

**カドサイラ点滴静注用100 mg**  
**カドサイラ点滴静注用160 mg**  
**(トラスツズマブ エムタンシン(遺伝子組換え))**  
**[HER2陽性手術不能又は再発乳癌]**

第2部 (モジュール2) : CTD の概要 (サマリー)

2.4 非臨床試験の概括評価

中外製薬株式会社

## 略語一覧

略語	英名	和名
ADCC	antibody-dependent cellular cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATA	anti-therapeutic antibody	抗治療薬抗体
AUC	area under the serum/plasma concentration-time curve	血清（血漿）中薬物濃度 - 時間曲線下面積
AUC <sub>all</sub>	AUC from time 0 to the last quantifiable concentration	0時間から定量可能な時間までの AUC
AUC <sub>inf</sub>	AUC from time 0 to infinity	0時間から無限大時間まで外挿した AUC
CL	clearance	全身クリアランス
C <sub>max</sub>	maximum serum/plasma drug concentration	最高血清（血漿）中薬物濃度
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
DAR	drug/antibody ratio	薬物抗体比（1分子のトラスツズマブに対する DM1 結合数）
DM1	a derivative of maytansine	メイタンシン誘導体
ECD	extracellular domain	細胞外ドメイン
ECLA	electrochemiluminescence assay	電気化学発光測定法
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
FcγR	Fc gamma receptor	IgG の Fc 領域に対する受容体
FM	free maytansinoid	遊離メイタンシノイド
GGT (γ-GTP)	gamma glutamyl transpeptidase	γ-グルタミルトランスペプチダーゼ
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
HER2	human epidermal growth factor receptor 2	ヒト上皮増殖因子受容体2
hERG	human ether-a-go-go-related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
HNSTD	highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大用量
IC <sub>20</sub>	20% inhibitory concentration	20%阻害濃度
IC <sub>50</sub>	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	international conference on harmonization	医薬品規制調和国際会議
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
K <sub>D</sub>	dissociation equilibrium constant	解離定数
LC-MS/MS	HPLC-combined with tandem mass spectrometry	高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析法
MCC	4-(N-maleimidomethyl)cyclohexane-1-carboxylate	4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート
DM1		
MMTV	mouse mammary tumor virus	マウス乳癌ウイルス
NA	not applicable	該当せず

略語	英名	和名
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PI3K	phosphoinositide 3-kinase	ホスホイノシチド3-キナーゼ
PK	pharmacokinetics	薬物動態
SMCC	<i>N</i> -succinimidyl 4-( <i>N</i> -maleimidomethyl) cyclohexane-1-carboxylate	<i>N</i> -スクシンイミジル 4-( <i>N</i> -マレイミドメチ ル)シクロヘキサン-1-カルボキシラート
T-DM1	trastuzumab emtansine	トラスツズマブ エムタンシン
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
$V_c$	volume of the central compartment	中央コンパートメントの分布容積

## 目次

	頁
2.4 非臨床試験の概括評価.....	6
2.4.1 非臨床試験計画概略.....	6
2.4.1.1 緒言.....	6
2.4.1.2 試験計画の概略.....	7
2.4.1.3 薬理試験.....	7
2.4.1.4 薬物動態試験.....	8
2.4.1.5 毒性試験.....	9
2.4.1.6 GLP 及びガイドライン.....	11
2.4.1.7 非臨床試験と臨床試験で用いた製剤の比較.....	11
2.4.2 薬理試験.....	12
2.4.2.1 結合活性 (HER2, FcγR, C1q).....	12
2.4.2.2 <i>in vitro</i> における腫瘍細胞増殖抑制活性.....	12
2.4.2.3 腫瘍移植モデルにおける <i>in vivo</i> 抗腫瘍効果.....	12
2.4.2.4 作用機序.....	13
2.4.2.5 薬力学的薬物相互作用.....	13
2.4.2.6 副次的薬理試験.....	13
2.4.2.7 安全性薬理試験.....	14
2.4.3 薬物動態試験.....	14
2.4.3.1 T-DM1 投与後の薬物動態.....	14
2.4.3.2 DM1, MCC-DM1 及び Lys-MCC-DM1 投与後の薬物動態.....	15
2.4.3.3 T-DM1 のトキシコキネティクス.....	15
2.4.3.4 分布.....	15
2.4.3.5 代謝及び排泄.....	15
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用.....	16
2.4.3.7 製剤間の薬物動態比較.....	16
2.4.4 毒性試験.....	17
2.4.4.1 一般毒性 (単回投与毒性及び反復投与毒性).....	17
2.4.4.1.1 単回投与毒性.....	17
2.4.4.1.2 反復投与毒性.....	18
2.4.4.1.3 主な毒性所見.....	19
2.4.4.2 遺伝毒性.....	20
2.4.4.3 がん原性.....	21
2.4.4.4 生殖発生毒性.....	21
2.4.4.5 局所刺激性.....	22
2.4.4.6 その他の毒性.....	22

---

2.4.4.7 動物からヒトへの外挿（曝露量のまとめ，臨床試験との関連性） .....	24
2.4.5 総括及び結論 .....	28
2.4.6 参考文献 .....	30

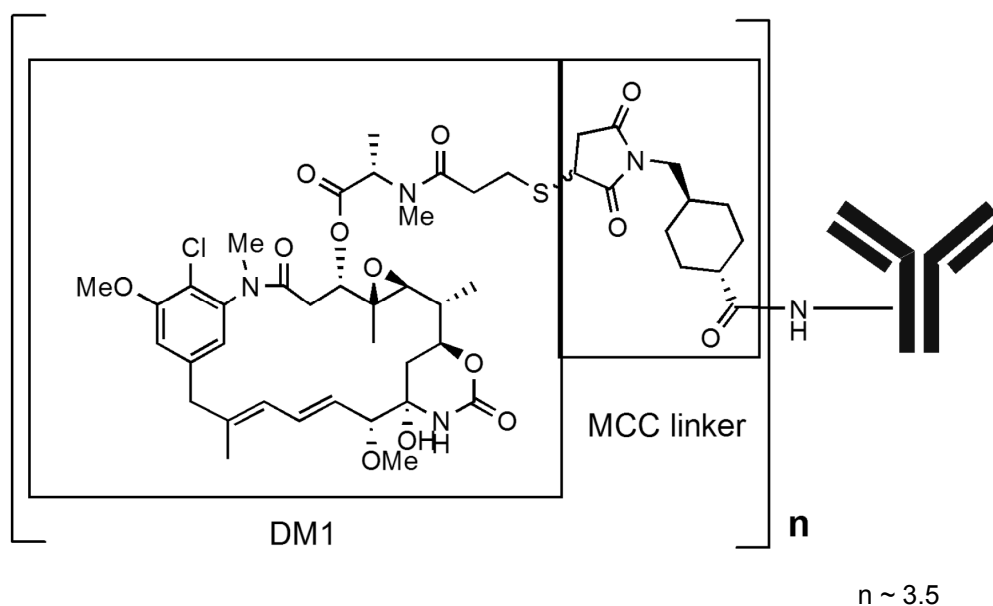
## 2.4 非臨床試験の概括評価

### 2.4.1 非臨床試験計画概略

#### 2.4.1.1 緒言

トラスツズマブ エムタンシン（遺伝子組換え）（以下、T-DM1）は、ヒト上皮増殖因子受容体2（human epidermal growth factor receptor 2：以下、HER2）陽性の悪性腫瘍の治療を目的としてデザインされた新規の抗体薬物複合体である。HER2の細胞外ドメイン（extracellular domain: 以下、ECD）を標的とするヒト化モノクローナル抗体であるトラスツズマブに、メイタンシン由来のチューブリン重合阻害作用を有するメイタンシン誘導体（a derivative of maytansine: 以下、DM1）をチオエーテルリンカーを介して結合させた分子である。DM1はリンカー試薬である *N*-スクシンイミジル 4-(*N*-マレイミドメチル)シクロヘキサノ-1-カルボキシラート（*N*-succinimidyl 4-(*N*-maleimidomethyl)cyclohexane-1-carboxylate：以下、SMCC）を用いて、トラスツズマブの主にリシン残基に、結合させている。SMCCは結合後にMCCリンカーとしてT-DM1の構造の一部（構成要素）（図 2.4.1.1-1）となる。

図 2.4.1.1-1 T-DM1の化学構造

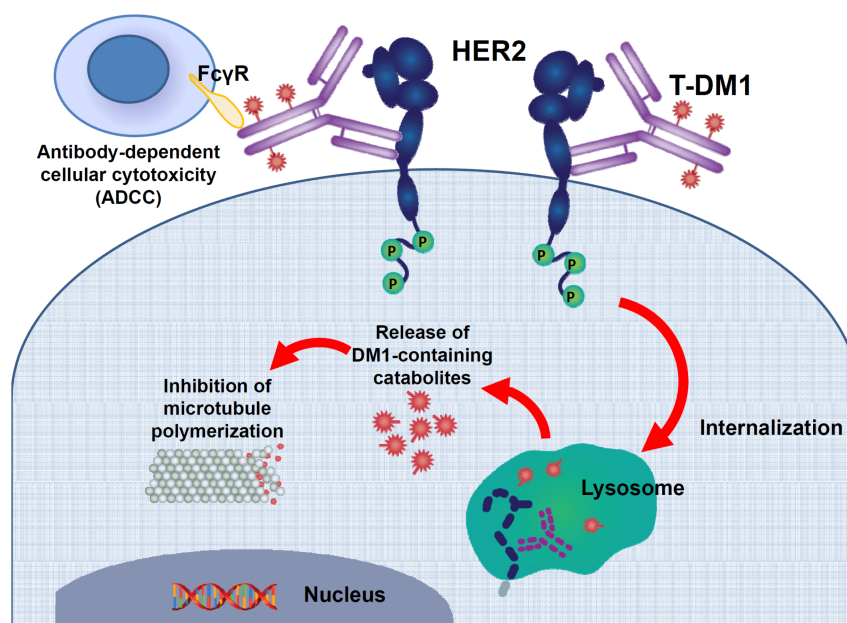


トラスツズマブ1分子に対して平均約3.5分子のDM1が結合している。

[3.2.S.1.2 Figure S.1.2-1を改変]

T-DM1を構成するトラスツズマブは、HER2の細胞外ドメインを標的とするヒト化モノクローナル抗体（IgG1型）であり、HER2過剰発現が確認された乳癌の適応で承認されている。T-DM1を構成する低分子のDM1はチューブリン重合阻害剤であり、チューブリンのβサブユニットへの結合はビンカルカロイド競合的であるが、DM1はビンカルカロイドやタキサンよりも約100倍強い細胞毒性を示す<sup>1)</sup>。T-DM1はトラスツズマブと同等の親和性でHER2に結合し、HER2との結合後トラスツズマブと同様にインターナリゼーションを受ける。その後、リソゾームでの分解を受け、細胞毒性を示すDM1の作用で微小管のネットワークを崩壊させることにより、細胞分裂及び細胞増殖を阻害し、最終的には細胞死をもたらすと考えられている<sup>2)4)</sup>。本薬の作用機序はトラスツズマブとしての抗腫瘍効果に加え、本剤がHER2選択的に結合し、その後リソゾームでの分解物が細胞内で作用することにより細胞毒性を発現することであると推察される（図 2.4.1.1-2）。

図 2.4.1.1-2 T-DM1の想定される作用メカニズム



文献3) Figure 1を参考にして作成。

### 2.4.1.2 試験計画の概略

T-DM1は抗体薬物複合体であることから、抗体及び低分子の両薬物の特性を考慮して非臨床試験を計画した。T-DM1の薬理活性、薬物動態及び毒性の特性を把握するために T-DM1の包括的な非臨床試験を実施した。

T-DM1はトラスツズマブと同様に、カニクイザルの HER2に対してヒト HER2と同等の親和性で結合することから、カニクイザルは T-DM1の HER2依存性（HER2への結合を介した作用）及び HER2非依存性（HER2への結合を介さない非特異的作用）の両作用を評価するために最も適した動物種であると考えられた。一方、T-DM1はげっ歯類における HER2の相同遺伝子由来の NEU に対して交差反応性を示さないことから、げっ歯類における試験は HER2非依存性の作用及び DM1の作用を詳細に評価するために実施した。トラスツズマブの総合的な非臨床試験結果はトラスツズマブの初回承認時の資料概要に報告されている。

