg/kg 又は 100 mg/kg の 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬から 60 mg/kg の 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬への減量により、増殖抑制作用が減弱した。減量はまた、各モデルの PRAS40 及び S6 のリン酸化阻害の程度にも影響を及ぼした。
- カピバセルチブはグルクロン酸代謝物（AZ14102143）に代謝されたが、この代謝物は細胞を用いた試験で LNCaP 及び HCC70 細胞の AKT 機能を抑制しなかった。

関連又は非関連の受容体及び酵素、心血管系、中枢及び末梢神経系、呼吸器系、消化器系及び腎臓へのカピバセルチブの影響を調べるため、副次的薬理試験及び安全性薬理試験を実施した。主な結果を以下に示す。

- *In vitro* の放射性リガンド結合及び酵素試験において、333 種中 8 種の分子に活性（30%を上回る阻害）が認められた。カピバセルチブは主要標的に選択性を示し、AKT1、AKT2 及び AKT3 に対する IC_{50} 値の 50 倍以下の濃度で活性を示さなかった。
- 覚醒雄ラットの Irwin スクリーニング変法において、投与 4 時間後、運動に関連した作用（自発運動及び接触反応の低下）が認められた。経口投与の NOEL は 30 mg/kg であった。
- カピバセルチブは hERG によってコードされるカリウムチャネルに対して活性を示し（IC_{50} 値：73 μM）、ウサギ摘出心臓を用いた催不整脈モデルの試験で、Torsades de Pointes（TdP）の QT 関連不整脈の誘発リスクは「低」に分類された。カピバセルチブの推奨投与スケジュール（400 mg の 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬）による投与後の定常状態における非結合形 C_{max} は 0.717 μM であった。
- イヌのテレメトリー試験では、5、30 及び又は 40 mg/kg の単回経口投与後、最長 8 時間にわたり心拍数が減少した。30 mg/kg 及び 40 mg/kg において収縮期血圧及び拡張期血圧の低下が最大となったが、4 時間以内に回復した。QTcR 延長の持続及び LVdP/dt+の増加が、グルコース及びインスリンの濃度上昇と共に認められたが、カピバセルチブ投与の 4 時間後にアテノロール又はベラパミルを静脈内投与すると、LVdP/dt+に対する作用は減少した。NOAEL は 5 mg/kg と考えられた。
- 雄ラットへのカピバセルチブ単回経口投与後、呼吸器系パラメータへの影響は認められなかった。NOEL は 150 mg/kg であった。

- 雄ラットへのカピバセルチブ 100 mg/kg 及び 150 mg/kg の経口投与により、用量依存的な胃内容排出阻害が認められた。また、150 mg/kg では腸管輸送の減少が認められた。NOEL は 30 mg/kg であった。
- 雄ラットへのカピバセルチブ 30、100 又は 150 mg/kg の単回経口投与後の腎機能評価において、100 mg/kg 及び 150 mg/kg 投与により、尿量増加を伴う顕著な糖尿が認められた。ナトリウム及びクロールの分画排泄の増加が全ての用量で認められ、カリウム及びリンの分画排泄の増加が 100 mg/kg 及び 150 mg/kg で認められた。血漿中リン濃度は 150 mg/kg でわずかに上昇し、血漿中カリウム濃度は 100 mg/kg 及び 150 mg/kg でわずかに低下した。NOEL は得られなかった。

- これらの薬理試験結果から臨床における効能効果が支持される。

表 1　　カピバセルチブの薬理試験の要約

Type of study	Test system	Method of administration	Study Number	GLP Y/N
Primary Pharmacodynamics				
Measurement of AZD5363 in *In Vitro* enzyme Assays	*In vitro* kinase assays	*In Vitro*	Report 01	N
Characterisation of AZD5363 *In Vitro* Enzyme Inhibition Profiles Using the Dundee Kinase Panel	*In vitro* kinase assays	*In Vitro*	Report 02	N
Characterisation of AZD5363 *In Vitro* Enzyme Inhibition profiles using the commercial [redacted] 'Kinase Profiler' Service	*In vitro* kinase assay	*In Vitro*	Report 03	N
Characterisation of AZD5363 *In Vitro* Enzyme Inhibition Profiles Using the Commercial '[redacted]' at [redacted]	*In vitro* kinase assay	*In Vitro*	Report 04	N
Effect of AZD5363 on the Phosphorylation of AKT Substrates and Selectivity over ROCK in MDAMB468 cells	Cell based assays	*In Vitro*	Report 05	N
Effect of AZD5363 on the Phosphorylation of AKT Substrates and Downstream Pathway Biomarker in BT474c cells, Measured by Western Blot	Cell based assays	*In Vitro*	Report 06	N
Effect of Capivasertib (AZD5363) on the Phosphorylation of VASP, a Substrate of PKA	Cell based assays	*In Vitro*	Report 07	N
The Anti- Proliferation Effects of AZD5363 in Cancer Cell Panel Screening	Cell proliferation assays	*In Vitro*	Report 08	N
Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of AZD5363 in BT474c Xenografts Growing in Nude Mice	*In vivo* pharmacodynamics	*In Vivo* (oral)	Report 09	N
Pharmacodynamics and Pharmacokinetics in PC3 Xenografts growing in Nude Rats	*In vivo* pharmacodynamics	*In Vivo* (oral)	Report 10	N
Monotherapy Anti-Tumour Activity of AZD5363 in Xenograft Models Growing in Nude Mice	*In vivo* tumour growth	*In Vivo* (oral)	Report 11	N
In Vitro Cellular Pharmacology of AZD5363 in Combination with Fulvestrant and Palbociclib in Naïve & Palbociclib Resistant Cell Pools	Cell based assays	*In Vitro*	Report 21	N

表 1　　カピバセルチブの薬理試験の要約

Type of study	Test system	Method of administration	Study Number	GLP Y/N
In Vitro Direct Cellular Inhibition of p70S6K by Capivasertib (AZD5363) in Endogenous TSC2 or TSC1 Null Cancer Cells	Cell based assays	*In Vitro*	Report 23	N
In Vitro Direct Cellular Inhibition of p70S6K by Capivasertib (AZD5363) in TSC Knockout Breast Cancer Cells	Cell based assays	*In Vitro*	Report 24	N
Anti-Proliferative Activity of Capivasertib in Tumour Cell Panels	Cell based assays	*In Vitro*	Report 25	N
Dose Response of AZD5363 Alone and in Combination with Fulvestrant in the PDX Models ST3932, ST3632 and ST1799 PBR	*In vivo* tumour growth	*In Vivo* (oral)	Report 26	N
Capivasertib (AZD5363): Pharmacodynamic Effect on AKT Biomarkers Comparing Twice-Daily to Once-Daily Regime in the ER+ BC BT474c Xenograft	*In vivo* tumour pharmacodynamics	*In Vivo* (oral)	Report 27	N
Response of AZD5363 Alone and in Combination With Fulvestrant Across a panel of ER+ Breast Models *In Vivo*	*In vivo* tumour growth	*In Vivo* (oral)	Report 28	N
Capivasertib (AZD5363): Pharmacodynamic Analysis of AKT and Cell Cycle Pathway Modulation in a Patient Derived Estrogen Receptor Positive Breast Cancer Xenograft Model CTC174 after Treatment with AZD5363-Capivasertib in Combination with Fulvestrant	*In vivo* tumour	*In Vivo* (oral)	Report 30	N
Capivasertib (AZD5363): Pharmacodynamic Analysis of Pathway Modulation in Patient Derived Estrogen Receptor Positive Breast Cancer Xenograft Models after Treatment with Increasing Doses of Capivasertib in Combination with Fulvestrant	*In vivo* tumour pharmacodynamics	*In Vivo* (oral)	Report 31	N
Pharmacokinetic –Pharmacodynamics and Efficacy Modelling of AKT Inhibitor Capivasertib in BT474c Xenografts for the Characterization of the Efficacy of Different Schedules and the Relationship to AKT Pathway Biomarkers	*In vivo* tumour pharmacodynamics	*In Vivo* (oral)	Report 32	N
Effect of the Capivasertib and Fulvestrant Combination in Palbociclib Resistant and Naïve Cells Lines 5 Day Proliferation	Cell based assays	*In Vitro*	Report 33	N
Effect of the Capivasertib and Fulvestrant Combination in Palbociclib Resistant and Naïve Cells Lines 18 Day Proliferation	Cell based assays	*In Vitro*	Report 34	N
Effect of the Capivasertib and Fulvestrant Combination in Palbociclib Resistant and Naïve Cells Lines Western Characterisation	Cell based assays	*In Vitro*	Report 35	N

表 1　　カピバセルチブの薬理試験の要約

Type of study	Test system	Method of administration	Study Number	GLP Y/N
Effect of Capivasertib (AZD5363) on the Phosphorylation of AKT Substrates and Downstream Pathway Biomarkers in LNCaP Prostate Cancer Cells, Measured by Western Blot	Cell based assays	*In Vitro*	Report 36	N
Measurement of Capivasertib (AZD5363) in *In Vitro* p70S6K Kinase Assays using the Commercial [redacted]/[redacted] 'Kinase Profiler' Service	*In vitro* kinase assay	*In Vitro*	Report 37	N
Assessment of the Effect of Dose Scheduling of AZD5363 Alone and in Combination on *In Vivo* Tumour Growth Inhibition	*In vivo* tumour models	*In Vivo* (oral)	Report 38	N
In Vitro Cellular Activity of AZ14102143 an Ether Glucuronide Metabolite of the AKT Inhibitor Capivasertib (AZD5363) Versus Capivasertib in HCC70 and LNCAP Cells	Cell based assays	*In Vitro*	BE002154-03	N
Effect of AZD5363 on the phosphorylation of VASP, a substrate of PKA	Cell based assays	*In Vitro*	Report 07_v3	N
Secondary Pharmacodynamics				
Radioligand binding, enzyme and electrophysiological assays	Receptors, enzymes, ion channels and transporters	*In vitro*	0895SY	N
Safety Pharmacology				
Nervous System	Conscious rat	*In vivo*, oral	2692SR	Y *
Cardiovascular System	hERG ion channel	*In vitro*	0354SZ	Y *
Cardiovascular System	Canine ventricular myocytes	*In vitro*	2192SV	N
Cardiovascular System	Isolated rat aorta	*In vitro*	PH/E/12009	N
Cardiovascular System	Isolated rabbit heart	*In vitro*	0255SB	N
Cardiovascular System	Isolated rat heart	*In vitro*	CO100101	N
Cardiovascular System	Anaesthetised guinea pig	*In vivo,* intravenous	0159SG	N
Cardiovascular System	Anaesthetised guinea pig	*In vivo,* intravenous	0209SG	N
Cardiovascular System	Conscious rat telemetry	*In vivo*, oral	PH/E/13611	N
Cardiovascular System	Conscious rat telemetry	*In vivo*, oral	3316SR	N
Cardiovascular System	Conscious dog telemetry	*In vivo*, oral	1101ZD	Y *
Cardiovascular System	Conscious dog telemetry	*In vivo*, oral	1167ZD	Y *
Respiratory System	Conscious rat	*In vivo*, oral	2692SR	Y *
Gastrointestinal System	Conscious rat	*In vivo*, oral	2692SR	Y *

表 1　　カピバセルチブの薬理試験の要約

Type of study	Test system	Method of administration	Study Number	GLP Y/N
Renal System	Conscious rat	*In vivo*, oral	09-6713	Y *

* = Pivotal nonclinical safety studies were conducted in OECD member countries and in accordance with OECD Test Guidelines and Principles of Good Laboratory Practice (GLP) and relevant International Conference on Harmonisation guidelines.

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　*In vitro* 試験

2.6.2.2.1.1 酵素阻害活性

In vitro におけるカピバセルチブの AKT1 活性阻害能を [redacted] を用いて評価した。本アッセイでは、マイクロ流体チップを用いて、各キナーゼによる蛍光標識ペプチドのリン酸化物への変換を測定した。N 末端 His6 tag を含む活性型遺伝子組換え全長ヒト AKT1 を用いて、ペプチド基質である 5-FAM-GRPRTSSFAEG-CONH2 をリン酸化した。反応は適切な酵素 K_m [ATP]で実施した。AKT2 及び AKT3 の阻害の評価も同様に Caliper テクノロジーにより、5-FAM-GRPRTSSFAEG-CONH2 ペプチド基質と活性型遺伝子組換え全長ヒト AKT2、及び遺伝子組換え全長ヒト AKT3 を用いて行った。

AKT は AGC キナーゼファミリーに属し、これらは ATP 結合ポケットにおける相同性が高いことから特異性の高い阻害薬の特定が困難であった。そのため社内の Caliper テクノロジーを用いて、AGC キナーゼ活性のサロゲートとして ROCK2 及び PKA に対するカウンタースクリーニングを行った。また、市販（[redacted]）の放射性プロテインキナーゼアッセイによって ROCK1 阻害のスクリーニングも行った。各キナーゼの IC_{50} 値（nM）を表 2　示す（Pharmacology Report 01 参照）。AKT1、AKT2 及び AKT3 に対する追加の IC_{50} 値を表 3 に示す（Pharmacology Report 01 Appendix A 及び Appendix B 参照）。IC_{50} 値は先に実施した試験で得られた値と一貫性があった。

表 2　　単離酵素に対する酵素阻害活性（IC_{50} 値［nM］）

	AKT1	AKT2	AKT3	ROCK1	ROCK2	PKA
Capivasertib	3.2 ± 0.2	8.5 ± 3.6	7.8 ± 4.5	126.3 ± 33.1	55.2 ± 8.0	6.7 ± 7.7
Number of replicates	10	3	3	2	12	10

The average IC_{50} values for inhibition of AKT isoforms 1, 2 and 3 by capivasertib. Errors are shown as SEM from replicate experiments.

表 3　　AKT アイソフォームに対するカピバセルチブの阻害活性（IC_{50} 値［nM］、繰り返し測定）

Enzyme	Geomean	SEM	N
AKT1	1.4	0.1	3
AKT2	6.4	0.1	3
AKT3	9.6	0.9	3

The average IC_{50} values for inhibition of AKT isoforms 1, 2 and 3 by capivasertib. Errors are shown as SEM from 3 replicate experiments.

さらに、カピバセルチブのスクリーニング試験を [redacted] にて 75 種のキナーゼ、[redacted] 社にて 223 種のキナーゼに対し、1 μM の濃度で実施した。これらのパネルには、約 60 種の AGC キナーゼファミリーのうち 35 種のキナーゼが含まれていた。1 μM の濃度で 75%超の阻害率を示したキナーゼを表 4 に示す。要約すると、カピバセルチブは 16 種のキナーゼ（うち 15 種は AGC ファミリー）に対し顕著な *in vitro* 阻害活性（1 μM で 75%超）を示した。さらに、市販の [redacted]（[redacted]）により 402 種のキナーゼに対するスクリーニングを実施した。この活性部位依存的な競合的結合アッセイでは、対象のヒトキナーゼに固有タグを結合させ、固定した活性部位指向性リガンドに結合したキナーゼの量をカピバセルチブの存在下及び非存在下で測定する。カピバセルチブは、1 μM の濃度で 7 種のキナーゼ（CLK2、KIT［D816V］、LATS2、PKA、ROCK1、ROCK2 及び YSK4）と顕著に結合した。顕著な結合とは、化合物存在下でリガンドに結合したキナーゼ量がジメチルスルホキシド（DMSO）対照存在下で結合したキナーゼ量の 10%未満である場合と定義し、これは低～中程度の nM の活性に相当した。Pharmacology Report 02（[redacted] data）、03（[redacted] data）、04（[redacted] data）を参照のこと。

表 4　　*In vitro* キナーゼ活性

Kinase	% inhibition at 1 μM (Panel)
MKK1	86 ([redacted])
MSK1	95 ([redacted])
MSK2	91 ([redacted])
p70S6K	93 ([redacted])
PKA	98 ([redacted])
AKT1	97 ([redacted]), 100 ([redacted])
AKT2	102 ([redacted])
AKT3	102 ([redacted])
PKCγ	84 ([redacted])
PKG1α	92 ([redacted])
PKG1β	91 ([redacted])
PRKX	89 ([redacted])
ROCK2	88 ([redacted]), 93 ([redacted])
RSK1	84 ([redacted])
RSK2	84 ([redacted])
RSK3	86 ([redacted])

This panel identified p70S6K as a potential relevant kinase of interest. The activity against p70S6K was confirmed using an *in vitro* kinase assay. In *in vitro* biochemical kinase assays, capivasertib inhibited the activity of isolated p70S6K enzyme with an average IC_{50} value of 8.9 ± 1 nM indicating that capivasertib is a potent inhibitor of p70S6K kinase activity *in vitro* (see Pharmacology Report 37).

表 5　　p70S6K キナーゼに対するカピバセルチブの活性阻害（IC_{50} 値 nM）

Enzyme	Geomean	SEM	N
p70S6K	8.9	1	2

Average IC_{50} values for inhibition of p70S6K activity by capivasertib. The error is shown as SEM from 2 replicate experiments.

これらの *in vitro* 生化学アッセイデータにより、カピバセルチブの潜在的な標的が明らかになるが、確定的な細胞効力の測定値及び種々のキナーゼ間の相対的効力の測定値を示していない。

2.6.2.2.1.2 *In vitro* 腫瘍細胞株における AKT、p70S6K、PKA 及び ROCK に対するカピバセルチブの活性

キナーゼ活性は、特定の標的に対する化合物の真の細胞効力を反映するものではないことから、細胞の特定のタンパク質のリン酸化阻害を評価することにより、カピバセルチブの AKT、p70S6K、PKA 及び ROCK に対する阻害能を検討した。

2.6.2.2.1.2.1　AKT に対する阻害

Accumen イメージングアッセイ又はウエスタンブロットにより、種々の細胞株における GSK3β、PRAS40 及び S6 のリン酸化を測定し、*in vitro* 細胞における AKT に対する阻害を検討した。IC_{50} 値を表 6 に示す。これらの細胞株における IC_{50} 値を評価した結果、カピバセルチブは下流バイオマーカーS6 のリン酸化に対して最も強い阻害作用を示し、その IC_{50} 値はほぼ 70～350 nM の範囲であったが、MCF-7 での IC_{50} 値は高かった（1.71 μM）。カピバセルチブによる PRAS40 リン酸化阻害の IC_{50} 値はこれより高く（250～430 nM）、MCF-7 では 2.57 μM とさらに高かった。GSK3β リン酸化阻害作用の IC_{50} 値は、検討した少数の細胞株では 80～760 nM であった（Pharmacology Report 05、06、07、07_v3、24、36 及び BE002154-03 参照）。

2.6.2.2.1.2.2　p70S6K 活性に対する阻害

細胞における p70S6K に対する細胞効力の測定は、AKT が p70S6K の活性を制御するため困難である。*TSC1/2* WT 細胞において、AKT は TSC2 をリン酸化して阻害し、mTORC1 を活性化させ、p70S6K を介して引き続く S6 のリン酸化を増加させる。しかし、内因性 *TSC2* null 細胞では AKT は mTORC1/p70S6K のシグナル伝達を制御できなくなり（Goncharova et al 2002）、AKT が阻害されても mTORC1 は活性を維持し、p70S6K は S6 をリン酸化する。同様に、*TSC1* null 細胞においても AKT は mTORC1/p70S6K 活性を制御できなくなる。*TSC1* 又は *TSC2* null 細胞内の AKT 阻害薬による S6 リン酸化の阻害は、p70S6K に対する直接的な活性に起因する可能性がある。

p70S6K の活性化を直接促進させるため、EVSA-T 乳癌腫瘍細胞の *TSC2* をノックアウトした。KO 細胞プールには残余 *TSC2* がある程度検出されたが、全体として *TSC2* 発現は大幅に低下した。EVSA-T WT 細胞における S6 リン酸化阻害の平均 IC_{50} 値は 0.11 μM（± 0.01）であり、EVSA-T *TSC2* KO1 及び EVSA-T *TSC2* KO2 細胞では、それぞれ 0.85 μM（± 0.27）及び 0.80 μM（± 0.26）であった（表 6）（Pharmacology Report 24 参照）。

これらのデータから、*TSC2* 発現の低下により p70S6K が活性化した細胞において、カピバセルチブは p70S6K に対し活性を有することが p70S6K の減少により示唆されたが、AKT により活性

化された p70S6K の S6 リン酸化と比べると、AKT 非依存性の p70S6K を介した直接的な S6 リン酸化を阻害する効力は弱いと考えられる。

2.6.2.2.1.2.3　PKA 活性に対する阻害

In vitro 細胞系においてカピバセルチブの PKA 阻害活性を評価するため、PKA をアデニル酸シクラーゼ刺激によって活性化し、PKA 基質 Vasp S157 のリン酸化の変化を調べた（表 6）。LNCaP、MCF-7、MCF10A、MCF10A *PIK3CA* E545K 及び A431 細胞における Vasp S157 リン酸化阻害の平均 IC_{50} 値は、それぞれ 10.38 μM（± 0.54）、3.89 μM（± 2.53）、1.93 μM（± 0.39）、1.43 μM（± 0.18）及び 1.15 μM（± 0.36）であった（Pharmacology Report 07 及び 07_v3 参照）。

これらのデータは、カピバセルチブは細胞内で PKA 活性を阻害するが、IC_{50} 値は 1.15～10.38 μM の範囲であった。したがって、細胞内 PKA に対するカピバセルチブの効力は、AKT に対する効力より顕著に抑制されていた。

2.6.2.2.1.2.4　ROCK 活性に対する阻害

MDA-MB-468 細胞内のコフィリンのリン酸化に対するカピバセルチブの阻害能を、細胞内 ROCK 活性を指標として評価した。ROCK2 は LIM キナーゼを刺激し、コフィリンの 3 番目のセリンをリン酸化する。IC_{50} 平均値は 19.83 ± 3.64 μM 超と算出され、細胞内 ROCK に対するカピバセルチブの選択性が確認された（Davies et al 2012）（表 6）（Pharmacology Report 05 参照）。

表 6　　*In vitro* 細胞における AKT、p70S6K、PKA 及び ROCK 阻害に関する推定 IC_{50} 値（μM）の要約

Cell line	Primary pharmacology target	IC_{50} (n)					Pharmacology Report
		pS6 * S235/236	pPRAS40 T246	pGSK3β S9	pVASP S157	pCOFILIN S3	
HCC70	**AKT** (pS6, pPRAS40)	0.22 ± 0.06 [b] (2)	0.58 ± 0.16 [b] (2)				BE002154-03
EVSA-T	**AKT** (pS6, pPRAS40)	**0.11** ± 0.01 [b] (5)	**0.43** ± 0.08 [b] (5)				24
LNCaP	**AKT** (pS6, pPRAS40, GSK3β) **PKA** (pVASP)	**0.09** ± 0.01 [b] (5)	**0.36** ± 0.16 [b] (5)	**0.08** ± 0.06 [b] (2)	**10.38** ± 0.54 [a] (2)		07, 36
BT474c	**AKT** (pS6, pPRAS40, GSK3β)	**0.07** ± 0.03 [b] (3)	**0.31** ± 0.04 [b] (3)	**0.76** ± 0.14 [b] (3)			06
EVSA-T TSC2 KO_1	**p70S6K** (pS6) **AKT** (pPRAS40)	**0.85** ± 0.27 [b] (3)	**1.36** ± 0.18 [b] (3)				24
EVSA-T TSC2 KO_2	**p70S6K** (pS6) **AKT** (pPRAS40)	**0.80** ± 0.26 [b] (4)	**0.90** ± 0.30 [b] (4)				24
MCF-7	**AKT** (pS6, pPRAS40) **PKA** (pVASP)	**1.71** ± 1.36 [a] (2)	**2.57** ± 1.53 [a] (2)		**3.89** ± 2.53 [a] (2)		07
MCF10A	**AKT** (pS6, pPRAS40)	**0.35** ± 0.07 [a] (2)	**0.25** ± 0.20 [a] (2)		**1.93** ± 0.39 [a] (2)		07

表 6　　*In vitro* 細胞における AKT、p70S6K、PKA 及び ROCK 阻害に関する推定 IC_{50} 値（μM）の要約

Cell line	Primary pharmacology target	IC_{50} (n)					Pharmacology Report
		pS6 * S235/236	pPRAS40 T246	pGSK3β S9	pVASP S157	pCOFILIN S3	
	PKA (pVASP)						
MCF10A PIK3CA E545K	**AKT** (pS6, pPRAS40) **PKA** (pVASP)	**0.07** ± 0.01 [a] (2)	**0.41** ± 0.39 [a] (2)		**1.43** ± 0.18 [a] (2)		07
A431	**PKA** (pVASP)				**1.15** ± 0.36 [b] (4)		07_v3
MDA-MB-468	**AKT** (pPRAS40, GSK3β) **ROCK** (pCOFILIN)		**0.39** ± 0.04 [b] (4)	**0.38** ± 0.07 [b] (3)		**>19.83** ± 3.64 [b] (8)	05

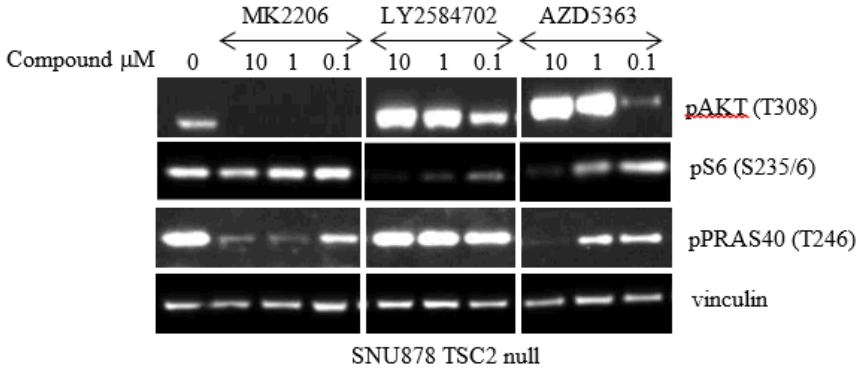
* = In HCC70, EVSA-T, LNCaP, BT474c, MCF-7, MCF10A, MCF10A PIK3CAE545K, MDA-MB-468 cells pS6 is regulated indirectly by AKT mediated activation. In EVSA-T TSC2 KO_1 and EVSA-T TSC2 KO_2 cells pS6 is regulated directly by p70S6K.
Average IC_{50} values for inhibition are shown and replicates indicated. The error is shown as SD (a) or SEM (b) from replicate experiments.

