目次

2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1 緒言 4
2.4.1.2 試験計画 4
2.4.1.3 動物種の選択 4
2.4.1.4 薬理試験 5
2.4.1.5 薬物動態試験 7
2.4.1.6 毒性試験 8
2.4.2 薬理試験 10
2.4.2.1 CD38 の薬理学的特性 10
2.4.2.2 効力を裏付ける試験 10
2.4.2.3 副次的薬理試験 12
2.4.2.4 安全性薬理試験 12
2.4.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 13
2.4.2.6 薬理試験の結論 13
2.4.3 薬物動態試験 14
2.4.3.1 分析法 14
2.4.3.2 吸収 14
2.4.3.3 薬物動態試験の結論 15
2.4.4 毒性試験 16
2.4.4.1 反復投与毒性試験 16
2.4.4.2 その他の毒性試験 17
2.4.4.3 毒性試験の結論 18
2.4.5 総括及び結論 19
2.4.5.1 非臨床試験のまとめ 19
2.4.5.2 本剤に特異的な毒性所見に関する考察 19
2.4.5.3 ダラツムマブの作用機序から推測される臨床的リスク 21
2.4.5.4 要約 24
2.4.6 参考文献 25

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
7-AAD	7-aminoactinomycin D（7-アミノアクチノマイシン D）
ADA	anti-drug antibody（抗ダラツムマブ抗体）
ADCC	antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity（抗体依存性細胞傷害）
ADCP	antibody-dependent cellular phagocytosis（抗体依存性細胞貪食）
ADPR	adenosine diphosphate ribose（アデノシン二リン酸リボース）
AUC_{∞}	area under the serum concentration-time curve from time sero to infinite time（0 時間から無限大時間までの血清中濃度－時間曲線下面積）
cADPR	cyclic adenosine diphosphate ribose（サイクリックアデノシン二リン酸リボース）
CDC	complement-dependent cytotoxicity（補体依存性細胞傷害）
CFSE	carboxyfluorescein succinimidyl ester（カルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル）
CHO	Chinese hamster ovary（チャイニーズハムスター卵巣細胞）
CL	total body clearance（全身クリアランス）
C_{max}	maximum serum concentration（最高血清中濃度）
CTD	common technical document（コモン・テクニカル・ドキュメント）
EC_{50}	50% effective concentration（50%作用濃度）
ECG	electrocardiogram（心電図）
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay（酵素結合免疫吸着測定法）
EMA	European Medicines Agency（欧州医薬品庁）
FDA	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
$FcR\gamma^{-/-}$	FcRγ-chain knockout（Fc 受容体γ鎖ノックアウト）
FcγR	Fcγ receptor（Fcγ 受容体）
FITC	fluorescein isothiocyanate（フルオレセインイソチオシアナート）
GLP	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
h	hour（時間）
HPLC	high performance liquid chromatography（高速液体クロマトグラフィー）
ICH	International Conference on Harmonisation（日米 EU 医薬品規制調和国際会議）
IHC	Immunohistochemistry（免疫組織化学）
IFN-γ	interferon-gamma（インターフェロンγ）
IgA	immunoglobulin A（免疫グロブリン A）
IgE	immunoglobulin E（免疫グロブリン E）
IgG	immunoglobulin G（免疫グロブリン G）
IgG1	immunoglobulin G1（免疫グロブリン G1）
IgG1κ	immunoglobulin G1 kappa（免疫グロブリン G1 kappa）
IgG2	immunoglobulin G2（免疫グロブリン G2）
IgG3	immunoglobulin G3（免疫グロブリン G3）
IgM	immunoglobulin M（免疫グロブリン M）
IHC	immunohistochemistry（免疫組織化学）
IL-6	interleukin-6（インターロイキン 6）
IND	investigational New Drug（治験薬）
IP	intraperitoneal（腹腔内）
IRR	infusion related reaction（インフュージョン・リアクション）
IV	intravenous（静脈内）
K_D	dissociation constant（解離定数）
KLH	keyhole limpet hemocyanin（スカシ貝ヘモシアニン）
KO	knock out（ノックアウト）
mAb	monoclonal antibody（モノクローナル抗体）
MFI	mean fluorescence intensity（平均蛍光強度）

略号又は略称	名称及び内容
MM	multiple myeloma（多発性骨髄腫）
NAADP	nicotinic acid-adenine dinucleotide phosphate（ニコチン酸アデニンジヌクレオチドリン酸）
NK	natural killer（ナチュラルキラー）
NOAEL	no observed adverse effect level（無毒性量）
PBMC	peripheral blood mononuclear cell（末梢血単核球）
PI	propidium iodide（ヨウ化プロピジウム）
RBC	red blood cell（赤血球）
SC	subcutaneous（皮下）
SCID	severe combined immunodeficiency（重症複合型免疫不全）
TK	toxicokinetic（トキシコキネティクス）
$t_{1/2}$	elimination half-life（消失半減期）
V_z	volume of distribution at the terminal phase（最終相における分布容積）