### 2.4.1.3 薬理試験

#### (1) 結合活性（HER2, FcγR, C1q）及び ADCC 活性の惹起

T-DM1が目的とする薬理活性（作用機序）を示すためには、HER2との結合が不可欠の要件になる。そこで、トラスツズマブに MCC リンカーを介して DM1と共有結合させたことより、HER2に対する結合活性に影響を及ぼさないか検討した。また、Fc 領域に基づく活性が特に影響を受けていないことを確認するため、ヒト Fcγ 受容体（FcγRIa, FcγRIIa [H131及び R131], FcγRIIb, FcγRIIIa [V158及び F158]）及び補体 C1q との結合活性、抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性を評価した。

#### (2) *In vitro* における腫瘍細胞増殖抑制活性

T-DM1及びトラスツズマブの細胞増殖抑制活性について、トラスツズマブ感受性及び非感受性のヒト乳癌細胞株を用いて評価した。また、T-DM1を構成する DM1などの成分及び同定されている T-DM1の代謝物についても、細胞増殖に対する作用を検討した。

### (3) *In vivo* 抗腫瘍活性

T-DM1の *in vivo* における HER2特異性、用量及び投与スケジュールと腫瘍増殖抑制効果との関係等について、HER2陽性のヒト乳癌細胞株 (BT-474EEI, KPL-4) あるいはヒト HER2を遺伝子導入して樹立した MMTV-HER2 Fo5細胞株等を、マウスに移植した動物モデルを用いて評価した。

### (4) 作用機序

T-DM1はトラスツズマブと DM1から成る抗体薬物複合体であることから、トラスツズマブ及びチューブリン重合阻害剤 DM1に基づく作用を検討し、両者の作用機序を併せ持つことを示すための試験を実施した。

- トラスツズマブに基づく作用機序について
  - 1) HER2の活性化に伴う PI3K/AKT シグナル伝達の抑制
  - 2) 細胞表面からの HER2 ECD 遊離 (シェディング) の抑制
  - 3) ADCC 活性の惹起
- DM1のチューブリン重合阻害剤としての作用機序について
  - 1) 細胞周期の G2/M 期での停止
  - 2) アポトーシスの誘導

また、薬力学的薬物相互作用試験では、患者の体内にトラスツズマブが残存している状況を想定して、トラスツズマブが共存する条件下における T-DM1の抗腫瘍効果について評価した。安全性薬理試験については、2.4.1.5 毒性試験を参照。

## 2.4.1.4 薬物動態試験

### (1) 分析法

T-DM1の薬物動態 (PK) 及びトキシコキネティクス (TK) を評価するために、T-DM1及び関連物質の測定法を確立した。構造が複雑なため、T-DM1の測定には高分子測定用の酵素免疫測定法 (ELISA 法) と低分子測定用の高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析法 (LC-MS/MS 法) を開発して用いた。抗治療薬抗体 (ATA) 測定にはブリッジング電気化学発光測定法 (ECLA 法) を用い、測定法を確立した。

- ELISA 法 (ラット及びカニクイザル血清中 T-DM1測定用及び総トラスツズマブ (DM1結合型及び非結合型トラスツズマブの総計) 測定用)
- LC-MS/MS 法 (ラット及びカニクイザル血漿中遊離型 DM1測定用)
- ブリッジング ECLA 法 (カニクイザル血清中 ATA 測定用)

なお、マウス試料については上記の方法に準じて測定した。

更にラット尿及び胆汁中の DM1、またラット血漿、胆汁及び尿中の代謝物として MCC-DM1及び Lys-MCC-DM1を探索的に検討するための測定法を開発した (2.6.4.2参照)。

### (2) 薬物動態試験

T-DM1の薬物動態的特徴の明確化並びに毒性試験及び臨床試験を支持するために、マウス、ラット及びカニクイザルでの T-DM1の薬物動態試験を実施した。マウス及びラットでの薬物動態試験では HER2非依存的な T-DM1の薬物動態を調べた。一方、T-DM1はカニクイザルの HER2に交差することから、HER2依存的な作用を含めた薬物動態を検討するのに最も適切な動物種としてカニクイザルを用い、単回及び反復の薬物動態試験を実施した。放射性標識した T-DM1及び DM1をラットに投与し、分布、代謝及び排泄を検討した。分布試験では T-DM1の抗体及び低分子薬物としての特徴を考慮し、抗体部分又は DM1部分に放射性標識した T-DM1

を用いた。T-DM1投与後の動物及びヒトにおいては低分子化合物である DM1が血漿中に検出されたため、薬物相互作用の可能性を評価する目的でヒト由来試料を用いてヒトシトクロム P450 (CYP) 及び P-糖蛋白質 (P-gp) への影響を調べた。

以下に実施した主な非臨床薬物動態試験項目を示す。

単回静脈内投与試験：

- スードマウス (担癌及び非担癌) , ラット及びカニクイザルでの T-DM1単回静脈内投与後の T-DM1, 総トラスツズマブ及び遊離型 DM1の血清/血漿中濃度推移及び PK 解析 (一部は単回投与毒性試験の TK 試験として実施)
- ラットでの DM1, MCC-DM1及び Lys-MCC-DM1単回静脈内投与後の薬物動態

反復静脈内投与試験：

- カニクイザルでの T-DM1, 総トラスツズマブ及び遊離型 DM1の血清/血漿中濃度推移及び PK 解析 (反復投与毒性試験の TK 試験として実施)

分布試験：

- ラットでの放射性標識体 (T-[<sup>3</sup>H]DM1, [<sup>125</sup>I]T-DM1, [<sup>3</sup>H]DM1及び[<sup>125</sup>I]トラスツズマブ) 単回静脈内投与後の組織分布
- ラット, カニクイザル及びヒト血漿での DM1の血漿蛋白結合試験 (平衡透析法)

代謝試験：

- ラット, カニクイザル及びヒト血漿中での T-DM1の安定性試験
- ラットでの T-[<sup>3</sup>H]DM1及び[<sup>3</sup>H]DM1単回静脈内投与後の血漿中, 胆汁中及び尿中代謝物プロファイル
- ラットでの T-DM1単回静脈内投与後の血漿中の DM1, MCC-DM1及び Lys-MCC-DM1濃度
- ヒト由来試料 (肝ミクロソーム, 遺伝子組み換え型 CYP) を用いた, DM1代謝に関する CYP 分子種の同定

排泄試験：

- ラットでの T-[<sup>3</sup>H]DM1及び[<sup>3</sup>H] DM1単回静脈内投与後の尿糞中及び胆汁中排泄

薬物動態学的薬物相互作用：

- ヒト由来試料 (肝ミクロソーム, 凍結肝細胞) を用いた, ヒト CYP に対する DM1の阻害・誘導能
- ヒト P-gp 導入細胞を用いたヒト P-gp に対する DM1の影響

製剤間における薬物動態比較：

- 製造スケール (■, ■, ■), 製造場所 (■, ■, ■, ■), 剤型 (■, ■) が異なる T-DM1製剤についてのカニクイザル及びラットでの薬物動態比較

## 2.4.1.5 毒性試験

### (1) *in vitro* 試験

抗体薬物複合体の T-DM1はヒト及びカニクイザルの正常組織を用いて組織交差反応性試験を実施するとともに, ヒトの試料を用いて, 溶血性及び血液適合性試験, 並びに血小板減少機序検討試験を行った。T-DM1を構成する低分子の DM1は遺伝毒性試験 (AMES 試験), 及び hERG 試験を実施した。

### (2) *in vivo* 試験

トラスツズマブはヒト及びカニクイザルの HER2受容体に同様の親和性で結合するが, げっ歯類の対応する受容体である NEU と交差反応性はない<sup>5)</sup>。カニクイザルは T-DM1の HER2依存性 (HER2への結合を介した作用) 及び HER2非依存性 (HER2への結合を介さない T-DM1の非特異的な作用) の両作用を評価するのに最も適した動物種として選択した。一方, ラットは

HER2非依存性の毒性を評価するための動物種として使用した。

投与経路は、臨床適用経路と同じ静脈内投与とした。臨床の3週間に1回の投与間隔を想定し、単回投与毒性試験の観察期間（投与後3週間）及び反復投与毒性試験の投与間隔（3週間に1回投与）及び回復期間（3週間及び6週間）を設定した。長期反復投与毒性試験の投与期間は抗悪性腫瘍薬として開発するバイオ医薬品において十分な期間と考えられる6カ月間とした。本薬の曝露量を評価するために血清/血漿中の薬物（T-DM1、総トラスツズマブ及び遊離型 DM1）濃度を測定した。

本薬の遺伝毒性評価の一環として、カニクイザル6カ月間反復静脈内投与試験から採取した骨髄を用いて、小核誘発能を評価した。

がん原性試験は進行がん患者の治療を目的とした医薬品の承認申請のためには通常必要ないことから、また、依存性試験については一般毒性試験等において中枢神経作用を示唆する所見が認められないことから実施しなかった。

生殖発生毒性試験については以下の理由により実施しなかった。DM1はチューブリン重合阻害剤であり、類縁化合物メイタンシンは非臨床試験の成績から催奇形物質と考えられること<sup>6)</sup>、トラスツズマブはヒトで羊水過小症の胎児毒性のリスクを有することが知られていることから<sup>7)</sup>、T-DM1も催奇形物質として胎児毒性のリスクがあると考えられた。本薬は抗悪性腫瘍薬であり、発生毒性を誘発することが既に知られている系統の医薬品については、胚・胎児発生に関する試験は医薬品の承認申請に必須でないことから実施しなかった。また、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験も、進行がん患者の治療を目的とした医薬品の承認申請のためには、通常必要ないことから実施しなかった。しかしながら、雌雄生殖能への影響は一般毒性試験で得られた生殖器官に対する作用により評価した。

心血管系及び呼吸器系への作用はカニクイザルを用いた安全性薬理試験で、中枢神経系への作用は一般毒性試験における一般状態観察及び神経学的検査などにより評価した。

T-DM1から細胞外で遊離、及び HER2非特異的インターナリゼーション後に作用する可能性のある DM1の安全性を評価するために、また T-DM1毒性プロファイルに及ぼす DM1の関与を明らかにするために、ラットを用いて DM1の単回投与毒性試験及び遺伝毒性試験（*in vivo* 小核試験）を行った。

T-DM1を通常の保存条件下（2~8°C）で保存した時に分解により生じる遊離メイタンシノイド（free maytansinoid：主要化合物は █████ DM1）の █████ は █████ %であるが、毒性試験の多くは遊離メイタンシノイド含有率の低い製造ロットを用いて実施した（表2.6.7.4-1参照）。したがって、遊離メイタンシノイド低含有率の T-DM1で実施した毒性試験結果を遊離メイタンシノイドが █████ % █████ の薬物に外挿するために、ブリッジ試験として遊離メイタンシノイドを高濃度（5-7%）含有する T-DM1を用いたカニクイザル単回投与毒性試験等を行い、遊離メイタンシノイドの毒性を評価した。

投与用量は通常体重あたりの T-DM1薬物量（mg/kg）で記載したが、必要な場合には体表面積あたりの DM1量（ $\mu\text{g DM1/m}^2$ ）に換算した投与用量を示した。体表面積あたりの DM1投与用量は以下の換算式で求めた。

$$\text{投与用量 } (\mu\text{g DM1/m}^2 \text{ 体表面積}) = \text{投与用量 (mg T-DM1/kg 体重)} \\ \times \text{抗体に対する DM1分画} \times \text{変換係数 (6 (ラット) 又は12 (サル))} \times 1000$$

\*抗体に対する DM1分画 = (DM1分子量: 738 Da  $\times$  DAR<sup>\*\*\*</sup>) / (トラスツズマブ分子量: 145,167 Da)

\*\*変換係数は U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, CDER/CBER, Guidance for Industry and Reviewers: Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers, 2005 より引用。

\*\*\*DAR = drug/antibody ratio (薬物抗体比：1分子のトラスツズマブに対する DM1結合数)

以下に実施した主な非臨床毒性試験項目を示す。

T-DM1:

- ラット及びカニクイザル単回静脈内投与毒性試験
- ラット反復静脈内投与毒性試験（3週間：週1回で3回投与）
- カニクイザル反復静脈内投与毒性試験（3カ月間：3週間間隔で4回投与）
- カニクイザル反復静脈内投与毒性試験（6カ月間：3週間間隔で8回投与）
- カニクイザル安全性薬理試験
- 組織交差反応性試験（正常ヒト及びカニクイザル組織のパネル）
- *in vitro* の溶血性及び血液適合性試験
- *in vitro* の血小板減少機序検討試験
- 遺伝毒性試験（*in vivo*）：カニクイザル小核試験（6カ月間毒性試験内にて実施）

DM1:

- ラット単回静脈内投与毒性試験
- 遺伝毒性試験（*in vitro*）：AMES 試験
- 遺伝毒性試験（*in vivo*）：ラット小核試験
- hERG 試験

遊離メイタンシノイド:

- 遊離メイタンシノイド高含有（5~7%）T-DM1のカニクイザル単回静脈内投与ブリッジ試験

#### 2.4.1.6 GLP 及びガイドライン

主な非臨床毒性試験は ICH ガイドラインに準拠し、また US FDA GLP (21 CFR Part 58) に基づいて実施した。非 GLP の毒性試験、薬理試験及び PK 試験は十分な科学的信頼性をもって行った。

#### 2.4.1.7 非臨床試験と臨床試験で用いた製剤の比較

開発の過程において、T-DM1は異なるスケール（■■■■、■■■■ 及び ■■■■）、製造場所（■■■■、■■■■、■■■■）、剤型（■■■■、■■■■■■■■■■）で製造された。非臨床及び臨床試験に用いられた異なる製造工程での T-DM1の *in vitro* 細胞増殖抑制活性及び薬物動態（ラット及びカニクイザル）はほぼ同様であった（2.6.3.2.1.5及び2.6.4.8.2参照）

## 2.4.2 薬理試験

T-DM1について実施した薬理試験の概要を示す。HER2との結合活性をはじめとする抗体としての基本的性質、細胞増殖抑制活性、*in vivo* 抗腫瘍効果、作用機序に関する試験を実施した。

薬理試験の結果から示された重要な所見を以下に示す。

- T-DM1が薬理活性を発揮するためには、標的分子である HER2が重要な役割を担っており、T-DM1による細胞増殖抑制効果、*in vivo* 抗腫瘍効果は、いずれも T-DM1が HER2と結合することによってもたらされる。
- T-DM1は、トラスツズマブと同様に HER2, FcγR 及び C1q に対する結合活性を示した。トラスツズマブにリンカーを介して DM1を結合させたことによる明らかな変化は認められず、トラスツズマブの生物活性が保持されていた。
- T-DM1は、*in vitro* において HER2陽性細胞株に対し特異的に腫瘍増殖抑制活性を示した。また、トラスツズマブ感受性及び非感受性のいずれの乳癌細胞に対しても強い増殖抑制活性を示した。
- T-DM1が示す作用機序は複合的であり、T-DM1を構成するトラスツズマブ及び DM1、両者の薬理活性を併せ持っていた。
- T-DM1は、HER2陽性の乳癌細胞株をマウスに移植した動物モデルにおいて、トラスツズマブよりも優れた抗腫瘍活性を示した。

### 2.4.2.1 結合活性 (HER2, FcγR, C1q)

T-DM1は、トラスツズマブと同様に HER2 ■■■■, 高親和性及び低親和性 FcγR, 並びに補体 C1q に対し結合活性を示し、トラスツズマブにリンカーを介して DM1を共有結合させたことによる結合特性の明らかな変化は認められなかった。表面プラズモン共鳴法を用いて測定した HER2 ■■■■ に対する結合活性 (解離定数  $K_D$  値) は、T-DM1 (1.08 nmol/L) とトラスツズマブ (1.01 nmol/L) で同程度であった。また、低親和性 FcγR に対する結合活性は、トラスツズマブよりも2~6倍強かったものの、高親和性 FcγR 及び補体 C1q に対しては同程度の結合活性を示し、大きな差を認めなかった。

### 2.4.2.2 *in vitro* における腫瘍細胞増殖抑制活性

トラスツズマブ感受性細胞株 (SK-BR-3, BT-474) 及びトラスツズマブにより細胞増殖が抑制されない非感受性細胞株 (KPL-4, HCC1954, BT-474EEI) に対し、T-DM1は、トラスツズマブと DM1を併せた薬理活性を示し、トラスツズマブよりも強い増殖抑制作用を示した。トラスツズマブ感受性細胞株に対し T-DM1が示した細胞増殖抑制活性 ( $IC_{50}$ 値) は、SK-BR-3に対し0.006  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (トラスツズマブ: 0.059  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) , BT-474に対し0.069  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (トラスツズマブ: 0.245  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) であり、トラスツズマブ非感受性細胞株の増殖に対する T-DM1の  $IC_{50}$ 値は、0.009~0.043  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。また、T-DM1の細胞増殖抑制作用は、HER2に特異性を示し、正常レベルの HER2を発現している細胞株 MCF7, 及び HER2を発現していない細胞株 MDA-MB-468に対する増殖抑制効果は認められなかった。

### 2.4.2.3 腫瘍移植モデルにおける *in vivo* 抗腫瘍効果

T-DM1の *in vivo* における抗腫瘍活性は、主に HER2陽性のヒト腫瘍細胞株 (BT-474EEI, KPL-4) 及びヒト HER2遺伝子をマウスに導入して樹立した MMTV-HER2 Fo5乳腺腫瘍を用いて評価した。

トラスツズマブに反応性を示さない MMTV-HER2 Fo5乳腺腫瘍モデルを用いて、T-DM1, トラスツズマブ, DM1, トラスツズマブ + DM1併用投与の腫瘍増殖抑制効果を比較したところ、T-DM1だけが腫瘍増殖を強力に抑制した。DM1とトラスツズマブを併用するだけでは、DM1

の薬理作用は増強されず、抗体薬物複合体として分子中に両薬効成分を含んでいることが、強い腫瘍増殖抑制活性を示す上で必要と考えられた。したがって、T-DM1が薬理作用を示す上で、HER2分子との結合後、HER2との複合体として細胞内に取り込まれ、HER2陽性細胞特異的にDM1の薬理作用を発現することが重要と考えられる。

T-DM1の対照物質として作製した HER2に結合しない抗体薬物複合体（抗 IL-8-MCC-DM1）は、MMTV-HER2 Fo5乳腺腫瘍モデルにおいて、抗腫瘍活性を示さなかった。また、HER2陽性の MMTV-HER2 Fo5乳腺腫瘍と HER2陰性の MMTV-Wnt 乳腺腫瘍を用いて直接比較したところ、T-DM1は、HER2陽性の腫瘍モデルでは強い腫瘍増殖抑制効果を示すが、HER2陰性の腫瘍に対しては効果を示さなかった。このことから、T-DM1が抗腫瘍効果を発揮する上で、HER2陽性腫瘍に対し特異性を有することの重要性が示唆された。

T-DM1の投与量と抗腫瘍効果との関係性を評価するため、MMTV-HER2 Fo5乳腺腫瘍モデルでは、T-DM1を3週間に1回、1~30 mg/kg、ヒト乳癌細胞 BT-474EEI 移植モデルでは、T-DM1を3週間に1回、0.3~15 mg/kg 投与した。両腫瘍移植モデルの結果から、3週間に1回投与においてT-DM1が有効性を示す用量は、3~30 mg/kg と考えられた。また、*in vivo* においてトラスツズマブ感受性を示したヒト乳癌細胞 KPL-4移植モデル（トラスツズマブは本細胞株の PI3K/AKT シグナルを阻害しないものの、*in vivo* では ADCC の寄与により高用量投与時に感受性を示すと考えられる）では、T-DM1 3 mg/kg の単回投与により、持続的な腫瘍退縮及び増殖遅延作用を示し、腫瘍増殖抑制作用が認められた。一方、トラスツズマブの場合は、週1回15 mg/kg の4回投与であっても投与終了後、速やかに腫瘍は再増殖した。

#### 2.4.2.4 作用機序

T-DM1の作用機序について評価したところ、HER2 ECD 遊離（シェディング）の抑制、PI3K/AKT 経路を介する HER2シグナルの抑制、ADCC の惹起が認められた。これらの作用は、トラスツズマブについて報告されている主な作用機序<sup>8)10)</sup>と一致した。一方、T-DM1は、トラスツズマブとは異なり SK-BR-3, BT-474, KPL-4細胞に対しカスパーゼ-3/7活性化を誘導した。更に、ポリ（ADP リボース）ポリメラーゼの23 kDa 断片が検出されたこと、及び KPL-4細胞の細胞周期分析において sub-G0/G1領域の増加が認められたことから、アポトーシスの誘導作用を示すことが確認された。また、DM1のように微小管を標的とする薬剤は、細胞周期をG2/M 期で停止させることが知られていることから、KPL-4細胞を T-DM1処理し、G2/M 期のマーカーとなるリン酸化ヒストン H3及びサイクリン B1の発現をウエスタン法を用いて解析した。その結果、T-DM1処理によりリン酸化ヒストン H3及びサイクリン B1の発現は増強され、G2/M 期で細胞周期が停止していることが示された。トラスツズマブ感受性を示す SK-BR-3, BT-474細胞の細胞周期の分析においても、トラスツズマブが G1期で停止させたのに対し、T-DM1では G2/M 期細胞の蓄積が確認された。以上のことから、T-DM1はトラスツズマブ及びDM1の作用機序を併せ持つことが示された。

#### 2.4.2.5 薬力学的薬物相互作用

トラスツズマブを含む治療を受けた HER2陽性転移性乳癌患者を対象とした臨床試験を実施しており、その血中には、T-DM1投与前値として0~124 µg/mL のトラスツズマブが存在していた（2.7.2.2参照）。そこで、MMTV-HER2 Fo5乳腺腫瘍モデルを用いて、トラスツズマブ共存下における T-DM1の抗腫瘍効果について評価した。T-DM1の腫瘍増殖抑制効果に対し、トラスツズマブは拮抗的な作用を示さず、先に投与されたトラスツズマブが体内に残存していたとしても、T-DM1の臨床的有効性には悪影響を与えないことが示唆された。

#### 2.4.2.6 副次的薬理試験

該当なし。

### 2.4.2.7 安全性薬理試験

安全性薬理試験については、2.4.4.6(1)安全性薬理試験を参照。

### 2.4.3 薬物動態試験

T-DM1に関する薬物動態試験より得られた主要な知見は以下のとおりである。

T-DM1分子はトラスツズマブを含むため、いずれの動物種においても中央コンパートメントの分布容積 ( $V_c$ ) は血漿容量と同程度であったが、消失はトラスツズマブよりやや早く、全身クリアランス (CL) は総トラスツズマブの約2倍であった。げっ歯類では線形性、カニクイザルでは非線形性の薬物動態が認められた。これはヒト HER2に対応するげっ歯類の NEU に対してはトラスツズマブが交差反応を示さないものの、カニクイザルの HER2には交差反応を示し、カニクイザルでは標的抗原である HER2との結合を介した消失経路が高用量では飽和するためと考えられた。カニクイザルでの反復投与による明らかな薬物動態の変化はなく、雌雄差も認められなかった。

T-DM1投与後、血漿中に低濃度の遊離型 DM1が持続して認められた。DM1自体は様々な組織に速やかに分布し消失も速やかであるが、T-DM1としてトラスツズマブに結合している場合には、DM1の組織移行性は血流量の多い組織に制限されていることが示唆された。

T-DM1の代謝物として遊離型 DM1に加えて MCC-DM1及び Lys-MCC-DM1が *in vivo* 試験で確認された。MCC-DM1あるいは Lys-MCC-DM1を静脈内投与時の血漿中濃度より算出したそれぞれの DM1への生体内変換率は1%前後であった。DM1部分の主排泄経路は胆汁を介した糞中排泄であった。DM1は主に CYP3A4/5によって代謝されるが、臨床上的問題となるような CYP 酵素の阻害作用や誘導を示さなかった。また DM1は P-gp の基質となるが、阻害作用は認められなかった。

