2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

エリブリンメシル酸塩は，海洋天然物ハリコンドリン B の合成誘導体であり，新規メカニズムに基づく微小管ダイナミクス阻害剤である。微小管は主にチューブリン分子からなる管状の構造体であり，チューブリンの重合（伸長）と脱重合（短縮）の繰り返し（微小管ダイナミクス）により，細胞内骨格の主要な構成要素として細胞形態の維持や細胞運動に関与し，また有糸分裂時には紡錘体を形成して染色体の分裂移動等に重要な役割を担う。エリブリンは微小管の伸長端に結合することで，微小管ダイナミクスに対して伸長のみを阻害し短縮を妨げないことにより，微小管を生理機能のないチューブリン凝集塊に至らしめる。エリブリンはこの機序により細胞分裂が盛んながん細胞に対しては，紡錘体形成を妨げ細胞周期を G2/M 期で停止させることにより，アポトーシスによる細胞死を誘導する。最近の研究によりエリブリンには腫瘍組織内の微小血管をリモデリングすることで腫瘍内血流を改善し，がん悪性化の要因となる低酸素状態を緩和する作用，また浸潤転移能など悪性度の高いがん細胞がもつ間葉系のフェノタイプを悪性度の低い上皮系の性質に変換する作用があることも示唆されている。したがって，エリブリンは，有糸分裂阻害作用に加え，がん細胞の悪性形質の抑制作用により，様々ながん腫に対し抗腫瘍効果を発揮することが期待される。

エリブリンメシル酸塩は国内で 2011 年 4 月に手術不能又は再発乳癌の効能・効果で承認され，既に世界 50 ヵ国以上（2015 年 10 月現在）において乳癌患者に対する治療薬として承認されている。本申請は，本薬の医薬品製造販売承認事項に効能・効果として，「悪性軟部腫瘍」を追加するための承認事項一部変更承認申請である。

目次

2.6.2. 薬理試験の概要文 3
2.6.2.1 まとめ 3
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 3
2.6.2.3 副次的薬理試験 12
2.6.2.4 安全性薬理試験 12
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 12
2.6.2.6 考察及び結論 12
2.6.2.7 図表 13
2.6.2.8 参考文献 14

薬理試験の概要文の略号一覧表

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
ALL	acute lymphoblastic leukemia	急性リンパ性白血病
BWL	body weight loss	体重減少
CR	complete response	完全奏効
EFS	event-free survival	イベントのない生存
EP	evaluation period	評価期間
hCD45	human CD45	ヒト CD45
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IV	intravenous	静脈内
MCR	maintained complete response	完全奏効持続
MTD	maximum tolerated dose	最大耐用量
NA	not applicable	該当せず
NCI	National Cancer Institute	
PD	progressive disease	病態進行
P-gp	P-glycoprotein	
PPTP	Pediatric Preclinical Testing Program	小児非臨床試験プログラム
PR	partial response	部分奏効
Q4D×3	every 4 days for a total of 3	4 日に 1 回，計 3 回
(Q4D×2)q21 ×2	every 4 days for a total of 2 injections with a single repeated treatment cycle beginning on Day 21	4 日に 1 回計 2 回のサイクルを 21 日以降 1 回繰り返し
(Q4D×3)q21 ×2	every 4 days for a total of 3 injections with a single repeated treatment cycle beginning on Day 21	4 日に 1 回計 3 回のサイクルを 21 日以降 1 回繰り返し
Q7D×2	once per week for 2 weeks	週 1 回，2 週間
Q7D×6	once per week for 6 weeks	週 1 回，6 週間
SD	stable disease	病態安定
T/C	treatment/control	処理群 / 対照群
TV	tumor volume	腫瘍体積
T_4	time required for TV to increase 4-fold	4 倍化時間

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

エリブリンメシル酸塩のヒト悪性軟部腫瘍に対する効力を裏付ける試験として以下の in vitro 及び in vivo 試験が実施された。

効力を裏付ける試験；
- ヒト悪性軟部腫瘍細胞株に対する直接細胞増殖抑制作用（in vitro）
- ヒト悪性軟部腫瘍細胞株移植マウスモデルに対する抗腫瘍効果（in vivo）

米国 National Cancer Institute（NCI）の小児非臨床試験プログラム（PPTP：Pediatric Preclinical Testing Program）の一環として実施された in vitro 試験において，エリブリンメシル酸塩は横紋筋肉腫 4 種類，横紋筋様肉腫 2 種類，ユーイング肉腫 4 種類の細胞株の細胞増殖を，それぞれ IC_{50} 値の中央値 0.14，0.27，0.14 nmol/L で抑制した。また，別途実施された PPTP in vitro 試験において 20 種類のユーイング肉腫細胞株の細胞増殖を IC_{50} 値の中央値 0.38 nmol/L で抑制した。エリブリンメシル酸塩は MES-SA ヒト子宮肉腫細胞株の細胞増殖を IC_{50} 値 1.99 nmol/L で抑制した。

エリブリンメシル酸塩のヒト各種悪性軟部腫瘍細胞株（SK-LMS-1 平滑筋肉腫，A673 ユーイング肉腫，HT-1080 線維肉腫）皮下移植マウスモデルにおける in vivo 抗腫瘍効果を評価した。SK-LMS-1 移植モデルにおいてエリブリンメシル酸塩（0.19～1.5 mg/kg）の静脈内（IV），週 1 回 2 週（Q7D×2）投与は用量依存的に腫瘍増殖を抑制し，うち 0.75 及び 1.5 mg/kg では有意な増殖の遅延が認められた。A673 移植モデルにおけるエリブリンメシル酸塩（0.875～3.5 mg/kg，IV，Q7D×2）の投与，また HT-1080 移植モデルにおけるエリブリンメシル酸塩（1.27 及び 1.69 mg/kg，IV，4 日に 1 回計 3 回 [Q4D×3] ）の投与は，いずれも腫瘍増殖をほぼ完全に抑制し，HT-1080 移植モデルにおいては，投与群の半数以上の個体で完全奏効（CR，腫瘍体積が測定限界以下にまで縮小）がみられた。いずれの用量もそれぞれのモデル及び投与スケジュールでの最大耐用量（MTD）以下であった。

また PPTP の一環として実施された in vivo 試験において，エリブリンメシル酸塩 1 mg/kg（MTD 以下の用量）の腹腔内（IP）投与（Q4D×3 を 21 日以降 1 回繰り返し）は，11 種類のヒト軟部腫瘍細胞株の皮下移植マウスモデルのうち，8 種類（5 種類のユーイング肉腫モデルのうち 4 種類，4 種類の横紋筋肉腫モデルの全て）に対し完全奏効持続（MCR）あるいは CR を伴う抗腫瘍効果を示した。このうち 4 種類（ユーイング肉腫モデル 2 種類，横紋筋肉腫モデル 2 種類）を選択して，エリブリンメシル酸塩の用量を 0.25，0.5，1 mg/kg と変化させたところ，3 種類のモデルでは 0.25 あるいは 0.5 mg/kg 以上の用量で MCR あるいは CR が認められた。

以上の結果は，エリブリンメシル酸塩がヒト悪性軟部腫瘍に対し有用である可能性を示唆した。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験の一覧表は 2.6.3.1 項に記載した。

2.6.2.2.1　小児がん細胞株パネルに対する細胞増殖抑制作用（添付資料番号 4.2.1.1.1 [PPC-20[redacted]-02N]，4.2.1.1.2 [PPC-20[redacted]-01N]）