2.4.1 非臨床試験計画概略

2.4.1.1 緒言

CD38 は 45 kDa の II 型膜貫通糖タンパク質であり，受容体であるとともにヌクレオチド代謝物の生成に関与する多機能酵素でもある[1),2),3)]。形質細胞及びその腫瘍細胞である多発性骨髄腫（MM）細胞では CD38 が高度に発現していることが報告されており，そのため，CD138 とともに患者骨髄中の悪性骨髄腫細胞の表面マーカーとして広く用いられている[4),5)]。MM において CD38 が高度に発現することから，CD38 は有用な治療標的として期待される。

ダラツムマブ（遺伝子組換え，以下，ダラツムマブ）は，CD38 に特異的に結合するヒト免疫グロブリン G1κ（IgG1κ）モノクローナル抗体（mAb）である。腫瘍細胞表面に発現する CD38 に結合したダラツムマブは，補体依存性細胞傷害（CDC）作用，抗体依存性細胞傷害（ADCC）作用，抗体依存性細胞貪食（ADCP）作用，腫瘍細胞のアポトーシス誘導及び CD38 酵素活性の調節といった様々な生物学的作用を誘導した。

2.4.1.2 試験計画

ダラツムマブの非臨床試験は日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）S6(R1) 及び ICH S9 ガイドラインに従って実施した。ダラツムマブが成人の進行がんへの適用を目的とする抗体医薬品であり，薬理学的に適切な唯一の動物種であるチンパンジーで毒性試験を実施する必要があるという制約上，遺伝毒性，慢性毒性，がん原性及び生殖発生毒性試験は実施しなかった。海外規制当局は，薬理学的に適切な唯一の動物種であるチンパンジーが絶滅危惧種であることから，本適応症については追加反復投与毒性試験を実施する必要がないことを認めている［米国食品医薬品局（FDA）との 2007 年 7 月 11 日の IND 前相談議事録又は欧州医薬品庁（EMA）の 2014 年 5 月 22 日付科学的助言］。

主要な毒性試験は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。

毒性試験で使用されたダラツムマブは，遺伝子導入マウス及びハイブリドーマ技術を用いて作製し，標準的な懸濁培養法及び精製法を用いて，遺伝子組換えほ乳類細胞株［チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）］で生産された。主な毒性試験で用いたダラツムマブの製造工程処理及び処方は，第 1/2 相臨床試験で使用したバッチと同等であった【CTD 2.3.S.2.6 参照】。

2.4.1.3 動物種の選択

ダラツムマブはヒト及びチンパンジーの CD38 に結合するが，マウス，ラット，ウサギ，ブタ，カニクイザル及びアカゲザルなどの毒性試験に汎用される動物種の CD38 には結合しない。ヒト及びカニクイザルの CD38 に結合する抗 CD38 mAb である HuMab-CD38 についても，その特性を解析した。HuMab-CD38 のヒト CD38 に対する結合親和性，ADCC 作用，アポトーシス誘導及び抗腫瘍効果についてはダラツムマブと同程度であったものの，CDC 作用，シクラーゼ活性阻害及

びカニクイザル末梢血由来の種々の細胞に対する高い結合性はダラツムマブと異なっていた【CTD 2.6.2.2.1.3，2.6.2.2.1.6 及び 2.6.2.2.3 参照】。ダラツムマブと HuMab-CD38 の機序の間には差異があることから，カニクイザルにおける HuMab-CD38 を用いたダラツムマブの毒性評価には限界があると考えられる。種の選択に関する詳細な検討は， CTD 2.6.6.1.2 項に記載した。

効力を裏付ける試験では，ヒトの正常細胞，ヒト CD38 を発現する細胞株及び MM 患者由来細胞を用いた *in vitro* 試験，重症複合型免疫不全（SCID）マウスモデルを用いた *in vivo* 試験を実施した。また，カニクイザルは HuMab-CD38 の検討に用いた。

主要な毒性及び薬物動態試験ではチンパンジーを用いて評価したが，チンパンジーは絶滅危惧種であり，実験に使用可能な動物数は非常に限られている。また，標的器官の重量測定及び病理組織学的検査も許されていないことから，毒性及び薬物動態では限られた試験で評価した。

2.4.1.4 薬理試験

薬理試験の一覧を表 2.4.1.4-1 に示した。

CD38 の発現は MM 細胞で高いことから，ダラツムマブは MM 患者に対して有用性を示すと考えられる。

ダラツムマブは CD38 に強く結合し，MM 患者由来細胞又はヒト CD38 発現細胞において CDC 作用，ADCC 作用，ADCP 作用，腫瘍細胞のアポトーシス誘導及び CD38 酵素活性の調節といった様々な生物学的作用を誘導した。マウス異種移植モデルにおいて，ダラツムマブは予防的及び治療的投与のいずれでも腫瘍増殖を阻害した。ダラツムマブはヒト末梢血単核球（PBMC）の増殖に影響を及ぼさなかった。ダラツムマブにより少量のサイトカイン放出が誘導されたが，これは標的に関連した作用ではなく，主にダラツムマブの Fc 領域を介した作用であり，対照の免疫グロブリン G（IgG）又は標的の異なる国内外既承認の抗体医薬品による作用と同程度であった。