#### 2.4.3.1 T-DM1投与後の薬物動態

- 単回静脈内投与後の T-DM1の PK パラメータに関しては、マウス (0.3~15 mg/kg) , ラット (0.3~60 mg/kg) 及びカニクイザル (0.3~30 mg/kg) のいずれの動物種においても  $V_c$  はほぼ血漿容量と同程度であり、消失半減期 ( $t_{1/2}$ ) はそれぞれ4.2~6.5, 4.3~5.8及び0.9~5.4日、CL はそれぞれ13~22, 10~22及び9.5~40 mL/day/kg であった。 $V_c$  は他の抗体薬の特徴と類似していたが、消失はやや早く、CL は総トラスツズマブの約2倍、 $t_{1/2}$ は約半分であった。これは、DM1及び DM1を含む代謝物が T-DM1から経時的に遊離することで生成する DM1非結合型のトラスツズマブが、総トラスツズマブ測定用 ELISA では検出されるが、T-DM1測定用 ELISA では検出できないためと考えられた。
- T-DM1の薬物動態はマウス及びラットでは線形性を示した。これは、げっ歯類でヒト HER2に対応する NEU とトラスツズマブが結合しないためであると推察される。
- カニクイザルの HER2はトラスツズマブと結合するため、0.3~30 mg/kg の投与量範囲において、低用量では投与量の増加とともに T-DM1の CL が低下する非線形性を示したが、10 mg/kg 以上の投与量で CL は約10 mL/day/kg とほぼ一定となった。これは、HER2との結合を介した消失経路の飽和があるためと考えられる。投与量の増加とともに  $t_{1/2}$ は長くなり、0.3 mg/kg では0.9日、10 mg/kg 以上では概ね5日であった。反復投与による T-DM1の薬物動態の明らかな変化は認められなかった。
- 遊離型 DM1の血漿中濃度は T-DM1投与直後に最高値を示し、経時的に緩やかに低下した。遊離型 DM1濃度はいずれの動物種においても低く、臨床の値 (2.7.2.1(2)) と比較しても大きく異なるものではなかった。
- ヒト腫瘍移植マウスでの検討より、腫瘍の存在や大きさの違いによる T-DM1の薬物動態への

影響は小さいことが示唆された。(2.6.4.3.1 (1))

- カニクイザルでの ATA 陽性個体の出現は低く、T-DM1の薬物動態データの解釈への明らかな影響は認められなかった。

#### 2.4.3.2 DM1, MCC-DM1及びLys-MCC-DM1投与後の薬物動態

DM1投与後、マウス及びラットでのDM1の分布容積は非常に大きく(>5000 mL/kg), CLも大きかった(マウスで>200 mL/min/kg, ラットで30~80 mL/min/kg)。トラスツズマブに結合している場合のDM1とは異なり、DM1自体は速やかに体内に分布することが示唆された。

MCC-DM1及びLys-MCC-DM1のラットでの単回静脈内投与試験では、両化合物のCLは大きかった。しかし、DM1静脈内投与後のDM1の血漿中濃度との比較により算出したMCC-DM1あるいはLys-MCC-DM1静脈内投与後のDM1への変換率は1%前後と低かったことから、両化合物の多くは未変化体のまま体外へ排出されるか、DM1以外の代謝物に変換されることが示唆された。

#### 2.4.3.3 T-DM1のトキシコキネティクス

T-DM1のTKはラット及びカニクイザルでの単回静脈内投与毒性試験(2.6.4.3.1(3), 2.6.4.3.1(7)), 及びカニクイザルでの3週1回反復静脈内投与毒性試験(4回投与, 8回投与2.6.4.3.2)で評価した。T-DM1の最大用量はカニクイザルに30 mg/kgで4回投与した場合であった。PK試験と同様に、カニクイザルではT-DM1の $C_{max}$ は投与量増加とともに上昇し、CLは投与量増加とともに減少した。3週間に1回の反復投与による薬物動態への明らかな影響は認められなかった。また、T-DM1の薬物動態に明らかな雌雄差は認められなかった。

#### 2.4.3.4 分布

T-DM1, トラスツズマブ及びDM1を用いて体内分布及び血漿蛋白結合試験を実施した。主要な知見は以下のとおりである。

- [ $^{125}$ I]トラスツズマブ, [ $^{125}$ I]T-DM1あるいはT- $^3$ [H]DM1をラットに静脈内投与した際、いずれの標識化合物においても放射能は血液中で最も高く、肝、肺、腎などの血流の多い組織にも分布したが、残留性は認められなかった。一方、 $^3$ [H]DM1をラットに静脈内投与した際には、放射能は速やかに様々な組織に分布した。放射能の組織中濃度の血液中濃度に対する比は10~30と高かったが、残留性は認められなかった。T-DM1ではDM1がトラスツズマブと結合していることで、DM1の組織移行性が血流量の多い組織に制限されていることが示唆された。
- DM1の *in vitro* 血漿蛋白結合率は、ヒト、ラット及びカニクイザルのいずれの種においても90%以上であった。

#### 2.4.3.5 代謝及び排泄

T-DM1の代謝(分解)に関しては2つの経路が考えられる。一つは生体内でリンカー部分が開裂し、DM1やDM1を含む物質が遊離する経路であり、もう一つはT-DM1として通常のIgG1と同様な代謝を受ける経路である。いずれの経路においても抗体部分は細胞に取り込まれて異化代謝を受け、低分子ペプチドやアミノ酸まで分解されると考えられる。

主要な知見は以下のとおりである。

- ラット、カニクイザル及びヒト血漿中でT- $^3$ [H]DM1をインキュベーションし、試料を1%トリフルオロ酢酸アセトニトリル溶液で除蛋白したところ、約80%のDM1部分が96時間後も血漿中で蛋白と結合したままであることが確認された。

- ラットに T-[<sup>3</sup>H]DM1投与後、血漿中の DM1分子の95%以上は蛋白質と結合しており、そのほとんどが T-DM1として存在していることが示唆された。
- ラットに T-DM1を 10 mg/kg 投与後の遊離型 DM1の血漿中濃度は低かった (1.56~15.56 ng/mL)。異化代謝物 Lys-MCC-DM1 (最高値15.43 ng/mL) 及び MCC-DM1 (最高値9.94 ng/mL) もラット血漿中に検出された。なお、国内第 II 相臨床試験 (JO22997, 3.6 mg/kg を3週間間隔で点滴静脈内投与) におけるサイクル1の血漿中遊離型 DM1及び MCC-DM1の最高値はそれぞれ3.79及び8.65 ng/mL であり、Lys-MCC-DM1はほとんどが定量下限値未満であった (2.7.2.1(2))。
- DM1は主に CYP3A4, 一部 CYP3A5による代謝を受けることが示唆された。
- T-[<sup>3</sup>H]DM1投与後の DM1を含む異化代謝物及び[<sup>3</sup>H]DM1投与後の DM1の代謝物の主要な排泄経路は胆汁を介する糞中排泄であり、尿中排泄の寄与は投与量の2~8%程度であった。T-[<sup>3</sup>H]DM1投与後のラット胆汁中 (投与放射能の47.6%が存在) では Lys-MCC-DM1及び MCC-DM1が合わせて投与量の25%程度を占める主要な代謝物であった。

#### 2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

- ヒト肝ミクロソームやヒト肝細胞を用いた *in vitro* での検討より、臨床用量付近の濃度では DM1にはヒト CYP に対する阻害作用や誘導能はないと推察された。
- DM1は P-gp の基質ではあるが、最高0.5 μM (369 ng/mL) の濃度まで P-gp を阻害しないことが確認された。

#### 2.4.3.7 製剤間の薬物動態比較

ラット及びカニクイザルでの単回静脈内投与による T-DM1 ( \*製法A )製剤と T-DM1 ( \*製法B )製剤の薬物動態、また、カニクイザル単回静脈内投与による T-DM1 ( \*製法C )製剤と T-DM1 ( \*製法D )製剤の薬物動態を比較した。これらの [REDACTED] の T-DM1の PK パラメータの比較より、それぞれの製法における T-DM1の薬物動態は同様であることが確認された。

### 2.4.4 毒性試験

T-DM1の単回及び反復静脈内投与毒性試験において、ラットでは52 mg/kg [5970 µg DM1/m<sup>2</sup>]以上で死亡が認められたのに対し、カニクイザルでは30 mg/kg [6120 µg DM1/m<sup>2</sup>] (体表面積でDM1換算すると、ラットの60 mg/kg に相当) まで死亡及び瀕死状態はみられなかった。一般毒性試験において両動物種でみられた主な毒性は肝臓 (AST・ALT・ALP の増加, 肝細胞の空胞化・萎縮, 及び変性・壊死), 血小板 (血小板数減少), 骨髄 (細胞減少), 及びリンパ組織 (脾臓及び胸腺のリンパ球枯渇) への作用であり, 上皮細胞及び食細胞由来細胞では有糸分裂像の増加が認められた。末梢神経毒性 (軸索変性) はカニクイザルの1 mg/kg [232 µg DM1/m<sup>2</sup>]以上で観察された。投与部位の忍容性は良好であった。TK 測定を実施したすべての試験で、T-DM1並びにその構成成分である総トラスツズマブ及び遊離型 DM1による曝露が確認された。DM1の単回静脈内投与試験において、ラットでは0.2 mg/kg [1200 µg DM1/m<sup>2</sup>]まで忍容性は良好であったが、0.4 mg/kg [2400 µg DM1/m<sup>2</sup>]以上で死亡がみられ、観察された所見はT-DM1と同様であった。T-DM1保存時に形成される遊離メイタンシノイドのラット及びカニクイザルを用いた単回投与ブリッジ試験において、遊離メイタンシノイドが高濃度の T-DM1は低濃度のものと同様の毒性を示した。なお、トラスツズマブの非臨床 *in vivo* 試験では毒性は認められていない。

T-DM1の組織交差反応性試験において、その分布及び染色強度はカニクイザル及びヒト組織切片において類似しており、ヒト組織における T-DM1の分布パターンはトラスツズマブで観察されたものと同様であった。T-DM1のカニクイザルを用いた安全性薬理試験及び一般毒性試験では、心血管系、呼吸器系及び中枢神経系への影響は認められなかった。DM1は29.5 µM まで hERG 電流を阻害しなかった。DM1は AMES 試験で陰性であり、T-DM1のカニクイザル小核試験 (1, 3, 10 mg/kg) も陰性であったが、DM1のラット小核試験 (0.05, 0.1, 0.2 mg/kg) で用量依存的な小核頻度の増加が観察された。

#### 2.4.4.1 一般毒性 (単回投与毒性及び反復投与毒性)

##### 2.4.4.1.1 単回投与毒性

T-DM1の主な単回静脈内投与毒性試験はラットを用いて6, 20, 60 mg/kg の用量で、カニクイザルを用いて3, 10, 30 mg/kg の用量で実施した (両動物種共に、体表面積に換算すると、612, 2040, 6120 µg DM1/m<sup>2</sup>)。DM1の単回静脈内投与毒性試験はラットを用いて0.1~1.0 mg/kg (非GLP) 又は0.07~0.2 mg/kg の用量で実施した。観察期間は主に3週間とし、投与後3日及び3週間に剖検を行い精査した。

表 2.4.4.1.1-1 単回静脈内投与毒性試験一覧表

薬物	動物種	観察期間	投与用量 (mg/kg) [体表面積換算(µg DM1/m <sup>2</sup> )]	概略の致死量 (mg/kg) [ (µg DM1/m <sup>2</sup> ) ]
T-DM1	ラット	3週間	0, 6, 20, 60 [0, 612, 2040, 6120]	60 [6120]
T-DM1	カニクイザル	3週間	0, 3, 10, 30 [0, 612, 2040, 6120]	> 30 [> 6120]
DM1	雌ラット (非 GLP)	12日間	0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 [0,600,1200,2400,3600,4800,6000]	0.4 [2400]
DM1	ラット	3週間	0, 0.07, 0.1, 0.2 [0, 420, 600, 1200]	> 0.2 [> 1200]

[4.2.3.1-3, 4.2.3.1-6, 4.2.3.1-4, 4.2.3.1-5より作成]

ラットでは、T-DM1投与に起因した死亡例及び瀕死状態が60 mg/kg で観察された。体重減少、肝毒性、血中の好中球数増加、及び血小板数減少が認められた。雄動物では精巣の精細管変性及び精巣上体に管腔内細胞残屑が、雌では卵巣の黄体に壊死が認められた。T-DM1の6, 20 mg/kg では一般症状に影響はみられず、忍容性は良好であった。主な標的臓器は雌雄生殖器的変化を除いては60 mg/kg でみられたものと同様であったが、その程度は軽度であった。観察された所見は投与後3週間では回復性が認められた。