2.6.2.2.1.2.5　内因性 *TSC1* 又は *TSC2* 変異細胞株における p70S6K に対する阻害

p70S6K に対するカピバセルチブの相対的な効力を詳細に調べるため、p70S6K の活性化につながる内因性の *TSC1* 又は *TSC2* 欠損細胞株における活性も検討した。カピバセルチブ、アロステリック AKT 阻害薬 MK2206（キナーゼドメインを標的とせず、AKT 活性化を阻害する）及び p70S6K 阻害薬 LY2584702 について、*TSC2* WT（BT474）及び内因性 *TSC2* null（SNU878）腫瘍細胞における S6 及び PRAS40 のリン酸化に対する阻害能を調べた。また、カピバセルチブ及び MK2206 の活性を内因性 *TSC1* null（RT4）細胞においても調べた。MK2206 は、PRAS40 のリン酸化及び p70S6K の活性化を介した AKT 依存性の S6 リン酸化を特異的に阻害すると考えられる。LY2584702 は p70S6K 介在性の S6 リン酸化を直接阻害したが、PRAS40 のリン酸化は阻害しなかった。

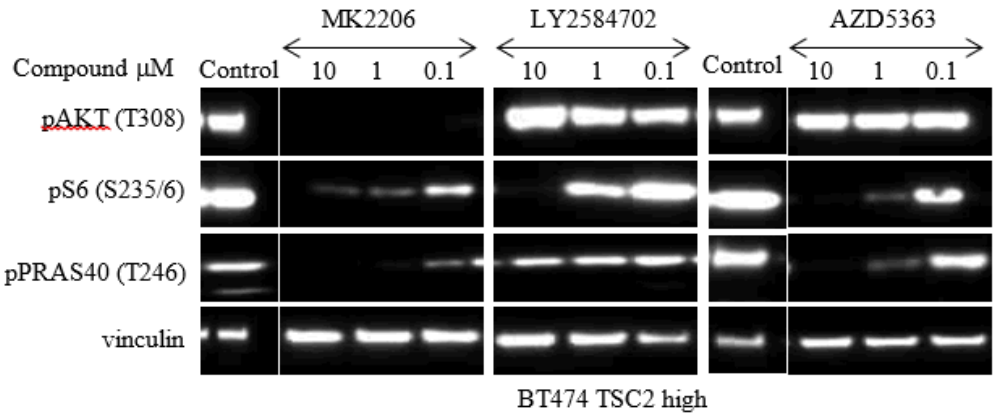
TSC2 null SNU878 細胞において、カピバセルチブ及び LY2584702 は 1～10 μM の濃度で pS6 を減少させたが、MK2206 は pS6 を減少させなかった。このことは、*TSC2* null 細胞における S6 のリン酸化は p70S6K に依存するが AKT に依存しないことを示している。*TSC2* null SNU878 細胞において、カピバセルチブは 10 μM で pPRAS40 を減少させ、MK2206 は 0.1 μM 超の濃度で pPRAS40 を減少させたが、LY2584702 は pPRAS40 を減少させなかった（図 1）。*TSC2* WT BT474 細胞において、カピバセルチブ及び MK2206 は、0.1～1 μM の濃度で pPRAS40 及び pS6 の両方を減少させたが、LY2584702 は 10 μM で pS6 のみを減少させた（図 2）（Pharmacology Report 23 参照）。

図 1　　内因性 *TSC2* Null SNU878 細胞における MK2206、LY2584702 及びカピバセルチブによる pPRAS40 及び pS6 の阻害を示すウエスタンブロット



Western blot analysis of lysates from TSC2 null SNU878 cells treated for 2 hours with MK2206, LY2584702 and capivasertib. Cells treated with capivasertib showed dose dependent reduction in levels of phosphorylated PRAS40 and S6. Cells treated with MK2206 showed dose dependent reduction in levels of phosphorylated PRAS40. Cells treated with LY2584702 showed dose dependent reduction in levels of phosphorylated S6.

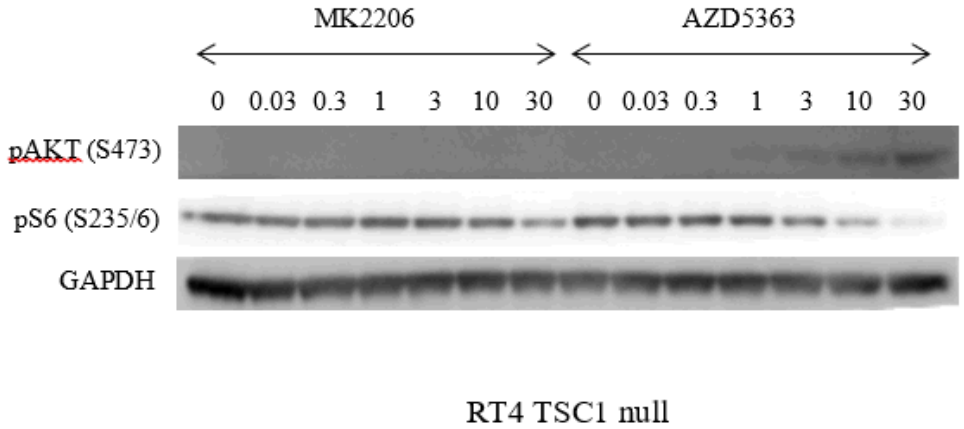
図 2　　内因性 *TSC2* WT BT474 細胞における MK2206、LY2584702 及びカピバセルチブによる pPRAS40 及び pS6 の阻害を示すウエスタンブロット



Western blot analysis of lysates from TSC2 WT BT474 cells treated for 2 hours with MK2206, LY2584702 and capivasertib. The representative control from the same Western is shown for MK2206 and LY2584702, and from a separate Western for AZD5363.

内因性 *TSC1* null RT4 細胞において、カピバセルチブは 1 μM 超の濃度で pS6 を濃度依存的に減少させたが、MK2206 は 30 μM で pS6 をわずかに減少させたのみであった（図 3）。内因性 *TSC1* null RT4 細胞において、カピバセルチブ及び MK2206 は 30 μM で pPRAS40 をわずかに阻害した。カピバセルチブ処理細胞は、1 μM 超の濃度で pS6 を濃度依存的に減少させた（Pharmacology Report 23 参照）。

図 3　　内因性 *TSC1* null RT4 細胞における MK2206 及びカピバセルチブによる pS6 の阻害を示すウエスタンブロット



Western blot analysis of lysates from RT4 cells treated with MK2206, and capivasertib at the concentrations indicated (mM).

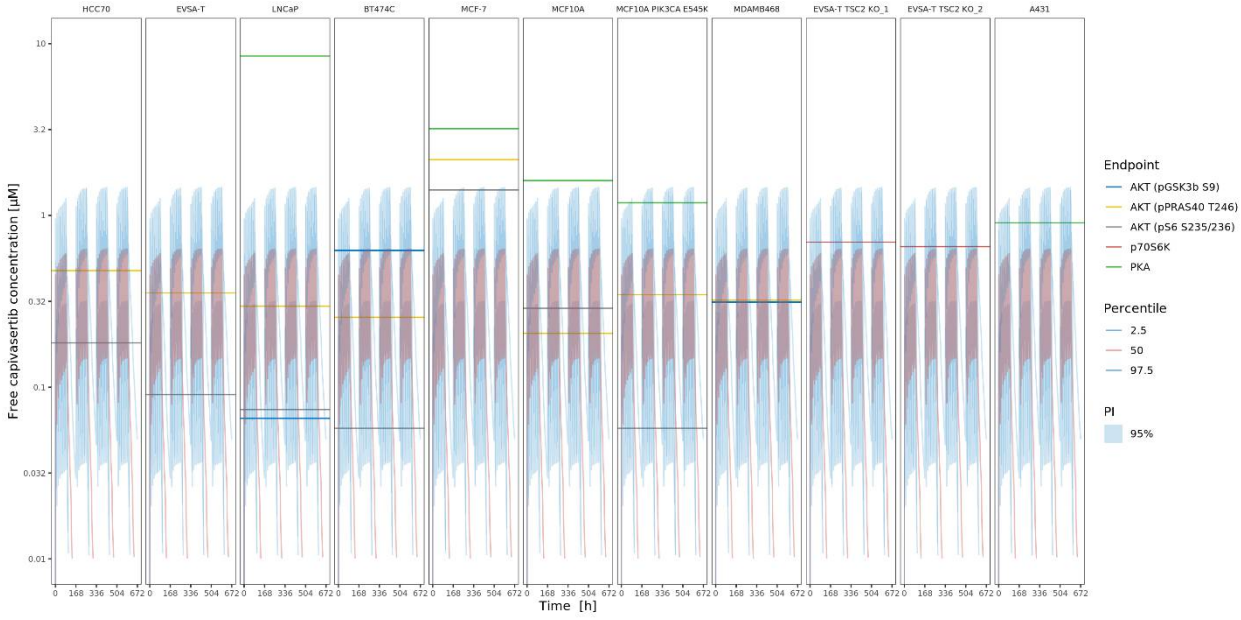
以上のデータは、カピバセルチブは p70S6K に対し細胞活性を有するが、その強さは AKT に対する活性と比較して弱く、μM の範囲であることを示している。この結論は、乳癌細胞株における *TSC2* の欠失がカピバセルチブに対する耐性を誘導するという結果によって裏付けられた（Dunn et al 2022）。この結果は、この潜在的な耐性のメカニズムを無効にする濃度では、カピバセルチブは TSC2 が介在する p70S6K の活性化を阻害しないことを示唆している。

2.6.2.2.1.2.6　ヒト母集団 PK モデルに対する AKT、p70S6K 及び PKA 阻害の *in vitro* IC_{50} 値の整合性

ヒトにおいてカピバセルチブが効果を示す範囲を明らかにするため、AKT 経路（pGSK3β、pPRAS40 及び pS6 の減少）、p70S6K（*TSC2* null 細胞における pS6）、及び PKA（pVASP）の IC_{50} 値を、母集団 PK モデルの予測によるヒト曝露量に重ね合わせた（臨床薬理試験 2.7.2.3.1.5 項参照）。

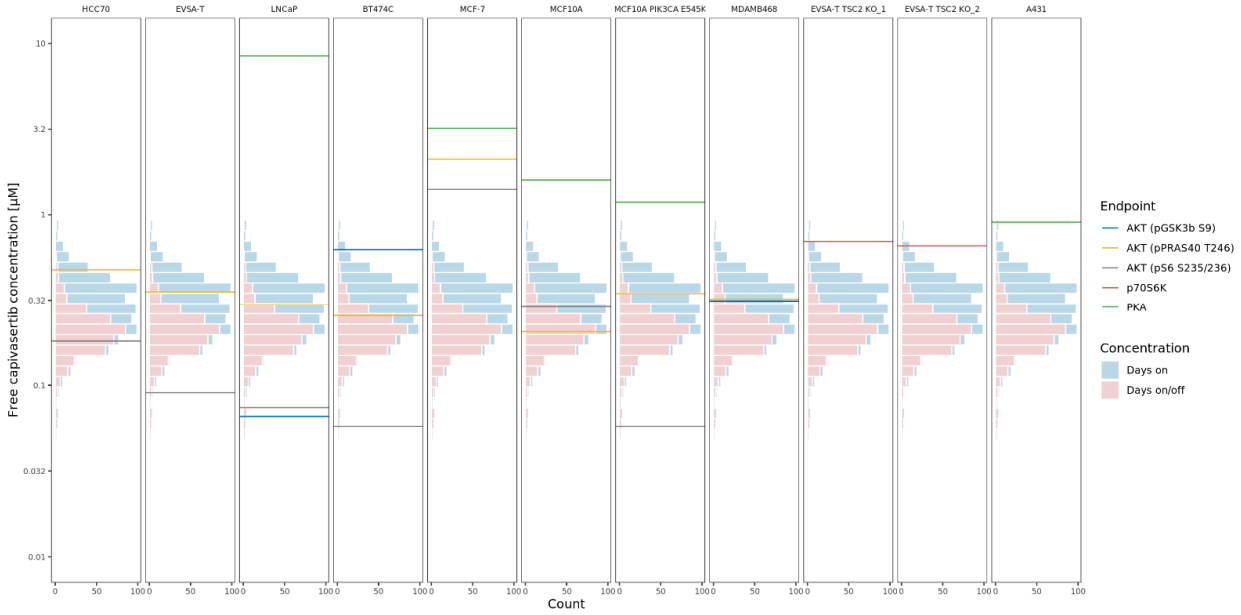
前述（表 6）の複数の細胞アッセイにおける平均 IC_{50} 値を、予測血漿中濃度―時間プロファイル（図 4）及び 4 日間投与 3 日間休薬における曝露量に基づく 1 週間投与サイクルで得られた平均濃度の分布プロット（図 5）に重ね合わせた。関連するタンパク結合パラメータで全ての値を補正し、非結合形薬物濃度を示した。この解析の結果、得られた曝露量は AKT 依存性バイオマーカーを阻害する IC_{50} 値を概ねカバーするが、PKA を十分に阻害しないことが示された。また、*TSC2* KO 細胞で得られたデータを考慮した場合、AKT と比較して p70S6K の阻害を維持できないと推測された（表 6）。また、内因性 *TSC* null 細胞（2.6.2.2.1.2.5 項）で得られた、カピバセルチブが 1 μM 超の濃度で p70S6K を阻害するデータも考慮すると、臨床曝露量の範囲内でカピバセルチブの阻害が有効なキナーゼは AKT であることが示唆された。

図 4　　AKT、p70S6K 及び PKA に対するカピバセルチブの IC_{50} 値並びに母集団 PK モデルで予測された非結合形血漿中カピバセルチブ濃度



Overlay of IC_{50}s for inhibition of AKT measured by assessing phosphorylation of AKT GSK3β, PRAS40, S6, of p70S6K measured by assessing inhibition of phosphorylation of S6 in TSC2 KO cells, and of PKA measured by inhibition of phospho-VASP versus the predicted population pharmacokinetic model. Median predicted free capivasertib concentration and 95% predicted interval are presented.

図 5　　AKT、p70S6K 及び PKA に対するカピバセルチブの IC_{50} 値並びに母集団 PK モデルで予測された非結合形血漿中カピバセルチブ濃度の分布（1 週間の投与サイクル期間中の非結合形カピバセルチブ濃度の中央値の分布を示す）



Overlay of IC_{50}s for inhibition of AKT measured by assessing phosphorylation of AKT GSK3β, PRAS40, S6, of p70S6K measured by assessing inhibition of phosphorylation of S6 in TSC2 KO cells, and of PKA measured by inhibition of phospho-VASP versus the predicted population pharmacokinetic model. Median predicted free capivasertib concentration achieved in a dosing cycle is represented. Count represents the number of times in the total data set the concentration was achieved (n=414).

2.6.2.2.1.3　細胞増殖抑制

2.6.2.2.1.3.1　　腫瘍細胞株における増殖抑制

樹立された腫瘍細胞株のパネルにおいて、3 日間増殖後、標準的な比色分析法の増殖エンドポイントを用いて細胞増殖抑制作用を調べた。約 180 種の細胞株（胃癌 25 種、肺癌 24 種、乳癌 23 種を含む）について検討した結果、25 種の GI_{50} 値が 1 µM 未満であった。本試験で高い感受性を示した細胞株を表 7 に示す。PI3Kα 触媒サブユニットをコードする遺伝子（*PIK3CA*）の変異とカピバセルチブ感受性との間に有意な相関が認められた（$p = 0.03$）。また、*PTEN* 変異とカピバセルチブ感受性との間にも有意な相関が認められたが（$p = 0.03$）（図 6）、感受性を示した細胞株の中には *PIK3CA*、*AKT* 又は *PTEN* に変異がない株が多数あった。（Pharmacology Report 08 参照）。

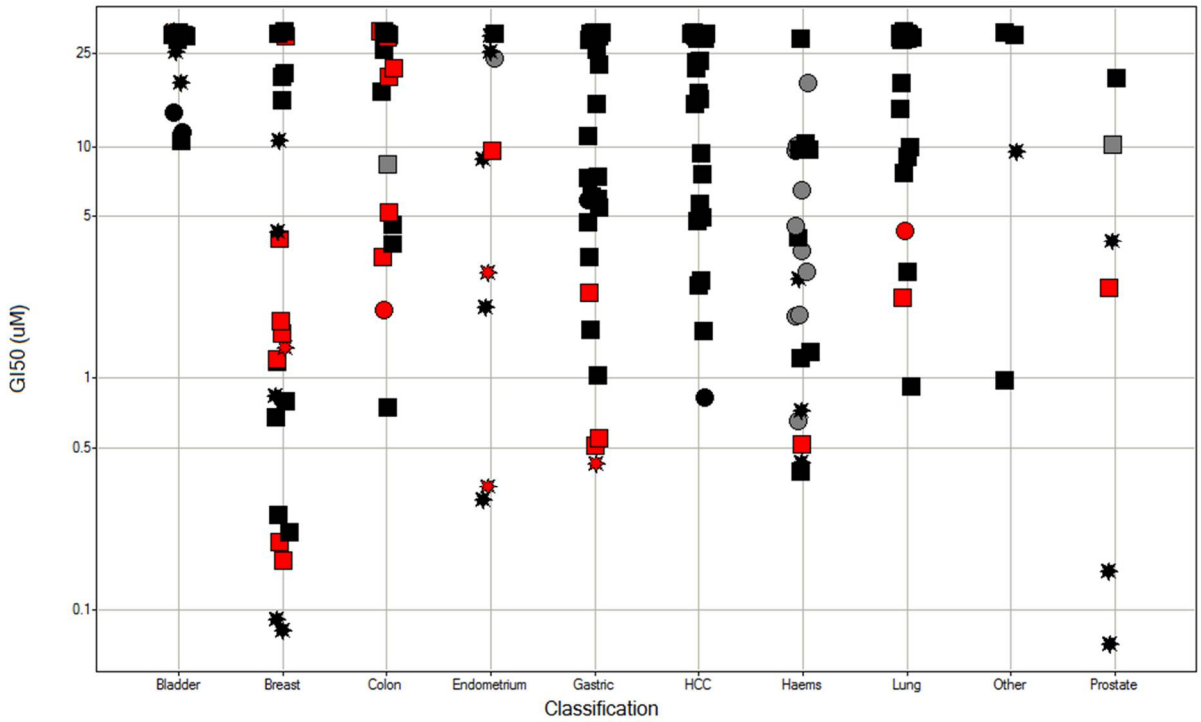
表 7　　腫瘍細胞株の増殖に対するカピバセルチブの効果

Cell line	Tumour type derived from	*PIK3CA*, *PTEN*, *AKT1* mutation status	GI_{50} (µM)
PC346C-Flut1	Prostate	*PTEN* mutation	0.07

Cell line	Tumour type derived from	*PIK3CA*, *PTEN, AKT1* mutation status	GI_{50} (μM)
CAMA-1	Breast	*PTEN* mutation	0.08
ZR-75-1	Breast	*PIK3CA* and *PTEN* mutation	0.09
LNCaP	Prostate	*PTEN* mutation	0.15
BT474	Breast	*PIK3CA* mutation	0.17
T47-D	Breast	*PIK3CA* mutation	0.19
HCC1187	Breast	NA	0.23
HCC1569	Breast	NA	0.25
Hec6	Endometrial	*PTEN* mutation	0.31
MFE-296	Endometrial	*PIK3CA* and *PTEN* mutations	0.33
THP1	AML	*PTEN* mutation	0.39
Jurkat	AML	*PTEN* mutation	0.43
HGC-27	Gastric	*PIK3CA* and *PTEN* mutations	0.45
IM95m	Gastric	*PIK3CA* mutation	0.51
L363	Multiple myeloma	*PIK3CA* mutation	0.52
AGS	Gastric	*PIK3CA* mutation	0.56
WSUDLCL2	NHL	*PTEN* mutation	0.64
SUM52PE	Breast	NA	0.69
Reh	AML	*PTEN* mutation	0.71
SW403	Colon	NA	0.76
HCC1419	Breast	NA	0.81
MDA-MB-468	Breast	*PTEN* mutation	0.83
Hep3B	Hepatocellular	NA	0.86
DMS114	Lung	NA	0.90
DMS114	Lung	NA	0.90
NIH-OVCAR3	Ovarian	NA	1.0

NA = Not Applicable

図 6　　種々の腫瘍細胞株（約 180 種）のカピバセルチブに対する感受性と *PIK3CA* 及び *PTEN* 遺伝子変異の有無との関係

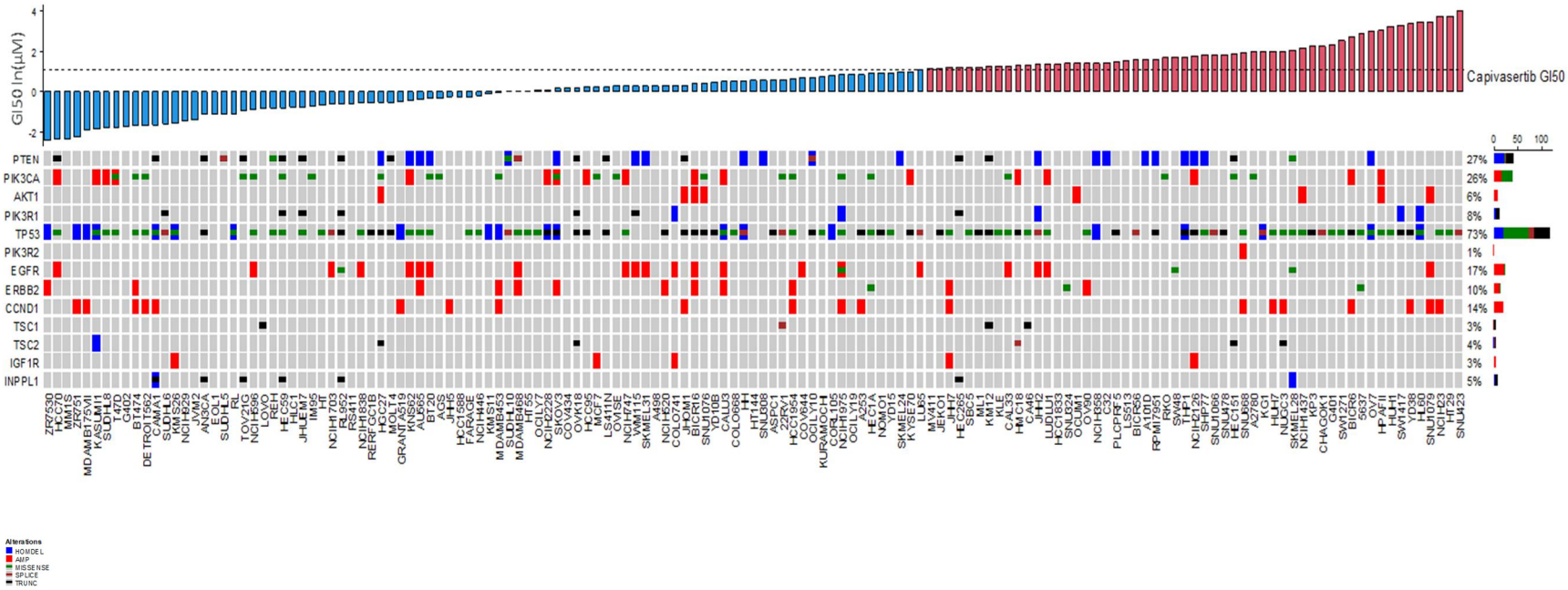


Cell lines with a lower GI_{50} are more sensitive to capivasertib.
Key: Colour represents PIK3CA mutation status, where red: mutated, black: wild type and grey: not known. Shape represents PTEN status, where star: mutated, square: wild type and circle: unknown.

2.6.2.2.1.3.2　広範な腫瘍細胞パネルにおける細胞増殖抑制

2.6.2.2.1.3.1 項で示したデータをさらに検討するため、302 種の細胞株を含む Horizon 細胞パネルを用いて、2 つ目の広範な細胞パネルスクリーニングを実施した。これらの細胞株のうち 145 種のデータを以下に示す。この 2 つ目の細胞パネルでは、臨床での曝露量の上限に近い GI_{50} 値 3 μM 未満をカピバセルチブ単独での活性のカットオフ値として使用した（図 7）。カピバセルチブは、主要な PI3K 及び AKT 経路の遺伝子（*PIK3CA/AKT1/PTEN*）に変異がある細胞株 75 種中の 50 種（67%）、及び非変異株 70 種中 40 種（57%）で活性を示した。Wilcoxon 検定では、GI_{50} 値と上記 3 遺伝子の変異との間に明らかな関連性は確認されなかった（p 値 $_{FDR}$ = 0.73）。145 種の細胞株において、13 遺伝子中 11 遺伝子の変異とカピバセルチブの GI_{50} 値を個々に比較した（細胞株の癌種は Pharmacology Report 25 Appendix B に記載）。いずれの遺伝子も、カピバセルチブ単独での GI_{50} 値と明らかな関連性は示されなかった。このデータは、*PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* の変異細胞、及びこれらの変異がない細胞において、カピバセルチブは単独で増殖を抑制する可能性があることを示唆し、*PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* の変異のみが AKT シグナル伝達への依存を引き起こす要因ではないという結論を裏付けている（Pharmacology Report 25 参照）。

図 7　　Horizon 細胞パネルの腫瘍細胞株 145 種に対するカピバセルチブの活性及びカピバセルチブ単独での GI_{50} 値の要約



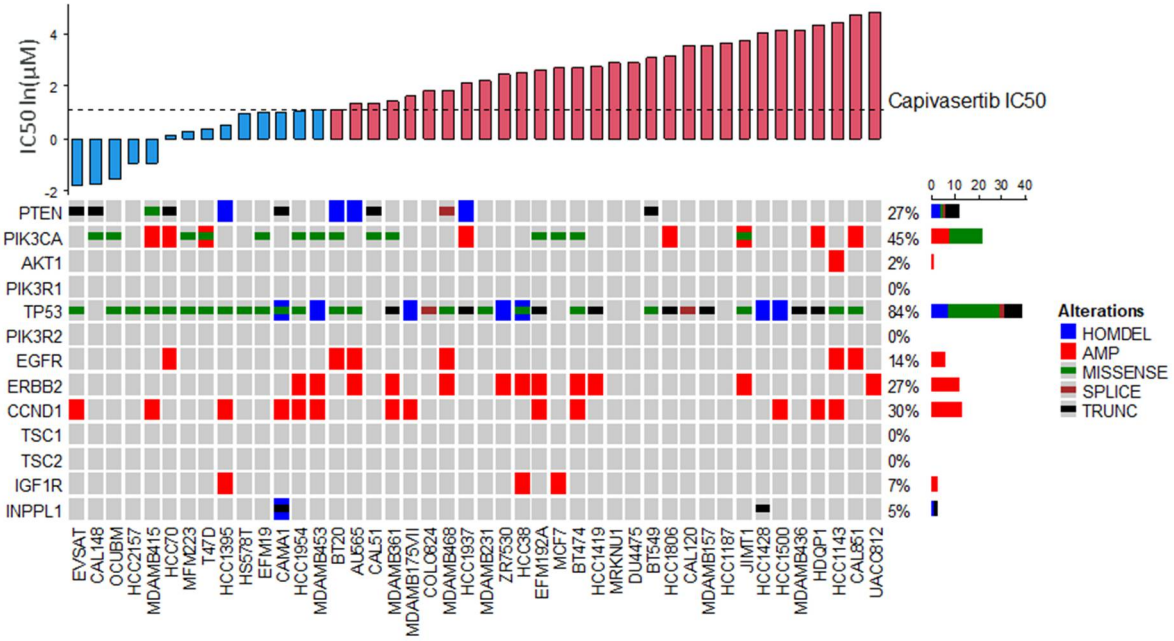
Cell lines are aligned according to sensitivity to capivasertib, with the capivasertib monotherapy GI_{50} for that cell line shown. Monotherapy GI_{50} values are plotted as natural log (ln) transformed values with GI_{50} < 3 μM shown in blue and GI_{50} > 3 μM in red (the dashed black line represents 3 μM). For each cell line the genetic alterations in PI3K and AKT pathway genes (rows) and other key pathways present per cell line (columns) are represented.

ln = natural log; HOMDEL = homozygous deletion; AMP = amplification; MISSENSE = missense driver mutation; SPLICE = splice site; TRUNC = truncating mutation

2.6.2.2.1.3.3　乳癌細胞パネルにおける細胞増殖抑制

カピバセルチブに対する乳癌細胞の感受性を評価するため、GDSC（Genomics of Drug Sensitivity in Cancer）パネルの乳癌細胞株 44 種に対する増殖抑制作用を調べた。PI3K 及び AKT 経路の主要な遺伝子（*PIK3CA/AKT1/PTEN*）に変異がある細胞株 27 種中 12 種（44%）及び変異がない 17 種中 2 種（12%）において、単独処理により増殖抑制作用（IC_{50} 値：3 μM 未満）が認められた（図 8）。Wilcoxon 検定により変異群と非変異群の IC_{50} 値を比較した結果、わずかな差がみられたが、多重検定補正後には差はみられなかった（p 値 $_{FDR}$ = 0.077）。また、GDSC version 8 の乳癌細胞株 44 種において、13 遺伝子中 8 遺伝子（残りの 5 遺伝子は変異株が 2 株未満のため検討せず）について、野生株及び変異株の IC_{50} 値をそれぞれ検討した。これらの遺伝子のうち *PTEN* のみが、カピバセルチブ単独での IC_{50} 値の低下と有意に関連していた（p 値 $_{FDR}$ = 0.017）（Pharmacology Report 25）。以上のデータは、*PIK3CA/AKT1/PTEN* 変異を有する細胞株ではカピバセルチブ単独処理に対する感受性が高い一方で、感受性は変異細胞株に限定されないことを示している。