表 2.4.1.4-1 非臨床薬理試験の概要

試験の種類	試験系／方法		試験番号/ CTD 記載箇所
ダラツムマブのヒト CD38 への結合特性	・Biacore ・ELISA ・フローサイトメトリー	*in vitro*	GMB3003-002/ 4.2.1.1.1
ダラツムマブ及び HuMab-CD38 の結合エピトープ	・PEPSCAN ・部位特異的突然変異導入 ・ELISA	*in vitro*	GMB3003-008/ 4.2.1.1.2
ダラツムマブ及び HuMab-CD38 による CDC 作用	・フローサイトメトリー （PI 標識）	*in vitro*	GMB3003-003/ 4.2.1.1.3
HuMab-CD38 及びダラツムマブによる ADCC 作用	・^{51}Cr 遊離	*in vitro*	GMB3003-004/ 4.2.1.1.4
リンパ腫及び多発性骨髄腫に対するダラツムマブの抗腫瘍効果における ADCP 作用の寄与	・フローサイトメトリー ・腫瘍を皮下又は静脈内移植した SCID マウス	*in vitro*	GMB3003-115/ 4.2.1.1.5
ダラツムマブ及び HuMab-CD38 による CD38 酵素活性の調節	・蛍光基質変換の測定 ・HPLC ・^{32}P-cADPR TLC	*in vitro*	GMB3003-013/ 4.2.1.1.6
ダラツムマブ及び HuMab-CD38 によるアポトーシス誘導	・フローサイトメトリー （annexin-V，PI，カスパーゼ誘導）	*in vitro*	GMB3003-011/ 4.2.1.1.7
ダラツムマブの FcγR を介した架橋形成によるアポトーシス誘導	・フローサイトメトリー （annexin-V，7-AAD 染色） ・CFSE 標識 EL4-CD38 細胞を腹腔内移植した FcRγ$^{-/-}$マウス及び NOTAM マウス ・フローサイトメトリー （annexin-V 及び 7-AAD 染色）	*in vitro* *in vivo*	GMB3003-116/ 4.2.1.1.8
リンパ腫異種移植 SCID マウスモデルにおけるダラツムマブ及び HuMab-CD38 の評価	・Daudi-luc 細胞を静脈内移植した SCID マウス ・光学イメージング	*in vivo*	GMB3003-007/ 4.2.1.1.9
In vivo 用量設定：リンパ腫異種移植 SCID マウスモデルにおける増殖抑制に要するダラツムマブの最小用量の評価	・Daudi-luc 細胞を静脈内移植した SCID マウス ・光学イメージング	*in vivo*	GMB3003-017/ 4.2.1.1.10
HuMab-CD38 及びダラツムマブのヒトのリンパ及び非リンパ組織への結合	・IHC	*in vitro*	GMB3003-006/ 4.2.1.1.11
HuMab-CD38 及びダラツムマブのヒト以外の動物種のリンパ組織への結合	・IHC	*in vitro*	GMB3003-010/ 4.2.1.1.12
ダラツムマブ及び HuMab-CD38 のカニクイザル及びアカゲザルとの交差反応性の検討	・フローサイトメトリー ・IHC	*in vitro*	GMB3003-005/ 4.2.1.1.13

7-AAD = 7-アミノアクチノマイシン D；cADPR = サイクリックアデノシン二リン酸リボース；CDC =補体依存性細胞傷害；CFSE = カルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル；Daudi-luc 細胞 = Daudi 細胞にルシフェラーゼを導入した細胞；ELISA = 酵素結合免疫吸着測定法；FcγR = Fcγ 受容体；FcRγ$^{-/-}$ = Fc 受容体 γ 鎖ノックアウト；HPLC = 高速液体クロマトグラフィー；IHC = 免疫組織化学；PI = ヨウ化プロピジウム；SCID =重症複合型免疫不全；TLC =薄層クロマトグラフィー

表 2.4.1.4-1 非臨床薬理試験の概要（続き）

試験の種類	試験系／方法		試験番号/ CTD 記載箇所
HuMab-CD38 及びダラツムマブのヒト及びカニクイザルの血球に対する結合	・フローサイトメトリー	*in vitro*	SR3003-06-31/ 4.2.1.1.14
ヒト及びチンパンジーCD38 に対するダラツムマブの相互作用の比較	・ウェスタンブロット ・ELISA ・フローサイトメトリー ・Biacore ・蛍光基質変換の測定	*in vitro*	GMB3003-014/ 4.2.1.1.15
チンパンジーの PBMC におけるダラツムマブの交差反応性	・フローサイトメトリー	*in vitro*	BKV00001/ 4.2.1.1.16
ヒト PBMC の増殖，サイトカイン（IL-6 及び IFN-γ）放出に対するダラツムマブ及び HuMab-CD38 のアゴニスト作用	・^{3}H チミジン取込み ・ELISA	*in vitro*	GMB3003-012/ 4.2.1.2.1
ヒト PBMC からのサイトカイン放出に対するダラツムマブのアゴニスト作用	・ELISA	*in vitro*	GMB3003-016/ 4.2.1.2.2
ヒト全血及び PBMC の増殖及びサイトカイン放出に対するダラツムマブの作用	・^{3}H チミジン取込み ・ELISA	*in vitro*	GMB3003-018/ 4.2.1.2.3
ヒト全血又は PBMC からのサイトカイン放出に対するダラツムマブの作用	・ELISA	*in vitro*	GMB3003-020/ 4.2.1.2.4
ダラツムマブのヒト及びチンパンジー血小板への結合	・フローサイトメトリー	*in vitro*	BKV00013/ 4.2.1.2.5
ダラツムマブのヒト及びチンパンジー血小板への結合	・フローサイトメトリー	*in vitro*	BKV00015/ 4.2.1.2.6
CDC を介したヒト RBC の溶血	・吸光法（405 nm）	*in vitro*	SR3003-06-67/ 4.2.1.2.7
6 週間反復静脈内投与毒性試験	・チンパンジー	*in vivo*	8754-0701/ 4.2.3.2.2
2 週間反復静脈内投与毒性試験	・カニクイザル	*in vivo*	509809/ 4.2.3.2.1
MM 細胞を用いたダラツムマブとレナリドミドの併用による抗腫瘍効果	・^{51}Cr 遊離 ・フローサイトメトリー	*in vitro*	GMB3003-069/ 4.2.1.4.1
MM 細胞を用いたダラツムマブと MM の新規多剤併用療法との併用による抗腫瘍効果	・フローサイトメトリー	*in vitro*	GMB3003-070/ 4.2.1.4.2