本試験では，NCI の小児非臨床試験プログラム PPTP の一つとして，悪性軟部腫瘍を含む各種小児がん細胞株に対するエリブリンメシル酸塩の in vitro における細胞増殖抑制作用を検討した（試験 1：試験番号 PPC-20[redacted]-02N 及び試験 2：試験番号 PPC-20[redacted]-01N）。試験 1 では，10 種類の悪性軟部腫瘍（横紋筋肉腫，横紋筋様肉腫，ユーイング肉腫），5 種類の脳腫瘍及び神経芽細胞腫（神経膠芽細胞腫，神経芽細胞腫），9 種類の血液がん（急性リンパ性白血病 [ALL]，未分化大細胞型リンパ腫，急性骨髄性白血病，非ホジキンリンパ腫）を含む 24 種類の小児がん細胞株，また試験 2 では，20 種類のユーイング肉腫の細胞株を用いた。各種小児がん細胞株を，0.01～1000 nmol/L のエリブリンメシル酸塩存在下に 96 時間培養後，生細胞数を二酢酸フルオレセインを用いた蛍光顕微鏡画像の自動解析システムによって測定した。

表 2.6.2-1 に示すように，エリブリンメシル酸塩は悪性軟部腫瘍細胞株である横紋筋肉腫 4 種類，横紋筋様肉腫 2 種類，ユーイング肉腫 4 種類の細胞株の細胞増殖を，それぞれ IC_{50} 値 0.11～0.83 nmol/L（中央値 0.14 nmol/L），0.15 及び 0.38 nmol/L（中央値 0.27 nmol/L），0.11～0.50 nmol/L（中央値 0.14 nmol/L）で抑制した。脳腫瘍及び神経芽細胞腫（5 種類），血液がん（9 種類）に対する IC_{50} 値の中央値は，それぞれ 1.77，<0.10 nmol/L であった。

表 2.6.2-1　24 種類の小児がん細胞株の in vitro 細胞増殖に対する阻害作用

がん腫		細胞株	IC_{50} (nmol/L)		
悪性軟部腫瘍	横紋筋肉腫	RD	0.14	中央値	0.14
	横紋筋肉腫	Rh41	0.14	最小値	0.11
	横紋筋肉腫	Rh18	0.83	最大値	0.83
	横紋筋肉腫	Rh30	0.11		
	横紋筋様肉腫	BT-12	0.15	中央値	0.27
	横紋筋様肉腫	CHLA-266	0.38		
	ユーイング肉腫	TC-71	0.11	中央値	0.14
	ユーイング肉腫	CHLA-9	0.16	最小値	0.11
	ユーイング肉腫	CHLA-10	0.11	最大値	0.50
	ユーイング肉腫	CHLA-258	0.50		
脳腫瘍，神経芽細胞腫	神経膠芽細胞腫	SJ-GBM2	0.51	中央値	1.77
	神経芽細胞腫	NB-1643	0.47	最小値	0.47
	神経芽細胞腫	NB-EBc1	14.8	最大値	14.8
	神経芽細胞腫	CHLA-90	1.77		
	神経芽細胞腫	CHLA-136	2.37		
白血病，リンパ腫	急性リンパ性白血病	NALM-6	0.59	中央値	<0.10
	急性リンパ性白血病	COG-LL-317	<0.10	最小値	<0.10
	急性リンパ性白血病	RS4;11	<0.10	最大値	4.11
	急性リンパ性白血病	MOLT-4	<0.10		
	急性リンパ性白血病	CCRF-CEM (1)	1.62		
	急性リンパ性白血病	CCRF-CEM (2)	1.88		
	急性骨髄性白血病	Kasumi-1	4.11		
	未分化大細胞型リンパ腫	Karpas-299	<0.10		
	非ホジキンリンパ腫	Ramos-RA1	<0.10		

IC_{50} = 50%阻害濃度．　添付資料番号 4.2.1.1.1 の Table 1 を改変

また，20 種類のヒトユーイング肉腫細胞株（前述の 4 種類を含む）の細胞増殖に対してエリブリンメシル酸塩は IC_{50} 値の範囲：0.12～0.65 nmol/L で抑制した（表 2.6.2-2）。中央値は 0.38 nmol/L であった。

表 2.6.2-2　20 種類のヒトユーイング肉腫細胞株の in vitro 増殖に対する阻害作用

ユーイング肉腫細胞株	IC_{50} (nmol/L)	
6647	0.35	
A-673	0.24	中央値　0.38
CB-AGPN	0.12	最小値　0.12
SK-N-MC	0.15	最大値　0.65
TC-32	0.41	
TC-71	0.22	
TC-106	0.15	
TC-138	0.17	
TC-205	0.31	
TC-248	0.59	
CHLA-9	0.47	
CHLA-10	0.42	
CHLA-25	0.52	
CHLA-32	0.13	
CHLA-56	0.15	
CHLA-57	0.65	
CHLA-99	0.48	
CHLA-218	0.51	
CHLA-258	0.65	
COG-E-352	0.56	

IC_{50} = 50%阻害濃度　添付資料番号 4.2.1.1.2 の Table I を改変

2.6.2.2.2　MES-SA ヒト子宮肉腫細胞株及びその P-Glycoprotein 発現細胞株の in vitro 細胞増殖に対する阻害作用（添付資料番号 4.2.1.1.3 [CAIVT0105 and CAIVT0106] ）

本試験は初回申請のパッケージに含まれている（初回申請資料 2.6.2.2.6 項）が，ヒト悪性軟部腫瘍細胞株を用いた試験であることから，その結果の一部をここに再度記載する。

本試験では，MES-SA ヒト子宮肉腫細胞株及び，この細胞に P-Glycoprotein（P-gp）薬物排出ポンプの遺伝子を導入して得た P-gp 発現細胞株（MES-SA/Dx5-Rx1）について，抗 P-gp 抗体を用いたフローサイトメーターによる解析を行い，MES-SA 細胞は P-gp を発現していないが，MES-SA/Dx5-Rx1 細胞は P-pg を発現していることを確認している。次に両細胞株を 0.03～10,000 nmol/L のエリブリンメシル酸塩存在下に 96 時間培養後，細胞内アデノシン 3 リン酸濃度を CellTiter-Glo® アッセイキットを用いて測定することにより，生細胞数を計測した。

エリブリンメシル酸塩は MES-SA 細胞の細胞増殖に対して強い抑制作用（IC_{50} 値±標準誤差：1.99±0.05 nmol/L）を示したが，MES-SA/Dx5-Rx1 細胞に対する細胞増殖抑制作用は著しく弱かった（IC_{50} 値± 標準誤差：5220±1480 nmol/L）。

2.6.2.2.3　SK-LMS-1 ヒト平滑筋肉腫細胞株移植マウスモデルに対する抗腫瘍効果（添付資料番号 4.2.1.1.4 [M[redacted]030] ）

本試験では，SK-LMS-1 ヒト平滑筋肉腫細胞株皮下移植マウスを用いて，エリブリンメシル酸塩の抗腫瘍効果を検討した。SK-LMS-1 皮下移植マウスは，5×10^6 個の SK-LMS-1 細胞を雌性ヌ

ードマウス（5 週齢）に皮下移植することにより作製した。腫瘍細胞移植後 7 日目（Day 7）に腫瘍体積が 300 mm^3 以上に達した時点で群分け（5 群，各群 6 匹）を行い，媒体対照（生理食塩液）あるいはエリブリンメシル酸塩（0.19，0.38，0.75 及び 1.5 mg/kg）を，Q7D×2（Day 7, Day 14）の投与スケジュールで静脈内投与した。使用した全てのマウスの腫瘍体積[注 1] 及び体重を週 2 回測定した。腫瘍体積が 4 倍になるのに要する期間（日数）を求め，その期間に関するエリブリンメシル酸塩投与群と対照群の差（腫瘍増殖遅延）を評価の指標として用いた。