図 8　　GDSC 細胞パネルの乳癌細胞株 44 種におけるカピバセルチブの活性及びカピバセルチブ単独での IC_{50} 値の要約



Genetic alterations in PI3K-AKT pathway genes (rows) present per cell line (columns) and selected other mutations are shown. Data showing inhibition of cell line growth are ordered by IC_{50} value. Monotherapy IC_{50} values are plotted as natural log (ln) transformed values with IC_{50} < 3 μM shown in blue and IC_{50} > 3 μM in red (the dashed black line represents 3 μM).

ln = natural log; HOMDEL = homozygous deletion; AMP = amplification; MISSENSE = missense driver mutation; SPLICE = splice site; TRUNC = truncating mutation

2.6.2.2.1.4 パルボシクリブ感受性及び耐性の ER 陽性乳癌細胞株におけるカピバセルチブとフルベストラントの併用による活性の比較

パルボシクリブ耐性株の増殖に対するカピバセルチブの効果の可能性を調べるため、パルボシクリブ漸増濃度下で、MCF-7 及び T47D ER 陽性乳癌細胞株を長期間培養した（Pharmacology Report 35）。培養の結果、種々の耐性プロファイルの耐性プールが得られた。耐性細胞は、網膜芽細胞腫タンパク質（RB）陰性（RB-）と陽性（RB+）に分類され、パルボシクリブに対し 2 つの異なる耐性メカニズムを示した。

その後、カピバセルチブ及びフルベストラントの単独並びに併用での活性を、WT（パルボシクリブ感受性）の T47D 及び MCF-7、並びに T47D RB-、T47D CDK6H、MCF-7 PacqR 及び MCF-7 RB-細胞において比較した。パルボシクリブ存在下で培養した耐性細胞を、パルボシクリブ非存在下で一晩培養し、全ての細胞をパルボシクリブ非存在下で処理した。併用マトリックスにより種々の濃度のカピバセルチブ及びフルベストラントに細胞を曝露させた。感受性株及び耐性株における単独での IC_{50} 値を表 8 に示す（Pharmacology Report 33）。短期間の増殖アッセイにおいて、カピバセルチブとフルベストラントの併用による活性の増強が感受性株及び耐性株の両方で認められた。しかし併用による効果は、パルボシクリブ感受性の MCF-7 細胞に比べ、パルボシクリブ耐性の MCF-7 細胞では小さかった。T47D 細胞では併用による効果に変化はみられなかった。併用による HSA スコアを表 9 に示す（Pharmacology Report 33）。

表 8　　カピバセルチブ、フルベストラント及びパルボシクリブの単独での活性の要約

Cell Line	Capivasertib IC_{50} Geomean (μM ± SEM)	Fulvestrant IC_{50} Geomean (nM ± SEM)	Palbociclib IC_{50} Geomean (μM ± SEM)
T47D	0.107 ±0.05 (n=6)	0.365 ±0.04 (n=6)	0.051 ±0.02 (n=5)
T47D RB- (T47D 3P_1)	0.205 ±0.036 (n=6)	0.926 ±0.217 (n=6)	4.411 ±1.97 (n=5)
T47D CDK6H (T47D 3P_2)	0.235 ±0.032 (n=6)	0.568 ±0.091 (n=6)	0.210 ±0.29 (n=5)
MCF-7	0.942 ±0.664 (n=4)	0.633 ±0.040 (n=4)	0.386 ±0.14 (n=4)
MCF-7 PacqR (MCF-7 PC6)	2.774 ±0.292 (n=4)	0.901 ±0.098 (n=4)	3.071 ±0.46 (n=4)
MCF-7 RB- (MCF-7 PC8)	0.771 ±0.128 (n=4)	4.429 ±5.638 (n=4)	2.100 ±3.21 (n=4)

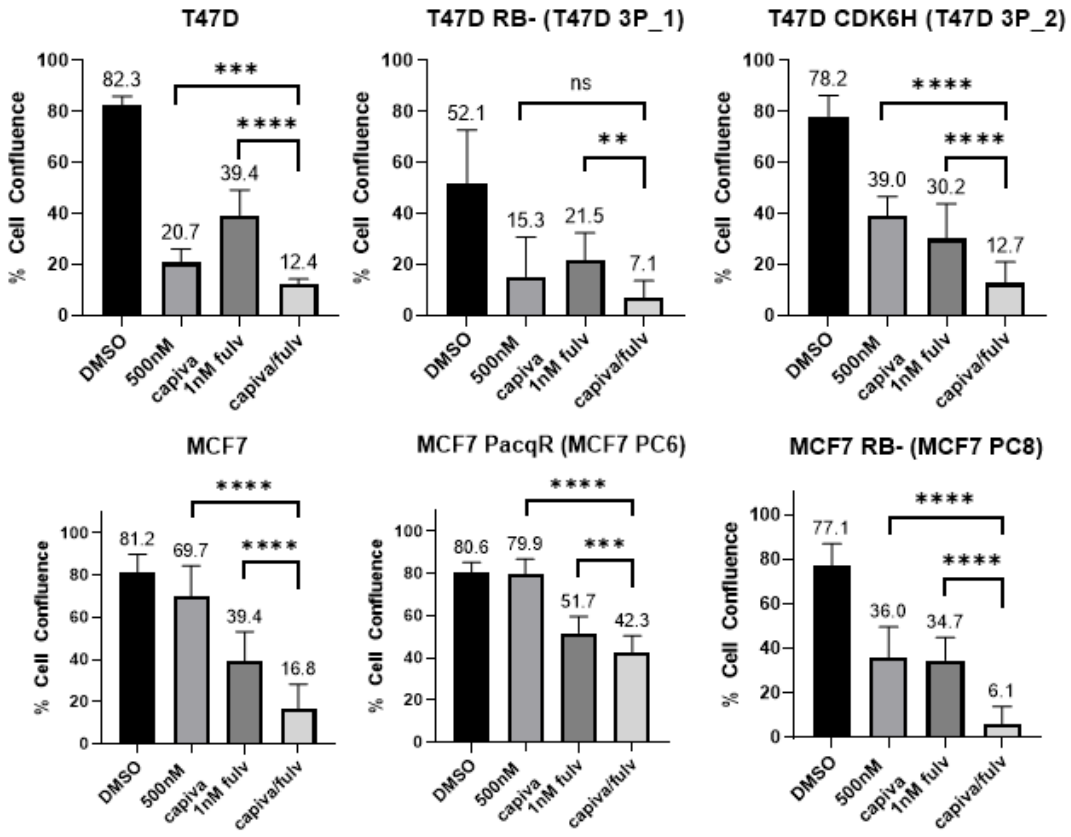
表 9　　カピバセルチブとフルベストラントを併用時の活性の要約

Cell Line	HSA Geomean ± SEM	Number of repeats
T47D	5.06 ± 0.39	5
T47D RB- (T47D 3P_1)	4.60 ± 1.70	4
T47D CDK6H (T47D 3P_2)	5.15 ± 1.10	4
MCF-7	9.09 ± 2.75	6
MCF-7 PacqR (MCF-7 PC6)	5.08 ± 0.49	6
MCF-7 RB- (MCF-7 PC8)	5.33 ± 1.07	3

HSA quantifies the higher of the two single compound effects at their corresponding concentrations. The combined effect is compared with the effect of each single agent at the concentration used in the combination. Excess over the highest single agent effect (HSA>1) indicates cooperativity. HSA does not require the compounds to affect the same target.

パルボシクリブ耐性細胞に対する併用効果をさらに評価するため、同じ細胞パネルを用いてより長期間（10 日間超）の併用増殖アッセイを、4 日間薬剤処理 3 日間無処理のスケジュールで実施した。全ての細胞で、併用した場合に最も高い効果が示された（図 9、Pharmacology Report 34）。T47D RB-、T47D CDK6H 及び MCF-7 RB-細胞では、親細胞で観察されたのと同様の併用活性が認められた。パルボシクリブ耐性の MCF-7 PacqR 細胞では、カピバセルチブ及びフルベストラントの単独での活性がいずれも低下した。また、この細胞集団では、フルベストラント単独と比較してカピバセルチブを併用することによる有益性が依然として認められたが、これは細胞増殖に対する併用による影響の低下とも関連していた。以上のデータは、カピバセルチブとフルベストラントの併用により、RB の欠損又は他の経路の変化を介して、CDK4/6 阻害に耐性のある細胞の増殖が抑制される可能性があることを示している。

図 9　　長期間の細胞コンフルエンスに対するカピバセルチブとフルベストラントの併用の効果



Parental and palbociclib resistant T47D or MCF-7 cell confluence measured 8-hourly using an Incucyte S3. Cells treated 4-day on/3-day off 500 nM capivasertib, continuous 1 nM fulvestrant, or combination. Cell confluence following monotherapy and combination treatment was calculated at Day 18 or 80% control confluence.
Data represents the geometric mean with geometric SD of 3 independent experiments (4 independent experiments for MCF-7) shown with ordinary 1-way ANOVA statistical analysis.
* = p<0.05; ** = p<0.01; *** = p<0.005; **** = p<0.001; ns = not significant

2.6.2.2.2　*In vivo* 試験

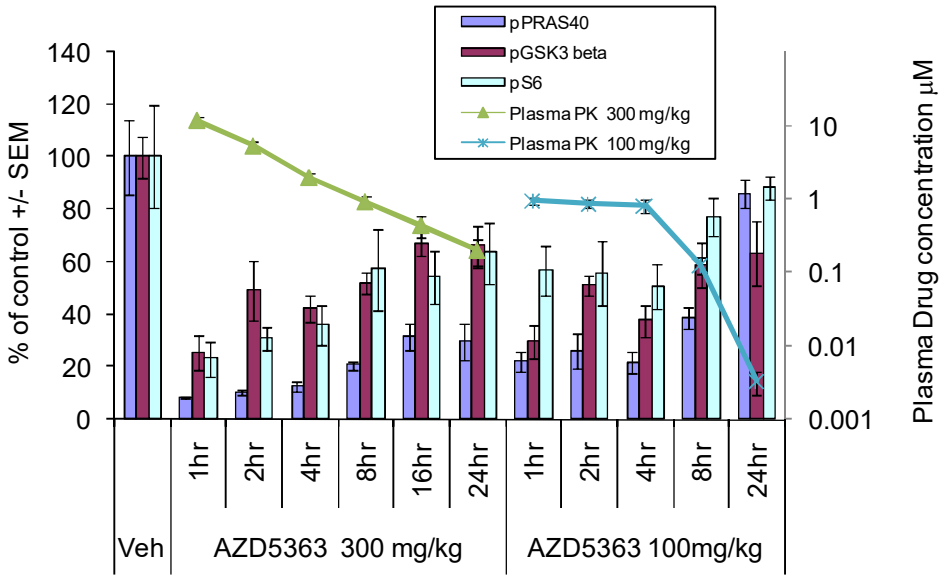
2.6.2.2.2.1　BT474c 腫瘍異種移植ヌードマウスにおける PK/PD 関係

BT474c 異種移植ヌードマウスにカピバセルチブ単回投与後の薬力学活性を測定した。pPRAS40 を ELISA 法により、また、GSK3β 及び S6 の総量並びにリン酸化レベルを標準的なウエスタンブロット法により測定した。ウエスタンブロット法による当該タンパク質の総シグナルによってリン酸シグナルを補正し、対照群に対する%として薬力学的活性をプロットした（棒グラフ、左縦軸）。

カピバセルチブ 300 mg/kg 単回経口投与後、1 時間及び 2 時間後に PRAS40 リン酸化の約 90%阻害が認められ、8 時間後に約 80%、24 時間後に約 70%の阻害が認められた。カピバセルチブ 100 mg/kg の単回投与後では、PRAS40 リン酸化は 1、2 及び 4 時間後に約 80%、8 時間後に約 60%阻害されたが、24 時間後には統計学的に有意な阻害（対溶媒対照群）は認められなかった。異種移植組織では、pGSK3β 及び pS6 に対しても統計学的に有意な時間及び用量依存的な阻害がみられた（図 10）。統計学的に有意な血糖値の上昇が、少なくともカピバセルチブ 100 mg/kg 投与の 1 時間後と 300 mg/kg 投与の 4 時間後まで認められ（図 11）、その上昇の程度は用量依存的であった。血漿中薬物濃度と pPRAS40 減少との間に相関がみられ、pPRAS40 の 50%阻害は約 0.1 μM の血漿中薬物濃度で得られると推定された（図 12、Pharmacology Report 09 参照）。

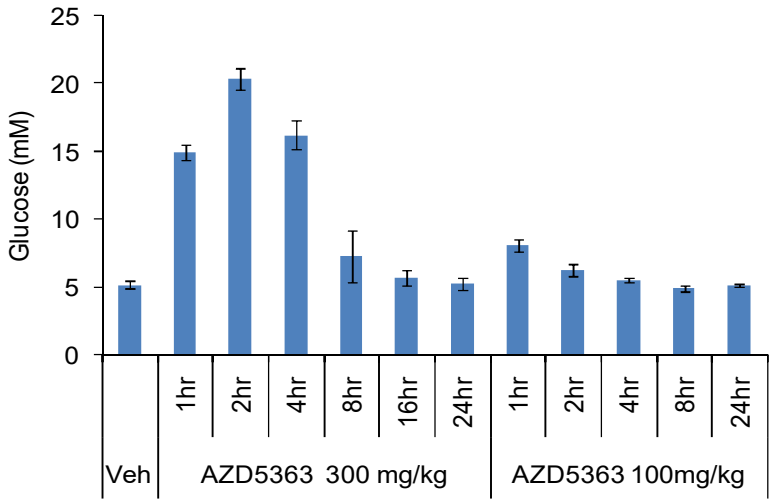
これらのデータから、*in vivo* における経路阻害の強さは用量依存的であり、300 mg/kg から 100 mg/kg への減量によってこのモデルにおける経路バイオマーカーの変化の大きさが減少することが確認された。また、バイオマーカーの変化は化合物曝露量と関連することが示された。

図 10　　BT474c 腫瘍異種移植ヌードマウスにおけるカピバセルチブの薬力学的作用と血漿中薬物濃度との関係



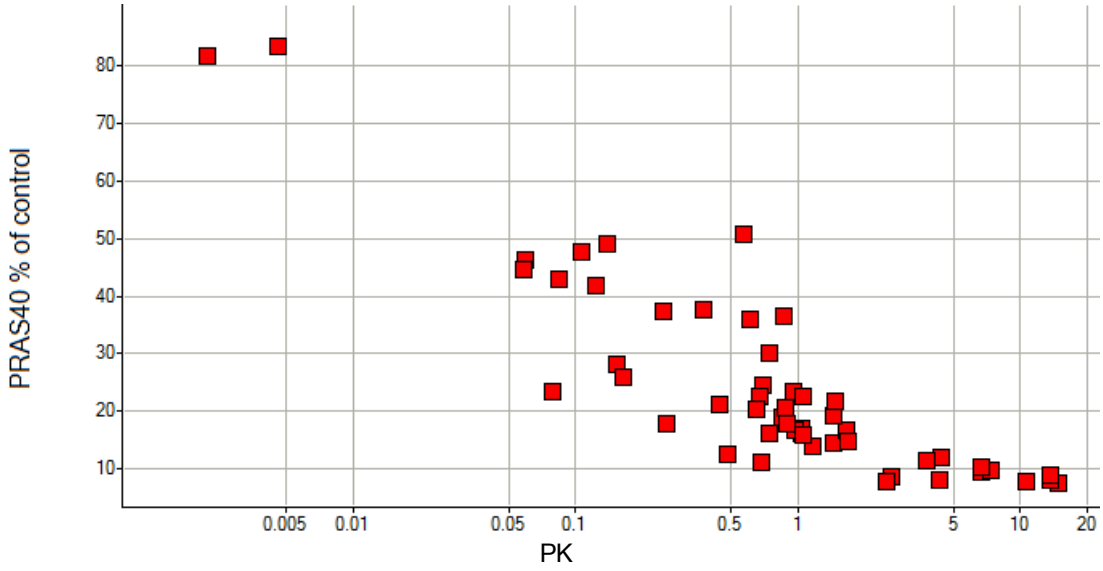
Relationship between pharmacodynamic activity (left hand axis; bars) and plasma pharmcokinetics in BT474c xenografts growing in nude mice, after acute doses of 300 or 100 mg/kg Capivasertib. Mean values are shown ± SEM.

図 11　　ヌードマウスの血糖値に対するカピバセルチブ経口投与の作用



Relationship between blood glucose concentration and time following acute doses of 300 or 100 mg/kg Capivasertib, in the same nude mice as in the pharmacodynamic studies shown in (図 8). Mean values are shown ± SEM.

図 12　　BT474c 腫瘍異種移植ヌードマウスにおける血漿中薬物濃度と pPRAS40 阻害の関係



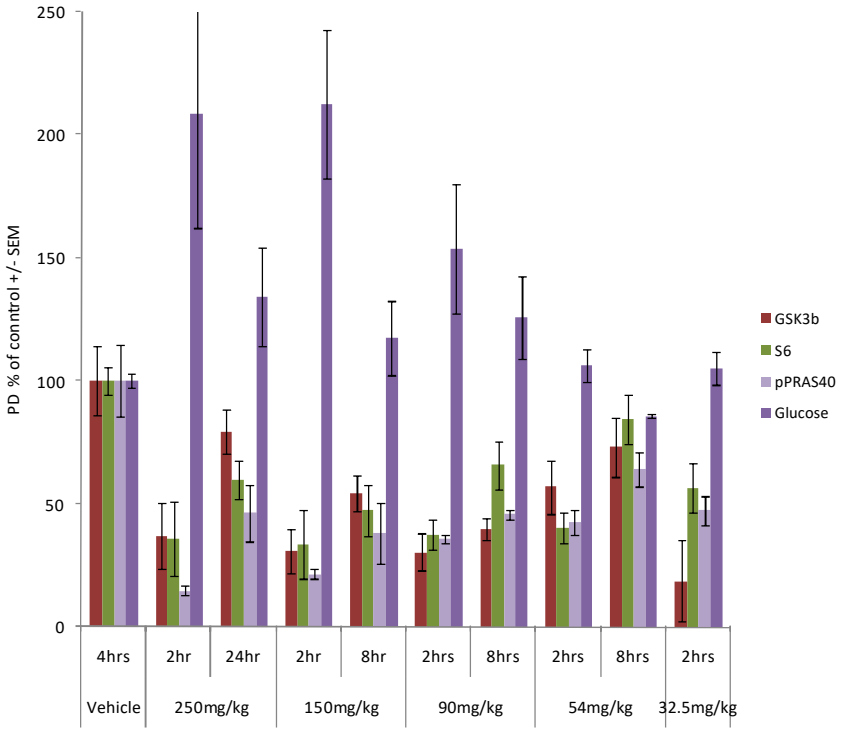
Relationship between phosphorylation of PRAS40 in BT474c xenografts growing in nude mice (vertical axis) and Capivasertib plasma pharmacokinetics (horizontal axis; drug concentration in µM). Each point represents one nude mouse.

2.6.2.2.2.2　PC3 腫瘍異種移植ヌードラットにおける PK/PD 関係

カピバセルチブ 250、150、90、54 及び 32.5 mg/kg を PC3（*PTEN* null）異種移植ヌードラットに単回投与し、PK/PD を検討した。250 mg/kg において、AKT 経路バイオマーカーPRAS40、GSK3β 及び S6 のリン酸化に対する時間依存的な阻害が認められ、24 時間後に pPRAS40 は対照群の約 50%に回復した。また、250 mg/kg 投与において統計学的有意かつ時間依存的な血糖値上昇が誘導され、2 時間後に対照群の値の約 2 倍に上昇し、24 時間後に対照群に近い値に戻った。150、90 及び 54 mg/kg 単回投与後、腫瘍バイオマーカーのリン酸化に対する時間依存的な阻害が認められたが、54 mg/kg 投与 8 時間後では 3 種全てのバイオマーカーのリン酸化は対照群の 50%を上回るレベルに回復した。32.5 mg/kg 投与 2 時間後にも、3 種全ての腫瘍バイオマーカーのリン酸化の統計学的有意な阻害がみられた。150 及び 90 mg/kg 投与後、血糖値の顕著な上昇がみられたが、54 及び 32.5 mg/kg 投与ではみられなかった（図 13）。pPRAS40 レベルとカピバセルチブの血漿中薬物濃度との関係を示すプロットから、PRAS40 リン酸化の 50%阻害は約 0.2 μM の血漿中薬物濃度で得られると推定された（図 14、Pharmacology Report 10 参照）。

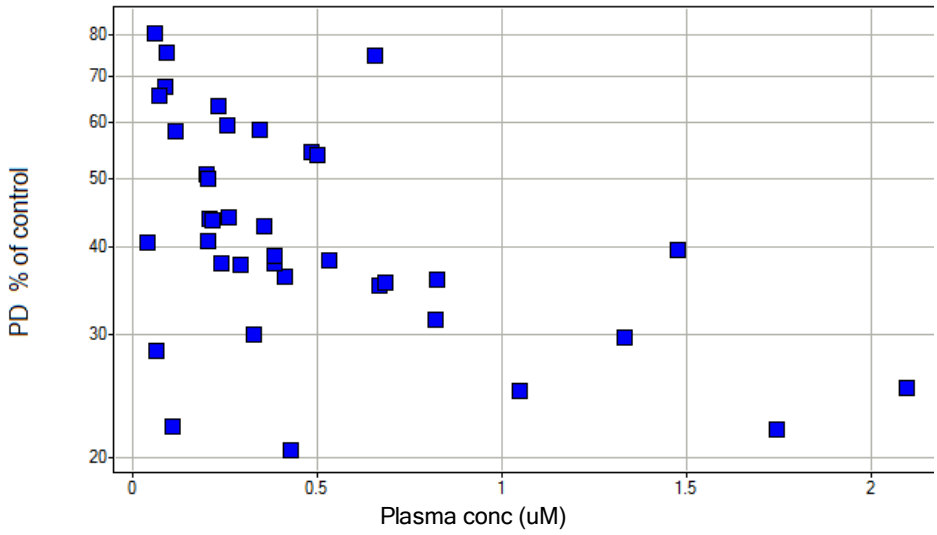
これらのデータも、カピバセルチブによる AKT 経路シグナル伝達の変化は時間及び用量依存的であり、化合物曝露量と関連することを示している。

図 13　　PC3 腫瘍異種移植ヌードラットにおけるカピバセルチブの PD 及び血糖値への影響



Relationship between blood glucose concentration, phosphorylation of PC3 xenograft PRAS40, GSK3β and S6 (vertical axis) and time after acute doses of Capivasertib to nude rats (horizontal axis).

図 14　　PC3 腫瘍異種移植ヌードラットにおけるカピバセルチブの血漿中薬物濃度と pPRAS40 阻害の関係



Relationship between phosphorylation of PRAS40 in PC3 xenografts growing in nude rats (vertical axis) and Capivasertib plasma pharmacokinetics (horizontal axis). Each point represents one nude rat.

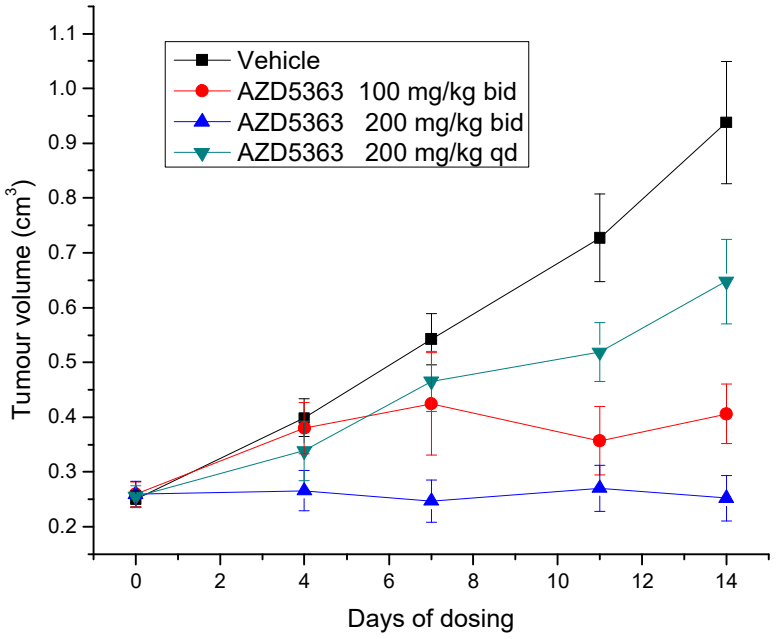
2.6.2.2.2.3　異種移植モデルにおけるカピバセルチブの効果

2.6.2.2.2.3.1　　異種移植モデルにおけるカピバセルチブ単独投与時の抗腫瘍効果

カピバセルチブ単独投与の抗腫瘍効果を調べるため、カピバセルチブを腫瘍異種移植マウスに経口投与した。主な 2 つの実験を以下に示す。最初に、BT474c ヒト乳癌異種移植ヌードマウスモデルの腫瘍増殖に対するカピバセルチブ反復投与の効果を、種々の投与スケジュールを用いて検討した。カピバセルチブ 100 mg/kg 1 日 2 回投与、200 mg/kg 1 日 2 回投与及び 200 mg/kg 1 日 1 回投与を比較した結果、それぞれ 80%、104%及び 40%の腫瘍体積の抑制が認められた（図 15）。100 mg/kg 1 日 2 回投与では、200 mg/kg 1 日 1 回投与に比べ有意に高い効果が認められた（62%の効果、p = 0.003）。別の実験では、300 mg/kg 1 日 1 回投与により、腫瘍体積変化幾何平均に対し 96%の顕著な抑制が認められた（Pharmacology Report 11 参照）。

この BT474c 腫瘍のデータもカピバセルチブの抗腫瘍効果が用量依存的であることを示していた。

図 15　　BT474c 腫瘍異種移植ヌードマウスにおけるカピバセルチブの抗腫瘍効果

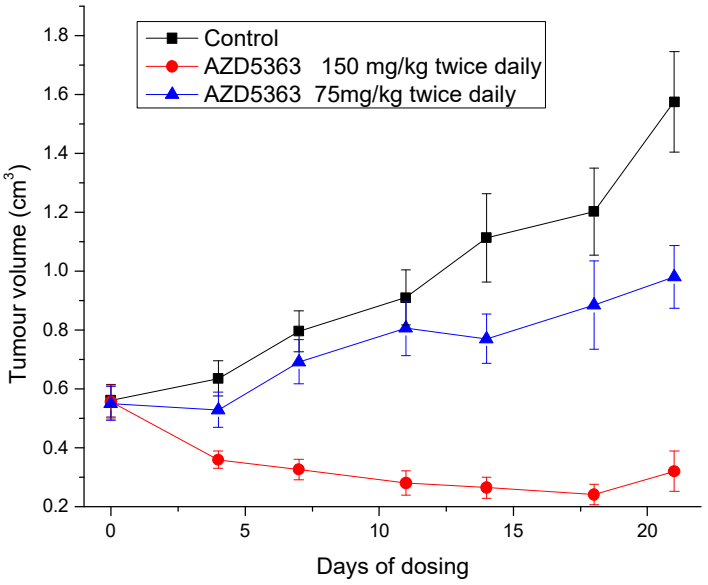


Shows antitumour efficacy of capivasertib in BT474c. Symbols highlight mean tumour volume with error bars representing SEM for the group.

2 番目の実験では、カピバセルチブ単独投与の活性を 786-0（*PTEN* null 型）腎癌異種移植モデルで検討した結果、用量依存的な増殖抑制が認められた。150 mg/kg 1 日 2 回反復投与では腫瘍が退縮し、75 mg/kg 1 日 2 回投与では 56%の増殖抑制（対溶媒対照群）が認められた（図 16）。広範な異種移植パネル及び外植モデルにおけるカピバセルチブ単独投与の効果の要約を表 10 に示す（Pharmacology Report 11 参照）。

以上のデータは、カピバセルチブ単独投与は広範な *in vivo* 腫瘍モデルパネルで用量依存的な活性を示すが、わずかな減量によって抗腫瘍効果に差が生じることを示していた。また、単独投与に対する感受性は腫瘍モデル間で変動していた。

図 16　　786-0 腫瘍異種移植ヌードマウスにおけるカピバセルチブの抗腫瘍効果



Shows anti-tumour efficacy of capivasertib in 786-0. Symbols highlight mean tumour volume with error bars representing SEM for the group.