CDC =補体依存性細胞傷害；ELISA = 酵素結合免疫吸着測定法；IFN-γ = インターフェロン-γ；IL-6 = インターロイキン-6；MM = 多発性骨髄腫；PBMC = 末梢血単核球；RBC = 赤血球

2.4.1.5　薬物動態試験

ダラツムマブは毒性試験で用いられている動物種のうち，チンパンジーの CD38 のみに結合した。このため，非臨床薬物動態試験では雌雄チンパンジーを用いたが，チンパンジーは絶滅危惧種であり，実験に使用可能な動物数は非常に限られているため，6 週間反復静脈内投与毒性試験

の一環としてトキシコキネティクス（TK）は少数例で実施した。非臨床薬物動態の試験一覧を表 2.4.1.5-1 に示すが，詳細は薬物動態試験概要表に示す【CTD 2.6.5.1 参照】。

チンパンジーの血清中ダラツムマブ濃度及び抗ダラツムマブ抗体（ADA）は，バリデーションされた酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）で測定した。

ダラツムマブはヒト IgG であり，生体内では他の内因性 IgG と同様に小ペプチド及びアミノ酸に分解されると考えられる。このため，低分子有機化合物で実施している一般的な分布，代謝及び排泄試験は実施しなかった。

表 2.4.1.5-1 薬物動態試験の概要

試験の種類（GLP 適用状況）	動物種（n）	投与期間	経路	投与量	被験物質	試験番号/CTD 記載箇所
反復投与毒性試験（ADA 評価を含む：GLP 適用）	チンパンジー（1 例/性/群）	6 週間；91 又は 105 日間の回復期間	IV（週 1 回）	5，25 mg/kg[a]	ダラツムマブ	8754-0701/4.2.3.2.2

[a] Day 0 に動物に溶媒を投与した後，Day 7 からダラツムマブ 5 又は 25 mg/kg の週 1 回持続静脈内投与を 6 回行った。
ADA = 抗ダラツムマブ抗体；IV = 静脈内

雌雄チンパンジーにダラツムマブを反復静脈内投与したとき，曝露量は 5～25 mg/kg の範囲では用量の増加とともに増加した。また，ダラツムマブの消失半減期（$t_{1/2}$）は用量の増加とともに延長し，全身クリアランス（CL）は減少する傾向が認められたことから，血清中ダラツムマブ濃度が高いとき，ダラツムマブの消失は飽和すると考えられる。

ADA は試験期間中検出されなかった。

2.4.1.6 毒性試験

ダラツムマブの毒性試験として，チンパンジーを用いた 6 週間反復投与毒性試験（GLP 試験），並びにチンパンジー及びヒト組織を用いた *in vitro* 組織交差反応性試験（GLP 試験）を実施した。さらに，補助的な試験として，ダラツムマブの代用抗体として抗カニクイザル CD38 mAb（HuMab-CD38）を投与した，カニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験（非 GLP 試験），及びカニクイザル組織を用いた *in vitro* 組織交差反応性試験（GLP 試験）を実施した。反復投与試験は，いずれも臨床予定投与経路（静脈内投与）で実施した。ICH S6 (R1) ガイドラインに従って，反復投与試験には急性毒性，局所刺激性及び安全性薬理試験の評価項目を組み入れた。遺伝毒性試験，慢性毒性試験，がん原性試験及び生殖発生毒性試験は，ICH S6 (R1)及び ICH S9 ガイドラインに従い実施しなかった。また，生殖発生毒性試験は，チンパンジーを用いた試験が実現不可能であることから実施しなかった。実施した毒性試験の概要を表 2.4.1.6-1 に示す。詳細は毒性試験概要表に示す【CTD 2.6.7.1 参照】。