図 2.6.2-1 に示すように，エリブリンメシル酸塩の腫瘍増殖遅延作用は用量依存的であり，0.75 及び 1.5 mg/kg 投与群においては有意な腫瘍増殖遅延作用が示された。全ての投与群でマウスの体重減少（BWL）は 20%以下であり，忍容性に問題はなかった

注 1）本試験を含めて，全ての in vivo 試験（皮下移植モデル）における腫瘍体積測定はキャリパーを用いて行い，以下の計算式により求めた。
腫瘍体積（mm^3）＝ 長径（mm）× [短径（mm）]^2 × 1/2

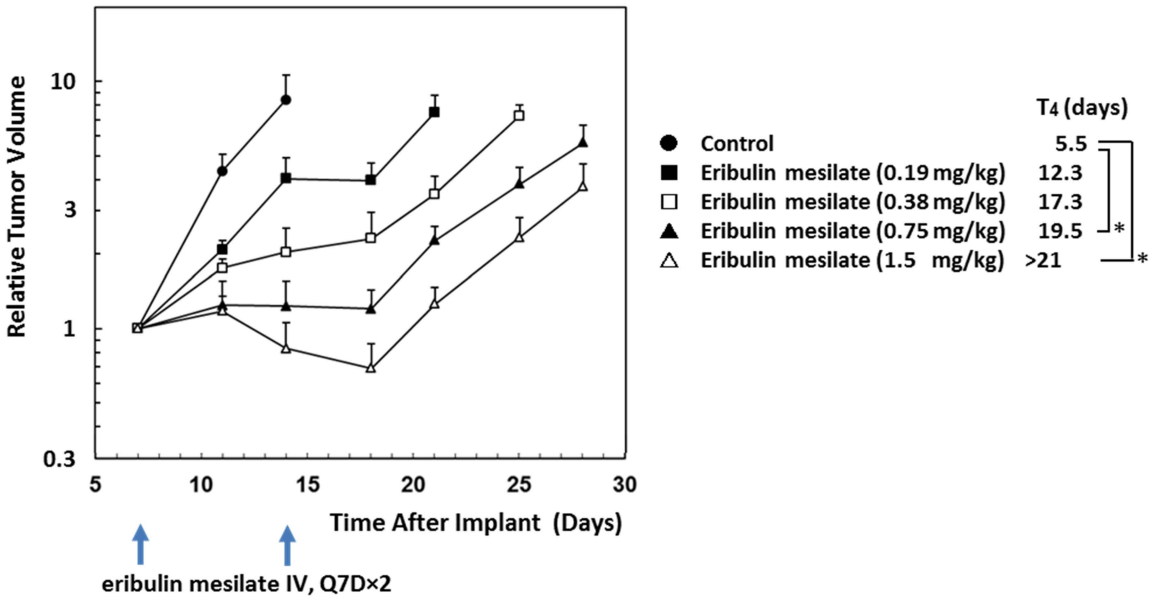


図 2.6.2-1　SK-LMS-1 ヒト平滑筋肉腫細胞株移植マウスモデルに対する抗腫瘍効果

各群 6 例を使用し，各値は平均値±標準偏差で示した。エリブリンメシル酸塩は腫瘍移植後 7 及び 14 日目に投与した。　IV＝ 静脈内，Q7D×2＝ 週 1 回 2 週間，T_4＝4 倍化時間.
* P<0.05　（対照群との比較； log-rank 検定後 Dunnett の多重比較検定）.
添付資料番号 4.2.1.1.4 の Appendix 1 を基に作成.

2.6.2.2.4　A673 ヒトユーイング肉腫細胞株移植マウスモデルに対する抗腫瘍効果（添付資料番号 4.2.1.1.5 [A[redacted]017] ）

本試験では，A673 ヒトユーイング肉腫細胞株皮下移植マウスを用いて，エリブリンメシル酸塩の抗腫瘍効果を検討した。試験実施時には A673 は，横紋筋肉腫の細胞株とみなされていたが，その後公表された論文により，この細胞は遺伝子解析によりユーイング肉腫の細胞株であることが示された（Martínez-Ramírez, et al., 2003）。

A673 皮下移植マウスは，1×10^7 個の A673 細胞を雌性ヌードマウス（5 週齢）に皮下移植することにより作製した。腫瘍細胞移植後 8 日目に群分け（各群 6 匹，各群の平均腫瘍体積：316.1～330.6 mm^3）を行い，媒体対照（生理食塩液），エリブリンメシル酸塩（0.875，1.75 及び 3.5 mg/kg），あるいはビンクリスチン硫酸塩（0.375，0.75 及び 1.5 mg/kg）の投与を開始した。この用量はそれぞれ，予備実験で求めたエリブリンメシル酸塩あるいはビンクリスチン硫酸塩の MTD のおよそ 1/4，1/2，1/1 の量である。いずれも Q7D×2 の投与スケジュールで静脈内投与した。使用した全てのマウスの腫瘍体積及び体重を腫瘍細胞移植後，週 2 回測定した。試験終了時点（腫瘍移植後 22 日目）における腫瘍体積を評価の指標として用いた。

表 2.6.2-3 に示すように，エリブリンメシル酸塩，及びビンクリスチン硫酸塩投与群では，全ての投与群において媒体対照群に対する有意な腫瘍増殖阻害作用が示され，その作用は用量依存的であった。また，エリブリンメシル酸塩の 0.875，1.75 及び 3.5 mg/kg 投与群では，それぞれ 1，2 及び 1 例の CR が認められた。一方，ビンクリスチン硫酸塩の 0.375，0.75 及び 1.5 mg/kg 投与群では，最高用量では 99%の増殖抑制がみられたものの，いずれの用量でも CR はみられなかった。エリブリンメシル酸塩及びビンクリスチン硫酸塩の全ての投与群で BWL は 20%以下であり，忍容性に問題はなかった。

表 2.6.2-3　　A673 ヒトユーイング肉腫細胞株移植マウスモデルに対する抗腫瘍効果

被験化合物	用量 (mg/kg)	腫瘍体積 (mm^3)	T/C (%)	CR
媒体（生理食塩水）	—	5938.7±714.0	100	0 / 6
エリブリンメシル酸塩	0.875	23.7±13.4*	0.40	1 / 6
エリブリンメシル酸塩	1.75	22.2±23.5*	0.37	2 / 6
エリブリンメシル酸塩	3.5	15.3±17.7*	0.26	1 / 6
ビンクリスチン硫酸塩	0.375	4165.0±1163.9*	70.1	0 / 6
ビンクリスチン硫酸塩	0.75	2233.4±527.8*	37.6	0 / 6
ビンクリスチン硫酸塩	1.5	75.7±58.1*	1.27	0 / 6

腫瘍体積（mm^3）は Day 22 における 6 匹の平均値±標準偏差を示す。媒体対照及び被験化合物は Q7D×2，IV 投与した。
CR = 完全奏効，IV = 静脈内，Q7D×2 = 週 1 回 2 週間，T/C = 処理群/対照群，"—" = 該当せず.
* $P<0.05$（対照群との比較；一元配置分散分析後 Dunnett の多重比較検定）　添付資料番号 4.2.1.1.5 の Table 1 を改変