表 10　　異種移植モデルにおけるカピバセルチブ反復経口投与後の腫瘍増殖抑制

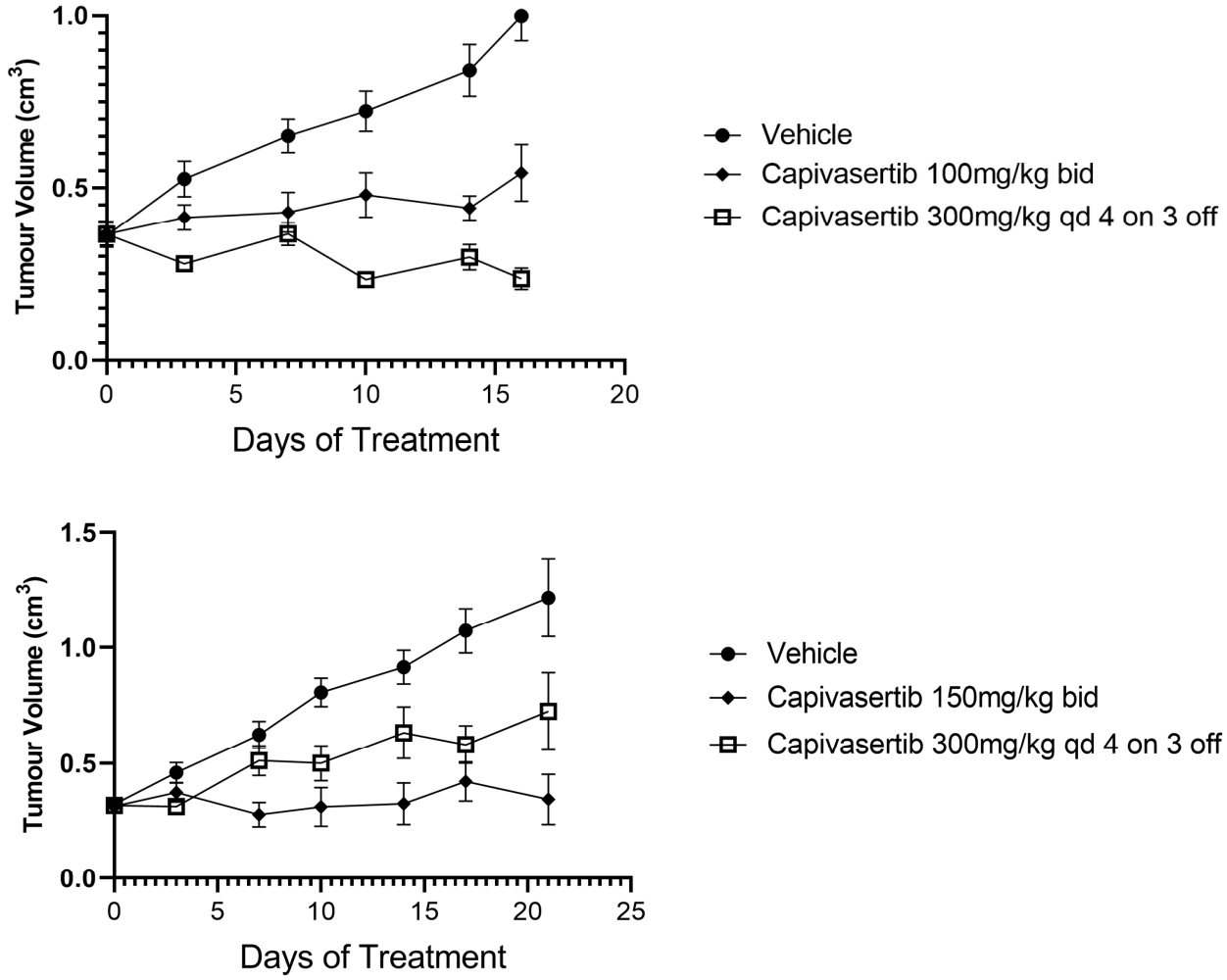
Tumour model	Tissue derived from	Cell line or explant model	Dose (mg/kg)	% inhibition of tumour volume	P value
BT474c	Breast	Cell line	300 qd	96	< 0.001
BT474c	Breast	Cell line	200 qd	40	0.02
BT474c	Breast	Cell line	200 bid	> 100	< 0.001
BT474c	Breast	Cell line	100 bid	80	< 0.001
786-0	Kidney	Cell line	150 bid	> 100	< 0.001
786-0	Kidney	Cell line	75 bid	56	0.001
MCF-7	Breast	Cell line	300 qd	49	0.003
HBCx13	Breast	Explant	150 bid	69	0.003
HBCx13	Breast	Explant	75 bid	< 10	Not significant
HBCx5	Breast	Explant	150 bid	50	0.002
HCC-1954	Breast	Cell line	150 bid	> 100	< 0.001
HCC-1954	Breast	Cell line	75 bid	> 100	< 0.001
HGC-27	Gastric	Cell line	150 bid	> 100	< 0.001
HGC-27	Gastric	Cell line	100 bid	> 100	< 0.001

Tumour model	Tissue derived from	Cell line or explant model	Dose (mg/kg)	% inhibition of tumour volume	P value
HGC-27	Gastric	Cell line	50 bid	72	< 0.001

2.6.2.2.2.3.2 BT474c 乳癌異種移植モデルにおけるカピバセルチブの間欠投与及び反復投与の抗腫瘍効果

カピバセルチブの間欠投与が反復投与と同程度の抗腫瘍効果を示すかどうかを調べるため、150 mg/kg 又は 100 mg/kg 1 日 2 回反復投与と 300 mg/kg 1 日 1 回投与を比較した（図 17）。この 2 試験の結果、カピバセルチブの間欠投与と反復投与により同程度の効果が得られることが示された。これらの試験及び同様の試験から、7 日間投与サイクルで休薬期間を設ける投与スケジュールでも、用量及び投与スケジュールを変えることによって抗腫瘍効果を維持できることが確認された（Pharmacology Report 38）。

図 17　　BT474c 乳癌異種移植モデルにおけるカピバセルチブの間欠及び反復投与の比較

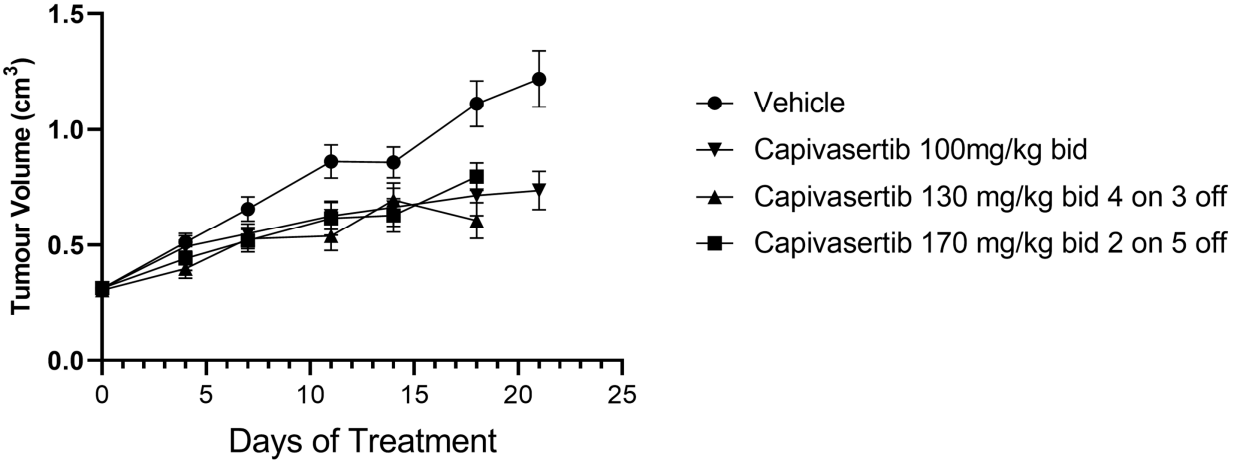


Shows two independent antitumour efficacy of capivasertib in BT474c tumour xenograft models. Capivasertib was dosed as indicated in legends. Symbols highlight mean tumour volume with error bars representing SEM for the group.

BT474c 腫瘍異種移植モデルを用いて、用量及び投与スケジュールをさらに検討するため、3 つの用量及び投与スケジュール、すなわち 100 mg/kg 1 日 2 回 反復投与、130 mg/kg 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬、170 mg/kg 1 日 2 回 2 日間投与 5 日間休薬を比較した。これらの用量及び投与スケジュールで投与された総薬物量は、それぞれ 1400、1040 及び 680 mg/kg であった。間欠投与では 1 サイクルあたりの総薬物量が少ないにもかかわらず、それぞれの投与スケジュールによる効果は同程度であった（図 18）（Pharmacology Report 38）。

これらのデータから、カピバセルチブを間欠投与した場合も、投与期に反復投与より高い用量を用いることにより効果を維持できることが裏付けられた。

図 18　BT474c 乳癌異種移植腫瘍における種々の用量及び投与スケジュールによるカピバセルチブの抗腫瘍効果



Shows antitumour efficacy of capivasertib in BT474c tumour xenograft models. Capivasertib was dosed as indicated in legends. Symbols highlight mean tumour volume with error bars representing SEM for the group.

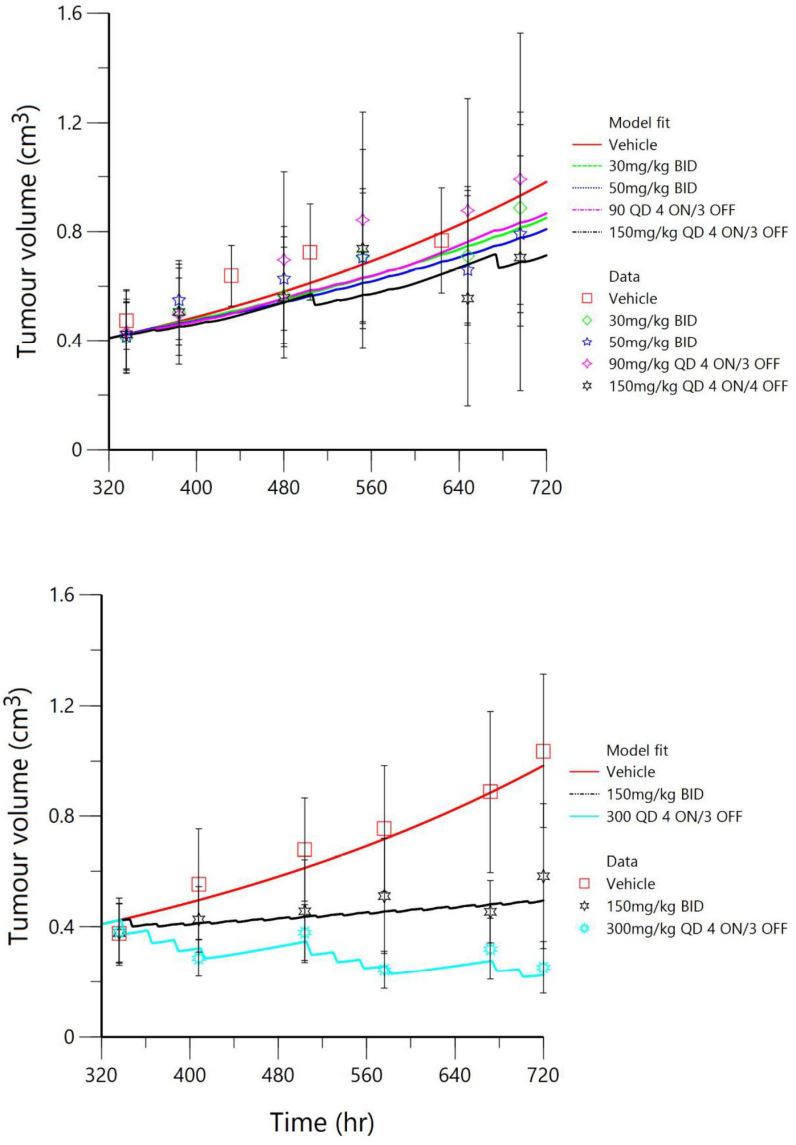
2.6.2.2.2.3.3　BT474c 乳癌異種移植モデルにおけるカピバセルチブの 3 つの投与スケジュールの評価

用量及び投与スケジュールの検討結果をさらに裏付けるため、曝露量、用量、薬力学バイオマーカーの変化及び効果を統合したモデルを使用した。この定量的 PKPD／効果モデルは、AKT 阻害薬カピバセルチブが AKT 経路の下流及び直下のバイオマーカーに及ぼす変化、並びに腫瘍増殖に対する効果を表すモデルである。このモデルを用いて、カピバセルチブの反復投与と間欠投与（4 日間投与 3 日間休薬）の 2 つの異なる投与スケジュールを比較検討した結果、投与サイクル全体で投与された薬物量は同程度であったが、低用量の反復投与よりも高用量の間欠投与による効果が高い可能性があることが示された。2 つの投与スケジュールの PD の比較により、基質のリン酸化の持続時間に加え、脱リン酸化の程度が重要であることが示された。有効性のデータはこれを裏付けており、150 mg/kg 1 日 2 回の反復投与とは対照的に、300 mg/kg 1 日 1 回 4 日間投与 3 日間休薬では腫瘍増殖が抑制された。有効性モデルを図 19 に示す。このモデルは、複

数のバイオマーカーの変動から、1 日 1 回投与及び 1 日 2 回投与で認められた効果の妥当性を示すことが可能である（Pharmacology Report 32）。裏付けとなる有効性及び薬力学データを Pharmacology Report 09、27 及び 38 に示す。

このフレームワークを用いて、例えば、間欠投与と反復投与で同程度の有効性を示す投与日数と投与量との関係等、種々の用量及び投与スケジュールにおける効果をシミュレートした。

図 19　　有効性試験のための観測及びモデル化データ

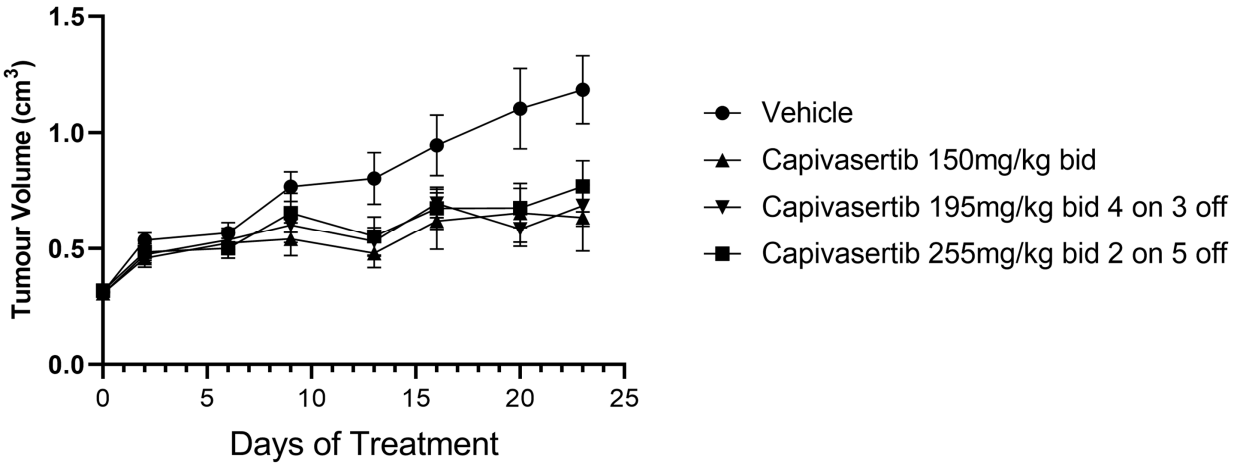


Upper panel. Data and model fits for different treatment groups. Data are represented with markers as the mean tumour volume and error bars as the standard deviation and model fits by lines. Vehicle group is identified by red square markers for the data and red line for model fit, capivasertib 30 mg/kg twice daily continuous by green diamonds and green line, capivasertib 50 mg/kg twice daily continuous by blue stars and blue line, capivasertib 90 mg/kg dosed once daily with a 4 day dosing and 3 days off schedule within a given week by magenta diamonds and magenta line and capivasertib 150 mg/kg dosed once daily with a 4 day dosing and 3 days off schedule within a given week by black stars and black line. **Lower Panel**. Data and model fits for different treatment groups. Data are represented with markers as the mean tumour volume and error bars as the standard deviation and model fits by lines. Vehicle group identified by red square markers for the data and red line for model fit, capivasertib 300 mg/kg dosed once daily with a 4 day dosing and 3 days off schedule within a given week by turquoise stars and turquoise line and capivasertib 150 mg/kg dosed twice daily continuous by black stars and black line.

PKPD/効果モデルのデータから、カピバセルチブ反復投与で得られる抗腫瘍効果と同程度の効果が代替の投与スケジュールで得られることが裏付けられた。このモデルに基づき、これらのパラメータを検証する試験を検討した。ヌードマウスの BT474c 異種移植腫瘍に対する種々のカピバセルチブ投与スケジュールによる効果を、150 mg/kg 1 日 2 回反復投与、210 mg/kg 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬及び 255 mg/kg 1 日 2 回 2 日間投与 5 日間休薬で比較したデータを図 20 に示す。これら 3 つの単独投与スケジュール全てにおいて、対照群と比較して有意な抗腫瘍効果が得られた（$p < 0.02$）。抗腫瘍効果には投与スケジュール間で有意な差はなかった。この試験から、カピバセルチブの用量及び投与スケジュールを変えることで同程度の効果が得られることが確認された。また、間欠投与では、反復投与より低い 1 週間用量（より少ない総薬物量）で同様の抗腫瘍効果が得られることが示唆された。

このデータの一部は、この方法の原理を説明した文献（Yates et al 2015）で報告されている。

図 20　　BT474c 異種移植腫瘍の腫瘍体積に対するカピバセルチブの種々の投与スケジュールの比較



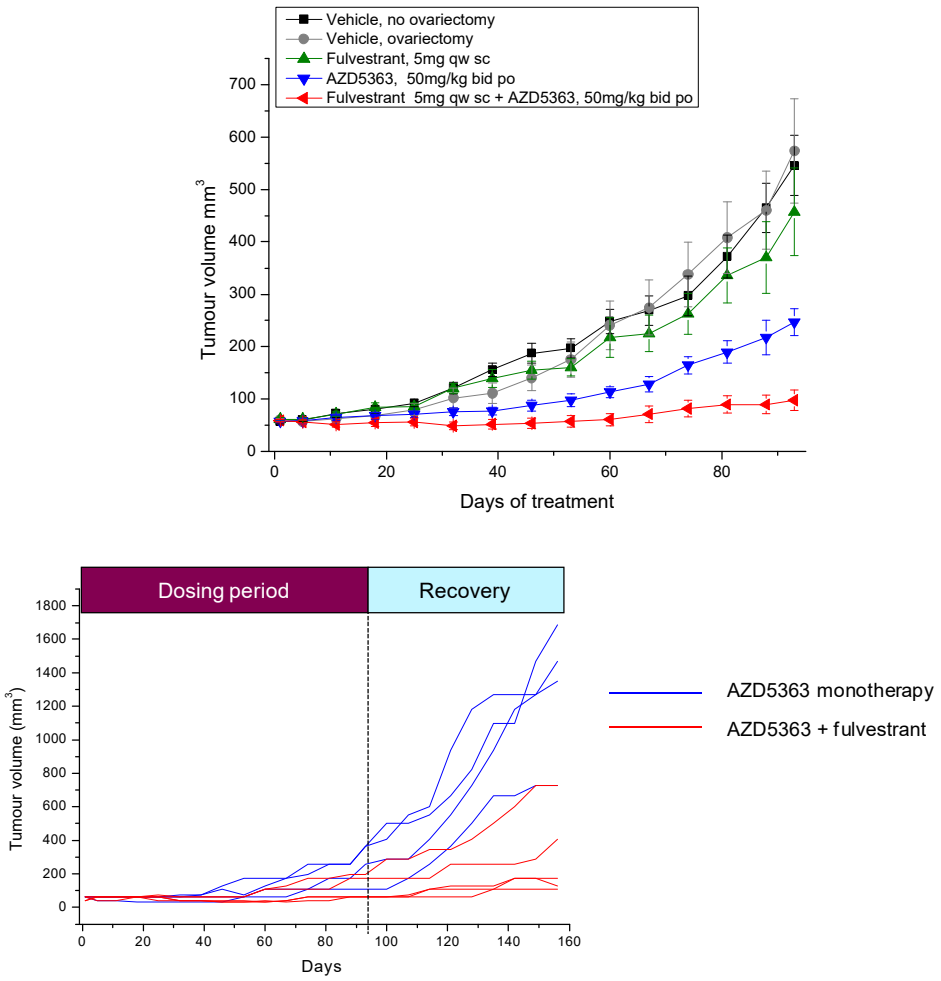
Shows anti-tumour efficacy of capivasertib monotherapy in BT474c xenografts with doses and schedules as indicated in the legend. Symbols highlight tumour volume geomeans with error bars representing SEM. Collectively these data were used to define parameters within which to explore relevant clinical dose and schedule approaches to improve therapeutic index while maintaining efficacy.

2.6.2.2.2.3.4 乳癌異種移植モデルにおけるカピバセルチブとフルベストラント併用による内分泌療法に対する耐性の消失

Primary endocrine resistance の治療におけるカピバセルチブとフルベストラントの併用を検討するため、内因性エストロゲンによらずエストロゲン依存性の腫瘍が増殖する卵巣摘出モデルにおいて併用投与の効果を調べた。初代腫瘍外植モデル HBCx22 は、治療歴がないグレード 3 乳管癌（ルミナル B 型）の女性患者から確立した。このモデルは当初エストロゲン枯渇療法に反応したが、卵巣摘出マウスに異種移植し、約 6 か月間に渡り 2 回の継代を行って増殖させることにより、内分泌療法耐性を獲得させた。この内分泌療法耐性マウスを HBCx22 OvaR モデルとした。このモデルは IHC で PTEN タンパク質発現陰性、ER 発現陽性であったが、フルベストラント単独投与に対する反応は低かった（Cottu et al 2014）。

HBCx22 OvarR 異種移植腫瘍は、卵巣摘出マウスと非摘出マウスにおいて同様の増殖を示した。フルベストラント単独投与（5 mg/kg 週 1 回、皮下投与）では顕著な腫瘍増殖抑制が認められなかった。カピバセルチブ単独の 50 mg/kg 1 日 2 回の反復投与では腫瘍増殖が 63%抑制され、カピバセルチブとフルベストラントの併用投与では腫瘍増殖が 96%抑制された（図 21、上）。投与中断（回復期）後、併用群マウスの 5 例中 3 例で腫瘍の再増殖がみられなかったが、カピバセルチブ単独投与群では全例の腫瘍で再増殖が認められた（図 21、下）。これらの試験結果から、この乳癌移植モデルにカピバセルチブとフルベストラントを併用投与すると内分泌療法に対する耐性が消失することが示された（Ribas et al 2015）。

図 21　　内分泌療法耐性 HBCx22 OvaR 異種移植モデルにおけるカピバセルチブとフルベストラントの併用による効果の増強



Effect of AZD5363 alone or in combination with fulvestrant on biomarker changes and tumor progression in HBCx22OvaR. Long-term study assessing changes in tumor volume over 90 days of treatment (upper panel) and assessment of tumor volume after drug withdrawal (lower panel). Mean tumour volume ± SEM are shown in upper panel. Individual tumours are shown in the lower panel.