表 2.4.1.6-1 毒性試験の概要

試験の種類 (GLP 適用)	動物種（n）	投与期間	投与経路	投与量	被験物質	試験 No./ CTD 記載箇所
反復投与毒性（非 GLP）	カニクイザル (2 例/性/群)	2 週間；8 週間の回復期間	IV (週 1 回)	0，20，100 mg/kg [a]	HuMab-CD38 [c]	509809/ 4.2.3.2.1
反復投与毒性（GLP）	チンパンジー (1 例/性/群)	6 週間；13 又は 15 週間の回復期間	IV (週 1 回)	0，5，25 mg/kg [b]	ダラツムマブ	8754-0701/ 4.2.3.2.2
組織交差反応性（GLP）	カニクイザル正常組織	NA	*In vitro*	0，0.2，0.5，1 μg/mL	HuMab-CD38 [c]	510547/ 4.2.3.7.7.1
組織交差反応性（GLP）	チンパンジー正常組織	NA	*In vitro*	0.25，1.25 μg/mL	ダラツムマブ	BKV00003/ 4.2.3.7.7.2
組織交差反応性（GLP）	ヒト正常組織	NA	*In vitro*	0，0.5，1，2 μg/mL	ダラツムマブ	260571/ 4.2.3.7.7.3

[a] Day 1 及び Day 8 に溶媒又は被験物質を 30 分間かけて持続静脈内投与した。
[b] 5 mg/kg 群：Day 0 に溶媒を投与した後，Day 7 からダラツムマブ 5 mg/kg の週 1 回持続静脈内投与を 6 回行った。
25 mg/kg 群：Day 7 に溶媒を投与した。過剰なサイトカイン放出を予防するため，Day 21 にダラツムマブ 10 mg を静脈内にボーラスで前投与し，24 時間後（Day 22）にダラツムマブ 25 mg/kg を 1 時間かけて静脈内持続投与した。その後，投与は Day 56 まで週 1 回の頻度で 5 回行った。
[c] 本試験は，ヒト及びカニクイザル CD38 に特異的に結合するヒト型 IgG1 mAb である HuMab-CD38 を用いて実施した。
GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；HuMab-CD38 = 抗カニクイザル CD38 mAb；IgG1 = 免疫グロブリン G1；IV = 静脈内；mAb = モノクローナル抗体；NA = 該当せず；No，n. = 番号，例数

チンパンジーにダラツムマブを投与したときに観察された主要な毒性は，サイトカイン放出反応と血小板減少症であった。サイトカイン放出反応は初回投与時に認められたが，2 回目以降の投与時には発現しなかった。本反応は臨床的にはインフュージョン・リアクション（IRR）に相当すると考えられる重要な所見であるが，ほとんどの IRR は副腎皮質ステロイド，解熱鎮痛剤及び抗ヒスタミン剤の前投薬と本剤の投与調節（投与中断，投与中止又は減速）によって臨床的に管理可能であった。一方，血小板減少症は血清中ダラツムマブ濃度の低下とともに回復し，可逆的であった。

カニクイザルに HuMab-CD38 を投与したとき，末梢血及びリンパ節における CD38 を発現している CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞の減少，貧血，並びに胸腺，リンパ節及び脾臓におけるリンパ萎縮又は細胞枯渇が認められたが，56 日間の休薬により完全に回復又は回復傾向が認められた。HuMab-CD38 はカニクイザルの赤血球（RBC）に強く結合するのに対して，ダラツムマブのヒト RBC への結合性は弱い【CTD 2.6.2.2.3.1 (4) 参照】ことから，カニクイザルで観察された貧血の臨床的意義は低いと考えられる。

2.4.2 薬理試験

詳細な薬理試験結果は，薬理試験の概要文及び薬理試験概要表に示す【CTD 2.6.2 及び 2.6.3.参照】。

2.4.2.1 CD38 の薬理学的特性

CD38 はヒトの造血細胞/組織において高度に発現し，膵臓，脳のプルキンエ細胞，眼，腎臓，前立腺，平滑筋細胞及び骨での発現も報告されている[6)]。CD38 は膜貫通シグナル経路に関与する細胞表面受容体として機能するとともに，接着分子及び酵素反応を調節する二機能性の細胞外酵素としても働く。細胞外酵素としての CD38 により産生されるサイクリックアデノシン二リン酸リボース（cADPR），アデノシン二リン酸リボース（ADPR）及びニコチン酸アデニンジヌクオチドリン酸（NAADP）はセカンドメッセンジャーとして働き，細胞内カルシウムの遊離に関与する[4),6),7)]。

CD38 は，内因性リガンドである CD31 又はアゴニスト抗体との結合により，PBMC からのサイトカイン放出を誘導し，成熟 T 及び B リンパ球の増殖，アポトーシスの誘導，特定のリンパ球の分化及び活性化を引き起こす。CD38 は接着にも関与している[8)]。血管内皮上での白血球ローリングは，CD38 と内皮細胞に発現する CD31 との相互作用により一部調節されている。また，細胞上にあるケモカイン受容体，インテグリン，基質結合タンパク質及びメタロプロテイナーゼを含む巨大な分子複合体の結合因子としての役割も有している。これら複合体は，腫瘍細胞の場合，podosome や invadosome として特定の細胞膜微小環境内に存在する。これらの相互作用を通じて，CD38 は，正常及び悪性白血球による細胞の接着，運動及び細胞外マトリックス修飾の制御に関与している可能性が考えられる。