カニクイザルでは、T-DM1の単回静脈内投与試験が実施され、3, 10, 30 mg/kg 投与後の忍容性は良好であった。サルの高用量30 mg/kg [6120 µg DM1/m<sup>2</sup>]は、ラットで死亡が認められた高用量群の60 mg/kg [6120 µg DM1/m<sup>2</sup>]と体表面積換算でDM1投与量は同じであるが、サルでは死亡及び重篤な症状は認められなかった。毒性所見はラットでみられたものと同様に、肝臓への作用及び血小板数減少であった。これらの所見は3週間の回復期間後には回復又は回復傾向を示した。

DM1の毒性はラットを用いて検討された。DM1の単回投与は0.2 mg/kg まで忍容性良好であり、0.4 mg/kg [2400 µg DM1/m<sup>2</sup>]以上で死亡例が認められた。DM1の投与により観察された毒性は T-DM1を投与したラット及びサルでみられたものと同様であり、3週間の回復期間後に回復又は回復傾向が認められた。ラットを用いた T-DM1及び DM1の試験では、DM1が結合したT-DM1の方が、非結合のDM1と比較して約2倍高い用量まで忍容性が良好であった。

#### 2.4.4.1.2 反復投与毒性

T-DM1の主な反復静脈内投与毒性試験として、雌ラット及びカニクイザルを用いて以下の試験を実施した。

表 2.4.4.1.2-1 反復静脈内投与毒性試験一覧表

薬物	動物種	投与期間	回復期間	投与用量 (mg/kg) [体表面積換算 (µg DM1/m <sup>2</sup> )]
T-DM1	雌ラット (非 GLP)	3週間 (1回/週)		0, 10, 26, 52 [0, 1191, 2986, 5970]
T-DM1	カニクイザル	3カ月間 (1回/3週)	3週間及び6週間	0, 3, 10, 30 [0, 612, 2040, 6120]
T-DM1	カニクイザル	6カ月間 (1回/3週)	6週間	0, 1, 3, 10 [0, 232, 695, 2316]

T-DM1のラット3週間（週1回投与）反復投与試験では、26 mg/kg まで忍容性は良好であり、26 mg/kg 以上で血清肝酵素及び顆粒球の用量依存的な増加が認められたものの、最終投与後28日目の検査では病理組織学的な変化はみられていない。52 mg/kg では死亡例がみられ、体重増加抑制、血小板数減少、血清肝酵素（ALT, AST, GGT）及びビリルビンの増加が認められた。脾臓及び肝臓の顕著な髄外造血、肝細胞の肥大、及び核/細胞質比率の全体的な増加を伴った核肥大が観察され、更に有糸分裂像を示す細胞が増加した。

T-DM1のカニクイザル3カ月間（3週間間隔で4回投与）反復投与試験では、3 mg/kg 以上で病理組織学的変化が肝臓（クッパー細胞の肥大及び肝細胞の空胞化）、脾臓（細網内皮細胞の肥大、赤脾髄細胞増加）、胸腺（リンパ球枯渇）、及び腸管膜リンパ節（リンパ球枯渇）に認められ、有糸分裂像の増加がクッパー細胞、脾臓細網内皮細胞、及び基底上皮（舌、皮膚、投与部位）に観察された。10 mg/kg 以上では、更に好中球数及びASTの増加、脊髄及び坐骨神経の病理組織学的変化（軸索変性）などが観察された。30 mg/kg では、血小板数及びリンパ球数

の減少、ALT、ALP の増加等が認められた。脊髄及び坐骨神経の所見を除いては観察された所見は3週間及び6週間の回復期間後には、回復又は回復傾向を示した。認められた毒性変化とその程度、並びに所見の回復性を考慮して、本試験の重篤な毒性が発現しない最大用量（HNSTD）は10 mg/kg である。

T-DM1のカニクイザル6カ月間（3週間間隔で8回投与）反復投与試験では、1 mg/kg 以上で胆嚢上皮の有糸分裂像の増加、3 mg/kg 以上ではAST の増加及び肝臓の病理組織学的変化（クッパー細胞及び類洞内皮細胞の肥大等）が観察された。10 mg/kg では血小板数減少とともに肝細胞の空胞化・萎縮などが認められた。6週間の回復期間後の検査では、これらの変化は回復又は回復傾向を示したが、1 mg/kg 以上（各群6例中雄1例）で坐骨神経の軸索変性が観察された。

#### 2.4.4.1.3 主な毒性所見

単回投与試験及び反復投与試験でみられた主な所見を以下にまとめた。

##### (1) 死亡例のみられた用量

T-DM1のラット単回投与試験（0, 6, 20, 60 mg/kg）では、T-DM1投与に起因した死亡例及び瀕死状態が60 mg/kg で投与5～6日目に観察された。雌ラットの3週間（週1回）反復投与試験（0, 10, 26, 52 mg/kg）では、52 mg/kg [5970 µg DM1/m<sup>2</sup>]で最終投与後7～9日目に死亡が認められた。

T-DM1のカニクイザル単回投与試験（0, 3, 10, 30 mg/kg）、30 mg/kg [6120 µg DM1/m<sup>2</sup>]（体表面積で換算すると、ラットの60 mg/kg に対応）まで投与した3カ月間反復投与試験、及び10 mg/kg まで投与した6カ月間反復投与試験で、死亡及び重篤な症状は認められなかった。

DM1のラット単回投与試験（0.1～1.0 mg/kg; 0.07～0.2 mg/kg）では0.2 mg/kg [1200 µg DM1/m<sup>2</sup>]まで忍容性は良好であったが、0.4 mg/kg [2400 µg DM1/m<sup>2</sup>]以上で死亡がみられた。

##### (2) 肝臓

T-DM1のラット単回投与試験では、投与3日目の検査で6 mg/kg 以上で肝臓の病理組織学的変化（クッパー細胞の肥大及び空胞化、並びに肝細胞及びクッパー細胞の有糸分裂像増加）が、20 mg/kg 以上ではALT・AST・ALP の増加が観察された。T-DM1のカニクイザル単回投与試験では、投与3日目の検査で3 mg/kg 以上でラットと同様の肝臓の病理組織学的変化（クッパー細胞の肥大及び有糸分裂像の増加）が、10 mg/kg 以上ではAST の増加、30 mg/kg では肝臓の相対重量増加が認められた。これらの変化はいずれも投与3週間後の検査では回復又は回復傾向を示した。

DM1のラット単回投与試験では、0.07 mg/kg 以上で肝臓の病理組織学的な変化（肝細胞の変性・壊死、クッパー細胞の肥大・空胞化、胆管上皮/肝細胞の有糸分裂像の増加）が、0.1 mg/kg 以上ではAST, ALT の増加、胆管上皮の変性・壊死、0.2 mg/kg では肝重量増加などが認められた。観察された毒性は T-DM1を投与したラット及びサルと同様であり、3週間の回復期間後に回復性を示した。

##### (3) 血小板

T-DM1のラット単回投与試験では20 mg/kg で、カニクイザル単回投与試験では10 mg/kg 以上で血小板数減少が認められた。ラット反復投与試験では52 mg/kg で、カニクイザル3カ月間反復投与試験では30 mg/kg で、6カ月間反復投与試験では10 mg/kg で血小板数減少が観察された。いずれの試験でも回復期間後の検査では回復又は回復傾向を示した。

DM1のラット単回投与試験では、0.07 mg/kg 以上で血小板数減少が認められ、投与3週間後の検査では回復性を示した。

##### (4) 骨髄及びリンパ組織

T-DM1のラット単回投与試験では、投与3日目の検査において病理組織学的な変化が、20

mg/kg 以上で脾臓（リンパ球枯渇），胸腺（リンパ球壊死），骨髓（細胞減少）に，雌ラット3週間反復投与試験（週1回投与）では，脾臓の髄外造血及び骨髓の細胞数減少が観察された。

T-DM1のカニクイザル3カ月間反復投与試験（3週間間隔で4回投与）では，投与終了時の検査において3 mg/kg 以上で，脾臓（細網内皮細胞の肥大，赤脾髄細胞増加），胸腺（リンパ球枯渇）及び腸管膜リンパ節（リンパ球枯渇）に病理組織学的な影響が認められた。

これらの変化はいずれも3週間又は6週間の回復期間後には回復又は回復傾向が示された。

DM1のラット単回投与試験では，0.07 mg/kg 以上で骨髓（出血，細胞減少），0.1 mg/kg 以上では胸腺（リンパ球壊死）に，0.2 mg/kg 以上では脾臓（リンパ球枯渇，及び有糸分裂像の増加を伴った網内系細胞の肥大・空胞化）が観察された。これらの変化は3週間の回復期間後に回復性を示した。

#### (5) 神経

ラットを用いた単回及び反復投与試験では，T-DM1及び DM1いずれの薬物においても神経の病理組織学的変化は観察されなかった。

T-DM1のカニクイザルを用いた試験では，単回投与試験において変化はみられなかった。3カ月間反復投与試験では投与終了時の検査で，10 mg/kg 以上に脊髄及び坐骨神経の軸索変性が，30 mg/kg では坐骨神経のシュワン細胞肥大/過形成が観察され，いずれの変化も6週間の回復期間終了時の検査においても残存した。6カ月間反復投与試験（1, 3, 10 mg/kg; 3週間間隔で8回投与）では投与終了時の検査で変化はみられなかったものの，6週間の回復期間後の検査において，全投薬群で坐骨神経の軸索変性が観察された。いずれの試験でも一般状態観察，神経学的及び生理学的検査において軸索変性に付随する変化は認められなかった。

#### (6) 生殖器

T-DM1のラット単回投与試験において，死亡用量の60 mg/kg で雄動物は精巣の精細管変性及び精巣上体に管腔内細胞残屑，雌では卵巣の黄体に壊死が認められた。

ラット反復投与試験，カニクイザルの単回及び反復投与試験では生殖器に影響は観察されなかった。

以上，T-DM1の単回及び反復静脈内投与毒性試験において，ラットでは52 mg/kg [5970 µg DM1/m<sup>2</sup>]以上で死亡が認められたのに対し，カニクイザルでは30 mg/kg [6120 µg DM1/m<sup>2</sup>]（体表面積で換算すると，ラットの60 mg/kg に対応）まで，死亡及び重篤な症状はみられなかった。一般毒性試験において両動物種でみられた主な毒性は肝臓（AST・ALT・ALP の増加，肝細胞の空胞化・萎縮，及び変性・壊死），血小板（血小板数減少），骨髓（細胞減少），及びリンパ組織（脾臓及び胸腺のリンパ球枯渇）への作用であり，上皮細胞及び食細胞由来細胞では有糸分裂像の増加が認められた。末梢神経毒性（軸索変性）はカニクイザルの1 mg/kg [232 µg DM1/m<sup>2</sup>]以上で観察された。DM1の単回静脈内投与試験において，ラットでは0.2 mg/kg [1200 µg DM1/m<sup>2</sup>]まで忍容性は良好であったが，0.4 mg/kg [2400 µg DM1/m<sup>2</sup>]以上で死亡がみられ，観察された主な毒性は T-DM1と同様であった。

#### 2.4.4.2 遺伝毒性

DM1は AMES 試験において S9存在下及び非存在下ともに陰性であった。

DM1をラットに0.01, 0.05, 0.1, 0.2 mg/kg の用量で単回静脈内投与した時，投与後24時間及び48時間後の骨髓において，用量依存的な（0.05 mg/kg 以上）小核形成の増加がみられ，遺伝毒性陽性であった。

T-DM1をカニクイザルに1, 3, 10 mg/kg の用量で3週間に1回，計8回静脈内投与した試験では，最終投与7日目に採取した骨髓において小核の誘発は認められなかった。

表 2.4.4.2-1 T-DM1及びDM1の遺伝毒性

薬物	動物種	投与期間	投与経路	投与用量 (mg/kg) [体表面積換算 ( $\mu\text{g DM1/m}^2$ )]	試験結果
DM1	AMES	NA	NA	0, 50, 160, 500, 1600, 5000 $\mu\text{g/plate}$	陰性
DM1	ラット	単回	静脈内	0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 [0, 60, 300, 600, 1200]	0.05 mg/kg より陽性
T-DM1	カニクイザル	6カ月間 (1回/3週)	静脈内	0, 1, 3, 10 [0, 232, 695, 2316]	陰性