2.6.2.2.2.3.5　ER 陽性乳癌 PDX モデルにおけるカピバセルチブ単独投与及びフルベストラントとの併用投与の *in vivo* 用量反応性

カピバセルチブの *in vivo* での用量反応性を検討するため、3 種の ER 陽性乳癌 PDX モデルマウスに、カピバセルチブ（60 mg/kg、100 mg/kg 及び 130 mg/kg を 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬）を単独、又はフルベストラント（固定用量 5 mg/kg を週 1 回投与）と併用し投与した。前治療を含むモデルの詳細を表 11　に示す（Pharmacology Report 26）。

ST3932 PDX 腫瘍モデルにフルベストラント 5 mg/kg を週 1 回皮下投与した結果、TGI は 12.94%であった。カピバセルチブ 130 mg/kg、100 mg/kg 及び 60 mg/kg を 1 日 2 回 4 日間投与 3

日間休薬した場合の TGI はそれぞれ 93.33%、83.19%及び 57.31%であった。フルベストラントとの併用では、カピバセルチブ 130 mg/kg、100 mg/kg 及び 60 mg/kg を 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬の投与による TGI は、それぞれ 96.86%、91.41%及び 68.03%であった（表 12 ）。

ST3632 PDX 腫瘍モデルでは、フルベストラント 5 mg/kg の週 1 回皮下投与により TGI が認められなかったため、対照群の腫瘍量限界到達前にこの群を試験から除外した。ST3632 PDX 腫瘍モデルに対し、カピバセルチブ 130 mg/kg、100 mg/kg 及び 60 mg/kg を 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬した場合の TGI は、単独投与でそれぞれ 77.61%、61.41%及び 18.94%、フルベストラントとの併用ではそれぞれ 73.78%、50.67%及び 21.91%であった（表 12 ）。

ST1799 PBR（パルボシクリブ耐性）PDX 腫瘍モデルでは、フルベストラント 5 mg/kg の週 1 回皮下投与による TGI は 80.76%であった。カピバセルチブ 130 mg/kg、100 mg/kg 及び 60 mg/kg を 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬した場合の TGI はそれぞれ 88.57%、67.33%及び 44.81%であった。フルベストラントと併用し、カピバセルチブ 130 mg/kg、100 mg/kg 及び 60 mg/kg を 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬した場合の TGI はそれぞれ 102.45%、98.37%及び 98.38%であった（表 12 ）。

以上のデータから、これらのモデルでカピバセルチブに対する用量反応性がみられ、フルベストラント併用時にカピバセルチブを減量すると効果が減弱した。130 mg/kg の 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬を 100 mg/kg に減量した場合、効果はモデルによってわずかに減弱したが、重要な点として 60 mg/kg に減量した場合は 3 種のモデル中 2 種で併用効果が減弱した。

表 11　　*In vivo* PDX 確立前の変異状態と患者が受けた治療

Model	*PIK3CA*, *AKT1* and *PTEN* mutation status	*ESR1* mutation status	Patient therapy prior to model establishment
ST3932	PIK3CA R88Q / PTEN del	wt	Tamoxifen, Palbociclib/Fulvestrant, Taxane
ST3632	AKT1 E17K	wt	Naïve
ST1799 PBR	PIK3CA_E542K	wt	Chemo (vinorelbine), Doxorubicin/Cyclophosphamide, Doxorubicin

表 12　ER 陽性乳癌 PDX 腫瘍モデルにおけるカピバセルチブ単独及び固定用量のフルベストラントとの併用時の TGI（%）及び統計値の要約

		ST3932	ST3632	ST1799 PBR
TGI /%	Capivasertib 130 mg/kg	93.33	77.61	88.57
	Capivasertib 100 mg/kg	83.19	61.41	67.33
	Capivasertib 60 mg/kg	57.31	18.94	44.81
	Capivasertib 130 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/kg	96.86	73.78	102.45
	Capivasertib 100 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/kg	91.41	50.67	98.37
	Capivasertib 60 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/kg	68.03	21.91	98.38
Comparison of treatment groups (P value)	Capivasertib 130 mg/kg vs Capivasertib 100 mg/kg	0.03457	0.14862	0.08157
	Capivasertib 130 mg/kg vs Capivasertib 60 mg/kg	0.00005	0.00138	0.00440
	Capivasertib 100 mg/kg vs Capivasertib 60 mg/kg	0.00056	0.12644	0.03911
	Capivasertib 130 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/kg vs Capivasertib 100 mg/kg; Fulvestrant 5mg/kg	0.08989	0.06437	0.04170
	Capivasertib 130 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/kg vs Capivasertib 60 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/kg	0.00031	0.00226	0.30049
	Capivasertib 100mg/kg; Fulvestrant 5mg/kg vs Capivasertib 60mg/kg; Fulvestrant 5mg/kg	0.00280	0.02365	0.44487
TGI measurement day		42	38	50

capivasertib dosed as indicated in a 4 days on 3 days off bid schedule

2.6.2.2.2.3.6　ER 陽性乳癌 PDX におけるカピバセルチブとフルベストラント併用の効果

アロマターゼ阻害薬又は CDK4/6 阻害薬による治療を受けた患者の代表的なモデルにおけるカピバセルチブ単独投与及びフルベストラントとの併用投与の広範な影響を検討するため、多数の ER 陽性乳癌モデルに併用投与を行った。パネルには *PIK3CA*、*AKT1* 及び *PTEN* 変異モデル及び非変異モデルに加え、パルボシクリブ感受性及び耐性モデルが含まれた。これらの多くのモデルは、化学療法、放射線療法又はアロマターゼ阻害薬による治療後の患者に由来する。モデル全体において、カピバセルチブとフルベストラントの併用投与は、それぞれの単独投与より効果が高かった。治療歴のある患者の腫瘍由来のモデルだけでなく、治療歴のない患者の腫瘍由来のモデルにおいても効果が認められた。併用による抗腫瘍効果は、*PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異腫瘍及び非変異腫瘍の両方で認められた。

パルボシクリブ投与に対する *in vivo* モデルの感受性を Pharmacology Report 28 に示す。*PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異モデルの ST1799 及び MCF-7 に加え、*PIK3CA*、*AKT1* 及び *PTEN*

非変異モデルの HBCx-34 及び ST941 PBR HI において、パルボシクリブ投与後、検討した用量で対照群と比較して腫瘍増殖が顕著に抑制された。

PIK3CA、*AKT1* 及び *PTEN* 非変異モデルでは、評価したモデル 7 種中 2 種で、フルベストラント単独投与がカピバセルチブ単独投与より高い効果を示し、7 種中 1 種でカピバセルチブ単独投与がフルベストラント単独投与より高い腫瘍増殖抑制作用を示した（表 13、表 15）。カピバセルチブとフルベストラントの併用投与は、*PIK3CA*、*AKT1* 及び *PTEN* 非変異モデル 7 種中 3 種でカピバセルチブ単独投与より顕著に腫瘍増殖を抑制し、7 種中 3 種でフルベストラント単独投与より顕著に腫瘍増殖を抑制した（表 13、表 15）。

ER 陽性乳癌モデル 20 種のうち、検討した用量では 4 種がパルボシクリブ感受性、16 種がパルボシクリブ耐性であった。パルボシクリブ感受性モデルでは、4 種中 3 種でカピバセルチブとフルベストラントの併用投与がフルベストラント単独投与より顕著に腫瘍増殖を抑制した（表 13、表 14）。パルボシクリブ耐性モデルの 16 種中 10 種でカピバセルチブとフルベストラントの併用投与がフルベストラント単独投与より顕著に腫瘍増殖を抑制した（表 14）。

PIK3CA、*AKT1* 又は *PTEN* 変異モデルでは、13 種中 2 種でフルベストラント単独投与がカピバセルチブ単独投与より顕著に高い腫瘍増殖抑制作用を示したが、13 種中 5 種でカピバセルチブ単独投与がフルベストラント単独投与より顕著に腫瘍増殖を抑制した。*PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異モデル全体では、13 種中 7 種でカピバセルチブとフルベストラントの併用投与がカピバセルチブ単独投与より顕著に腫瘍増殖を抑制した（表 14）。

最後に、*PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異モデルでは、13 種中 10 種でカピバセルチブとフルベストラントの併用投与がフルベストラント単独投与より顕著に腫瘍増殖を抑制したが、カピバセルチブとフルベストラントの併用投与と比較して、フルベストラント単独投与がより高い腫瘍増殖抑制作用を示したモデルはなかった。

モデル全体での各投与群間の統計値を表 15 に示す。

試験開始時からの腫瘍体積変化（%）の評価では、カピバセルチブとフルベストラントの併用投与後の腫瘍体積は他の投与群と比べて総じて小さかった（表 13、表 14）。併用効果をパネル全体、*PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異モデル、*PIK3CA*、*AKT1* 及び *PTEN* 非変異モデル別に可視化するため、パネル全体で単独又は併用投与に対するそれぞれのモデルの反応を、全ての対照群、カピバセルチブ単独投与群、フルベストラント単独投与群、併用投与群別にプロットした（図 22）。この可視化により、併用投与では変異の有無によらず一貫して腫瘍体積が縮小することが明らかとなった。

効果をより具体的に分類するため、既報の preclinical response criteria（Gao et al 2014）を用いてカピバセルチブとフルベストラントの併用投与に対する腫瘍の反応を分類した。その結果、*in vivo* の反応は、カピバセルチブ単独又はフルベストラント単独投与よりも優れていることが示された（図 23）。

PIK3CA、*AKT1* 及び *PTEN* 非変異モデルでは、カピバセルチブ単独投与を受けたモデル 7 種中 1 種が stable disease（SD；安定）、残りのモデルが progressive disease（PD；進行）、フルベストラント単独投与を受けたモデル 7 種中 1 種が SD、残りのモデルが PD と判定された。カピバセルチブとフルベストラントの併用投与では、7 種中 3 種が SD、残りのモデルが PD と判定された（図 23）。

PIK3CA、*AKT1* 及び *PTEN* 変異モデルでは、カピバセルチブ単独投与を受けたモデル 13 種中 2 種が SD、残りのモデルが PD、フルベストラント単独投与を受けたモデル 13 種中 1 種が partial response（PR；部分奏効）、残りのモデルが PD と判定された。カピバセルチブとフルベストラ

ントの併用投与では、13 種中 1 種が complete response（CR；完全奏効）、13 種中 7 種が SD、残りのモデルが PD と判定された（図 23）。

カピバセルチブとフルベストラントの併用投与は、20 種中 13 種のモデルでフルベストラント単独投与より高い腫瘍増殖抑制作用を示した。フルベストラント単独投与がより高い抑制作用を示したモデルはなかった。カピバセルチブとフルベストラントの併用投与による腫瘍増殖抑制作用の増強は、*PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異及び非変異モデルに加え、パルボシクリブ感受性及び耐性の両モデルにおいて認められた。

カピバセルチブとフルベストラントの併用投与は、*PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異及び非変異モデルの両方において、カピバセルチブ又はフルベストラントの各単独投与と比較して、より多くの非臨床モデルでより高い抗腫瘍効果を示した。以上より、カピバセルチブとフルベストラントの併用投与は、現在の ER 陽性乳癌を代表するモデルにおいて広範な抗腫瘍効果を示すことが裏付けられた。

表 13　　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 及び *PTEN* 非変異乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントの有無によるカピバセルチブの腫瘍増殖抑制に関するデータ及び統計値の要約

Model	Treatment	Geometric mean final tumour volume (cm^3)	Final tumour volume SEM (±)	TGI (%)	TGI (P value)	Day TGI measured	Regression (%)	Regression (P value)	n per arm	*PIK3CA, AKT1* and *PTEN* mutation status	Study code
ST941	Vehicle	1.63	0.39	0.00	N/A	18 days	N/A	N/A	6	wt	20057-102
ST941	Capivasertib 130 mg/kg	1.23	0.21	16.39	0.23474	18 days	N/A	N/A	5	wt	20057-102
ST941	Fulvestrant 5 mg/animal	1.05	0.18	37.96	0.08246	18 days	N/A	N/A	5	wt	20057-102
ST941	Capivasertib 130 mg/kg ; Fulvestrant 5 mg/animal	0.89	0.26	53.32	0.06717	18 days	N/A	N/A	5	wt	20057-102
ST941 PBR	Vehicle	2.18	0.31	0.00	N/A	29 days	N/A	N/A	6	wt	20057-102
ST941 PBR	Capivasertib 130 mg/kg	2.05	0.33	-16.27	0.22895	29 days	N/A	N/A	6	wt	20057-102
ST941 PBR	Fulvestrant 5 mg/animal	1.20	0.16	48.97	0.01368	29 days	N/A	N/A	5	wt	20057-102
ST941 PBR	Capivasertib 130 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/animal	0.86	0.32	60.32	0.01302	29 days	N/A	N/A	6	wt	20057-102
ST941 PBR HI	Vehicle	1.27	0.21	0.00	N/A	28 days	N/A	N/A	6	wt	19115-102
ST941 PBR HI	Capivasertib 130 mg/kg	1.29	0.40	-14.13	0.30269	28 days	N/A	N/A	5	wt	19115-102
ST941 PBR HI	Fulvestrant 5 mg/animal	0.87	0.27	29.30	0.22016	28 days	N/A	N/A	5	wt	19115-102

Model	Treatment	Geometric mean final tumour volume (cm^3)	Final tumour volume SEM (±)	TGI (%)	TGI (P value)	Day TGI measured	Regression (%)	Regression (P value)	n per arm	*PIK3CA, AKT1* and *PTEN* mutation status	Study code
ST941 PBR HI	Capivasertib 130 mg/kg: Fulvestrant 5 mg/animal	0.56	0.21	65.99	0.01507	28 days	N/A	N/A	5	wt	19115-102
ST3164 B PBR	Vehicle	1.10	0.12	0.00	N/A	28 days	N/A	N/A	6	wt	19115-102
ST3164 B PBR	Capivasertib 130 mg/kg	0.41	0.11	74.91	0.00741	28 days	N/A	N/A	5	wt	19115-102
ST3164 B PBR	Fulvestrant 5 mg/animal	1.44	0.44	-47.85	0.14983	28 days	N/A	N/A	5	wt	19115-102
ST3164 B PBR	Capivasertib 130 mg/kg: Fulvestrant 5 mg/animal	0.48	0.15	69.42	0.01044	28 days	N/A	N/A	5	wt	19115-102
HBCx-34	Vehicle	1.52	0.26	0.00	N/A	38 days	N/A	N/A	6	wt	CXT-505 XTS-2205
HBCx-34	Capivasertib 130 mg/kg	1.20	0.16	25.16	0.10710	38 days	N/A	N/A	5	wt	CXT-505 XTS-2205
HBCx-34	Fulvestrant 5 mg/animal	0.17	0.02	97.93	0.00010	38 days	N/A	N/A	5	wt	CXT-505 XTS-2205
HBCx-34	Capivasertib 130 mg/kg ; Fulvestrant 5 mg/animal	0.13	0.02	100.64	0.00010	38 days	6.12	0.09227	5	wt	CXT-505 XTS-2205
T486	Untreated	0.83	0.21	0.00	N/A	28 days	N/A	N/A	3	wt	CXT-578 XTS-2571
T486	Capivasertib 100 mg/kg	0.73	0.08	25.97	0.27210	28 days	N/A	N/A	3	wt	CXT-578 XTS-2571
T486	Fulvestrant 5 mg/animal	0.37	0.09	67.30	0.12608	28 days	N/A	N/A	3	wt	CXT-578 XTS-2571

Model	Treatment	Geometric mean final tumour volume (cm^3)	Final tumour volume SEM (±)	TGI (%)	TGI (P value)	Day TGI measured	Regression (%)	Regression (P value)	n per arm	*PIK3CA, AKT1* and *PTEN* mutation status	Study code
T486	Capivasertib 100 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/animal	0.15	0.02	99.42	0.07986	28 days	N/A	N/A	3	wt	CXT-578 XTS-2571
BB6RC160	Untreated	1.38	0.24	0.00	N/A	25 days	N/A	N/A	3	wt	CXT-578 XTS-2570
BB6RC160	Capivasertib 100 mg/kg	0.76	0.16	53.88	0.12077	25 days	N/A	N/A	3	wt	CXT-578 XTS-2570
BB6RC160	Fulvestrant 5 mg/animal	0.83	0.32	45.24	0.17112	25 days	N/A	N/A	3	wt	CXT-578 XTS-2570
BB6RC160	Capivasertib 100 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/animal	0.74	0.21	52.28	0.12479	25 days	N/A	N/A	3	wt	CXT-578 XTS-2570

Note: capivasertib dosed as indicated in a 4 days on 3 days off bid schedule. Fulvestrant is dose once weekly.

表 14　　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントの有無によるカピバセルチブの腫瘍増殖抑制に関するデータ及び統計値の要約

Model	Treatment	Geometric mean final tumour volume (cm^3)	Final tumour volume SEM (±)	TGI (%)	TGI (P value)	Day TGI measured	Regression (%)	Regression (P value)	n per arm	*PIK3CA, AKT1* and *PTEN* mutation status	Study code
ST1799	Vehicle	1.44	0.26	0.00	N/A	42 days	N/A	N/A	6	PIK3CA_E542K	20057-102
ST1799	Capivasertib 130 mg/kg	0.70	0.18	71.39	0.00982	42 days	N/A	N/A	5	PIK3CA_E542K	20057-102
ST1799	Fulvestrant 5 mg/animal	0.13	0.05	103.72	0.00265	42 days	27.10	0.03570	5	PIK3CA_E542K	20057-102

表 14　　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントの有無によるカピバセルチブの腫瘍増殖抑制に関するデータ及び統計値の要約

Model	Treatment	Geometric mean final tumour volume (cm^3)	Final tumour volume SEM (±)	TGI (%)	TGI (P value)	Day TGI measured	Regression (%)	Regression (P value)	n per arm	*PIK3CA, AKT1* and *PTEN* mutation status	Study code
ST1799	Capivasertib 130 mg/kg ; Fulvestrant 5 mg/animal	0.05	0.02	109.64	0.00215	42 days	70.31	0.00213	5	PIK3CA_E542K	20057-102
ST1799 PBR HI	Vehicle	1.28	0.14	0.00	N/A	28 days	N/A	N/A	6	PIK3CA_E542K	19115-102
ST1799 PBR HI	Capivasertib 130 mg/kg	1.04	0.23	30.12	0.18926	28 days	N/A	N/A	5	PIK3CA_E542K	19115-102
ST1799 PBR HI	Fulvestrant 5 mg/animal	0.51	0.12	70.33	0.00496	28 days	N/A	N/A	5	PIK3CA_E542K	19115-102
ST1799 PBR HI	Capivasertib 130 mg/kg: Fulvestrant 5 mg/animal	0.34	0.10	89.05	0.00194	28 days	N/A	N/A	5	PIK3CA_E542K	19115-102
CTC174	Vehicle	2.14	0.10	0.00	N/A	28 days	N/A	N/A	8	PIK3CA N345K	AKT2109
CTC174	Capivasertib 130 mg/kg	0.57	0.18	84.62	0.01668	28 days	N/A	N/A	7	PIK3CA N345K	AKT2109
CTC174	Fulvestrant 5 mg/animal	0.77	0.08	62.34	0.04972	28 days	N/A	N/A	7	PIK3CA N345K	AKT2109
CTC174	Capivasertib 130 mg/kg ; Fulvestrant 5 mg/animal	0.23	0.12	99.72	0.00956	28 days	N/A	N/A	8	PIK3CA N345K	AKT2109
HBCx-19	Untreated	1.25	0.38	0.00	N/A	14 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E542K	CXT-578 XTS-2566
HBCx-19	Capivasertib 100 mg/kg	0.56	0.29	64.33	0.06688	14 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E542K	CXT-578 XTS-2566

表 14　　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントの有無によるカピバセルチブの腫瘍増殖抑制に関するデータ及び統計値の要約

Model	Treatment	Geometric mean final tumour volume (cm^3)	Final tumour volume SEM (±)	TGI (%)	TGI (P value)	Day TGI measured	Regression (%)	Regression (P value)	n per arm	*PIK3CA, AKT1* and *PTEN* mutation status	Study code
HBCx-19	Fulvestrant 5 mg/animal	0.63	0.28	56.18	0.08156	14 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E542K	CXT-578 XTS-2566
HBCx-19	Capivasertib 100 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/animal	0.30	0.06	84.01	0.04545	14 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E542K	CXT-578 XTS-2566
MCF-7	Vehicle	1.54	0.15	0.00	N/A	21 days	N/A	N/A	12	PIK3CA E545K	AKT1216
MCF-7	Fulvestrant 5 mg/mouse 3 x weekly	1.05	0.05	45.97	0.02273	21 days	N/A	N/A	9	PIK3CA E545K	AKT1216
MCF-7	Capivasertib 150 mg/kg BID 4 on 3 off	0.95	0.10	48.70	0.00968	21 days	N/A	N/A	9	PIK3CA E545K	AKT1216
MCF-7	Capivasertib 150 mg/kg BID 4 on 3 off ; Fulvestrant 5 mg/mouse 3xweekly	0.39	0.05	97.28	0.00005	21 days	N/A	N/A	9	PIK3CA E545K	AKT1216
T272	Untreated	1.08	0.30	0.00	N/A	18 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E39K / PTEN ex2-4 del	CXT-578 XTS-2567
T272	Capivasertib 100 mg/kg	0.98	0.37	19.47	0.28403	18 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E39K / PTEN ex2-4 del	CXT-578 XTS-2567

表 14　　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントの有無によるカピバセルチブの腫瘍増殖抑制に関するデータ及び統計値の要約

Model	Treatment	Geometric mean final tumour volume (cm^3)	Final tumour volume SEM (±)	TGI (%)	TGI (P value)	Day TGI measured	Regression (%)	Regression (P value)	n per arm	*PIK3CA, AKT1* and *PTEN* mutation status	Study code
T272	Fulvestrant 5 mg/animal	0.20	0.09	92.86	0.12121	18 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E39K / PTEN ex2-4 del	CXT-578 XTS-2567
T272	Capivasertib 100 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/animal	0.17	0.22	96.35	0.11987	18 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E39K / PTEN ex2-4 del	CXT-578 XTS-2567
BCx-015-ROU	Untreated	0.63	0.11	0.00	N/A	25 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E545K / E726K	CXT-578 XTS-2568
BCx-015-ROU	Capivasertib 100 mg/kg	0.30	0.09	70.20	0.07064	25 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E545K / E726K	CXT-578 XTS-2568
BCx-015-ROU	Fulvestrant 5 mg/animal	0.50	0.04	25.39	0.23882	25 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E545K / E726K	CXT-578 XTS-2568
BCx-015-ROU	Capivasertib 100 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/animal	0.42	0.07	39.02	0.15667	25 days	N/A	N/A	3	PIK3CA E545K / E726K	CXT-578 XTS-2568
ST3932	Vehicle	0.99	0.35	0.00	N/A	35 days	N/A	N/A	6	PIK3CA R88Q / PTEN del	19115-102
ST3932	Capivasertib 130 mg/kg	0.49	0.27	66.41	0.10475	35 days	N/A	N/A	5	PIK3CA R88Q / PTEN del	19115-102
ST3932	Fulvestrant 5 mg/animal	1.39	0.10	-45.61	0.21463	35 days	N/A	N/A	5	PIK3CA R88Q / PTEN del	19115-102

表 14　　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントの有無によるカピバセルチブの腫瘍増殖抑制に関するデータ及び統計値の要約

Model	Treatment	Geometric mean final tumour volume (cm^3)	Final tumour volume SEM (±)	TGI (%)	TGI (P value)	Day TGI measured	Regression (%)	Regression (P value)	n per arm	*PIK3CA, AKT1* and *PTEN* mutation status	Study code
ST3932	Capivasertib 130 mg/kg: Fulvestrant 5 mg/animal	0.28	0.02	92.34	0.01789	35 days	N/A	N/A	5	PIK3CA R88Q / PTEN del	19115-102
ZR-75-1	Vehicle	0.73	0.06	0.00	N/A	28 days	N/A	N/A	10	PTEN T323G	AKT2108
ZR-75-1	Capivasertib 100 mg/kg	0.78	0.07	-4.53	0.33056	28 days	N/A	N/A	9	PTEN T323G	AKT2108
ZR-75-1	Capivasertib 100 mg/kg ; Fulvestrant 5 mg/animal	0.53	0.06	40.17	0.02776	28 days	N/A	N/A	8	PTEN T323G	AKT2108
ZR-75-1	Fulvestrant 5 mg/animal	0.75	0.10	-21.03	0.12729	28 days	N/A	N/A	8	PTEN T323G	AKT2108
CTG3302	Vehicle	1.80	0.14	0.00	N/A	17 days	N/A	N/A	8	PTEN del	CIV-20-351
CTG3302	Fulvestrant 5 mg/animal	1.62	0.13	16.74	0.11811	17 days	N/A	N/A	8	PTEN del	CIV-20-351
CTG3302	Capivasertib 100 mg/kg	1.00	0.14	49.82	0.00266	17 days	N/A	N/A	8	PTEN del	CIV-20-351
CTG3302	Capivasertib 100 mg/kg ; Fulvestrant 5 mg/animal	0.77	0.14	64.29	0.00095	17 days	N/A	N/A	8	PTEN del	CIV-20-351
HBCx-3	Untreated	0.59	0.07	0.00	N/A	25 days	N/A	N/A	3	PTEN L420fs	CXT-578 XTS-2564
HBCx-3	Capivasertib 100 mg/kg	0.52	0.03	16.39	0.29643	25 days	N/A	N/A	3	PTEN L420fs	CXT-578 XTS-2564

表 14　　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントの有無によるカピバセルチブの腫瘍増殖抑制に関するデータ及び統計値の要約

Model	Treatment	Geometric mean final tumour volume (cm^3)	Final tumour volume SEM (±)	TGI (%)	TGI (P value)	Day TGI measured	Regression (%)	Regression (P value)	n per arm	*PIK3CA, AKT1* and *PTEN* mutation status	Study code
HBCx-3	Fulvestrant 5 mg/animal	0.53	0.08	13.62	0.20642	25 days	N/A	N/A	3	PTEN L420fs	CXT-578 XTS-2564
HBCx-3	Capivasertib 100 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/animal	0.36	0.09	51.49	0.02104	25 days	N/A	N/A	3	PTEN L420fs	CXT-578 XTS-2564
HBCx-22	Untreated	0.60	0.11	0.00	N/A	25 days	N/A	N/A	3	PTEN P276fs	CXT-578 XTS-2569
HBCx-22	Capivasertib 100 mg/kg	0.43	0.10	49.55	0.08137	25 days	N/A	N/A	3	PTEN P276fs	CXT-578 XTS-2569
HBCx-22	Fulvestrant 5 mg/animal	0.45	0.07	44.79	0.09370	25 days	N/A	N/A	3	PTEN P276fs	CXT-578 XTS-2569
HBCx-22	Capivasertib 100 mg/kg; Fulvestrant 5 mg/animal	0.27	0.00	96.28	0.02258	25 days	N/A	N/A	3	PTEN P276fs	CXT-578 XTS-2569
ST3632	Vehicle	0.88	0.12	0.00	N/A	28 days	N/A	N/A	6	AKT1 E17K	19115-102
ST3632	Capivasertib 130 mg/kg	0.55	0.08	45.68	0.01198	28 days	N/A	N/A	5	AKT1 E17K	19115-102
ST3632	Fulvestrant 5 mg/animal	0.98	0.13	-7.95	0.36447	28 days	N/A	N/A	5	AKT1 E17K	19115-102

表 14　　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントの有無によるカピバセルチブの腫瘍増殖抑制に関するデータ及び統計値の要約

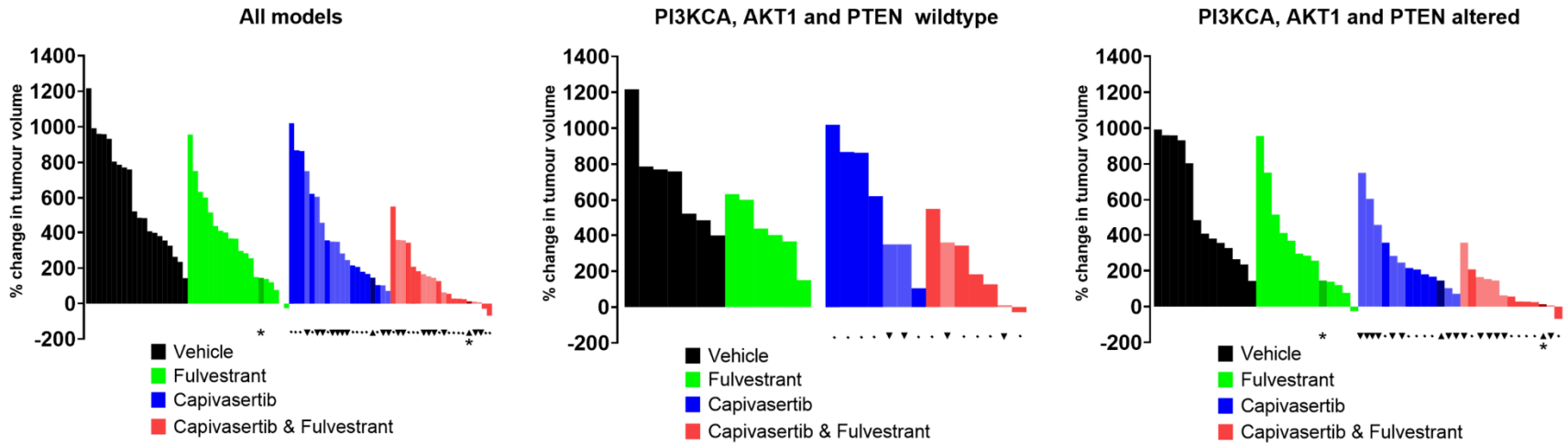
Model	Treatment	Geometric mean final tumour volume (cm^3)	Final tumour volume SEM (±)	TGI (%)	TGI (P value)	Day TGI measured	Regression (%)	Regression (P value)	n per arm	*PIK3CA, AKT1* and *PTEN* mutation status	Study code
ST3632	Capivasertib 130 mg/kg: Fulvestrant 5 mg/animal	0.22	0.04	95.40	0.00021	28 days	N/A	N/A	6	AKT1 E17K	19115-102

Capivasertib dosed as indicated in a 4 days on 3 days off bid schedule. Fulvestrant is dosed once weekly unless otherwise indicated.