2.4.2.2 効力を裏付ける試験

2.4.2.2.1 結合特性

Biacore 解析の結果，精製ヒト CD38 タンパク質に対するダラツムマブの結合親和性は高かった［解離定数（K_D）値；4.36×10^{-9} mol/L］。また，ELISA での解析において，ダラツムマブは精製ヒト CD38 タンパク質に濃度依存的に結合し，その 50%作用濃度（EC_{50}）値は 55.2 ng/mL であった。さらに，ダラツムマブは，細胞表面に発現する CD38 に対しても特異的結合を示した【CTD 2.6.2.2.1.1 参照】。

ダラツムマブ及び HuMab-CD38 のヒト及び各動物種の組織及び細胞との交差反応性を免疫組織化学（IHC）染色，ELISA 及びフローサイトメトリー法により解析した。ヒトとチンパンジーの CD38 に対するダラツムマブの作用を比較したところ，結合親和性，血小板以外の PBMC への結合及び酵素活性に対する作用はすべて同様であったことから，チンパンジーは試験に用いる動物種として適切であると考えられた。【CTD 2.6.2.2.3.2 参照】。また，HuMab-CD38 はヒト，カニクイザル及びアカゲザルのリンパ組織及びリンパ細胞に結合した【CTD 2.6.2.2.3.1 参照】。

2.4.2.2.2 作用機序

MM 患者由来細胞及び CD38 発現細胞株において，腫瘍細胞表面に発現する CD38 に結合したダラツムマブの Fc 領域は，CDC 作用，ADCC 作用，ADCP 作用，腫瘍細胞のアポトーシス誘導及び CD38 酵素活性の調節といった様々な生物学的作用を誘導した【CTD 2.6.2.2.1 参照】。

CD38 を発現する Daudi 細胞にルシフェラーゼを導入した細胞（Daudi-luc 細胞）又はヒト CD38 を発現させたチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO-CD38 細胞）を用いた *in vitro* 試験の結果から，ハイブリドーマ由来及び遺伝子組換えダラツムマブは，いずれも強い CDC 作用を誘導した。また，ダラツムマブは，陽性対照として用いたリツキシマブより低い EC_{50} 値で CDC 作用を誘導した。さらに，ダラツムマブは検討した大部分の新鮮分離 MM 細胞に対して CDC 作用を誘導し，検討した全新鮮分離 MM 細胞に対する最大 CDC 作用は 56.92%であった【CTD 2.6.2.2.1.3 参照】。

ダラツムマブはエフェクター細胞による ADCC 作用，マクロファージによる ADCP 作用を誘導することにより腫瘍細胞に対する細胞介在性傷害を誘導することが示された。培養系では，Daudi-luc 細胞に対して強力な ADCC 作用を示し（EC_{50} 値；20.9 ng/mL），MM 患者の骨髄由来新鮮分離 MM 細胞 4 株に対しても ADCC 作用を示した。*In vitro* 及び *in vivo* 試験において，ダラツムマブにより腫瘍細胞に対する貪食作用が示された。また，変異により補体活性化を欠損する又はアイソタイプスイッチにより貪食能を欠損した変異型ダラツムマブを用いることにより，貪食能誘導の特異性が示された【CTD 2.6.2.2.1.4 参照】。

リンパ腫又は MM 細胞上の CD38 に結合したダラツムマブが抗 Fc 抗体又は Fcγ 受容体（FcγR）を介して架橋することにより，腫瘍細胞のアポトーシスを誘導することが示された。*In vitro* 試験の結果，大部分の細胞で効果的にアポトーシスを誘導した【CTD 2.6.2.2.1.7 参照】。*In vivo* 試験では，活性化型及び抑制型 FcγR が，腫瘍細胞上でのダラツムマブの架橋形成を仲介することによりアポトーシスを誘導する可能性が示されたが，*in vivo* では作用が弱く，アポトーシスが誘導された細胞は 15%未満であった。これらの結果から，FcγR を介した架橋形成によるアポトーシスの誘導がダラツムマブの抗腫瘍効果に寄与していることが示唆された。しかしながら，このアポトーシスの機序及び臨床における抗腫瘍効果への意義は明らかではない。

In vitro での検討から，ダラツムマブはシクラーゼ活性を抑制し（35%），ヒドロラーゼ活性を亢進する（65%）ことにより，CD38 酵素活性を調節することが示されたが【CTD 2.6.2.2.1.6 参照】，CD38 酵素活性の阻害が腫瘍細胞の生存に及ぼす影響は明らかではない。

これらすべての生物学的作用がダラツムマブの抗腫瘍効果に寄与している可能性があるが，ダラツムマブの臨床効果においてそれぞれが果たす正確な役割を非臨床試験において明確に示すことは困難である。

2.4.2.2.3 抗腫瘍効果

ダラツムマブのヒトリンパ腫細胞に対する *in vivo* での抗腫瘍効果について，重症複合型免疫不全（SCID）マウスでの異種移植モデルを用いて予防及び治療効果を検討した。予防効果では Daudi-luc 細胞を静脈内移植後にダラツムマブを同日に投与し，治療効果では Daudi-luc 細胞移植 7 若しくは 14 日後にダラツムマブを投与して検討した。ダラツムマブは予防的及び治療的投与のいずれの投与方法においても，SCID マウスにおけるヒトリンパ腫細胞の増殖を効果的に阻害し