2.6.2.2.5　HT-1080 ヒト線維肉腫細胞株移植マウスモデルに対する抗腫瘍効果（添付資料番号 4.2.1.1.6 [MT[redacted]35], 4.2.1.1.7 [MT[redacted]35 amendment]）

本試験は初回申請のパッケージに含まれている（申請資料 2.6.2.2.8 項）が，ヒト悪性軟部腫瘍細胞株を用いた試験であることから，ここに再度記載する。

本試験では，HT-1080 ヒト線維肉腫細胞株皮下移植マウスを用いて，エリブリンメシル酸塩の抗腫瘍効果を検討した。HT-1080 皮下移植マウスは，2×10^6 個の HT-1080 細胞を雌性ヌードマウス（5 あるいは 6 週齢）に皮下移植することにより作製した。腫瘍細胞移植後 14 日目（Day 14）に腫瘍体積の平均値が 180 mm^3 に達した時点で群分け（各群 10 匹，各群の平均腫瘍体積：121～222 mm^3）を行い，Day 16 から，生理食塩液，エリブリンメシル酸塩（1.27，1.69，2.25，3.0 及び 4.0 mg/kg），あるいはパクリタキセル（20 mg/kg）を Q4D×3（Day 16, Day 20 及び Day 24）の投与スケジュールで静脈内投与した。なおエリブリンメシル酸塩，パクリタキセルの投与媒体はそれぞれ 2.5%ジメチルスルホキシド含有生理食塩液，10% cremophor EL 及び 10%エタノール含有 4%グルコース溶液を用いた。Day 14 以降，使用した全てのマウスの腫瘍体積及び体重を週 2 回測定した。

図 2.6.2-2 に示すように，エリブリンメシル酸塩の 1.27 及び 1.69 mg/kg 投与群では，腫瘍体積は投与前以下に減少し，Day 98（最終投与後 74 日目）において，それぞれ 9 例及び 6 例の無再発生存が観察された。これらの用量における BWL は 20%以下であり忍容性に問題はなかった。エリブリンメシル酸塩の 2.25，3.0 及び 4.0 mg/kg 投与群は致死的であり，本試験における MTD は 1.69 mg/kg であった。

パクリタキセル投与群においても腫瘍退縮が認められ，Day 98（最終投与後 74 日目）において 3 例の無再発生存例が観察された。この用量における BWL は 20%以下であり忍容性に問題はなかった。

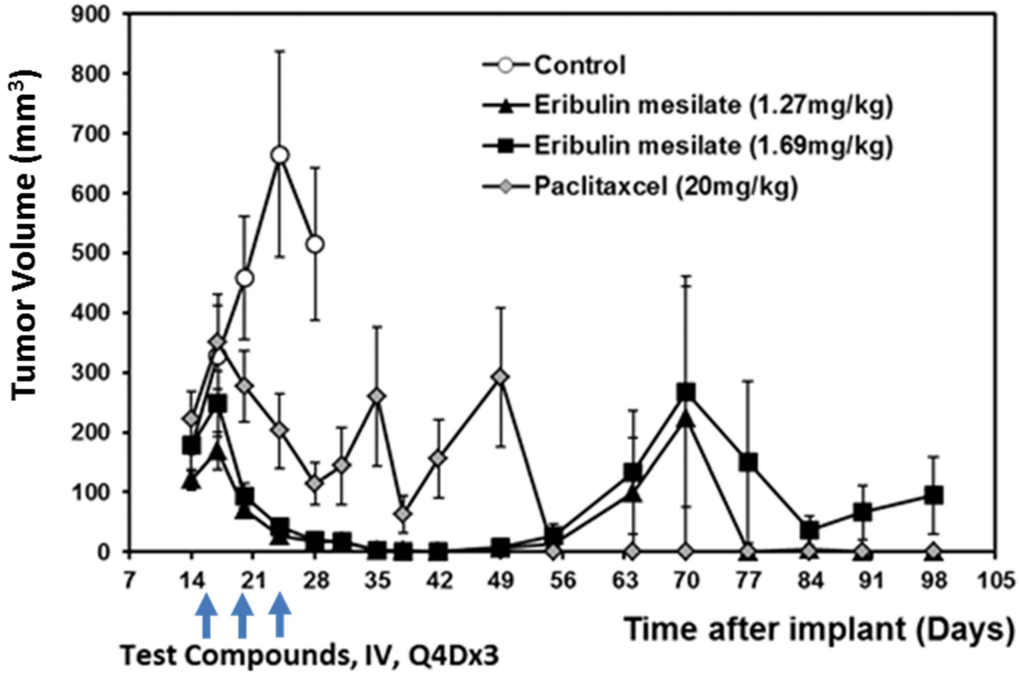


図 2.6.2-2　HT-1080 ヒト線維肉腫細胞株移植マウスモデルに対する抗腫瘍効果

各群 10 例を使用し，各値は平均値±標準誤差で示した。
IV = 静脈内，Q4D×3 = 4 日に 1 回計 3 回。　添付資料番号 4.2.1.1.6 の Table 2 を基に作成

2.6.2.2.6　ヒト小児がん細胞株移植マウスモデルに対する抗腫瘍効果（添付資料番号 4.2.1.1.1 [PPC-20[redacted]-02N]，4.2.1.1.2 [PPC-20[redacted]-01N]）

本試験では，NCI の小児非臨床試験プログラム PPTP の一つとして，37 種類からなる小児がん細胞株パネルを用いたマウス移植モデルに対するエリブリンメシル酸塩の抗腫瘍効果を検討した（試験 1：試験番号 PPC-20[redacted]-02N）。またこのうち，ユーイング肉腫 2 種類，及び横紋筋肉腫 2 種類の細胞株を用いたマウス移植モデルについては，エリブリンメシル酸塩の用量と投与スケジュールを検討した（試験 2：試験番号 PPC-20[redacted]-01N）。

試験 1 では，11 種類の悪性軟部腫瘍（横紋筋様肉腫 2 種類，ユーイング肉腫 5 種類，横紋筋肉腫 4 種類），19 種類の悪性軟部腫瘍以外の固形がん，及び 7 種類の白血病の細胞株からなる小児がん細胞株パネル（全 37 種類）を用いた。このうち，神経膠芽細胞腫細胞株は Balb/c 系雌性

ヌードマウスに，全ての悪性軟部腫瘍細胞株を含むそれ以外の固形がんは SCID 雌性マウスに，それぞれ皮下移植した。また，白血病細胞株は NOD-SCID 雌性マウスに静脈注射し，マウス移植モデルを作成した。固形がんの腫瘍体積が，200～500 mm^3 になったところで，媒体対照あるいはエリブリンメシル酸塩（固形がん移植モデルに対しては一律 1 mg/kg，白血病細胞移植モデルに対しては一律 1.5 mg/kg）を，Q4D×3 を 21 日以降 1 回繰り返し計 6 回（[Q4D×3]q21 ×2）の投与スケジュールで腹腔内投与した。固形がん移植モデルでは一群 10 匹，白血病細胞移植モデルでは一群 8 匹とした。

マウスの体重及び固形がん移植モデルについては腫瘍体積を，また白血病細胞移植モデルについては，末梢血細胞のヒト CD45（hCD45）陽性細胞の割合を，投与開始日を含め週 1 回，6 週間計測した。固形がんについては腫瘍体積が投与開始日より 4 倍になるまでの日数，白血病細胞については末梢血細胞中の hCD45 陽性細胞の割合が 25%を超えるまでの日数を，イベントのない生存期間（EFS）と定義し，EFS の処理群（薬物投与群）と対照群（媒体投与群）との比（EFS T/C）を腫瘍増殖遅延の指標として用いた。EFS が評価期間（EP，42 日）を超えた場合は，>EP とした。治療効果は，固形がん移植モデルにおいては腫瘍体積の変化に基づき下表のように定義した。白血病細胞移植モデルにおいては，hCD45 陽性細胞の割合が評価期間の最後 3 回の測定で 1%未満になった場合に MCR，2 週間連続して 1%未満になった場合に CR とした。また MCR あるいは CR の条件を満たさないが，hCD45 陽性細胞の割合が少なくとも 1 回の測定時に 1%未満になった場合は PR，この割合が 1%以上 25%未満の場合を SD とした。