表 15　　ER 陽性 *PIK3CA*、*AKT1* 又は *PTEN* 変異乳癌モデルと非変異乳癌モデルのパネルにおける治療群の統計値の要約

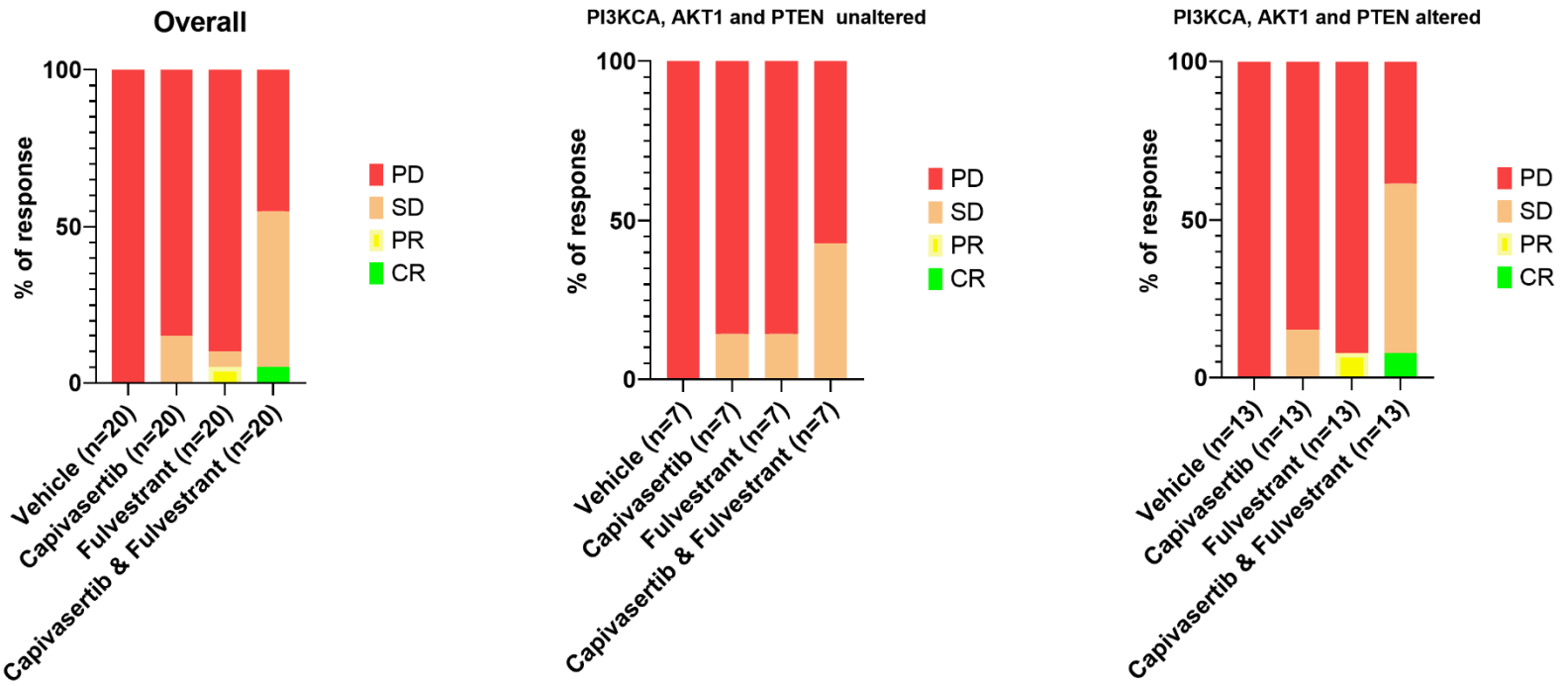
Model	Comparison of treatment groups (P-Value)		
	Capivasertib vs Fulvestrant	Capivasertib versus Capivasertib & Fulvestrant	Fulvestrant Versus Capivasertib & Fulvestrant
ST941	0.14787	0.12116	0.32674
ST941 PBR	0.00063	0.00309	0.33794
ST941 PBR HI	0.17563	0.06199	0.10999
ST3164 B PBR	0.02365	0.34098	0.02665
HBCx-34	0.00312	0.00277	0.04006
T486	0.07559	0.02660	0.01302
BB6RC160	0.33034	0.46822	0.34990
ST1799	0.01306	0.01015	0.00353
ST1799 PBR HI	0.05857	0.02505	0.01180
CTC174	0.14906	0.07196	0.04831
HBCx-19	0.27823	0.05598	0.04827
MCF-7	0.49287	0.00163	0.00041
T272	0.00700	0.00409	0.46612
BCx-015-ROU	0.04191	0.06382	0.26520
ST3932	0.02363	0.13101	0.00012
ZR-75-1	0.04545	0.01496	0.00668
CTG3302	0.00475	0.14759	0.00198
HBCx-3	0.49320	0.11240	0.05246
HBCx-22	0.41361	0.02723	0.00681
ST3632	0.02017	0.00258	0.00177

図 22　　ER 陽性乳癌モデルのカピバセルチブ、フルベストラント及び両薬併用による治療後の試験期間中の腫瘍体積の変化率



Highlights percentage change in tumour volume with capivasertib and fulvestrant, along and in combination across a panel of *PIK3CA, AKT1* and *PTEN* wild type and altered models. Bars represent mean percentage change in tumour volume at end of dosing period for each model. Lighter shade of colour indicate 100 mg/kg capivasertib either with or without once weekly fulvestrant 5 mg, this is also highlighted with a downward pointed triangle below bar (▼). Mid shade of colour indicate 130 mg/kg capivasertib either with or without once weekly fulvestrant 5 mg/animal, this is also highlighted with a dash below bar (-). Darker shade of colour indicates 150 mg/kg capivasertib either with or without 3x weekly fulvestrant 5 mg/animal or 3x weekly fulvestrant 5 mg/animal in the case of monotherapy fulvestrant, this is also highlighted with a upward pointing arrow below bar for 150 mg/kg capivasertib (▲) and an asterix for 3x weekly fulvestrant 5 mg/animal (*).

図 23　　ER 陽性乳癌モデルのパネルにおける固定用量のフルベストラントを併用時又は非併用時のカピバセルチブに対する *in vivo* 反応



Representation of the anti-tumour activity observed in a panel of ER+ tumour models based on criteria published in Gao et al 2014. Bars represent percentage of response as categorised by criteria in. PD = Progressive Disease; SD = Stable Disease; PR = Partial Response; CR = Complete Response. N numbers in x-axis titles = the number of models contributing to percentages

2.6.2.2.2.3.7　ER 陽性乳癌異種移植モデル CTC174 にカピバセルチブとフルベストラントを併用投与後の薬力学的バイオマーカーの評価

ER 陽性乳癌患者由来モデル CTC174（*ESR1* D538G, *PIK3CA* N345K）において、カピバセルチブとフルベストラント（ER 分解促進薬、SERD）の併用投与による薬力学作用の変化を評価するため、カピバセルチブ（100 mg/kg 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬、最終日は午前の 1 回のみ投与）の単独投与とフルベストラント（5 mg/kg 皮下投与 1 回）との併用投与を比較した。内分泌療法薬フルベストラントとカピバセルチブの併用により、pPRAS40（図 24）、pS6（図 25）及び p4EBP1（図 26）の 3 つのバイオマーカー全てのリン酸化レベルが低下した。カピバセルチブ単独投与によってもバイオマーカーpPRAS40（図 24）、pS6 及び p4EBP1 のレベルが低下した（図 25 及び図 26）。Cyclin D-CDK4/6 が標的とする網膜芽細胞腫タンパク質 RB は、リン酸化により不活化されるまで細胞周期の進行を抑制する。フルベストラントとカピバセルチブの併用投与後、サイクリン D1 に続いてリン酸化 RB1 のレベルが顕著に低下した（図 27）。フルベストラント又は内分泌療法とカピバセルチブを併用した場合、ER タンパク質レベルの顕著な低下が認められた（図 28）。個々の群平均値（及び SEM）を表 16 及び表 17 に要約する（Pharmacology Report 30 参照）。

以上より、ER 陽性患者由来モデル CTC174（*ESR1* D538G, *PIK3CA* N345K）にカピバセルチブとフルベストラントを併用投与したところ、AKT の下流にある主要な経路バイオマーカー及び mTOR、並びに主要な細胞周期調節因子が阻害された。細胞周期バイオマーカーに対する作用は、併用投与群でより著明であった。

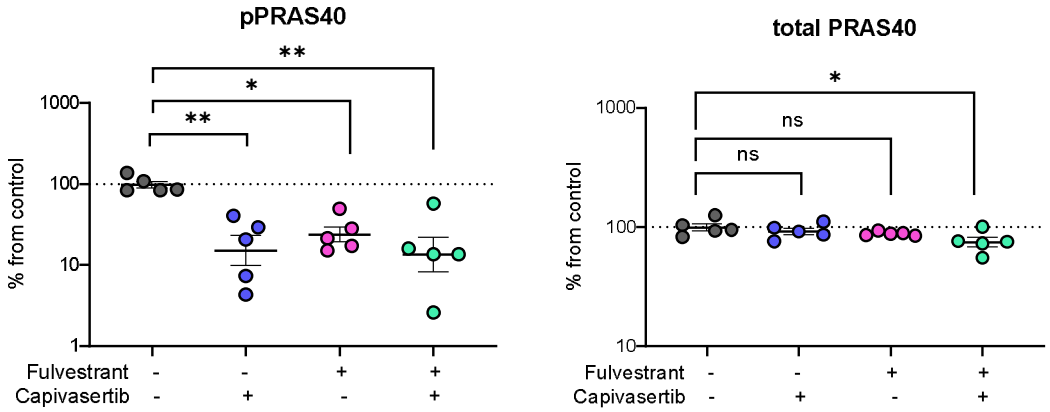
表 16　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* N345K）：カピバセルチブ及びフルベストラントを投与後の AKT 及び mTOR 下流基質又は調節因子の pPRAS40（Thr246）、pS6（Ser235/236）及び p4EBP1（Thr37/46）の薬力学的変化（%）

	CTC174					
	pPRAS40		pS6		p4EBP1	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
Vehicle	100.00	10.55	100.00	16.32	100.00	9.43
Capivasertib	20.46	6.78	43.73	9.56	41.58	9.86
Fulvestrant	26.33	6.23	79.86	18.95	46.45	8.16
Fulvestrant + Capivasertib	20.73	9.57	33.64	11.81	40.82	17.26

表 17　　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* N345K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の細胞周期調節因子 pRB1（S807/811）、サイクリン D1 及び ER の薬力学的変化（%）

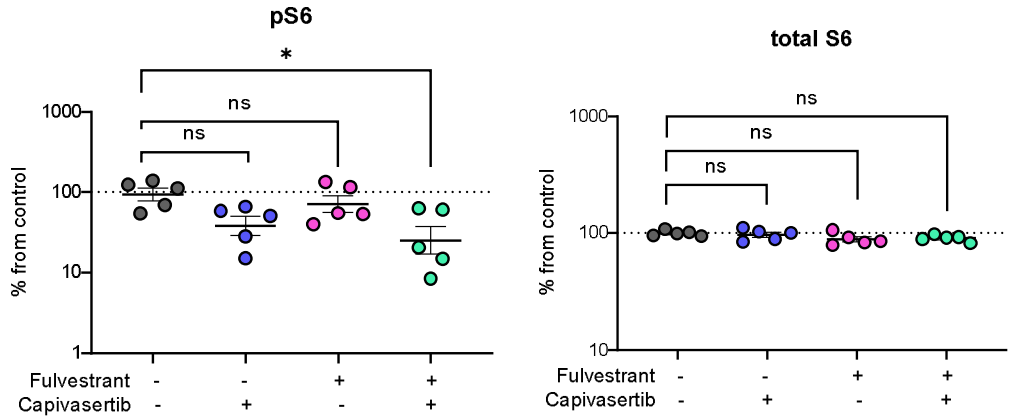
	CTC174					
	pRB1		Cyclin D1		ER	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
Vehicle	100.00	14.95	100	4.5	100.00	4.50
Capivasertib	87.03	6.12	105.45	10.99	105.45	10.99
Fulvestrant	70.88	16.21	99.22	4.9	31.41	7.08
Fulvestrant + Capivasertib	18.83	8.38	75.66	5.6	40.78	14.53

図 24　　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* E542K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の pPRAS40（Thr246）及び総 PRAS40



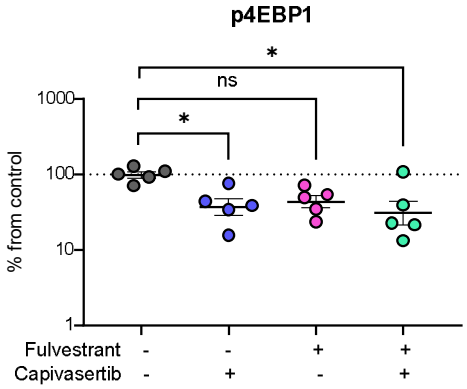
The percentage change in pPRAS40 and total PRAS40 for each tumor analysed in the study. The group mean with SEM are represented. Statistical significance in the change from control is shown * =p<0.05; ** =p<0.005; *** = p<0.0005.

図 25　　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* E542K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の pS6（Ser235/236）及び総 S6



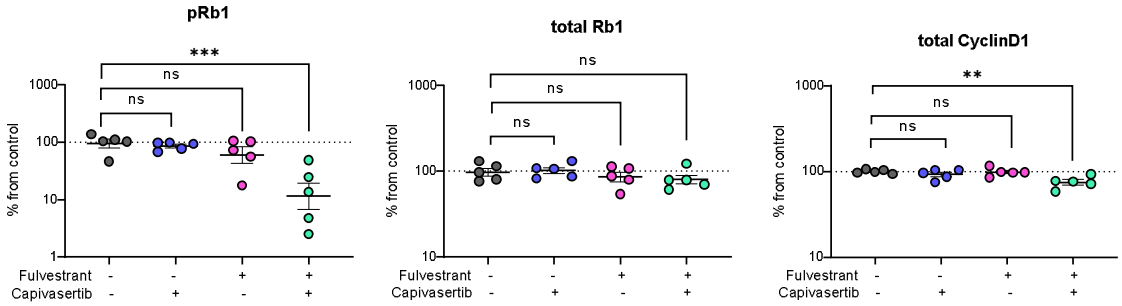
The percentage change in pS6 and total S6 for each tumor analysed in the study. The group mean with SEM are represented. Statistical significance in the change from control is shown * = p<0.05; ** = p<0.005; *** = p<0.0005.

図 26　　CTC174 PDX（*ESR1* D538G *PIK3CA* E542K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の p4EBP1（Thr37/46）



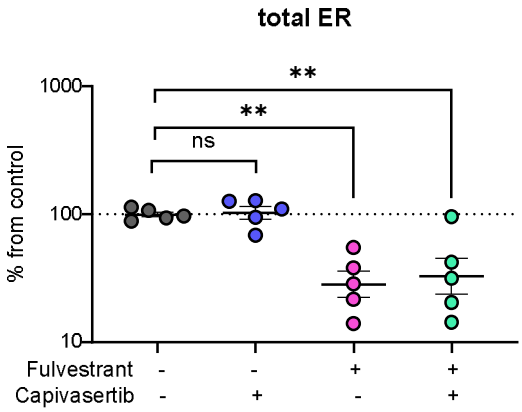
The percentage change in p4EBP1 for each tumor analysed in the study. The group mean with SEM are represented. Statistical significance in the change from control is shown * = p<0.05; ** = p<0.005; *** = p<0.0005.

図 27　　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* E542K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の pRB1（S807/811）、総 RB1 及び総サイクリン D1



The percentage change in pRB1, total RB1 and total cyclinD1 for each tumor analysed in the study. The group mean with SEM are represented. Statistical significance in the change from control is shown * = p<0.05; ** = p<0.005; *** = p<0.0005.

図 28　　CTC174 PDX（*ESR1* D538G, *PIK3CA* E542K）：カピバセルチブとフルベストラントを投与後の総 ER



The percentage change in total ER for each tumor analysed in the study. The group mean with SEM are represented. Statistical significance in the change from control is shown * = p<0.05; ** = p<0.005; *** = p<0.0005.

2.6.2.2.2.3.8　ER 陽性乳癌 PDX モデルに増量したカピバセルチブをフルベストラントと併用投与後の薬力学的バイオマーカーの変化

種々の用量のカピバセルチブとフルベストラントを併用した場合の薬力学的バイオマーカータンパク質の変化を調べるため、併用投与に感受性を示す 2 種の ER 陽性乳癌 PDX モデルに 4 日間投与を行った。カピバセルチブ単独投与及びフルベストラントとの併用投与により、ST1799HIPBR（*ESR1*wt, *PIK3CA* E542K）及び ST3932（*ESR1*wt, *PIK3CA* R88Q, *PTEN* del）の両モデルにおいて pAKT（Serine 473）レベルが上昇した。

ST1799PBRHI モデルでは、pPRAS40 の減少が 130 mg/kg 及び 100 mg/kg の 1 日 2 回投与で認められたが 60 mg/kg の 1 日 2 回投与では認められなかった（表 18）。フルベストラントと併用し、カピバセルチブ 130 mg/kg を 1 日 2 回 4 日間投与したところ、pS6（distal バイオマーカー）レベルの低下が認められた（表 18）。

ST3932 モデルでは、pPRAS40 の変化は高用量でもわずかであったが、pS6 の顕著な減少が、フルベストラントと併用し、カピバセルチブ 130 mg/kg 及び 100 mg/kg を 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬するスケジュールの 4 日間投与後に認められた（表 19）。

両試験において、フルベストラントと併用しカピバセルチブ 130 mg/kg を 1 日 2 回投与した場合、プロテインキナーゼ B（AKT）及び mTOR の下流にある主要な経路バイオマーカーが阻害された。経路変化のパターンは試験間で一貫性がなく、AKT の下流バイオマーカーの変化は不均一で、腫瘍によって異なる可能性があることが示唆された。モデル間のバイオマーカーの変化は不均一であったが、総じて、1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬の用量を 130 mg/kg から 100 mg/kg、さらに 60 mg/kg に減量するに従い、バイオマーカー変化が減少することが示された（表 18、表 19）。このことから、カピバセルチブに対する用量反応性の勾配が比較的大きく、減量により経路阻害が抑制される可能性があることが考えられた。以上のデータは、これらのモデルで 130 mg/kg、100 mg/kg 及び 60 mg/kg の 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬を比較したときにみられた抗腫瘍効果の変化と合致していた（表 12、Pharmacology Report 26）。

表 18　　ST1799PBRHI PDX（*ESR1*wt, *PIK3CA* E542K）4 日目の薬力学的変化：pAKT（Ser473）並びに mTOR 下流基質及び調節因子の PRAS40（Thr246）及び S6（Ser235/236）のリン酸化

	ST1799PBRHI Day 4 (n=5 per arm)					
	pAKT		pPRAS40		pS6	
	Average (% change relative to control)	SEM	Average (% change relative to control)	SEM	Average (% change relative to control)	SEM
Vehicle	100.00	21.50	100.00	22.48	100.00	18.18
Fulvestrant + capivasertib (60 mg/kg)	14642.44	5299.92	49.85	17.12	98.23	7.72
Fulvestrant + capivasertib (100 mg/kg)	64699.11	32038.96	21.76	3.65	111.55	21.90
Fulvestrant + capivasertib (130 mg/kg)	6341.69	2817.29	34.81	9.66	52.87	2.73

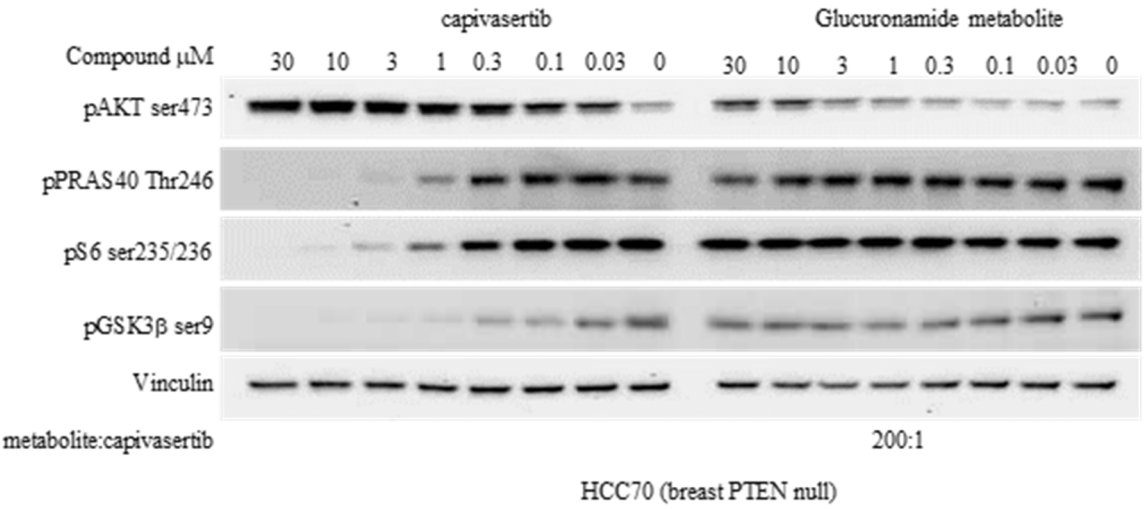
表 19　ST3932 PDX（*ESR1*wt, *PIK3CA* R88Q, *PTEN*del）4 日目の薬力学的変化：pAKT（Ser473）並びに mTOR 下流基質及び調節因子の PRAS40（Thr246）及び S6（Ser235/236）のリン酸化

	ST3932 Day 4 (n=5 per arm)					
	pAKT		pPRAS40		pS6	
	Average (% change relative to control)	SEM	Average (% change relative to control)	SEM	Average (% change relative to control)	SEM
Vehicle	100.00	21.61	100.00	18.16	100.00	13.33
Fulvestrant + capivasertib (60 mg/kg)	222.86	61.25	127.10	12.99	25.70	6.45
Fulvestrant + capivasertib (100 mg/kg)	255.91	44.21	148.05	16.01	21.27	5.31
Fulvestrant + capivasertib (130 mg/kg)	234.86	43.69	117.10	14.31	14.61	3.72

2.6.2.2.2.4 AKT 阻害薬カピバセルチブ（AZD5363）のエーテル型グルクロン酸抱合体 AZ14102143 の *in vitro* 細胞活性

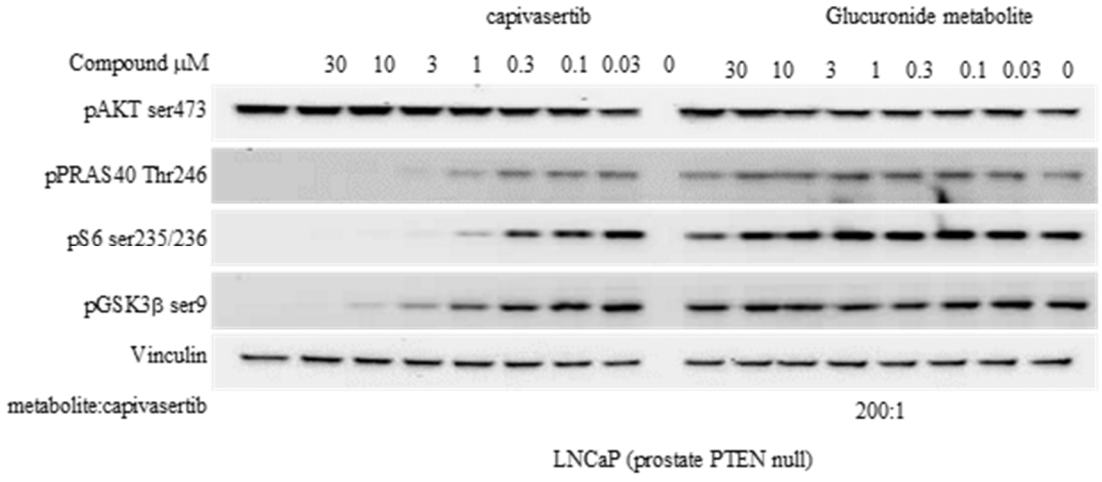
ヒトにおけるカピバセルチブの主要な血中代謝物は、エーテル型グルクロン酸抱合体 AZ14102143 と同定された。AZ14102143 の *in vitro* の細胞における活性を HCC70（*PTEN* null 乳癌細胞）及び LNCAP（*PTEN* null 前立腺癌細胞）で検討した（図 29、図 30）。AZ14102143 及びカピバセルチブ処理後の AKT 下流基質 PRAS40、S6 及び GSK3β のリン酸化阻害をウエスタンブロット法により評価し、比較した。試験条件下、AZ14102143 は 10 μM まで PRAS40、S6 及び GSK3β のリン酸化に影響を及ぼさなかった。対照的に、カピバセルチブは 0.3 μM 以上の濃度で PRAS40、S6 及び GSK3β のリン酸化を阻害した。代謝物 AZ14102143 は、30 μM で LNCaP 細胞の PRAS40 及び S6 のリン酸化、HCC70 細胞の PRAS40 のリン酸化をわずかに阻害したが、代謝物溶液 1 μM 中に 1～5 nM の親化合物カピバセルチブを含むことが質量分析で示されたため、30 μM の代謝物 AZ14102143 でみられた PRAS40 及び S6 のリン酸化の阻害は、少量の親化合物カピバセルチブによる可能性が考えられた。以上より、エーテル型グルクロン酸抱合体 AZ14102143 は 30 μM まで *in vitro* の細胞活性がなく、PI3K/AKT シグナル伝達経路を阻害しないことが示された（Pharmacology Report BE002154-03）。

図 29　　カピバセルチブと AZ14102143 で 2 時間処理後の HCC70 細胞における AKT 経路バイオマーカーの用量依存的制御



Western blot analysis of lysates from HCC70 cells treated for 2 hours with capivasertib and AZ14102143. Cells treated with capivasertib showed reduced levels of phosphorylated AKT substrates PRAS40 and S6 from 0.3 to 30 μM and of GSK3β from 0.1 to 30 μM. Cells treated with AZ14102143 showed no reduction in levels of phosphorylated substrates S6 and GSK3β up to 30 μM. At 30 μM partial reduction in levels of phosphorylated PRAS40 was observed. Mass spectrometry detected that the AZ14102143 preparation contained capivasertib at a 1 : 200 ratio (capivasertib:AZ14102143). Data is representative of 2 similar experiments.

図 30　　カピバセルチブと AZ14102143 で 2 時間処理後の LNCaP 細胞における AKT 経路バイオマーカーの用量依存的制御



Western blot analysis of lysates from LNCaP cells treated for 2 hours with capivasertib and AZ14102143. Cells treated with capivasertib showed reduced levels of phosphorylated AKT substrates PRAS40, S6 and GSK3β from 0.3 to 30 μM. Cells treated with AZ14102143 showed no reduction in levels of phosphorylated substrate GSK3β up to 30 μM. At 30 μM partial reduction in levels of phosphorylated PRAS40 and S6 were observed. Mass spectrometry detected that the AZ14102143 preparation contained capivasertib at a 1 : 200 ratio (capivasertib:AZ14102143). Data is representative of 2 similar experiments.

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 *In vitro* 放射性リガンド結合、酵素及び電気生理学的試験における選択性スクリーニング（0895SY 試験）

種々の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素を含む 333 種の分子パネルの *in vitro* の放射性リガンド結合及び酵素試験によりカピバセルチブを評価した（10 μM の単一濃度で繰り返し測定）。333 種中 8 種で顕著な活性（30%を上回る阻害）が認められた。この 8 種について濃度反応曲線を作図し、IC_{50} 値及び K_i 値を算出した（表 20）。また、7 種の心臓イオンチャネルのパネルを用いた *in vitro* の電気生理学的試験において、100 μM までの種々の濃度のカピバセルチブを評価した結果、最高濃度でいずれのイオンチャネルに対しても 50%を上回る阻害を示さなかった（明確な IC_{50} 値は得られなかった）。

表 20 *In vitro* 放射性リガンド結合、酵素及び電気生理学的試験におけるカピバセルチブの作用

Target [a]	IC_{50} (μM)	K_i (μM)	Slope
ROCK1, Protein Serine/Threonine Kinase	0.47	n.d.	n.d.
FGFR1, Protein tyrosine Kinase	6.06	n.d.	n.d.
Melanocortin MC5	7.77	7.29	0.933
YES1, Protein Tyrosine Kinase	11.1	n.d.	n.d.
UGT1A1, UDP Glucuronosyltransferase	12.8	n.d.	n.d.
PDE4, Phosphodiesterase	37.5	n.d.	n.d.
Calcium channel L-type, Benzothiazepine (Rat)	40.8	36.2	0.963
Proteasome	62.3	n.d.	n.d.