NA: 該当なし

[4.2.3.3.1-1, 4.2.3.3.2-1, 4.2.3.2-5より作成]

DM1は、チューブリンに対してビンカルカロイドと競合的に結合し<sup>6)</sup>、チューブリン重合阻害作用を示す。この作用により DM1は染色体異常誘発能を検査するラット小核試験で0.05 mg/kg より陽性反応を示したが、AMES 試験では陰性であった。本用量の DM1投与後5分のラットの血漿中 DM1濃度は10 ng/mL であり、T-DM1を臨床用量 (3.6 mg/kg) 投与されたヒトでの血中遊離型 DM1濃度 ( $C_{\text{max}}$ : 3.41 ng/mL) と大きな乖離はないことから、T-DM1は染色体異常が懸念される。

染色体異常は、紡錘体微小管形成阻害を示す他の化合物のタキサン及びビンカルカロイドなどに共通してみられる特性であり、パクリタキセル、ドセタキセル及びビンブラスチン硫酸塩は染色体異常に対して陽性であった<sup>11)-13)</sup>。

一方、T-DM1をカニクイザルに6カ月間反復投与後の試験では、遊離型 DM1の血中曝露量が、ラット小核試験で小核の誘発が認められた曝露 (10 ng/mL) に匹敵する10 mg/kg 群 (雄: 10.8 ng/mL, 雌: 11.6 ng/mL) においても、小核の誘発は認められなかった。

### 2.4.4.3 がん原性

T-DM1のがん原性試験は、進行がん患者の治療を目的とした医薬品の承認申請のためには必要とされないことから実施しなかった。

### 2.4.4.4 生殖発生毒性

T-DM1の「受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験」及び「出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験」は、進行がん患者の治療を目的とした医薬品の承認申請のためには必要とされないことから実施しなかった。

T-DM1の生殖器に対する影響はラット及びカニクイザルを用いた単回静脈内投与毒性試験及び6カ月までの反復静脈内投与毒性試験で評価したが、ラット単回投与試験の死亡用量 (60 mg/kg) [6120 DM1  $\mu\text{g/m}^2$ ]で、精巣に精細管の変性、並びに卵巣に黄体の壊死が観察された。DM1のラット単回静脈内投与毒性試験では生殖器に対する影響はみられなかった。

T-DM1の「胚・胎児発生に関する試験」について、T-DM1は染色体異常誘発性が懸念されること、また T-DM1の各構成成分の DM1及びトラスツズマブは共に下記のように発生毒性を誘発することから、T-DM1も催奇形物質として胎児毒性のリスクがあると考えられた。本薬は抗悪性腫瘍薬であり、発生毒性が知られている系統の医薬品について、本試験は医薬品の承認申請のためには必須でないことから実施しなかった。

DM1の類縁化合物メイタンシンのマウスにおける生殖発生毒性試験では胚・胎児死亡の増加、胎児体重の減少及び胎児の異常が報告されている<sup>6)</sup>。トラスツズマブの生殖発生毒性試験では胚・胎児への影響は観察されなかったが、市販後の症例報告で妊娠中の投与は羊水過少症のリスクがあり、胎児の致死的な腎不全及び肺形成不全と関連していることが知られている<sup>7)</sup>。

### 2.4.4.5 局所刺激性

予定されている臨床投与経路は静脈内であるため、T-DM1の局所刺激性試験を別途実施しなかったが、T-DM1のラット単回静脈内投与試験（4.2.3.1-3）、カニクイザル単回静脈内投与試験（4.2.3.1-6, 4.2.3.7.7-8）及び反復静脈内投与試験（3カ月間投与試験：4.2.3.2-4, 6カ月間投与試験：4.2.3.2-5）において、投与部位の肉眼的及び病理組織学的検査により評価した。ラットではT-DM1投与に伴う投与部位の肉眼的変化は認められなかった。投与期間終了時の病理組織学的な所見として、上皮及び付属器において基底上皮の有糸分裂像の増加が観察されたが、これはチューブリン重合阻害薬であるDM1の薬理活性と一致する。この所見は、3週間の観察期間終了後には認められなかった。カニクイザルにおいても同様の変化が認められた。以上のように、T-DM1投与による投与部位の忍容性は良好であった。

表 2.4.4.5-1 T-DM1の局所刺激性

薬物	動物種	投与期間	回復/観察期間	投与経路	投与濃度 (mg/mL)	投与用量 (mg/kg) [体表面積換算 ( $\mu\text{g DM1}/\text{m}^2$ )]
T-DM1	ラット	単回	3週間	静脈内	0, 0.5, 1.67, 5	0, 6, 20, 60 [0, 612, 2040, 6120]
T-DM1	カニクイザル	単回	3週間	静脈内	0, 0.5, 1.67, 5	0, 3, 10, 30 [0, 612, 2040, 6120]
T-DM1 (5-7% FM)	カニクイザル	単回	3週間	静脈内	0, 0.5, 1.67, 5	0, 3, 10, 30 [0, 612, 2040, 6120]
T-DM1	カニクイザル	3カ月間 (1回/3週)	3週間及び6週間	静脈内	0, 0.5, 1.67, 5	0, 3, 10, 30 [0, 612, 2040, 6120]
T-DM1	カニクイザル	6カ月間 (1回/3週)	6週間	静脈内	0, 0.4, 1.2, 4	0, 1, 3, 10 [0, 232, 695, 2316]

FM = Free Maytansinoid (遊離メイタンシノイド : 主要化合物は XXXXXXXXXX DM1)

### 2.4.4.6 その他の毒性

#### (1) 安全性薬理試験

##### 1) DM1: hERG 試験

DM1によるhERG阻害は、試験した最高濃度である29.5  $\mu\text{M}$  でも2.5%のみであることから、hERG電流に対するDM1の阻害作用の $\text{IC}_{20}$ 及び $\text{IC}_{50}$ は求めることができず、29.5  $\mu\text{M}$ より上であると考えられた。 $\text{IC}_{20}$ が29.5  $\mu\text{M}$  (約21.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )より大きいこと、また、ヒト血漿蛋白結合率が約93%であることから、T-DM1を臨床用量 (3.6 mg/kg) 投与されたヒトでの血中遊離型DM1濃度 ( $C_0$ : 3.41 ng/mL) に対するhERG電流の安全係数は、30倍を大幅に上回った。

##### 2) T-DM1: 雌カニクイザル安全性薬理試験

T-DM1の3, 10, 30 mg/kgを雌カニクイザルに単回静脈内投与した時、一般症状、体重・摂餌状態、呼吸数、定性的な呼吸深度評価、心電図、トロポニンI、トロポニンT及びクレアチンキナーゼアイソザイムに対して、薬物投与の明らかな影響は認められなかった。収縮期血圧、拡張期血圧、平均動脈圧及び脈圧の軽度な増加が、30 mg/kg群で投与約4日目よりみられ、22日目まで持続した。しかしながら、個別の測定値のほとんどは投与前値の範囲内であり、軽度な増加であることから毒性作用とは考えられなかった。

以上の結果から、T-DM1の心血管系及び呼吸器系に対する無毒性量は30 mg/kg [6120  $\mu\text{g DM1}/\text{m}^2$ ]と推定された。

トラスツズマブの心毒性発現機構を解明するための研究は、適切な動物モデルを見出すのが難しいことから進んでいない。しかし、細胞ベースの試験、遺伝子変換マウスモデルからのデータは、HER2シグナリング経路が心臓の分化に重要なことに加えて、成人においては心筋細胞の生存と修復に重要な役割を果たしていることを示唆している。この後者の作用は抗HER2治療における心毒性発現に対して重要な役割を果たしている可能性がある<sup>14)-16)</sup>。

### 3) 中枢神経系への作用

T-DM1の中枢神経系への作用は、T-DM1のカニクイザルを用いた3カ月間反復静脈内投与毒性試験（投与量：0, 3, 10, 30 mg/kg）及び6カ月間反復静脈内投与毒性試験（投与量：0, 1, 3, 10 mg/kg）における一般状態観察及び神経学的検査で評価した（4.2.3.2-4, 4.2.3.2-5）。両試験とも最高用量まで、T-DM1投与に起因する中枢神経系への作用は認められなかった。

### (2) 溶血性及び血液適合性試験

T-DM1はカニクイザル及びヒトの血液において、溶血性を示さず、カニクイザル及びヒトの血清及び血漿に適合性を示した。

### (3) 血小板減少機序検討試験

非臨床試験及び臨床試験で認められた血小板減少症の機序検討を目的として、ヒト造血幹細胞及び血小板を用いた *in vitro* の試験を実施した。T-DM1及びDM1は、血小板機能に対する直接的な影響を及ぼさないものの、T-DM1は巨核球の産生を障害した。骨髄において巨核球産生を障害することが、非臨床試験及び臨床試験で認められた血小板減少症に関与していると考えられた。

### (4) 組織交差反応性試験

T-DM1の組織交差反応性はカニクイザル及びヒトの凍結組織標本において、類似の分布及び強度を示した。ヒト組織におけるT-DM1の分布パターンはトラスツズマブで観察されたものと同様であった<sup>17)</sup>。

### (5) 遊離メイタンシノイドの単回投与毒性

T-DM1を一般的な保存条件下（2-8°C）で保存した時に形成される遊離メイタンシノイドの毒性を評価するために、ラットを用いて遊離メイタンシノイドの主要化合物である [REDACTED] DM1の単回投与毒性試験及び遊離メイタンシノイドの割合を変えたT-DM1の単回投与毒性試験、並びにカニクイザルを用いて遊離メイタンシノイド高含有（5~7%）のT-DM1の単回投与毒性試験を行った。[REDACTED] DM1はラットにおいて毒性学的に有意な所見はみられず忍容性は良好であり、遊離メイタンシノイド高含有T-DM1をラット及びサルに投与した時、遊離メイタンシノイド量の低いT-DM1と比較して異なる毒性は認められなかった。

### (6) メイタンシンの毒性

DM1はメイタンシン誘導体であることから、メイタンシンの毒性試験について、公表論文に発表されているデータを以下にまとめた。

メイタンシンをイヌに単回静脈内投与した際の最低毒性量は $0.3 \text{ mg/m}^2$ （ $0.015 \text{ mg/kg}$ ；換算係数を1/20とした）であり、5日間分割投与した際の最低毒性量はイヌで $0.75 \text{ mg/m}^2/5 \text{ days}$ （ $0.0375 \text{ mg/kg/5 days}$ ）、アカゲザルで $0.45 \text{ mg/m}^2/5 \text{ days}$ （ $0.0375 \text{ mg/kg/5 days}$ ；換算係数を1/12とした）であった<sup>18)</sup>。また、ラットへの皮下投与では、諸臓器における有糸分裂像増加、胸腺・脾臓・骨髄の萎縮性的変化、後根神経節細胞の染色質溶解及び空胞化、肝細胞の脂肪性変化などが認められた<sup>19)</sup>。

イヌ及びサルを用いた慢性毒性試験において、膵臓腺房細胞の変性、腎症（nephrosis）、諸

臓器における細胞分裂像が認められた。本薬による毒性は、概ね用量依存的、可逆的、非蓄積性であった<sup>18)</sup>。また、複数の動物において、皮下投与により炎症及び線維化などを伴う投与部位局所の組織反応が認められた<sup>18), 19)</sup>。

マウスの催奇形性試験において、胚・胎児死亡の増加、胎児体重の減少及び胎児の異常（水頭、腹壁破裂、小眼・無眼、外脳、二分脊椎、小耳、骨格異常（肋骨、脊椎）等）が認められた<sup>6)</sup>。また、本試験の中で、母動物の骨髄及び胚を採取し、染色体を観察した結果、妊娠8日投与の48時間後の胚において染色体の数的異常及び構造異常を有する細胞の比率の増加が認められた<sup>6)</sup>。

マウスでは0.2 mg/kg の5日間連日腹腔内投与により軽度な後肢麻痺が<sup>20)</sup>、ラットでは0.0124 mg/kg（9例中1例が投与7週で死亡した用量）の週5日、7週間腹腔内投与により運動活性の減少が認められ、末梢神経伝達速度及び体性感覚誘発電位への影響がみられた<sup>21)</sup>。