治療効果		42 日間の評価期間における腫瘍体積の変化
MCR	maintained complete response 完全奏効維持	腫瘍体積が測定限界以下 (<0.10 cm^3) にまで縮小し最終日まで持続
CR	complete response 完全奏効	少なくとも 1 回の測定時に腫瘍体積が測定限界以下 (<0.10 cm^3) にまで縮小
PR	partial response 部分奏効	少なくとも 1 回の測定時に腫瘍体積が投与開始時に比べ 50%以下，ただし測定限界以上 (≥0.10 cm^3) にまで縮小
SD	stable disease 病態安定	腫瘍体積が投与開始時に比べ 50%以上を保ち，かつ最終日に 125%以内
PD2	progressive disease 2 病態進行 2	腫瘍体積が投与開始時に比べ一度も 50%以下に縮小せず，かつ 125%以上に増加，EFS T/C >1.5（やや腫瘍増殖遅延）
PD1	progressive disease 1 病態進行 1	腫瘍体積が投与開始時に比べ一度も 50%以下に縮小せず，かつ 125%以上に増加，EFS T/C ≤1.5

表 2.6.2-4 に示すように，エリブリンメシル酸塩（1 mg/kg）によって悪性軟部腫瘍移植マウスモデル 11 種類のうち，8 種類（73%）において CR あるいは MCR の治療効果が認められた。内訳はユーイング肉腫モデルの中では，5 種類中 1 種類で CR，3 種類で MCR，また横紋筋肉腫モデルでは 4 種類全てで MCR であった。2 種類の横紋筋様肉腫と 1 種類のユーイング肉腫モデルでは，PD であった（ただし，このうち 1 種類の横紋筋様肉腫モデルでは EFS が評価期間以上[>42 日]であり，腫瘍増殖遅延が示唆された。またユーイング肉腫モデルでは EFS T/C = 3.3 であり腫瘍増殖遅延がみられた）。悪性軟部腫瘍以外の固形がん移植モデル 19 種類のうち，エリブリンメシル酸塩（1 mg/kg）は 7 種類に対して CR あるいは MCR の治療効果を示した。これらに加え 7 種類では EFS T/C >2 の腫瘍増殖遅延がみられた。　白血病細胞移植モデルではエリブリンメシル酸塩（1.5 mg/kg）は 7 種類全てで CR あるいは MCR の治療効果を示した。37 種類全

ての移植モデルにおいてエリブリンメシル酸塩の用量は MTD を超えず，忍容性に問題はなかった。

表 2.6.2-4　　37 種類の小児がん細胞株移植マウスモデルに対する抗腫瘍効果

がん腫		細胞株	EFS[a] (日)	EFS T/C[b]	治療効果
悪性軟部腫瘍	横紋筋様肉腫	BT-29	>EP	>1.6	PD2
	横紋筋様肉腫	KT-16	12.1	1.1	PD1
	ユーイング肉腫	SK-NEP-1	>EP	>4.3	MCR
	ユーイング肉腫	EW5	41.3	3.3	PD2
	ユーイング肉腫	EW8	>EP	>3.1	MCR
	ユーイング肉腫	TC-71	>EP	>1.5	CR
	ユーイング肉腫	CHLA258	>EP	>4.2	MCR
	横紋筋肉腫	Rh28	>EP	>2.4	MCR
	横紋筋肉腫	Rh30	>EP	>3.8	MCR
	横紋筋肉腫	Rh30R	>EP	>4.3	MCR
	横紋筋肉腫	Rh41	>EP	>3.0	MCR
腎臓癌	ウィルムス腫瘍	KT-10	>EP	>3.7	MCR
	ウィルムス腫瘍	KT-13	>EP	>3.3	PR
脳腫瘍, 神経芽細胞腫	髄芽細胞腫	BT-28	>EP	>3.3	SD
	髄芽細胞腫	BT-50	>EP	>1.1	PD1
	上衣細胞腫	BT-41	>EP	NA	SD
	神経膠芽細胞腫	GBM2	>EP	>3.5	MCR
	神経膠芽細胞腫	BT-39	>EP	>3.6	SD
	神経膠芽細胞腫	D645	>EP	>7.1	CR
	神経膠芽細胞腫	D456	19.8	3.4	PD2
	神経芽細胞腫	NB-SD	17.5	2.4	PD2
	神経芽細胞腫	NB-1771	14.8	2.0	PD2
	神経芽細胞腫	CHLA-79	13.0	1.9	PD2
	神経芽細胞腫	NB-1643	>EP	>4.7	CR
骨腫瘍	骨芽細胞腫	OS-1	>EP	>1.5	MCR
	骨芽細胞腫	OS-2	>EP	>2.5	SD
	骨芽細胞腫	OS-17	>EP	>2.3	CR
	骨芽細胞腫	OS-9	26.3	1.4	PD1
	骨芽細胞腫	OS-33	>EP	>2.7	MCR
	骨芽細胞腫	OS-31	>EP	>2.6	PD2
白血病	ALL B 前駆細胞	ALL-4	>EP	>4.3	MCR
	ALL B 前駆細胞	ALL-7	>EP	>4.4	CR
	ALL T 細胞	ALL-8	>EP	>7.9	MCR
	ALL B 前駆細胞	ALL-17	>EP	>5.3	MCR
	ALL B 前駆細胞	ALL-19	>EP	>8.4	MCR
	ALL T 細胞	ALL-31	>EP	>3.7	CR
	幼児混合系 ALL	MLL-7	>EP	>4.7	MCR

エリブリンメシル酸塩（固形がんモデルに対して 1 mg/kg，白血病モデルに対して 1.5 mg/kg）を Q4D×3 （21 日以降繰り返し，計 6 回）の投与スケジュールで腹腔内投与した。各群，固形がんモデルでは 10 例，白血病モデルでは 8 例を使用し，各値は中央値で示した。 ALL＝ 急性リンパ性白血病，CR＝ 完全奏効，EFS＝ イベントのない生存期間，EP＝ 評価期間，MCR＝ 完全奏効維持，NA＝ 該当せず，PD＝ 病態進行，PR＝ 部分奏効，Q4D×3＝4 日に 1 回計 3 回， SD＝ 病態安定，T/C＝ 処理群/対照群.

a: 固形がんについては腫瘍体積が投与開始日より 4 倍になるまでの日数，白血病細胞については末梢血細胞中の hCD45 陽性細胞の割合が 25%を超えるまでの日数を示す。評価期間(EP＝42 日)を超えた場合は>EP とした。

b: EFS T/C 値は，処理群と対照群の EFS 中央値の比を示す。

添付資料番号 4.2.1.1.1 の Table 4 及び Figure 5 を基に作成.