[a] All human except where noted.

n.d.：Not determined

2.6.2.4 安全性薬理試験

カピバセルチブの一連の安全性薬理試験及び追加のフォローアップ／探索的試験を実施し、中枢／末梢神経系、心血管系、呼吸器系、消化器系及び腎機能に影響を及ぼす可能性について検討した。これらの試験は、ICH 安全性薬理試験ガイドライン（ICH S7A、ICH S7B）に従い実施した。特記しない限り、*in vivo* 試験のカピバセルチブは 0.5% w/v ヒドロキシプロピルメチルセルロースを溶媒として強制経口投与した。ただし、モルモットの試験では 40% DMA、40% PEG400 及び 40% HPBCD を 20%含有する 0.9%生理食塩水溶液を用いて静脈内投与し、ラットのテレメトリー試験では 10%DMSO 及び 25% Kleptose を含有する蒸留水溶液を用いた。一部の試験ではカピバセルチブを AZD5363 又は AZ12952302 と記載した。非結合形血漿中濃度は、次の血漿タンパク非結合形薬物分率を用いて算出した；23.5%（ラット）、20.4%（モルモット）及び 19.2%（イヌ）（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項参照）。特記しない限り、作用（%変化）は対溶媒対照群で記した。実施した試験及びその GLP 準拠状況を表 1 に示し、結果の要約及び試験毎の使用動物数を薬理試験概要表 2.6.3.4 項に示す。

2.6.2.4.1　中枢神経系（2692SR 試験）

自律神経、神経筋、感覚運動及び行動の各パラメータに対するカピバセルチブの影響について、Irwin スクリーニング変法を用い、覚醒雄ラットに 0（溶媒）、30、100 又は 150 mg/kg を単回経口投与後 24 時間まで評価した。

生存期間中、カピバセルチブ 30、100 及び 150 mg/kg 投与の 4.3 時間後のカピバセルチブの総（及び非結合形）血漿中濃度の群平均値は、それぞれ 0.624（0.15）、4.03（0.95）及び 4.28（1.0）μM であった。サテライト群のラットの薬物動態評価における、総（及び非結合形）カピバセルチブ血漿中 C_{max} の群平均値は、用量 30、100 及び 150 mg/kg に対し、それぞれ 2.75（0.65）、11.0（2.6）及び 16.1（3.8）μM であった。

カピバセルチブの 100 又は 150 mg/kg 投与 4 時間後まで、運動に関連した副作用として自発運動及び接触反応の低下が認められた。また、体重減少が 100 及び 150 mg/kg 群で投与 24 時間後に認められた。神経系への影響に関する NOEL は 30 mg/kg であった。

2.6.2.4.2　心血管系

2.6.2.4.2.1　hERG チャネルに対する作用（0354SZ 試験）

hERG にコードされるカリウムチャネルに対するカピバセルチブの作用を 10～100 μM の濃度範囲で調べた結果、カピバセルチブによる hERG の阻害が認められ、その IC_{50} 値は 73 μM であった。

2.6.2.4.2.2　イヌ心室筋細胞に対する作用（2192SV 試験）

イヌ心室筋細胞の活動電位パラメータに対するカピバセルチブの作用を検討した。カピバセルチブ 0.3、3、30 及び 100 μM のデータから累積濃度－作用曲線を作図した。

カピバセルチブは、活動電位持続時間（APD）に関して「釣鐘状」の濃度－作用曲線となり、3 及び 30 μM で APD_{90} の延長が認められた。同様の「釣鐘状」の反応が APD_{70} 及び APD_{50} で認められたが、これらの変化はいずれも統計学的有意ではなかった。NOEL は 0.3 μM であった。

2.6.2.4.2.3　ラット摘出大動脈に対する作用（PH/E/12009 試験）

ラット摘出胸部大動脈の収縮機能に対するカピバセルチブの作用を検討し、カピバセルチブ濃度 0.01～100 μM で累積濃度－作用曲線を作図した。

カピバセルチブは収縮前大動脈の直接弛緩を誘発した。最小活性濃度は 1～3 μM であり、30 μM 以上で顕著な弛緩が認められた。カピバセルチブに曝露された組織では、ウォッシュアウト後、収縮反応はほぼ完全に回復した。

2.6.2.4.2.4　ウサギ摘出心臓に対する作用（0255SB 試験）

ウサギ摘出心臓を用いて、APD、伝導速度及び冠血流量に対するカピバセルチブの作用を検討した。また、不整脈誘発リスクの指標と考えられるシグナル形状の三角形化、逆頻度依存性及び不安定性の 3 つのパラメータを導出し、不整脈の明らかな徴候（例：早期後脱分極［EAD］）を調べた。カピバセルチブの濃度 0.3、1、3、10 及び 30 μM のデータから累積濃度－作用曲線を作図した。

カピバセルチブは「釣鐘状」濃度－作用曲線を示す APD_{60} の短縮を誘発した。低頻度の三角形化、逆頻度依存性又は不安定性が認められたが、EAD は認められなかった。全ての濃度において

TdP 不整脈誘発スコアは 25（Lawrence et al 2006 の定義で懸念される閾値）未満であった。濃度に関連した冠血流量増加が認められた。カピバセルチブ 1 μM を超えるいくつかの濃度において、6 例中 3 例の心臓に心室性頻脈（VT）が認められた。伝導への影響はみられなかった。

2.6.2.4.2.5　ラット摘出心臓に対する作用（CO100101 試験）

ラット摘出ランゲンドルフ灌流心を用いて、冠血流量、心拍数、及び心筋収縮力に対するカピバセルチブの影響を検討した。カピバセルチブの濃度 0.3、3、10 及び 30 μM のデータから累積濃度－作用曲線を作図した。

カピバセルチブ 30 μM において dP/dt_{max} で定義される心筋収縮力の増加（対ベースライン最大 +13%）がみられ、3 μM 以上では冠血流量増加（対ベースライン最大 100%）がみられた。心拍数への影響はいずれの用量でも認められなかった。NOEL は 0.3 μM あった。

2.6.2.4.2.6　麻酔モルモットの心血管系への作用（0159SG 試験及び 0209SG 試験）

開胸麻酔モルモットにおいて、カピバセルチブの 0（溶媒）、3.5、17.5 又は 35 mg/kg 静脈内投与後の心臓への電気生理学的作用を検討した（0159SG 試験）。心臓ペーシング中に、単相性活動電位（MAP）90%再分極時間（$MAPD_{90}$）、心室伝導速度（QRS 間隔）及び房室（AV）伝導時間、並びに洞調律中の動脈圧及び心拍数を記録した。

総（及び非結合）カピバセルチブ最大血漿中濃度の群平均値は、3.5、17.5 及び 35 mg/kg 投与後、それぞれ 7.36（1.5）、42.9（8.8）及び 90.01（18）μM であった。

カピバセルチブ 35 mg/kg では、血圧及び心拍数の大幅な減少、及び ECG の顕著な ST セグメント上昇が認められ、これらが 2 匹の動物の死因と考えられた。AV 伝導時間の延長も認められた。カピバセルチブは $MAPD_{90}$ に対し影響を及ぼさなかった。

心臓再分極及び伝導に対する影響の NOEL は 3.5 mg/kg であった。

カピバセルチブの心筋収縮力（dP/dt_{max} と定義）への影響を評価するため、別の閉胸麻酔モルモットにカピバセルチブ 3.33（1 匹）及び 10 mg/kg（1 匹）を静脈内投与後、動脈圧、心拍数、左室圧及び心電図を記録した（0209SG 試験）。

その結果、心拍数、血圧、心筋収縮力及び左室収縮期圧に用量依存的な減少が認められた。本試験はイヌテレメトリー試験（1101ZD 試験）での心筋収縮力増加の所見のフォローアップとして実施した探求的試験であった。麻酔モルモットでは収縮力の増加が認められなかったことから、このモデルのさらなる評価は行わなかった。

2.6.2.4.2.7　麻酔ラットの心血管系への作用（PH/E/13611 試験及び 3316SR 試験）

ラットを用い、テレメトリーによる血圧、心拍数及び活動性の測定のための外科的処置後、カピバセルチブの影響を検討した。

カピバセルチブ 150 mg/kg 単回経口投与による特筆すべき変化はいずれのパラメータにもみられなかったが（PH/E/13611 試験）、投与の約 2～3 時間後から収縮期及び拡張期血圧の軽度上昇傾向が認められた。この軽度上昇は正常変動範囲内であり、ラットの活動が高まった時期にみられたことから、生物学的意義はないと考えられた。

別の試験（3316SR 試験）で、テレメトリーによる血圧、心拍数及び QA 間隔（心筋収縮力の間接測定）の測定のための外科的処置後のラットを用いて、カピバセルチブの影響を検討した。カピバセルチブは 0、25、75 及び 150 mg/kg を強制経口投与した。

カピバセルチブ 25 mg/kg 投与により心拍数が 21%低下し、75 及び 150 mg/kg 投与により動脈圧が 19%から 30%に低下したが、心拍数にさらなる顕著な影響はみられなかった。カピバセルチブにより顕著ではない QA 間隔減少が認められ、心筋収縮力の増加が示唆された。

2.6.2.4.2.8 イヌの心血管系への作用（1101ZD 試験及び 1167ZD 試験）

カピバセルチブ経口投与（5、30 及び 40 mg/kg）による、動脈圧（収縮期、拡張期及び平均）、左室（LV）収縮期及び拡張末期圧、LVdP/dt+（心筋収縮力の指標）、LVdP/dt-（心筋弛緩の指標）、心拍数及び ECG パラメータ（PR、QRS 及び QT）への影響を調べるため、雄の覚醒ビーグル犬 4 頭において、テレメトリーにより投与前 1 時間及び投与後 20 時間にわたり記録した（1101ZD 試験）。QT 値は個々の回帰解析を用いて心拍数の変化で補正した（QTcR）。また、体温及び一般症状をモニタリングした。

テレメトリーの期間中、カピバセルチブ 5、30 及び 40 mg/kg 投与の 1 時間後のカピバセルチブの総（及び非結合形）血漿中濃度の群平均値は、それぞれ 1.45（0.28）、9.92（1.9）及び 12.0（2.3）μM であった。

カピバセルチブの全用量において、心拍数の低下が最大 8 時間まで認められた（40 mg/kg 投与 8 時間後に最大 22%低下）。30 及び 40 mg/kg 投与後、収縮期及び拡張期血圧の最大低下が認められ（それぞれ 20～25%及び 28～30%）、4 時間以内に回復した。同じ用量の投与後、QTcR の持続的延長（9 及び 12%、19 及び 27 ms）、LVdP/dt+の増加（45 及び 56%）がみられ、またグルコース（25 及び 43%増加）及びインスリン（31 及び 32 倍増加）レベルの上昇も認められた。

NOAEL は 5 mg/kg と考えられた。

カピバセルチブ投与による心筋収縮力（LVdP/dt+）への影響がアテノロール（0.5 mg/kg）又はベラパミル（0.3 mg/kg）の静脈内投与により軽減する可能性を調べるため、イヌの探索的テレメトリー試験を実施した（1167ZD 試験）。カピバセルチブ 30 mg/kg を経口投与し、4 時間後、溶媒（0.9% w/v 塩化ナトリウム注射用水溶液）の単回静脈内ボーラス注入、若しくはアテノロール又はベラパミルの静脈内点滴を行い、動脈圧、心拍数、左室パラメータ、第 2 誘導心電図（ECG）及び体温を記録した。カピバセルチブによる LVdP/dt+増加はアテノロール投与後に軽減し、点滴開始後 4 時間までに心筋収縮力の回復が認められたが、溶媒投与群で回復が認められたのは 8 時間後であった。ベラパミル静脈内注入もカピバセルチブ 30 mg/kg 経口投与による LVdP/dt+への影響を軽減したが、アテノロールより作用は小さかった。グルコース及びインスリンのレベルの上昇は、アテノロール及びベラパミルのいずれの投与後においても軽減された。

2.6.2.4.3 呼吸器系（2692SR 試験）

呼吸数、一回換気量、毎分換気量、吸気及び呼気時間、ピーク吸気及び呼気流量に対するカピバセルチブの影響を、雄ラットにおいて、0（溶媒）、30、100 又は 150 mg/kg を単回経口投与後 4 時間まで、全身プレチスモグラフィーを用いて検討した。

ラット生存期間中、カピバセルチブ 30、100 及び 150 mg/kg 投与の 4.33 時間後の総（及び非結合形）カピバセルチブ血漿中濃度の群平均値は、それぞれ 0.946（0.22）、3.32（0.78）及び 7.08（1.7）μM であった。サテライト群のラットの薬物動態評価における総（及び非結合形）カピバセルチブ血漿中 C_{max} の群平均値は、30、100 及び 150 mg/kg の用量に対し、それぞれ 2.75（0.65）、11.0（2.6）及び 16.1（3.8）μM であった。

カピバセルチブは、いずれの用量においても呼吸パラメータに影響を及ぼさなかった。NOEL は 150 mg/kg であった。

2.6.2.4.4 消化器系（2692SR 試験）

胃内容排出、腸通過時間に対するカピバセルチブの影響を、雄ラットへの 0（溶媒）、30、100 又は 150 mg/kg 単回経口投与後、charcoal meal 法により検討した。

ラット生存期間中、カピバセルチブ 30、100 及び 150 mg/kg 投与の 1.25 時間後の総（及び非結合形）カピバセルチブ血漿中濃度の群平均値は、それぞれ 2.33（0.55）、6.09（1.4）及び 6.06（1.4）μM であった。サテライト群の薬物動態測定では、総（及び非結合形）カピバセルチブ血漿中 C_{max} 値の群平均値は、30、100 及び 150 mg/kg の用量に対し、それぞれ 2.75（0.65）、11.0（2.6）及び 16.1（3.8）μM であった。

カピバセルチブは、100 及び 150 mg/kg で胃内容排出を用量依存的に阻害し、150 mg/kg では腸通過の減少が認められた。NOEL は 30 mg/kg であった。

2.6.2.4.5 腎機能（09-6713 試験）

腎機能に対するカピバセルチブの影響を、雄ラットに 0（溶媒）、30、100 又は 150 mg/kg を単回経口投与後 24 時間まで検討した。以下のパラメータを測定／算出した：尿量、摂水量、体液バランス、尿 pH、尿及び血漿浸透圧、自由水クリアランス、尿及び血漿濃縮、ナトリウム、カリウム、塩化物、カルシウム、リン、クレアチニン、タンパク質、アルブミン、グルコースの尿中及び血漿中濃度、腎排泄及びクリアランス。

100 及び 150 mg/kg において尿量増加を伴う顕著な糖尿が認められた。全ての用量でナトリウム及び塩化物の分画排泄の増加が、100 及び 150 mg/kg でカリウム及びリンの増加が認められた。また、150 mg/kg で血漿中リン濃度のわずかな上昇、100 及び 150 mg/kg でカリウム濃度のわずかな減少が認められた。NOEL は得られなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

現時点で薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

2.6.2.6 考察及び結論

2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験

カピバセルチブは、臨床用量及び投与スケジュールの範囲において、AKT1、2 及び 3 を強力かつ選択的に阻害した。カピバセルチブは細胞内で、AGC ファミリーキナーゼ以外と比べ、より選択的に AKT を阻害し、p70S6K、PKA 及び ROCK 等の他の AGC ファミリーキナーゼと比べ、AKT に対してより強い阻害作用を示した。カピバセルチブは細胞増殖試験において、*PIK3CA*、*PTEN* 又は *AKT1* に変異がある細胞及び無い細胞の増殖を抑制したが、変異した細胞株でより強力に抑制した。

ヌードマウス及びヌードラットの異種移植腫瘍において AKT 基質のリン酸化を測定した結果、カピバセルチブの経口投与により、血漿中曝露濃度の範囲で一貫した PK／PD 関係が示された。非臨床モデルにおけるカピバセルチブ単独投与の抗腫瘍効果は、4 日間投与 3 日休薬の間欠投与スケジュールによっても維持することができた。

ヒト癌異種移植モデルに対するカピバセルチブ単独投与により、用量依存的な腫瘍増殖抑制作用が示された。ER 陽性乳癌の代表的な *in vivo* 腫瘍モデルにおいて、カピバセルチブとフルベストラントの併用により効果が増強された。効果は *PIK3CA*、*PTEN* 又は *AKT1* に変異がある細胞及び変異が無い細胞で認められた。併用投与による活性は、CDK4/6 阻害薬投与歴のないモデル及び CDK4/6 阻害薬投与後のモデルにおいて認められた。フルベストラントとの併用による活性は用量依存的であった。

2.6.2.6.2　副次的薬理試験及び安全性薬理試験

副次的薬理試験及び安全性薬理試験の結果の考察は、ヒトにおけるカピバセルチブ非結合形薬物の血漿中 C_{max} を考慮した（臨床薬理試験 2.7.2.3.1.5 項参照）。カピバセルチブ推奨投与スケジュール（400 mg 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬）による投与後の定常状態における推定臨床 C_{max} の中央値は、1380 ng/mL 又は 3.22 μM（分子量 428.92 g/mol として）であった。ヒトの血漿タンパク非結合形薬物分率 22.3%より、これはヒトにおける非結合形薬物 C_{max} 0.717 μM に相当した。

副次的薬理試験（0895SY 試験）において、カピバセルチブは主要標的に選択性を示し、AKT1、AKT 2 及び AKT 3 に対する IC_{50} 値（それぞれ 3.2、8.5 及び 7.7 nM）の 50 倍まで活性を示さなかった。

種々の *in vitro* 及び *in vivo* モデルにおいてカピバセルチブの安全性薬理プロファイルを評価した結果、主な標的臓器は心血管系及び腎臓系と考えられた。

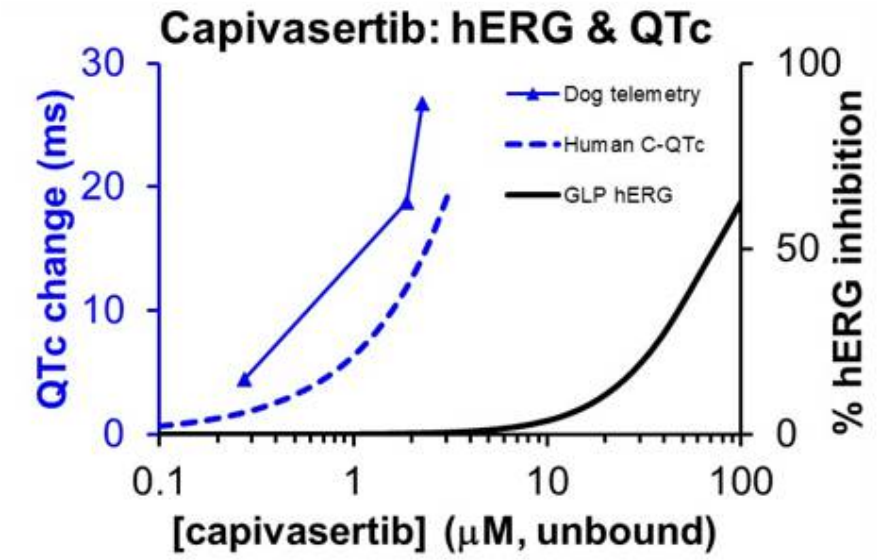
2.6.2.6.2.1　心血管系における所見

カピバセルチブの心血管系への影響を種々の *in vitro* 及び *in vivo* モデルで評価した。最も注目すべき所見は、血圧、心筋収縮力及び心再分極に対する作用であった。

機能的アッセイにおいて、カピバセルチブは hERG にコードされるカリウムチャネルを阻害した（IC_{50} 値 73 μM）が、それ以外の 7 つのイオンチャネル（Nav1.5 及び Cav1.2 を含む）に対する顕著な活性は認められなかった。イヌのテレメトリー試験において、カピバセルチブ 30 及び 40 mg/kg 投与により QTcR 延長（最大 12%、27 ms）がみられた（毒性試験の概要文 2.6.6 項、1101ZD 試験）。QTcR 間隔変化の時間的推移は、予測 PK プロファイルから遅延し、最大 QTcR 延長は 10～16 時間後に観察されたが、イヌの 1 か月毒性試験の PK に基づく C_{max} が観察されたのは概ね投与 1～4 時間後であった（毒性試験の概要文 2.6.6 項、1112AD 試験）。イヌの 1 か月毒性試験において、QTc は 1 及び 4 週目に 30 mg/kg/日で増加し（最大 11%）、4 週間の回復期間後に回復が認められた（毒性試験の概要文 2.6.6 項、1112AD 試験）。

図 31 に、イヌのテレメトリー試験で観察された C_{max} に対する各投与量での最大 QTc 変化のプロットを示し、また、hERG 濃度－効果曲線も示した。これらの解析から、イヌの QTc 変化は、hERG 阻害がごくわずかと推測される非結合形薬物血漿中濃度（最大 2.3 μM）で認められた。

図 31　　カピバセルチブの QTc 及び hERG データのオーバーレイプロット



Plot shows the fitted hERG concentration-response curve (0354SZ), mean peak QTc change in dogs for each dose level plotted vs the mean C_{max} for the same dose (1101ZD) and the concentration-QTc analysis derived from patients (臨床薬理試験 2.7.2.3.4.2.3 項).

In vivo の QTc 延長は hERG の 5～15%阻害に対応する非結合形薬物血漿中濃度で観察される可能性があることが報告されている。さらに、hERG 阻害によって QTc を直接延長させる化合物は、類似した薬物動態プロファイルと薬力学的プロファイルを示す（PK と QTc が同様に増減する）。カピバセルチブ投与後のイヌでみられた QTc 延長はこのような特徴を示さず、QTc 延長は血漿 PK に対してかなり遅れて起こり、hERG 濃度－作用曲線の左側で認められた。以上より、イヌへのカピバセルチブ投与でみられた QTc 延長は、間接的なメカニズムによる可能性を示唆するものの、*in vivo* でのカピバセルチブによる hERG チャネルへの直接作用を確証的に除外するには十分なデータではない。

カピバセルチブはイヌの血漿中のグルコース及びインスリンレベルを上昇させたが、これは AKT 阻害によるものと考えられた。文献データでは、グルコース及びインスリンレベルの変化も QT 間隔延長に寄与する可能性が示唆されている（Marfella et al 2001、van Noord et al 2010）。しかし、イヌにおけるカピバセルチブの QTc への作用がグルコース及びインスリン上昇の二次的影響とする仮説の直接的な検証は行われていない。進行性固形悪性腫瘍患者にカピバセルチブ 80～800 mg を投与時のデータの曝露－反応解析では、400 mg を 1 日 2 回投与後の定常状態 C_{max}（1223 ng/mL）における平均 QTcF 延長予測値は、3.87 ms（90% CI 上限 4.97 ms）であった。この解析結果から、カピバセルチブ 400 mg の 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬により、不整脈誘発作用に関連する臨床的に重大な QT 延長リスクは生じないと考えられた（Population C-QT/QTc Relationship Analysis、臨床薬理試験 2.7.2.3.4.2.3 項）。患者の QTc への影響は、イヌの同様の血漿中濃度範囲で観察された影響より小さかった（図 31）。

非臨床において、PI3K/AKT/mTOR 経路の阻害と心室再分極及び QTc 延長の制御との関連性が示唆されている（Ballou et al 2015）。このエビデンスは主にげっ歯類及び *in vitro* データに基づき、PI3Kα シグナル伝達の抑制により、心臓イオンチャネル制御に関与するセカンドメッセンジャー、ホスファチジルイノシトール-3,4,5-三リン酸の生成が減少することを示唆する。ヒトでのデータは主に、PI3K 経路に活性を示す複数のマルチキナーゼ阻害薬が QTc 延長に関連する事

実に基づく。しかし、これらの化合物が hERG の直接的阻害と共に他の標的キナーゼにも活性を有する可能性があることから、PI3K 阻害と QTc 延長との関連性を示す臨床的エビデンスは限定的である。承認された PI3K 活性を有する非選択的チロシンキナーゼ阻害薬（nilotinib［Tasigna SmPC］及び dasatinib［SPRYCEL SmPC］）は、癌患者の QTc 延長と関連する。しかし、選択的 PI3K 阻害薬の idelalisib（PI3Kδ［Zydelig SmPC］）、copanlisib（PI3Kα 及び PI3Kδ［ALIQOPA® USPI］）、duvelisib（PI3Kδ 及び PI3Kγ［COPIKTRA® USPI］）及び alpelisib（PI3Kα［PIQRAY® USPI］）は、癌患者の QTc 延長と関連しない。さらに、既承認薬である mTOR 阻害薬エベロリムス（Afinitor SmPC）及びテムシロリムス（Torisel SmPC）は、健康被験者における QTc 延長をもたらさない。カピバセルチブは、PI3K/AKT/mTOR 経路の AKT 上流にある PI3Kα を阻害しない。AstraZeneca 社が把握している範囲で、臨床段階の AKT 選択的阻害薬のうち、確証的な QTc 評価が公表されているものはない。カピバセルチブ 400 mg の 1 日 2 回 4 日間投与 3 日間休薬により、臨床的に重大な QT 延長リスクは生じないと考えられる（Population C-QT/QTc Relationship Analysis、臨床薬理試験 2.7.2.3.4.2.3 項）。AKT 経路への関与も、癌患者の治療におけるカピバセルチブの同じ投与スケジュールで示されている。このことは、カピバセルチブは AKT シグナル伝達が阻害される用量で顕著な QTc 延長を起こさないことを示唆している。以上を総合すると、PI3K/AKT/mTOR 経路の選択的阻害の結果、臨床的意義のある QTc 延長の安全性リスクにつながることを示す明らかなエビデンスはない。

QT 関連不整脈 TdP のリスクにつながる APD 延長作用のあることが検証された化合物を用い、ウサギ摘出心臓標本でカピバセルチブについて検討した（Lawrence et al 2006）。カピバセルチブはこの標本において TdP 誘発リスクが低い化合物に分類された。しかしカピバセルチブでみられた APD 短縮及び VT については、この標本がこれらのエンドポイントに関して検証されていないことから、特に三角形化が生じていない又は伝導が遅延した状況下では解釈が困難である。したがって、APD 短縮及び VT の原因及び影響は不明である。

カピバセルチブは、モルモット、ラット及びイヌの心血管系試験において血圧を低下させた。開胸モルモットモデルでみられた顕著な血圧低下は忍容不良で 2 例が死に至った。ラットを用いた 2 つのテレメトリー試験において、一方の試験では収縮期及び拡張期血圧のいずれにも顕著な影響はみられなかったが、他方の試験では平均動脈圧の顕著な低下が認められた。イヌでみられた血圧への作用（拡張期血圧の最大 30%低下）は投与後 4 時間にベースライン値に回復し、これは、ラット摘出大動脈で認められたカピバセルチブの血管弛緩作用、並びにラット及びウサギ摘出心臓で認められた冠血流量増加（血管拡張）と一致していた。イヌのテレメトリー試験における最高血漿中濃度（非結合形）は 1.9 μM（30 mg/kg 投与時）であり、ROCK 1 の IC_{50} 値 0.47 μM を上回っていた。カピバセルチブの血管作動性作用は、血管緊張の制御に重要な役割を果たすことが知られている ROCK1 の阻害による可能性が考えられている（Calò et al 2007）。臨床データにおいて、臨床的に関連する血圧への作用は現時点で認められていない（臨床的安全性 2.7.4 項）。

イヌにおけるテレメトリー試験において、カピバセルチブの 30 及び 40 mg/kg 投与により LVdp/dt+（左室収縮性の指標）増加が誘発され、投与 6～8 時間後に最大増加に達し、12～20 時間後にベースライン値に戻った。また、イヌでの探索的テレメトリー試験では、カピバセルチブ投与 4 時間後にアテノロール又はベラパミルを投与した結果、LVdp/dt+への作用が軽減された。イヌの 1 か月毒性試験（毒性試験の概要文 2.6.6 項、1112AD 試験）においてカピバセルチブは、10 及び 30 mg/kg/day 投与後、収縮期左室径の減少、駆出及び短縮率の増加、並びに心拍出量の中程度減少を誘発した。これらは 1 週目のほうが 4 週目より強く、回復期間終了時に回復した。イヌの 1 か月間毒性試験でみられた左室駆出率の増加及びイヌのテレメトリー試験でみられた LVdp/dt+の増加は、いずれも陽性変力作用を示すものであった。臨床データにおいて、臨床的に関連する左室機能に対する作用は確認されていない（臨床的安全性 2.7.4 項）。

収縮力への作用がカピバセルチブの心筋への直接作用によるものかどうかを調べるため、ラット摘出心臓を用いた試験を行った。カピバセルチブ 30 μM により心筋収縮力の軽度（13%）の増加が認められた。この濃度はイヌのテレメトリー試験で作用が認められた濃度を上回っており、LVdP/dt+に対するカピバセルチブの作用が、心臓への直接作用ではない可能性を示唆している。これらの所見の原因となるメカニズムは不明である。

2.6.2.6.2.2 腎臓における所見

ラットへの 100 及び 150 mg/kg 投与により尿量増加を伴う顕著な糖尿が認められた。糖尿は、多くの *in vivo* 試験でカピバセルチブ投与後にみられた血漿中グルコースの増加と一致している。AKT はインスリンの細胞内シグナル伝達カスケードに重要な役割を果たしていることが知られており（Chang et al 2004）、AKT 阻害がカピバセルチブで認められた高血糖の原因と考えられた。また、カピバセルチブ投与により、ナトリウム、塩化物、カリウム及びリンの分画排泄の増加、血漿中リン濃度のわずかな増加、及び血漿中カリウム濃度のわずかな減少がみられた。これらのメカニズムは明らかではないが、AKT が近位尿細管のグルコース及びリン輸送に重要な役割を果たしていることが知られている（Kempe et al 2010）。腎臓の試験で NOEL は得られなかった。非臨床におけるカピバセルチブの腎臓への作用は、毒性試験の概要文 2.6.6 項で考察する。

2.6.2.6.2.3 その他の注目すべき所見

ラットへのカピバセルチブ単回経口投与後、神経系、消化器系、腎臓及び呼吸器系への影響を評価した。いずれの用量においても呼吸器系パラメータに影響は認められなかった。100 mg/kg 以上で胃内容排出阻害がみられ、150 mg/kg で腸通過減少がみられた。中枢神経系の評価では、100 及び 150 mg/kg で運動に関連した副作用がみられ、体重減少も認められた。これらの所見の原因となるメカニズムは不明である。臨床におけるカピバセルチブの消化器系への作用は Module 2.7.4 で考察する。

2.6.2.6.2.4 結論

カピバセルチブの副次的薬理及び安全性薬理プロファイルは、予定の適応症に対して許容可能と考えられた。

2.6.2.7 参考文献

Afinitor SmPC

Afinitor (everolimus) tablets. Summary of Product Characteristics. Available at URL: www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/afinitor-epar-product-information_en.pdf

ALIQOPA® USPI

ALIQOPA® (copanlisib) for injection, for intravenous use. US Prescribing Information. Sep 2017. Available at URL: www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/209936s000lbl.pdf

Ballou et al 2015

Ballou LM, Lin RZ, Cohen IS. Control of cardiac repolarization by phosphoinositide 3-kinase signaling to ion channels. Circ Res. 2015;116:127-37.