た。予防的投与試験における推定 ED_{50} 値は 0.065 μg/kg であった。治療的投与試験において，治療効果は 10 μg/匹（約 0.5 mg/kg に相当）で認められた【CTD 2.6.2.2.2 参照】。

2.4.2.3 副次的薬理試験

ヒト PBMC の増殖及びサイトカイン放出に対するダラツムマブの作用を，ヒト全血，PBMC 及び分離単核球を用いて *in vitro* で検討した。ダラツムマブにより少量のサイトカイン放出が誘導されたが，これは標的に関連した作用ではなく，主にダラツムマブの Fc 領域を介した作用であり，対照の IgG 又は標的の異なる国内外既承認の抗体医薬品による作用と同程度であった【CTD 2.6.2.3.1 参照】。

チンパンジーで血小板減少が観察されたため【CTD 2.6.6.3.2 参照】，ヒト及びチンパンジーの血小板に対するダラツムマブの結合を，ヒト及びチンパンジー（各 3 例）の血液試料を用いて検討した。血小板に対する結合は，フローサイトメトリー法にて評価した。

チンパンジーの血小板にはダラツムマブの結合部位があり，その結合親和性（EC_{50} 値）は約 1 μg/mL 付近であることが明らかとなった。一方，検討したダラツムマブの濃度範囲では結合が飽和しなかったことから，ヒト血小板に対するダラツムマブの EC_{50} 値は算出できなかった【CTD 2.6.2.3.2 参照】。

HuMab-CD38 を投与したカニクイザルで貧血が認められ，クームス試験が陽性であったことから【CTD 2.6.6.3.1 参照】，ダラツムマブの RBC への結合特性も解析した。ヒトの RBC に対してダラツムマブは弱い結合を示した［陰性対照抗体で平均蛍光強度（MFI）が 10 units であったところ，ダラツムマブ 100 μg/mL の 1 例で MFI が 15 units］。これに対し，HuMab-CD38 はカニクイザルの RBC に結合し（> 3 μg/mL の MFI；175 units），ヒトの RBC への特異的結合はみられなかった【CTD 2.6.2.2.3.1 (4)参照】。

ヒト RBC の溶血に対するダラツムマブの作用についても検討した。ヒト RBC と補体供給源であるヒト AB 血清及び各種抗体をインキュベーション後，上清中のヘモグロビン濃度を吸光法（405 nm）で測定することにより溶血の有無を確認した。陰性対照として 56°C で非働化したヒト血清を用いた。水を添加することによる最大溶血を 100%としたとき，陽性対照の血清は 60～70%の溶血を示した。この溶血は非働化した血清存在下で認められないことから，補体を介した作用と考えられる。この試験系において，ダラツムマブ及び HuMab-CD38 による溶血はみられなかった【CTD 2.6.2.3.3 参照】。

2.4.2.4 安全性薬理試験

ダラツムマブ及び HuMab-CD38 の独立した安全性薬理試験は実施しなかったが，ICH S6 (R1) 及び ICH S7A ガイドラインに従い，心血管系，呼吸系及び CNS に及ぼす影響を評価するための安全性薬理試験の評価項目を反復投与毒性試験に組み入れて実施した。ダラツムマブ又は HuMab-CD38 をそれぞれ投与したチンパンジー6 週間及びカニクイザル 2 週間反復静脈内投与毒

性試験における安全性薬理試験のパラメータに，投与に関連した有害な影響は認められなかった【CTD 2.6.2.4 参照】。

2.4.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

既存の MM 治療薬とダラツムマブの併用効果を，2 種の *ex vivo* 培養試験で評価した【CTD 2.6.2.5 参照】。

第 1 試験では，免疫調節薬であるレナリドミドとの併用によるダラツムマブの MM 細胞に対する効果を検討した。レナリドミドの前処理により，新鮮分離 MM 細胞及び骨髄腫細胞株（UM-9）に対するダラツムマブの細胞傷害作用は相乗的効果を示した。

第 2 試験では，MM 患者より採取した新鮮分離骨髄単核球細胞に対する直接的な細胞傷害作用について，多剤併用化学療法とダラツムマブの併用の有用性を評価した。レナリドミド又はボルテゾミブの単独，並びに併用群にダラツムマブをさらに併用したところ，ダラツムマブを併用したいずれの組合せの群でも MM 細胞に対する傷害作用が 2 倍以上に増加し（$p < 0.001$），レナリドミド及びボルテゾミブ治療に抵抗性を示した患者から採取した細胞においても同様の効果がみられた。さらに，レナリドミド，ボルテゾミブ及びデキサメタゾンの三剤併用療法又はメルファラン，プレドニゾロン及びボルテゾミブの三剤併用療法とダラツムマブの併用は，それぞれの三剤併用療法と比べ，MM 細胞に対する傷害作用が有意に増加した。

以上の結果から，MM 細胞に対するダラツムマブの傷害作用は，MM 患者の治療に広く使用されている他の薬剤とダラツムマブの併用が有用であり，併用による薬理効果の減弱はみられないことが示唆される。

2.4.2.6 薬理試験の結論

CD38 は MM 細胞に高度に発現する。ダラツムマブはヒト及びチンパンジーの CD38 に特異的に結合する。ヒト PBMC の増殖及びサイトカイン放出の検討において，ダラツムマブによる標的特異的なアゴニスト作用はみられなかった。