試験 2 では，試験 1 においてエリブリンメシル酸塩が，MCR を示した悪性軟部腫瘍皮下移植モデルの中から，EW8 及び CHLA258（ユーイング肉腫），Rh30R 及び Rh41（横紋筋肉腫）の 4 モデルを選択し，エリブリンメシル酸塩（0.25，0.5，1 mg/kg）を(Q4D×3)q21 ×2，あるいはエリブリンメシル酸塩（1 mg/kg）を 4 日に 1 回計 2 回を 21 日以降 1 回繰り返し計 4 回（[Q4D×2]q21 ×2）の投与スケジュールで腹腔内投与した。比較のためビンクリスチン硫酸塩（1 mg/kg，週 1 回 6 週 [Q7D×6]）の腹腔内投与も行った。

表 2.6.2-5 に示すように，エリブリンメシル酸塩（0.25，0.5，1 mg/kg，[Q4D×3]q21 ×2）は，EW8 移植モデルでは，全ての用量で MCR，CHLA258 モデルでは 0.5 mg/kg 以上で MCR，また Rh30R モデルでは全ての用量で EFS T/C 値 7.9 以上を伴う CR の治療効果を示した。なお，これらの移植モデルにおいて，エリブリンメシル酸塩 1 mg/kg の (Q4D×2)q21 ×2 の投与は，同(Q4D×3)q21 ×2 の投与と，ほぼ同じ効果（治療効果及び EFS T/C 値）を示した。ビンクリスチン硫酸塩（1 mg/kg，Q7D×6）は EW8，CHLA258，Rh30R モデルに対し，それぞれ MCR，SD，CR の治療効果をもたらした。CHLA258 モデルにおいては，エリブリンメシル酸塩（1 mg/kg，[Q4D×3]q21 ×2 あるいは[Q4D×2]q21 ×2）は，ビンクリスチン硫酸塩（1 mg/kg，Q7D×6）よりも強い効果（治療効果及び EFS T/C 値）を示した。Rh41 モデルでは，エリブリンメシル酸塩は 1 mg/kg （ [Q4D×3]q21 ×2 ） で の み SD ， 1 mg/kg （ [Q4D×2]q21 ×2 ） 及 び 0.5，0.25 mg/kg（[Q4D×3]q21 ×2）では PD2 であった。ただし，これらの投与スケジュールにおける EFS T/C 値は 7.1，3.7，3.5，2.3 であり，腫瘍増殖遅延が認められた。この移植モデルではビンクリスチン硫酸塩の治療効果も PD2 であった。4 種類全ての移植モデルにおいてエリブリンメシル酸塩及びビンクリスチン硫酸塩の用量は MTD を超えず，忍容性に問題はなかった。

表 2.6.2-5　　4 種類の小児悪性軟部腫瘍細胞株皮下移植マウスモデルに対する抗腫瘍効果

細胞株	がん腫	投与法	EFS[a] (日)	EFS T/C[b]	治療効果
EW8	ユーイング肉腫	1 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	>98	>4.3	MCR
		0.5 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	>98	>4.3	MCR
		0.25 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	>98	>4.3	MCR
		1 mg/kg [Q4D×2]q21 ×2	>98	>4.3	MCR
CHLA258	ユーイング肉腫	1 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	>91	>10	MCR
		0.5 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	>91	>10	MCR
		0.25 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	48.1	5.3	SD
		1 mg/kg [Q4D×2]q21 ×2	>91	>10	MCR
Rh30R	横紋筋肉腫	1 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	88.5	9.7	CR
		0.5 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	87.2	9.5	CR
		0.25 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	72.3	7.9	CR
		1 mg/kg [Q4D×2]q21 ×2	83.6	9.1	CR
Rh41	横紋筋肉腫	1 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	49.7	7.1	SD
		0.5 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	24.2	3.5	PD2
		0.25 mg/kg [Q4D×3]q21 ×2	16.1	2.3	PD2
		1 mg/kg [Q4D×2]q21 ×2	25.8	3.7	PD2
EW8	ユーイング肉腫	VCR 1 mg/kg Q7D ×6	>98	>10.8	MCR
CHLA258	ユーイング肉腫	VCR 1 mg/kg Q7D ×6	63.7	7.0	SD
Rh30R	横紋筋肉腫	VCR 1 mg/kg Q7D ×6	88.5	3.8	CR
Rh41	横紋筋肉腫	VCR 1 mg/kg Q7D ×6	21.5	1.8	PD2

エリブリンメシル酸塩（0.25，0.5，1 mg/kg）あるいはビンクリスチン硫酸塩（1 mg/kg）を表に記載したスケジュールで腹腔内投与した。各群 10 例を使用し，各値は中央値で示した。CR＝ 完全奏効，EFS＝ イベントのない生存期間，MCR＝ 完全奏効維持，PD＝ 病態進行, (Q4D×2)q21 ×2＝4 日に 1 回計 2 回のサイクルを 21 日以降 1 回繰り返し，(Q4D×3)q21 ×2＝4 日に 1 回計 3 回のサイクルを 21 日以降 1 回繰り返し，Q7D×6＝ 週 1 回 6 週間，　SD＝ 病態安定, T/C＝ 処理群/対照群.，VCR＝ ビンクリスチン硫酸塩

a: 腫瘍体積が投与開始日より 4 倍になるまでの日数を示す（評価期間は 91～98 日)。

b: EFS T/C 値は，処理群と対照群の EFS 中央値の比を示す。

添付資料番号 4.2.1.1.2 の Table II を引用.

2.6.2.3 副次的薬理試験

新たな副次的薬理試験は実施していない

2.6.2.4 安全性薬理試験

新たな安全性薬理試験は実施していない

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

新たな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

エリブリンメシル酸塩は，クロイソカイメンから単離された海洋天然物ハリコンドリン B（Hirata Y and Uemura D, 1986）の合成誘導体であり，新規メカニズムに基づく微小管ダイナミクス阻害剤である。

微小管は主にチューブリン分子からなる管状の構造体であり，チューブリンの重合（伸長）と脱重合（短縮）の繰り返し（微小管ダイナミクス）により，細胞内骨格の主要な構成要素として細胞形態の維持や細胞運動に関与し，また有糸分裂時には紡錘体を形成して染色体の分裂移動等に重要な役割を担う。エリブリンは微小管の伸長端に結合することで，微小管ダイナミクスに対して伸長のみを阻害し，短縮を妨げないことにより（Smith JA, et al., 2010），微小管を生理機能のないチューブリン凝集塊に至らしめる。エリブリンはこの機序により細胞分裂が盛んながん細胞に対しては，紡錘体形成を妨げ細胞周期を G2/M 期で停止させることにより，アポトーシスによる細胞死を誘導する（Towle MJ, et al., 2001; Towle MJ, et al., 2011）。最近の研究によりエリブリンには腫瘍組織内の微小血管をリモデリングすることで腫瘍内血流を改善し，がん悪性化の要因となる低酸素状態を緩和する作用（Funahashi Y, et al., 2014），また浸潤転移能など悪性度の高いがん細胞がもつ間葉系のフェノタイプを悪性度の低い上皮系の性質に変換する作用（Yoshida T, et al., 2014）も示唆されている。したがって，エリブリンは，有糸分裂阻害作用に加え，がん細胞の悪性形質の抑制により，様々ながん腫に対し抗腫瘍効果を発揮することが期待される。

米国 NCI PPTP の一環として実施された in vitro 試験において，エリブリンメシル酸塩は横紋筋肉腫 4 種類，横紋筋様肉腫 2 種類，ユーイング肉腫 4 種類の細胞株の細胞増殖を，それぞれ IC_{50} 値の中央値 0.14，0.27，0.14 nmol/L で抑制した。また別途実施した PPTP in vitro 試験において 20 種類（前述 4 種を含む）のユーイング肉腫細胞株の細胞増殖を IC_{50} 値の中央値 0.38 nmol/L で抑制した。エリブリンメシル酸塩は MES-SA ヒト子宮肉腫細胞株の細胞増殖を IC_{50} 値 1.99 nmol/L で抑制した。以上よりエリブリンメシル酸塩は，各種ヒト悪性軟部腫瘍細胞株の in vitro 細胞増殖をサブナノモル～ナノモルの IC_{50} 値で抑制することが示された。