#### 2.4.4.7 動物からヒトへの外挿（曝露量のまとめ、臨床試験との関連性）

各毒性試験に用いた動物における最大耐量／致死量、HNSTD 及び毒性発現用量での全身曝露量と、ヒトにおける臨床推奨用量での曝露量との関連性を一覧表に示した（表 2.4.4.7-1, 表 2.4.4.7-2, 表 2.4.4.7-3）。

ラット単回静脈内投与毒性試験の最大耐量（20 mg/kg [2040 µg DM1/m<sup>2</sup>]）での T-DM1, 総トラスツズマブ, 遊離型 DM1の各々の曝露量（AUC）は、臨床推奨用量（3.6 mg/kg, 3週間に1回投与）における初回（単回）投与時のヒト曝露量の約4.1倍, 3.5倍, 3.3倍であった。一方、カニクイザルでは、体表面積換算の DM1投与量がラットにおける致死量（60 mg/kg [6120 µg DM1/m<sup>2</sup>]）と同等となる30 mg/kg までの T-DM1単回静脈内投与による忍容性は良好であり、死亡及び重篤な症状は認められなかった。本用量での T-DM1, 総トラスツズマブ, 遊離型 DM1の各々の曝露量（AUC）は、臨床推奨用量のヒト曝露量の約8.5倍, 7.2倍, 9.4倍であった。なお、DM1のラット単回投与試験では0.2 mg/kg [1200 µg DM1/m<sup>2</sup>]が最大耐量であり、遊離型 DM1の曝露量（AUC）は臨床推奨用量のヒト曝露量の約0.5倍であった。したがって、DM1による毒性は、抗体薬物複合体の T-DM1として投与することで軽減されるものと考えられた。

カニクイザル3カ月間反復静脈内投与毒性試験の HNSTD（10 mg/kg）での T-DM1, 総トラスツズマブ, 遊離型 DM1の各々の曝露量（AUC）は、臨床推奨用量におけるヒト曝露量に対して、約2.6倍, 2.5倍, 2.8倍であった。また、カニクイザル6カ月間反復静脈内投与毒性試験の HNSTD（10 mg/kg）での T-DM1, 総トラスツズマブ, 遊離型 DM1の各々の曝露量（AUC）は、臨床推奨用量におけるヒト曝露量に対して、約2.8倍, 2.5倍, 1.5倍であった。これらの試験結果は、臨床使用（臨床推奨用量：3.6 mg/kg, 3週間に1回投与）において非臨床毒性試験でみられた毒性がヒトで発現する可能性があることを示唆している。

本薬の非臨床反復投与毒性試験における主な毒性所見は、肝毒性、血小板数減少、脾臓及び胸腺のリンパ球枯渇、及び坐骨神経の軸索変性であり、神経軸索変性を除き、これらの変化の多くは休薬後の検査では回復又は回復傾向を示した。ヒトでも AST/ALT の増加、血小板減少症などが認められ、重篤な事象も報告されているが、投薬中止に至った症例は少数であった。また、ヒトで末梢神経障害が報告されているものの、それらの大部分は Grade 2以下の軽度の事象である（2.5.5.7）。

カニクイザルを用いた心血管系及び呼吸器系への影響を評価した安全性薬理試験の無毒性量（30 mg/kg）、及び3カ月間反復投与毒性試験で評価した中枢神経系の無毒性量（30 mg/kg）での T-DM1, トラスツズマブ, 遊離型 DM1の各々の曝露量（安全性薬理の曝露量はカニクイザル単回静脈内投与試験における同用量の AUC）は、臨床推奨用量におけるヒト曝露量の約8.5倍, 7.2倍, 9.4倍に相当する。T-DM1の臨床試験では、LVEF 低下及びうっ血性心不全等の心障害が認められており、その内重度の心障害に至る例も報告されていることから、重度の心毒性は特定されたリスクである（2.5.6.2）。

表 2.4.4.7-1 曝露量の比較 (T-DM1)

動物種 試験の種類 資料番号	用量 (mg/kg) [ $\mu\text{g DM1}/\text{m}^2$ ]	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )			$\text{AUC}_{\text{inf}}^{****}$ ( $\mu\text{g} \cdot \text{day}/\text{mL}$ )		
		雄	雌	曝露量比 (雄/雌)	雄	雌	曝露量比 (雄/雌)
ラット 単回 4.2.3.1-3	6 [612]	162	168	2.0/2.0	426	436	1.2/1.3
	20 [2040] <sup>†</sup>	489	432	6.0/5.3	1520	1330	4.4/3.8
	60 [6120] <sup>††</sup>	1720	1480	21/18	1510	1290	4.4/3.7
カニクイザル 単回 4.2.3.1-6	3 [612]	84.4	75.1	1.0/0.9	194	203	0.6/0.6
	10 [2040]	278	257	3.4/3.1	918	844	2.7/2.4
	30 [6120]	784	680	9.6/8.3	2770	3090	8.0/8.9
カニクイザル 3か月間** 4.2.3.2-4 (4回目投与)	3 [612]	75.7	78.0	0.9/1.0	189	195	0.5/0.6
	10 [2040] <sup>†††</sup>	266	265	3.2/3.2	871	930	2.5/2.7
	30 [6120]	787	776	9.6/9.5	2900	3150	8.4/9.1
カニクイザル 6か月間** 4.2.3.2-5 (8回目投与)	1 [232]	32.1	24.6	0.4/0.3	41.3	38.3	0.1/0.1
	3 [695]	92.8	87.8	1.1/1.1	229	195	0.7/0.6
	10 [2316] <sup>†††</sup>	249	264	3.0/3.2	1040	910	3.0/2.6
ヒト 第 I 相試験** 5.3.3.2-2 (サイクル1)	3.6	82.0***		1.0	346		1.0

\*\* : 3週1回投与

\*\*\* : 曝露量比の算出には  $C_{\text{max}}$  を用いた

\*\*\*\* : カニクイザルの6か月間試験では、最終投与後21日目までの AUC

† : 最大耐量, †† : 致死量, ††† : HNSTD

表 2.4.4.7-2 曝露量の比較 (総トラスツズマブ)

動物種 試験の種類 資料番号	用量 (mg/kg) [ $\mu\text{g DM1/m}^2$ ]	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )			$AUC_{\text{inf}}^{****}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{day/mL}$ )		
		雄	雌	曝露量比 (雄/雌)	雄	雌	曝露量比 (雄/雌)
ラット 単回 4.2.3.1-3	6 [612]	147	152	1.2/1.3	734	813	1.0/1.1
	20 [2040] <sup>†</sup>	546	472	4.6/4.0	2810	2500	3.7/3.3
	60 [6120] <sup>††</sup>	1720	1510	14.6/12.8	1820	1500	2.4/2.0
カニクイザル 単回 4.2.3.1-6	3 [612]	88.0	81.9	0.7/0.7	301	325	0.4/0.4
	10 [2040]	280	253	2.4/2.1	1630	1430	2.1/1.9
	30 [6120]	743	697	6.3/5.9	5340	5580	7.0/7.3
カニクイザル 3か月間** 4.2.3.2-4 (4回目投与)	3 [612]	79.9	78.9	0.7/0.7	316	338	0.4/0.4
	10 [2040] <sup>†††</sup>	264	263	2.2/2.2	1760	1990	2.3/2.6
	30 [6120]	800	784	6.8/6.6	6570	7670	8.6/10.1
カニクイザル 6か月間** 4.2.3.2-5 (8回目投与)	1 [232]	29.3	29.5	0.2/0.3	54.5	49.8	0.1/0.1
	3 [695]	87.1	81.6	0.7/0.7	351	286	0.5/0.4
	10 [2316] <sup>†††</sup>	315	345	2.7/2.9	1910	1840	2.5/2.4
ヒト 第 I 相試験** 5.3.3.2-2 (サイクル1)	3.6	118***		1.0	761		1.0

\*\* : 3週1回投与

\*\*\* : 曝露量比の算出には  $C_{\text{max}}$  を用いた

\*\*\*\* : カニクイザルの6か月間試験では、最終投与後21日目までの AUC

† : 最大耐量, †† : 致死量, ††† : HNSTD

表 2.4.4.7-3 曝露量の比較（遊離型 DM1）

動物種 試験の種類 資料番号	用量 (mg/kg) [ $\mu\text{g DM1}/\text{m}^2$ ]	$C_{\text{max}}$ (ng/mL)			$\text{AUC}_{\text{all}}^{****}$ (ng·day/mL)		
		雄	雌	曝露量比 (雄/雌)	雄	雌	曝露量比 (雄/雌)
ラット 単回 4.2.3.1-3	6 [612]	13.2	8.27	3.9/2.4	3.87	1.62	0.5/0.2
	20 [2040] <sup>†</sup>	43.9	59.6	12.9/17.5	17.3	36.5	2.1/4.4
	60 [6120] <sup>††</sup>	124	154	36.4/45.2	51.6	78.2	6.2/9.4
ラット DM1単回投与 4.2.3.1-5	0.07 [420]	9.67	8.71	2.8/2.6	0.65	0.62	0.1/0.1
	0.1 [600]	13.8	13.9	4.0/4.1	1.38	2.07	0.2/0.3
	0.2 [1200] <sup>†</sup>	22.5	28.2	6.6/8.3	3.72	4.95	0.4/0.6
カニクイザル 単回 4.2.3.1-6	3 [612]	7.59	6.92	2.2/2.0	NC	NC	-/-
	10 [2040]	26.4	20.4	7.7/6.0	29.9	20.4	3.6/2.5
	30 [6120]	69.0	50.7	20.2/14.9	83.9	72.2	10.1/8.7
カニクイザル 3カ月間** 4.2.3.2-4 (4回目投与)	3 [612]	7.02	7.53	2.1/2.2	3.25	3.17	0.4/0.4
	10 [2040] <sup>†††</sup>	23.4	24.4	6.9/7.2	23.7	22.5	2.9/2.7
	30 [6120]	75.9	76.1	22.3/22.3	69.4	92.8	8.4/11.2
カニクイザル 6カ月間** 4.2.3.2-5 (8回目投与)	1 [232]	1.49	2.24	0.4/0.7	0.406	0.396	0.05/0.05
	3 [695]	3.50	3.40	1.0/1.0	1.49	2.35	0.2/0.3
	10 [2316] <sup>†††</sup>	10.8	11.6	3.2/3.4	14.9	9.31	1.8/1.1
ヒト 第I相試験** 5.3.3.2-2 (サイクル1)	3.6	3.41***		1.0	8.28		1.0

\*\* : 3週1回投与

\*\*\* : 曝露量比の算出には  $C_{\text{max}}$  を用いた

\*\*\*\* : カニクイザルの6カ月間試験では、最終投与後21日目までの AUC

† : 最大耐量, †† : 致死量, ††† : HNSTD

### 2.4.5 総括及び結論

T-DM1は、抗 HER2ヒト化モノクローナル抗体であるトラスツズマブとチューブリン重合阻害剤である DM1を、安定性の高いチオエーテルリンカーを介して結合させた抗体薬物複合体である。強い細胞障害活性を示す DM1をトラスツズマブに結合させたことにより、HER2陽性の腫瘍細胞選択的に取り込まれ、薬理作用を示す。また、T-DM1を構成するトラスツズマブ及び DM1が、それぞれの作用機序に基づく薬理作用を発揮することで、優れた治療効果が得られると考えられた。

非臨床薬効薬理試験では、*in vitro* 及び *in vivo* において HER2特異的な抗腫瘍効果を検討した。これまでに実施した試験の結果から、T-DM1の多様な作用機序はトラスツズマブ及び DM1が示す薬理作用と一致していた。T-DM1はトラスツズマブとしての作用機序を保持しており、HER2 への親和性はトラスツズマブと同程度であること、HER2 ECD 遊離（シェディング）の抑制、HER2を介する PI3K/AKT シグナル伝達の抑制、更に ADCC を惹起することが確認された。しかし、トラスツズマブとは異なり、T-DM1は他のチューブリン重合阻害薬と同様に細胞周期を G2/M 期で停止させ、腫瘍細胞に対しアポトーシスを誘導した。

*In vivo* 薬理試験では、様々な HER2陽性の細胞株をマウスに移植した動物モデルにおいて、腫瘍増殖抑制効果及び腫瘍縮小効果を示した。T-DM1はトラスツズマブと DM1の併用よりも効果が高く、トラスツズマブ非感受性のモデルに対しても高い効果が得られた。T-DM1は、抗体薬物複合体として分子中に両薬効成分を含んでいることから、HER2との複合体として細胞内に取り込まれた後、HER2陽性細胞特異的に DM1の薬理作用を発現することで、より強い腫瘍増殖抑制効果を発揮すると考えられる。T-DM1は、HER2陽性の細胞株を移植した動物モデルにおいて、3~30 mg/kg の用量で抗腫瘍効果を示した。