Calò et al 2007

Calò LA, Pessina AC. RhoA/Rho-kinase pathway: much more than just a modulation of vascular tone. Evidence from studies in humans. J Hypertens. 2007;25(2):259-64.

Chang et al 2004

Chang L, Chiang S-H, and Saltiel AR. Insulin signaling and the regulation of glucose transport. Mol Med. 2004;10(7-12):65-71.

COPIKTRA® USPI

COPIKTRA® (duvelisib), capsules for oral use. US Prescribing Information. Sep 2018. Available at URL: www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/211155s000lbl.pdf

Cottu et al 2014

Cottu P, Bièche I, Assayag F, El Botty R, Chateau-Joubert S, Thuleau A, et al. Acquired resistance to endocrine treatments is associated with tumor-specific molecular changes in patient-derived luminal breast cancer xenografts. Clin Cancer Res. 2014 Aug 15;20(16):4314-25.

Davies et al 2012

Davies BR, Greenwood H, Dudley P, Crafter C, Yu D-H, Zhang J, et al. Preclinical pharmacology of AZD5363, an inhibitor of AKT: pharmacodynamics, antitumor activity, and correlation of monotherapy activity with genetic background. Mole Cancer Ther. 2012;11:873-87.

Dunn et al 2022

Dunn S, Eberlein C, Yu J, Gris-Oliver A, Ong SH, Yelland U, et al. AKT-mTORC1 reactivation is the dominant resistance driver for PI3Kβ/AKT inhibitors in PTEN-null breast cancer and can be overcome by combining with Mcl-1 inhibitors. Oncogene. 2022 Nov;41(46):5046-60.

Gao et al 2014

Gao Q, Patani N, Dunbier AK, Ghazoui Z, Zvelebil M, Martin L-A, et al. Effect of aromatase inhibition on functional gene modules in estrogen receptor-positive breast cancer and their relationship with antiproliferative response. Clin Cancer Res. 2014 May 1;20(9):2485-94.

Goncharova et al 2002

Goncharova EA, Goncharov DA, Eszterhas A, Hunter DS, Glassberg MK, Yeung RS, et al. Tuberin regulates p70 S6 kinase activation and ribosomal protein S6 phosphorylation. A role for the TSC2 tumor suppressor gene in pulmonary lymphangioleiomyomatosis (LAM). J Biol Chem. 2002 Aug 23;277(34):30958-67.

ICH S7A

European Medicines Agency. ICH Topic S7A: Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals; 8 November 2000.

ICH S7B

European Medicines Agency. ICH Topic S7B: The nonclinical Evaluation of the Potential for delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals; 12 May 2005.

Kempe et al 2010

Kempe DS, Siraskar G, Fröhlich H, Umbach AT, Stübs M, Weiss F, et al. Regulation of renal tubular glucose reabsorption by Akt2/PKBβ. Am J Physiol Renal Physiol. 2010 May;298(5):F1113-7.

Lawrence et al 2006

Lawrence CL, Bridgland-Taylor MH, Pollard CE, Hammond TG, Valentin J-P. A rabbit Langendorff heart proarrhythmia model: predictive value for clinical identification of Torsades de Pointes. British Journal of Pharmacology. 2006;149:845-60.

Marfella et al 2001

Marfella R, Rossi, F, Giugliano D. Hyperglycemia and QT interval: time for re-evaluation. Diabetes Nutr Metab. 2001;14(2):63-5.

PIQRAY® USPI

PIQRAY® (alpelisib) tablets, for oral use. US Prescribing Information. May 2019. Available at URL: www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/212526s000lbl.pdf

Ribas et al 2015

Ribas R, Pancholi S, Guest SK, Marangoni E, Gao Q, Thuleau A, et al. AKT antagonist AZD5363 influences estrogen receptor function in endocrine-resistant breast cancer and synergizes with fulvestrant (ICI182780) *in vivo*. Mol Cancer Ther. 2015 Sep;14(9):2035-48.

SPRYCEL SmPC

SPRYCEL (dasatinib) film-coated tablets. Summary of Product Characteristics. Available at URL: www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/sprycel-epar-product-information_en.pdf

Tasigna SmPC

Tasigna (nilotinib) hard capsules. Summary of Product Characteristics. Available at URL: www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tasigna-epar-product-information_en.pdf

Torisel SmPC

Torisel (temsirolimus) concentrate and solvent for solution for infusion. Summary of Product Characteristics. Available at URL: www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/torisel-epar-product-information_en.pdf

van Noord et al 2010

van Noord C, Sturkenboom MCJM, Straus SMJM, Hofman A, Kors JA, Witteman JCM, et al. Serum glucose and insulin are associated with QTc and RR intervals in nondiabetic elderly. Eur J Endocrinol. 2010 Feb;162(2):241-8.

Yates et al 2015

Yates JWT, Dudley P, Cheng J, D'Cruz C, Davies BR. Validation of a predictive modeling approach to demonstrate the relative efficacy of three different schedules of the AKT inhibitor AZD5363. Cancer Chemother Pharmacol. 2015;76:343-356.

Zydelig SmPC

Zydelig (idelalisib) film-coated tablets. Summary of Product Characteristics. Available at URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zydelig-epar-product-information_en.pdf

第 2 部　CTD の概要

一般名：カピバセルチブ

版番号：[redacted]

2.6.3　薬理試験概要表
カピバセルチブ

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ..... 1
目次..... 2
2.6.3.1 薬理試験：一覧表..... 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験..... 6
2.6.3.3 副次的薬理試験..... 7
2.6.3.4 安全性薬理試験..... 8
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験..... 15

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number (AZ reference number)	Location in CTD
1.1 Primary pharmacodynamics					
Measurement of AZD5363 in *In vitro* enzyme Assays	*In vitro* kinase assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 01	4.2.1.1.1
Characterisation of AZD5363 *In vitro* Enzyme Inhibition Profiles Using the Dundee Kinase Panel	*In vitro* kinase assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 02	4.2.1.1.2
Characterisation of AZD5363 *In vitro* Enzyme Inhibition profiles using the commercial [redacted] 'Kinase Profiler' Service	*In vitro* kinase assay	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 03	4.2.1.1.3
Characterisation of AZD5363 *In vitro* Enzyme Inhibition Profiles Using the Commercial '[redacted]' at [redacted]	*In vitro* kinase assay	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 04	4.2.1.1.4
Effect of AZD5363 on the Phosphorylation of AKT Substrates and Selectivity over ROCK in MDAMB468 cells	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 05	4.2.1.1.5
Effect of AZD5363 on the Phosphorylation of AKT Substrates and Downstream Pathway Biomarker in BT474c cells, Measured by Western Blot	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 06	4.2.1.1.6
Effect of Capivasertib (AZD5363) on the Phosphorylation of VASP, a Substrate of PKA	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 07	4.2.1.1.7
The Anti- Proliferation Effects of AZD5363 in Cancer Cell Panel Screening	Cell proliferation assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 08	4.2.1.1.8
Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of AZD5363 in BT474c Xenografts Growing in Nude Mice	*In vivo* pharmacokinetics and pharmacodynamics	*In vivo* (oral)	AstraZeneca, UK	Report 09	4.2.1.1.9
Pharmacodynamics and Pharmacokinetics in PC3 Xenografts growing in Nude Rats	*In vivo* pharmacokinetics and pharmacodynamics	*In vivo* (oral)	AstraZeneca, UK	Report 10	4.2.1.1.10
Monotherapy Anti-Tumour Activity of AZD5363 in Xenograft Models Growing in Nude Mice	*In vivo* tumour growth	*In vivo* (oral)	AstraZeneca, UK	Report 11	4.2.1.1.11
In vitro Cellular Pharmacology of AZD5363 in Combination with Fulvestrant and Palbociclib in Naïve & Palbociclib Resistant Cell Pools	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 21	4.2.1.1.12
In vitro Direct Cellular Inhibition of p70S6K by Capivasertib (AZD5363) in Endogenous TSC2 or TSC1 Null Cancer Cells	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 23	4.2.1.1.13

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number (AZ reference number)	Location in CTD
In vitro Direct Cellular Inhibition of p70S6K by Capivasertib (AZD5363) in TSC Knockout Breast Cancer Cells	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 24	4.2.1.1.14
Anti-Proliferative Activity of Capivasertib in Tumour Cell Panels	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 25	4.2.1.1.15
Dose Response of AZD5363 Alone and in Combination with Fulvestrant in the PDX Models ST3932, ST3632 and ST1799 PBR	*In vivo* tumour growth	*In vivo* (oral)	AstraZeneca, UK	Report 26	4.2.1.1.16
Capivasertib (AZD5363): Pharmacodynamic Effect on AKT Biomarkers Comparing Twice-Daily to Once-Daily Regime in the ER+ BC BT474c Xenograft	*In vivo* tumour models	*In vivo* (oral)	AstraZeneca, UK	Report 27	4.2.1.1.17
Response of AZD5363 Alone and in Combination With Fulvestrant Across a panel of ER+ Breast Models *In vivo*	*In vivo* tumour growth	*In vivo* (oral)	AstraZeneca, UK	Report 28	4.2.1.1.18
Capivasertib (AZD5363): Pharmacodynamic Analysis of AKT and Cell Cycle Pathway Modulation in a Patient Derived Estrogen Receptor Positive Breast Cancer Xenograft Model CTC174 after Treatment with AZD5363-Capivasertib in Combination with Fulvestrant	*In vivo* tumour models	*In vivo* (oral)	AstraZeneca, UK	Report 30	4.2.1.1.19
Capivasertib (AZD5363): Pharmacodynamic Analysis of Pathway Modulation in Patient Derived Estrogen Receptor Positive Breast Cancer Xenograft Models after Treatment with Increasing Doses of Capivasertib in Combination with Fulvestrant	*In vivo* tumour models	*In vivo* (oral)	AstraZeneca, UK	Report 31	4.2.1.1.20
Pharmacokinetic –Pharmacodynamics and Efficacy Modelling of AKT Inhibitor Capivasertib in BT474c Xenografts for the Characterization of the Efficacy of Different Schedules and the Relationship to AKT Pathway Biomarkers	*In vivo* tumour models, pharmacokinetics	*In vivo* (oral)	AstraZeneca, UK	Report 32	4.2.1.1.21
Effect of the Capivasertib and Fulvestrant Combination in Palbociclib Resistant and Naïve Cells Lines 5 Day Proliferation	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 33	4.2.1.1.22
Effect of the Capivasertib and Fulvestrant Combination in Palbociclib Resistant and Naïve Cells Lines 18 Day Proliferation	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 34	4.2.1.1.23
Effect of the Capivasertib and Fulvestrant Combination in Palbociclib Resistant and Naïve Cells Lines Western Characterisation	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 35	4.2.1.1.24

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number (AZ reference number)	Location in CTD
Effect of Capivasertib (AZD5363) on the Phosphorylation of AKT Substrates and Downstream Pathway Biomarkers in LNCaP Prostate Cancer Cells, Measured by Western Blot	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 36	4.2.1.1.25
Measurement of Capivasertib (AZD5363) in *In vitro* p70S6K Kinase Assays using the Commercial [redacted] 'Kinase Profiler' Service	*In vitro* kinase assay	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 37	4.2.1.1.26
Assessment of the Effect of Dose Scheduling of AZD5363 Alone and in Combination on *In vivo* Tumour Growth Inhibition	*In vivo* tumour models	*In vivo* (oral)	AstraZeneca, UK	Report 38	4.2.1.1.27
In vitro Cellular Activity of AZ14102143 an Ether Glucuronide Metabolite of the AKT Inhibitor Capivasertib (AZD5363) Versus Capivasertib in HCC70 and LNCAP Cells	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	BE002154-03	4.2.1.1.28
Effect of AZD5363 on the phosphorylation of VASP, a substrate of PKA	Cell based assays	*In vitro*	AstraZeneca, UK	Report 07_v3	4.2.1.1.29
1.2 Secondary pharmacodynamics					
AZD5363: Receptors, ion channels, transporters and enzyme activity	Various recombinant cell lines	*In vitro*	[redacted], Taiwan	0895SY	4.2.1.2.1
1.3 Safety pharmacology					
AZD5363: Nervous system	Rat / HsdHan: WIST	Oral (gavage)	AstraZeneca, UK	2692SR	4.2.1.3.1
AZD5363: Cardiovascular (hERG channel) [a]	hERG-expressing CHO cells	*In vitro*	AstraZeneca, UK	0354SZ	4.2.1.3.2
AZD5363: Cardiovascular (action potential parameters)	Dog / Beagle: ventricular myocytes	*In vitro*	AstraZeneca, UK	2192SV	4.2.1.3.3
AZD5363: Cardiovascular (vasoactivity)	Rat / Alderley Park Wistar: isolated aortae	*In vitro*	AstraZeneca, UK	PH/E/12009	4.2.1.3.4
AZD5363: Cardiovascular (prolongation of ventricular action potential, SCREENIT)	Rabbit / New Zealand White: isolated hearts	*In vitro*	[redacted], Belgium	0255SB	4.2.1.3.5
AZD5363: Cardiovascular (cardiac function)	Rat: isolated hearts	*In vitro*	[redacted], France	CO100101 (2820SR)	4.2.1.3.6

Type of Study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study number (AZ reference number)	Location in CTD
AZD5363: Cardiovascular (anaesthetised model)	Guinea pig / Dunkin Hartley	i.v.	AstraZeneca, UK	0159SG	4.2.1.3.7
AZD5363: Cardiovascular (anaesthetised model)	Guinea pig / Dunkin Hartley	i.v.	AstraZeneca, UK	0209SG	4.2.1.3.8
AZD5363: Cardiovascular (conscious telemetry)	Rat / Alderley Park Wistar	Oral (gavage)	AstraZeneca, UK	PH/E/13611	4.2.1.3.9
AZD5363: Cardiovascular (blood pressure, heart rate, QA interval)	Rat / Han Wistar	Oral	AstraZeneca, USA	3316SR	4.2.1.3.10
AZD5363: Cardiovascular (conscious telemetry) [a]	Dog / Beagle	Oral (gavage)	AstraZeneca, UK	1101ZD	4.2.1.3.11
AZD5363, Atenolol, Verapamil: Cardiovascular (conscious telemetry) [a]	Dog / Beagle	Oral (gavage)	AstraZeneca, UK	1167ZD	4.2.1.3.12
AZD5363: Respiratory system	Rat / HsdHan: WIST	Oral (gavage)	AstraZeneca, UK	2692SR	4.2.1.3.1
AZD5363: Gastrointestinal transit	Rat / HsdHan: WIST	Oral (gavage)	AstraZeneca, UK	2692SR	4.2.1.3.1
AZD5363: Renal function	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	[redacted], USA	09-6713 (2751SR)	4.2.1.3.13
1.4 Pharmacodynamic drug interactions					
No Studies Conducted					

Capivasertib is also referred to as AZD5363 or AZ12952302 in some study reports.

[a] VASP = vasodilator-stimulated phosphoprotein.

[b] Study claims GLP compliance. All other studies are non-GLP.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験のデータを 2.6.2 薬理試験の概要文に示す。

2.6.3.3 副次的薬理試験

<table>
<tr><th>Organ systems evaluated</th><th>Test system</th><th>Method of administration</th><th>Doses (μM)</th><th>Gender and number per group</th><th>Noteworthy findings</th><th>Testing Facility</th><th>Study number</th></tr>
<tr><td>NA</td><td>Radioligand binding and enzyme assays
Electrophysiological assays</td><td>In vitro</td><td>10

0.1 – 100</td><td>NA</td><td>Capivasertib (formerly referred to as AZD5363) had activity (defined as >30% inhibition) in 8 of the 333 in vitro radioligand binding and enzyme assays when tested at a concentration of 10 μM. For these 8 targets, PDE4, ROCK1, FGFR1, Melanocortin MC5, UGT1A1, Proteasome, Calcium Channel L-type benzothiazepine Receptor and YES1, concentration-response curves were constructed and IC_{50}/K_i values determined:
<table>
<tr><th>Target</th><th>IC_{50} (μM)</th></tr>
<tr><td>Protein Serine/Threonine Kinase, ROCK1</td><td>0.47</td></tr>
<tr><td>Protein Tyrosine Kinase, FGFR1</td><td>6.06</td></tr>
<tr><td>Melanocortin MC_5</td><td>7.77 (K_i = 7.29)</td></tr>
<tr><td>Protein tyrosine Kinase YES1</td><td>11.1</td></tr>
<tr><td>UDP Glucuronosyltransferase, UGT1A1</td><td>12.8</td></tr>
<tr><td>Phosphodiesterase PDE4</td><td>37.50</td></tr>
<tr><td>Calcium channel L-type, Benzothiazepine</td><td>40.8 (K_i = 36.2)</td></tr>
<tr><td>Proteasome</td><td>62.3</td></tr>
</table>
Of the 7 cardiac ion channels tested, capivasertib did not inhibit any by more than 50% (i.e. a defined IC_{50} could not be determined).</td><td>[redacted], Taiwan</td><td>0895SY</td></tr>
</table>

Study 0895SY is not GLP-compliant.

2.6.3.4 安全性薬理試験

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses (mg/kg)[a]	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number (AZ reference number)
Central Nervous System	Rat / HsdHan: WIST	Oral (gavage)	0, 30, 100, 150	6M	Decreased spontaneous activity and decreased touch response was noted at various time-points post-dose up to 240 min post-dose in the 100 and 150 mg/kg groups. Body weight was decreased in the 100 and 150 mg/kg groups (by 4.3 and 9.7 g respectively) at 24 hours post-dose. A no-effect level of 30 mg/kg capivasertib (formerly referred to as AZD5363) was identified.	AstraZeneca, UK	Yes	2692SR
Cardiovascular	hERG-expressing CHO cells	*In vitro*	0, 10, 30, 100 µM	-	Capivasertib inhibited hERG with an IC_{50} of 73 (95% C.I.: 56.4; 94.5) µmol/L.	AstraZeneca, UK	Yes	0354SZ
	Dog / Beagle: ventricular myocytes	*In vitro*	0.3, 3, 30, 100 µM	(F)	Although capivasertib caused biphasic effects on APD, these effects were not statistically significant. Lower concentrations of capivasertib (0.3 – 30 µM) caused an increase in APD_{90} (16.93% at 30 µM), whilst at a higher concentration of 100 µM it caused a decrease in APD_{90} (5.18%). Similar biphasic effects were seen with APD_{70} and APD_{50}.	AstraZeneca, UK	No	2192SV
	Rat / Alderley Park Wistar: isolated aortae	*In vitro*	0.01 to 100 µM	(M)	Capivasertib (formerly referred to as AZ12952302) induced direct relaxation of pre-constricted aorta, with a minimally active concentration between 1 and 3 µmol/L and significant relaxation at 30 µmol/L and above.	AstraZeneca, UK	No	PH/E/12009

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses (mg/kg)[a]	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number (AZ reference number)
	Rabbit / New Zealand White: isolated hearts	*In vitro*	0.3, 1, 3, 10, 30 μM	(6F)	Capivasertib caused a decrease in APD_{60} with a "bell-shaped" concentration-effect curve. There was a low-frequency incidence of triangulation, reverse-use dependence or instability but no EADs. At all concentrations, the TdP proarrhythmic score was less than 25 (the threshold for concern). There was a concentration-related increase in coronary blood flow. At some concentrations of capivasertib greater than 1 μM, ventricular tachycardia (VT) was reported in 3 out of 6 hearts. There were no effects on conduction.	[redacted], Belgium	No	0255SB
	Rat isolated hearts	*In vitro*	0, 0.3, 3, 10, 30 μM	(6M)	Capivasertib had no statistically significant effects on cardiac function at 0.3 μM. At 3, 10 and 30 μM, capivasertib caused increase in coronary flow. At 30 μM, a slight positive inotropic effect of capivasertib was noticed. No effect on heart rate was observed at the 4 doses of capivasertib tested.	[redacted], France	No	CO100101 (2820SR)

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses (mg/kg)[a]	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number (AZ reference number)
	Guinea pig / Dunkin Hartley	Intravenous infusion	3.5, 17.5, 35	12M	Administration of 35 mg/kg capivasertib, caused the death of two animals. Prior to death, a pronounced reduction in blood pressure (44%) and heart rate (27%) were observed and significant ECG waveform changes, predominantly ST elevation, indicating a marked ischaemic insult. It was also not possible to pace these animals prior to death. The dose of capivasertib was lowered to 17.5 mg/kg and the remaining animals survived this dose level, however, again it was not possible to pace these animals 10 minutes after the start of the 17.5 mg/kg infusion and during the wash-out phase. Intravenous administration of 17.5 and 35 mg/kg capivasertib had no significant compound-related effects on $MAPD_{90}$, QRS interval duration or MAP rise time. A trend (31%) towards an increase in AV conduction time was noted towards the end of the 35 mg/kg infusion, which had risen to 52% 5 minutes into the wash-out phase, just prior to animal death.	AstraZeneca, UK	No	0159SG

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses (mg/kg)[a]	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number (AZ reference number)
	Guinea pig / Dunkin Hartley	Intravenous infusion	3.33, 10	2M	Administration of capivasertib produced no treatment related effects on ECG parameters in this model. Capivasertib caused reductions in blood pressure, heart rate, left ventricular systolic pressure (LV sys) and contractility. Mean arterial blood pressure was reduced by 16 and 38%, heart rate by 10 and 24%, LV sys by 19 and 30% and contractility (dP/dt_{max}) by 41 and 47%, data representing the maximum effects observed after 30 minutes of 3.33 and 10 mg/kg capivasertib, respectively.	AstraZeneca, UK	No	0209SG
	Rat / Alderley Park Wistar	Oral	150	3M	Capivasertib at 150 mg/kg p.o. produced no significant alterations in heart rate or blood pressure in the conscious rat. Small elevations in both parameters were observed after dosing, but all occurred at times of increased animal activity and so were interpreted as normal physiological reactions to an environmental stimulus rather than a cardiovascular response to pharmacology.	AstraZeneca, UK	No	PH/E/13611

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses (mg/kg)[a]	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number (AZ reference number)
	Rat / Han Wistar	Oral	0, 25, 75, 150	11M	Capivasertib decreased heart rate by 21% after the 25 mg/kg dose and decreased arterial pressure 19 to 30% after both 75 and 150 mg/kg doses without any further significant changes in heart rate. The compound produced non-significant decreases in QA interval, indicative of increased cardiac contractility, and these decreases were comparable to changes observed with milrinone, a known positive inotrope. The 25 mg/kg dose is considered to be the NOAEL dose since the associated heart rate reductions were not considered biologically significant.	AstraZeneca, USA	No	3316SR

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses (mg/kg)[a]	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number (AZ reference number)
	Dog / Beagle	Oral (gavage)	5, 30, 40	4M	Capivasertib had no biological effect on PR interval, QRS duration and left ventricular end diastolic pressure. Capivasertib (5 mg/kg) caused decreases in heart rate (HR) at 2 and 8hours of 17 and 14%. Following administration of 30 and 40 mg/kg capivasertib there were peak decreases in systolic and diastolic blood pressure of 20 to 25% and 28 to 30%, respectively. Recovery was apparent by 4 hours. Heart rate decreased after all doses of capivasertib for up to 8 hours, a peak increase of 22% occurred at 8 hours post-dose capivasertib (40 mg/kg). Capivasertib (30 and 40 mg/kg) caused a sustained statistically significant prolongation of the QT interval (6 to 13%) and QTcR (5 to 12%). There were sustained increases in LVdp/dt+ with peak increases of 45 and 56% occurring at 6 and 8 hours. Both glucose and insulin levels were elevated post-dose 30 and 40 mg/kg capivasertib. The NOAEL is considered to be 5 mg/kg capivasertib.	AstraZeneca, UK	Yes	1101ZD

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses (mg/kg)[a]	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number (AZ reference number)
	Dog / Beagle	Oral (gavage)	30, 30 + 0.5 Atenolol, 30 + 0.3 Verapamil	4M	The increase in LV dp/dt_{max} caused by capivasertib (30 mg/kg) was reduced in the presence of atenolol and recovery in this parameter was evident by 4 h after the start of the atenolol infusion, compared to 8 h after the start of the vehicle infusion. Verapamil infusion reduced the effects on LV dp/dt_{max} caused by capivasertib (30 mg/kg) but to a lesser extent than atenolol. Glucose and insulin levels were both reduced after administration of both atenolol and verapamil. Intravenous infusion of atenolol at a clinically relevant dose (0.5 mg/kg) can reduce the contractility effect caused by administration of capivasertib (30 mg/kg).	AstraZeneca, UK	Yes	1167ZD
Respiratory	Rat / HsdHan: WIST	Oral (gavage)	0, 30, 100, 150	8M	There were no effects on respiratory parameters at any dose level tested.	AstraZeneca, UK	Yes	2692SR
Gastrointestinal	Rat / HsdHan: WIST	Oral (gavage)	0, 30, 100, 150	8M	Capivasertib caused a statistically significant inhibition of gastric emptying following 100 and 150 mg/kg, with increases in stomach contents of 168% and 192% compared to vehicle. This was accompanied by decreases in intestinal transit, with a statistically significant reduction of 41% at 150 mg/kg only.	AstraZeneca, UK	Yes	2692SR

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses (mg/kg)[a]	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	GLP compliance	Study number (AZ reference number)
Renal	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	0, 30, 100, 150	8M	The administration of capivasertib resulted in a marked glucosuria ≥100 mg/kg with concurrent diuresis. Increases in fractional excretion were seen at all doses for sodium and chloride, and at ≥100 mg/kg for potassium and phosphorus. In addition, albumin concentration was marginally increased at ≥100 mg/kg. Effects on plasma concentrations were seen at ≥100 mg/kg, these being a decrease in potassium and increases in phosphorus and urea nitrogen. Under the conditions of this study, there was no NOEL.	[redacted], USA	Yes	09-6713 (2751SR)

M = male, F = female.

[a] Single dose unless specified otherwise.

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。