エリブリンメシル酸塩（サブミリグラム～ミリグラム/kg）の IV 投与（[Q7D×2] あるいは [Q4D×3]）は SK-LMS-1 平滑筋肉腫，A673 ユーイング肉腫，HT-1080 線維肉腫細胞株の in vivo 皮下移植マウスモデルにおいて，腫瘍増殖の遅延あるいは CR を含む抗腫瘍効果を示した。また PPTP の一環として実施された in vivo 試験において，エリブリンメシル酸塩（1 mg/kg）の IP 投与 (Q4D×3)q21 ×2 は，11 種類のヒト小児悪性軟部腫瘍皮下移植マウスモデルのうち，8 種類のモデル（5 種類のユーイング肉腫モデルのうち 4 種類，4 種類の横紋筋肉腫モデルの全て）に対し MCR あるいは CR，また 1 種類のユーイング肉腫モデルに対し腫瘍増殖遅延を伴う抗腫瘍効果を示した。このうち 4 種類のモデル（ユーイング肉腫モデル 2 種類，横紋筋肉腫モデル 2 種類）を選択して，エリブリンメシル酸塩の用量を 0.25，0.5，1 mg/kg と変化させたところ，3 種類のモデルでは 0.25 あるいは 0.5 mg/kg 以上の用量で MCR あるいは CR が認められた。いずれの抗腫瘍効果も MTD 以下の用量で認められた。

以上，エリブリンメシル酸塩は，各種ヒト悪性軟部腫瘍細胞株を用いた非臨床薬理試験において，in vitro 細胞増殖をサブナノモル～ナノモルの IC_{50} 値で抑制し，ほとんどの皮下移植マウスモデルにおいて，忍容性と有意な抗腫瘍効果を示したことから，本薬がヒト悪性軟部腫瘍に対し有用である可能性が示された。

2.6.2.7 図表

薬理試験の概要文中の図表は，本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.2.8 参考文献

Funahashi Y, Okamoto K, Adachi Y, Semba T, Uesugi M, Ozawa Y, et al. Eribulin mesylate reduces tumor microenvironment abnormality by vascular remodeling in preclinical human breast cancer models. Cancer Sci. 2014;105(10):1334-42.

Hirata Y, Uemura D. Halichondrins–antitumor polyether macrolides from a marine sponge. Pure Appl Chem. 1986;58(5):701-10.

Martínez-Ramírez A, Rodríguez-Perales S, Meléndez B, Martínez-Delgado B, Urioste M, Cigudosa JC, et al. Characterization of the A673 cell line (Ewing tumor) by molecular cytogenetic techniques. Cancer Genet Cytogenet. 2003;141(2):138-42.

Smith JA, Wilson L, Azarenko O, Zhu X, Lewis BM, Littlefield BA, et al. Eribulin binds at microtubule ends to a single site on tubulin to suppress dynamic instability. Biochemistry. 2010;49(6):1331-7.

Towle MJ, Salvato KA, Budrow J, Wels BF, Kuznetsov G, Aalfs KK, et al. In vitro and in vivo anticancer activities of synthetic macrocyclic ketone analogues of halichondrin B. Cancer Res. 2001;61(3):1013-21.

Towle MJ, Salvato KA, Wels BF, Aalfs KK, Zheng W, Seletsky BM, et al. Eribulin induces irreversible mitotic blockade: implications of cell-based pharmacodynamics for in vivo efficacy under intermittent dosing conditions. Cancer Res. 2011;71(2):496-505.

Yoshida T, Ozawa Y, Kimura T, Sato Y, Kuznetsov G, Xu S, et al. Eribulin mesilate suppresses experimental metastasis of breast cancer cells by reversing phenotype from epithelial-mesenchymal transition (EMT) to mesenchymal-epithelial transition (MET) states. Br J Cancer. 2014;110(6):1497-505.

目次

2.6.3 薬理試験概要表 2
2.6.3.1 薬理試験：一覧表 2
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 4

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: Eribulin Mesilate

Type of Study/Description	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	CTD Location
In Vitro Pharmacodynamics					
Antiproliferative activity against human cancer cells	Human/ a panel of 24 cancer cell lines (childhood solid tumor and hematologic cancer)	In vitro	Nationwide Children's Hospital	PPC-20[redacted]-02N	4.2.1.1.1
Antiproliferative activity against human cancer cells	Human/ a panel of 20 human cancer cell lines (Ewing's sarcoma)	In vitro	Nationwide Children's Hospital	PPC-20[redacted]-01N	4.2.1.1.2
Antiproliferative activity against human cancer cells	Human/ MES-SA, MES-SA/Dx5-Rx1 (uterine sarcoma)	In vitro	Eisai Inc.	CAIVT0105 and CAIVT0106	4.2.1.1.3
In Vivo Pharmacodynamics					
Antitumor activity in human cancer xenograft model in mice	Mouse/ BALB/c-nu/nu Human/ SK-LMS-1 (leiomyosarcoma) xenograft model	IV	Eisai Co., Ltd.	M[redacted]030	4.2.1.1.4.
Antitumor activity in human cancer xenograft model in mice	Mouse/ BALB/c-nu/nu Human/ A673 (Ewing's sarcoma)[a] xenograft model	IV	Eisai Co., Ltd.	A[redacted]017	4.2.1.1.5
Antitumor activity in human cancer xenograft model in mice	Mouse/ NCr-nu/nu Human/ HT-1080 (fibrosarcoma) xenograft model	IV	Eisai Inc.	MT[redacted]35	4.2.1.1.6
Antitumor activity in human cancer xenograft model in mice	Mouse/ BALB/c-nu/nu, CB17-SCID, or NOD-SCID Human/ a panel of 37 human cancers (childhood solid tumor and leukemia) xenograft models	IP	Nationwide Children's Hospital	PPC-20[redacted]-02N	4.2.1.1.1

Test Article: Eribulin Mesilate

Type of Study/Description	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	CTD Location
Antitumor activity in human cancer xenograft model in mice	Mouse/ CB17-SCID Human/ EW8 (Ewing's sarcoma), CHLA258 (Ewing's sarcoma), Rh30R (RMS), Rh41 (RMS) xenograft models	IP	Nationwide Children's Hospital	PPC-20[redacted]-01N	4.2.1.1.2

CTD = Common Technical Document, IP = intraperitoneal, IV = intravenous, RMS = rhabdomyosarcoma.
a: Although the original report lists the A673 cell line as an RMS, subsequent cytogenetic analysis indicates that this is an Ewing's sarcoma (Section 2.6.2.2.4).

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Test Article: Eribulin Mesilate

Type of Study	Methods	Species/ Strain	Number/ Gender	Route	Dose or Concentration	Observations	Study/ Report No.
Antiproliferative activity against human cancer cells	Cell proliferation for 96 hours was measured by counting cells stained with fluorescein diacetate.	Human/ 24 childhood cancer cell lines, including STS (RMS, rhabdoid, Ewing's sarcoma), brain tumor (glioblastoma, neuroblastoma), and hematologic cancer (leukemia, lymphoma)	NA	in vitro	eribulin mesilate: 0.1 – 1000 nmol/L	(STS) vs. 4 RMS cell lines median IC_{50} = 0.14 nmol/L vs. 2 rhabdoid cell lines median IC_{50} = 0.27 nmol/L vs. 4 Ewing's sarcoma cell lines median IC_{50} = 0.14 nmol/L (non-STS) vs. 5 brain tumor cell lines, median IC_{50} = 1.77 nmol/L vs. 9 hematologic cancer cell lines, median IC_{50} = <0.10 nmol/L	PPC-20[redacted]-02N
Antiproliferative activity against human cancer cells	Cell proliferation for 96 hours was measured by counting cells stained with fluorescein diacetate.	Human/ 20 childhood Ewing's sarcoma cell lines	NA	in vitro	eribulin mesilate: 0.01 – 100 nmol/L	vs. 20 Ewing's sarcoma cell lines median IC_{50} = 0.38 nmol/L	PPC-20[redacted]-01N
Antiproliferative activity against human cancer cells	Cell proliferation for 96 hours was evaluated by measuring ATP amount using CellTiter-Glo reagent.	Human/ MES-SA, MES-SA/Dx5-Rx1 (uterine sarcoma)	NA	in vitro	eribulin mesilate: 0.03 – 10,000 nmol/L	vs. MES-SA IC_{50} = 1.99 nmol/L vs. MES-SA/Dx5-Rx1 IC_{50} = 5220 nmol/L	CAIVT0105 and CAIVT0106