T-DM1の非臨床薬物動態は、いずれの動物種においても  $V_c$  はほぼ血漿容量と同様で、トラスツズマブをはじめとする他の抗体薬の薬物動態学的特徴と一致したが、CL はトラスツズマブの約2倍であった。トラスツズマブとの交差反応性を示さないマウス及びラットでは T-DM1の薬物動態は線形であった。一方、トラスツズマブとの交差反応性を示すカニクイザルでは T-DM1の薬物動態は非線形で、低用量では用量の増加に伴い CL が減少したが、10 mg/kg 以上の投与量で CL はほぼ一定となった。これは、T-DM1の消失過程のうち、標的抗原である HER2との結合を介した消失経路が高用量では飽和するためと考えられた。T-DM1の薬物動態に反復投与による明らかな変化は認められなかった。

ラットでの体内分布試験では、T-[<sup>3</sup>H]DM1投与時の放射能はその多くが血液中に存在し、一部の血流量の多い組織にも分布するが、概ね組織移行性は低かった。一方、[<sup>3</sup>H]DM1投与時の放射能は様々な組織に速やかに分布した。T-DM1としてトラスツズマブと結合していることで、DM1の組織移行性が血流量の多い組織に制限されていることが示唆された。

T-[<sup>3</sup>H]DM1投与後のラットでの試験より、循環血中の DM1分子の95%以上は蛋白質と結合しており、そのほとんどが T-DM1として存在していることが示唆された。通常の IgG1と同様に、T-DM1の抗体部分は抗原特異的あるいは非特異的な機序でのエンドサイトーシスをうけ、細胞内でリゾソームに運ばれ、そこで蛋白分解や異化を受けると考えられる。一方、DM1そのものは、主に CYP3A4（一部 CYP3A5）により代謝されることが示唆された。T-DM1投与後の遊離型 DM1の血漿中濃度はいずれの動物種においても低く、ラットでは Lys-MCC-DM1及び MCC-DM1の血漿中濃度が低いことも認められている。しかし、T-DM1投与後のラット胆汁中への Lys-MCC-DM1及び MCC-DM1の排泄量を考慮した場合、これらは生体内で投与量の25%程度生成していると考えられた。

また DM1はヒト CYP の阻害及び誘導能はなく、更に P-gp の基質とはなるが、阻害することはなかった。臨床推奨用量での DM1濃度も低いため、T-DM1が臨床において薬物相互作用を

起こす可能性は低いと考えられる。ただし、DM1はCYP3Aにより代謝を受けるため、DM1の薬物動態がCYP3Aの阻害剤や誘導剤の影響を受ける可能性は考慮すべきであり、特にCYP3Aを強く阻害する薬剤と併用する際には注意が必要と考えられる。

T-DM1の単回及び反復静脈内投与毒性試験での概略の致死量は、ラットで52 mg/kg [5970 µg DM1/m<sup>2</sup>], カニクイザルで30 mg/kg [6120 µg DM1/m<sup>2</sup>]超であった。T-DM1の単回及び反復静脈内投与毒性試験で観察された主な所見は、肝毒性 (AST・ALT・ALPの増加, 肝細胞の空胞化・萎縮及び変性・壊死), 血小板数減少, 骨髄細胞減少, 脾臓及び胸腺のリンパ球枯渇, 坐骨神経等の軸索変性 (カニクイザルのみ), 上皮細胞及び食細胞由来細胞の有糸分裂像の増加であり, 用量依存的に認められたが, 明らかな雌雄差はみられなかった。神経軸索変性を除き, これらの変化の多くは休薬後の検査では回復又は回復傾向を示した。T-DM1でみられた毒性はDM1投与時の毒性と同様であり, またラット (交差反応性を示さない動物種) 及びカニクイザル (交差反応性を示す動物種) で観察された毒性に差はないことから, T-DM1の毒性はHER2非依存性であり, DM1のチューブリン重合阻害作用に起因した変化であることが示された。カニクイザル反復投与試験でのT-DM1のHNSTD (10 mg/kg) は, 体表面積換算でヒト臨床投与量である3.6 mg/kg付近に相当し, この際のサルのT-DM1の曝露量は臨床で認められた値の約3倍である。心血管系, 呼吸器系及び中枢神経系への影響を評価した安全性薬理試験及び一般毒性試験では, ヒト曝露量の約9倍に相当する30 mg/kgまでの用量で評価し, 異常は認められなかった。

臨床ではAST, ALTの増加を伴う重篤な肝機能障害があらわれることがあり, 死亡に至った例も報告されているので, 本剤投与開始前及び投与中は定期的に肝機能検査 (AST (GOT), ALT (GPT) 及び総ビリルビン等) を行い, 異常が認められた場合には減量, 投薬中止等の適切な処置を行う必要がある。血小板数の減少も報告されていることから, 血小板数の変動に十分留意し, 血小板数減少が認められた場合には, 休薬等の適切な処置を行うこととした。更に, 末梢神経障害が引き起こされる可能性があるため, 観察を十分に行い, 症状 (しびれ等) があらわれた場合には休薬等の適切な処置を行うことが必要である。

T-DM1のカニクイザル小核試験 (3週間に1回, 計8回の反復静脈内投与) では小核の誘発はみられなかった。DM1のAMES試験は陰性であったが, ラット小核試験 (単回静脈内投与) では用量依存的な小核形成の増加がみられた。

本薬の構成成分であるトラスツズマブは, 妊娠中の投与により羊水過少症を引き起こし, それらの症例で胎児が死亡に至った例も報告されている (トラスツズマブ添付文書<sup>7)</sup>)。T-DM1は生殖発生毒性試験を実施していないが, その構成成分のトラスツズマブ及びDM1がともに発生毒性を誘発することが知られていることから, T-DM1も催奇形物質として胎児毒性のリスクがあると考えられた。T-DM1のヒトでの妊娠中の投与に関する安全性は確立していないため, 妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には投与しないこと, 妊娠する可能性のある婦人には, 本剤投与中, 適切な避妊法を用いるよう指導すること, 本剤投与終了後も最低6か月間は避妊するよう指導することとした。

本剤の乳汁への移行性については実施していないが, 本剤を構成するトラスツズマブを用いた動物実験において, 乳汁への移行が報告されている。授乳婦に投与する場合は, 本剤投与中及び本剤投与終了から少なくとも6か月間は授乳を避けさせることとした。

投与部位の局所刺激性は単回及び反復静脈内投与毒性試験において評価し, 忍容性は良好であった。溶血性及び適合性に問題はなかった。組織交差反応性試験では, ヒト及びカニクイザル組織の上皮細胞に出現したHER2抗原部位を認識していることが示された。

以上, T-DM1は新規作用機序を持つ血漿中で安定な抗体薬物複合体であり, 抗体領域のトラスツズマブがHER2の細胞増殖シグナル阻害及びADCC作用を示すとともに, HER2との結合により細胞内に選択的に取り込まれることで, HER2陽性細胞内でDM1に由来するチューブリン

ン重合阻害作用を誘導した。T-DM1で認められた毒性は DM1と同様であり、DM1の毒性は抗体薬物複合体として投与されることにより軽減した。これらのことから、T-DM1は臨床においても選択的な抗腫瘍活性及び適正な使用により高い安全性を示す新規薬剤として、既存の標準療法を凌ぐ新たな治療の選択肢になり得ると考えられる。

## 2.4.6 参考文献

- 1) Kovtun YV, Audette CA, Mayo MF, Jones GE, Doherty H, Maloney EK, et al. Antibody-maytansinoid conjugates designed to bypass multidrug resistance. *Cancer Res* 2010;70:2528-37.
- 2) Erickson HK, Park PU, Widdison WC, Kovtun YV, Garrett LM, Hoffman K, et al. Antibody-maytansinoid conjugates are activated in targeted cancer cells by lysosomal degradation and linker-dependent intracellular processing. *Cancer Res* 2006;66:4426-33.
- 3) LoRusso PM, Weiss D, Guardino E, Girish S, Sliwkowski MX. Trastuzumab emtansine: a unique antibody-drug conjugate in development for human epidermal growth factor receptor 2-positive cancer. *Clin Cancer Res* 2011;17:6437-47.
- 4) Erickson HK, Lewis Phillips GD, Leipold DD, Provenzano CA, Mai E, Johnson HA, et al. The effect of different linkers on target cell catabolism and pharmacokinetics/pharmacodynamics of trastuzumab maytansinoid conjugates. *Mol Cancer Ther* 2012;11:1133-42.
- 5) Fendly BM, Winget M, Hudziak RM, Lipari MT, Napier MA, Ullrich A. Characterization of murine monoclonal antibodies reactive to either the human epidermal growth factor receptor or HER2/*neu* gene product. *Cancer Res* 1990;50:1550-8.
- 6) Sieber SM, Whang-Peng J, Botkin C, Knutsen T. Teratogenic and cytogenetic effects of some plant-derived antitumor agents (vincristine, colchicine, maytansine, VP-16-213 and VM-26) in mice. *Teratology* 1978;18:31-48.
- 7) ハーセプチン<sup>®</sup> (60, 150) 添付文書, 2012年6月改訂 (第22版)
- 8) Yakes FM, Chinratanalab W, Ritter CA, King W, Seeling S, Arteaga CL. Herceptin-induced inhibition of phosphatidylinositol-3 kinase and Akt is required for antibody-mediated effects on p27, cyclin D1, and antitumor action. *Cancer Res* 2002;62:4132-41.
- 9) Molina MA, Codony-Servat J, Albanell J, Rojo F, Arribas J, Baselga J. Trastuzumab (Herceptin), a humanized anti-HER2 receptor monoclonal antibody, inhibits basal and activated HER2 ectodomain cleavage in breast cancer cells. *Cancer Res* 2001;61:4744-9.
- 10) Nahta R, Esteva FJ. Herceptin: mechanisms of action and resistance. *Cancer Lett* 2006;232:123-38.
- 11) 医薬品インタビューフォーム：タキソール<sup>®</sup>注射液 30, 100mg, 2012年9月 (改訂第7版)
- 12) 医薬品インタビューフォーム：タキソテール<sup>®</sup>点滴静注用 20, 80mg, 2012年10月 (改訂第10版)
- 13) 医薬品インタビューフォーム：エクザール<sup>®</sup>注射用 10mg, 2012年6月 (改訂第8版)
- 14) Crone S, Zhao Y, Fan L, Gu Y, Minamisawa S, Liu Y, et al. ErbB2 is essential in the prevention of dilated cardiomyopathy. *Nat Med* 2002;8:459-65.
- 15) Sawyer DB, Zuppinger CZ, Miller TA, Eppenberger HM, Suter TM. Modulation of anthracycline-induced myofibrillar disarray in rat ventricular myocytes by neuregulin-1 beta and anti-erbB2: potential mechanism for trastuzumab-induced cardiotoxicity. *Circulation* 2002;105:1551-4.
- 16) Negro A, Brar BK, Lee KF. Essential roles of Her2/erbB2 in cardiac development and function. *Recent Prog Horm Res* 2004;59:1-12.
- 17) Press MF, Cordon-Cardo C, Slamon DJ. Expression of the HER-2/*neu* proto-oncogene in normal human adult and fetal tissues. *Oncogene* 1990;5:953-62.
- 18) Issell BF, Crooke ST. Maytansine. *Cancer Treat Rev* 1978;5:199-207.

- 19) Muger GM, Ward JM. Acute toxicity of maytansine in F344 rats. *Cancer Treat Rep* 1977;61:1333-8.
- 20) Sieber SM, Wolpert MK, Adamson RH, Cysyk RL, Bono VH, Johns DG. Experimental studies with maytansine – A new antitumor agent. *Comparative Leukemia Research* 1975, *Bibl. Heamat* 1976;43:495-500.
- 21) Rebert CS, Pryor GT, Frick MS. Effects of vincristine, maytansine, and, cis-platinum on behavioral and electrophysiological indices of neurotoxicity in the rat. *J Appl Toxicol* 1984;4:330-8.