Test Article: Eribulin Mesilate

Type of Study	Methods	Species/ Strain	Number/ Gender	Route	Dose or Concentration	Observations	Study/ Report No.
Antitumor activity in human cancer xenograft model in mice	Xenografts were generated by SC inoculation of the cancer cells. Dosing with eribulin mesilate was initiated after 7 days. TV and body weights of mice were measured twice per week.	Mouse/ BALB/c-nu/nu Human/ SK-LMS-1 (leiomyosarcoma)	6 female / group	IV, Q7D×2	eribulin mesilate: 0.19, 0.38, 0.75, 1.5 mg/kg	Eribulin mesilate showed antitumor activity in a dose-dependent manner with statistically significant delay of tumor growth at doses of 0.75 and 1.5 mg/kg without severe BWL[a].	M[redacted]030
Antitumor activity in human cancer xenograft model in mice	Xenografts were generated by SC inoculation of the cancer cells. Dosing with eribulin mesilate was initiated after 8 days. TV and body weights of mice were measured twice per week.	Mouse/ BALB/c-nu/nu Human/ A673 (Ewing's sarcoma)[b]	6 female / group	IV, Q7D×2	eribulin mesilate: 0.875, 1.75, 3.5 mg/kg vincristine sulfate: 0.375, 0.75, 1.5 mg/kg	Eribulin mesilate and vincristine sulfate at all doses showed dose-dependent and significant inhibition of tumor growth without severe BWL[a]. Eribulin mesilate at all doses inhibited tumor growth more than 99%, with CRs in 1 or 2 mice of the treated groups.	A[redacted]017
Antitumor activity in human cancer xenograft model in mice	Xenografts were generated by SC inoculation of the cancer cells. Dosing with eribulin mesilate was initiated after 16 days. TV and the body weights of mice were measured twice per week.	Mouse/ NCr-nu/nu Human/ HT-1080 (fibrosarcoma)	10 female / group	IV, Q4D×3	eribulin mesilate: 1.27, 1.69, 2.25, 3.0. 4.0 mg/kg paclitaxel: 20 mg/kg	Eribulin mesilate reduced TV to below pre-treatment volumes with CRs seen in 9 and 6 mice at doses of 1.27 and 1.69 mg/kg on Day 98, respectively, without severe BWL[a]. Paclitaxel partially inhibited tumor growth.	MT[redacted]35

Test Article: Eribulin Mesilate

Type of Study	Methods	Species/ Strain	Number/ Gender	Route	Dose or Concentration	Observations	Study/ Report No.
Antitumor activity in human cancer xenograft models in mice	Xenografts of solid tumor and leukemia cell lines were generated by SC and IV inoculation of the cancer cells, respectively. Dosing with eribulin mesilate was initiated when TV for solid tumors reached between 200 and 500 mm^3. TV and body weights of mice were measured once per week. Events were defined as a 4-fold increase in TV from the initial volume for solid tumors, and as >25% hCD45-positive cells in the peripheral blood for leukemia models, respectively.	Mouse/ BALB/c-nu/nu for glioblastoma models, CB17-SCID for other solid tumor models, NOD-SCID for leukemia models Human/ 37 human cancer cell lines of childhood solid tumors (rhabdoid, Wilms' tumor, Ewing's sarcoma, RMS, medulloblastoma, ependymoma, glioblastoma, neuroblastoma, osteosarcoma), and leukemia	10 female / group (solid tumor models) 8 female/ group (leukemia models)	IP, Q4D×3 with repeated treatment at Day 21	eribulin mesilate: 1 mg/kg (for solid tumor models) 1.5 mg/kg (for leukemia models)	Eribulin mesilate administration resulted in a CR or MCR against 8/11 (73%) models of STS xenograft, which are 4 of the 5 Ewing's sarcoma and 4 of the 4 RMS xenograft models having EFS T/C values ranging from >1.5 to >4.3. PDs were observed in the 2 rhabdoid and 1 Ewing's sarcoma models. Against the 19 non-STS solid tumor models, CR or MCR was observed in 7 models (1 of the 2 Wilms' tumor, 3 of the 6 osteosarcoma, and 3 of the 11 brain tumor models) with EFS T/C values ranging from >1.5 to >7.1. Eribulin mesilate achieved CR or MCR against all 7 leukemia xenografts with EFS T/C values ranging from >3.7 to >8.4. The dose of eribulin mesilate in each xenograft model did not exceed MTD.	PPC-20[redacted]-02N

Test Article: Eribulin Mesilate

Type of Study	Methods	Species/ Strain	Number/ Gender	Route	Dose or Concentration	Observations	Study/ Report No.
Antitumor activity in human cancer xenograft models in mice	Xenografts were generated by SC inoculation of the cancer cells. Dosing with eribulin mesilate was initiated when TV reached between 200 and 500 mm^3. TV and body weights of mice were measured once per week.	Mouse/ CB17-SCID Human/ EW8 (Ewing's sarcoma), CHLA258 (Ewing's sarcoma), Rh30R (RMS), Rh41 (RMS)	10 female / group	eribulin mesilate: IP, Q4D×3 with the repeated treatment at Day 21. vincristine sulfate: IP, Q7D×6	eribulin mesilate: 0.25, 0.5, 1 mg/kg vincristine sulfate: 1 mg/kg	Eribulin mesilate showed antitumor activity against EW8 and CHLA258, with MCR observed at all doses (EW8) and doses ≥0.5 mg/kg (CHLA258). Eribulin mesilate also showed antitumor activity against Rh30R with CR and EFS T/C values ≥7.9 at all doses. Rh41 failed to show objective responses, but it did show prolonged tumor growth control with EFS T/C values ranging from 2.3 to 7.1. Vincristine sulfate showed antitumor activity in the EW8 and Rh30R models with MCR and CR, the treatment resulted in SD and PD in the CHLA258 and Rh41 models, respectively. All doses of eribulin mesilate and vincristine sulfate in each model were below MTD.	PPC-20[redacted]-01N

ATP = adenosine triphosphate, BWL = body weight loss, CR = complete response, EFS = event free survival, hCD45 = human CD45, IC_{50} = half maximal inhibitory concentration, IP = intraperitoneal, IV = intravenous, MCR = maintained complete response, MTD = maximum tolerated dose, NA = not applicable, NOD-SCID = non-obese diabetic/severe combined immunodeficient, PD = progressive disease, Q4D×3 = every 4 days for a total of 3 injections, Q7D×2 = once per week for 2 weeks, Q7D×6 = once per week for 6 weeks, RMS = rhabdomyosarcoma, SC = subcutaneous, SCID = severe combined immunodeficient, SD = stable disease, STS = soft tissue sarcoma, T/C = treatment / control, TV = tumor volume, vs = versus.

a: Severe BWL is defined as a mean BWL that was more than 20% of the body weights at the initiation of dosing.

b: Although the original report states that the A673 cell line is an RMS, subsequent cytogenetic analysis indicates that this is a Ewing's sarcoma (Section 2.6.2.2.4)