CDC 作用，ADCC 作用，ADCP 作用及び腫瘍細胞アポトーシス誘導などの複数の作用機序により，*in vitro* での MM 細胞株及び患者由来 MM 細胞の傷害並びに *in vivo* マウスモデルでの抗腫瘍効果を示した。

ダラツムマブのヒトの血小板及び RBC への結合性は低く，RBC 溶血を誘導しなかった。これは毒性試験で認められたチンパンジーにおける血小板減少及びカニクイザルにおける貧血とは対照的であった。

MM 細胞は CD38 の発現が高いこと，ダラツムマブが複数の作用機序を介して MM 細胞を傷害すること及びアゴニスト活性がないこと，これらのすべてが，再発又は難治性の MM 患者におけるダラツムマブの臨床的有用性に寄与すると考えられる。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

2.4.3.1.1 血清中ダラツムマブ濃度

チンパンジーの血清中ダラツムマブ濃度は，バリデーションされた ELISA を用いて測定した。定量下限はダラツムマブを含む血清を 100 倍希釈したとき 21.538 ng/mL，及び 40 倍希釈したとき 22.973 ng/mL であった【CTD 2.6.4.2.1 参照】。

2.4.3.1.2 抗ダラツムマブ抗体（ADA）

チンパンジーの血清中 ADA の産生を評価するために，バリデーションされた ELISA を用いた。なお，血清中ダラツムマブ濃度が 10 μg/mL 以上のとき，ダラツムマブの $F(ab')_2$ フラグメントと ADA との結合が 30%以上干渉を受ける可能性がある。【CTD 2.6.4.2.2 参照】。

2.4.3.2 吸収

雌雄チンパンジー（1 例/性/群）にダラツムマブを 5 又は 25 mg/kg の用量で週 1 回 6 週間反復持続静脈内投与したときの個体ごとの薬物動態パラメータを表 2.4.3-1 に示すが，詳細は薬物動態試験概要表に示す【CTD 2.6.5.4 参照】。

各投与群に関して，5 mg/kg 投与群（30 分間静脈内投与）では雄は 6 回投与したが，雌（個体番号 95A015）は 2 回目投与後に本薬剤投与と関連性のない損傷により投与を中止したため，別の雌（個体番号 92A016）を試験に供した。しかし，この雌は 1 回目投与の 1.5 時間後，サイトカイン放出反応により死亡したため，その薬物動態は評価しなかった。また，25 mg/kg 投与群では，雌雄ともに 6 回投与したが，サイトカインの過剰放出を防ぐために 1 回目投与の 24 時間前にダラツムマブを 10 mg の用量で静脈内投与した後，1 回目は 1 時間の持続静脈内投与，2 回目以降は 30 分間の持続静脈内投与を行った。

曝露量は 5～25 mg/kg の範囲では用量の増加とともに増加した。また，$t_{1/2}$ は用量の増加とともに延長し，CL は減少する傾向が認められたことから，血清中ダラツムマブ濃度が高いとき，ダラツムマブの消失が飽和していることが考えられた。

ADA は試験期間中検出されなかった。

表 2.4.3-1 雌雄チンパンジーにダラツムマブを週 1 回 6 週間反復静脈内投与したときの血清中薬物動態パラメータ

用量 (mg/kg/週)	投与回数	動物 No. 性別	C_{max} (μg/mL)	AUC_{∞} (μg·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	V_z (mL/kg)	CL (mL/h/kg)
5	1	95A015 F	86	2,966	36	86.7	1.69
	1	96A009 M	100	2,246	38	122.7	2.23
	3	96A009 M	129	15,836	88	43.8	0.34
	6	96A009 M	129	23,171	132	63.8	0.33
25	1	96A015 M	612	40,463	103	91.4	0.62
	1	96A017 F	778	74,458	135	65.6	0.34
	3	96A015 M	630	96,676	231	240.0	0.72
	3	96A017 F	599	215,145	335	164.7	0.34
	6	96A015 M	695	319,583	596	2,205.3	2.56
	6	96A017 F	967	364,102	461	384.4	0.58

AUC_{∞} = 0 時間から無限大時間までの血清中濃度－時間曲線下面積；CL = 全身クリアランス；C_{max} = 最高血清中濃度；F = 雌；M = 雄； $t_{1/2}$ =消失半減期；V_z = 最終相における分布容積

2.4.3.3 薬物動態試験の結論

雌雄チンパンジーにダラツムマブを週 1 回 6 週間反復静脈内投与したとき，ダラツムマブの曝露量は 5～25 mg/kg の範囲で用量の増加とともに増加した。また，$t_{1/2}$は用量の増加とともに延長し，CL は減少する傾向が認められたことから，血清中ダラツムマブ濃度が高いとき，ダラツムマブの消失が飽和していることが考えられた。

ADA は試験期間中検出されなかった。

2.4.4 毒性試験

ダラツムマブの毒性試験として，チンパンジーを用いた 6 週間反復投与毒性試験（GLP 試験）及び組織交差反応性試験（GLP 試験）を実施した。さらに，カニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験（非 GLP 試験）及びカニクイザルの組織を用いた組織交差反応性試験（GLP 試験）では，ダラツムマブの代用抗体としてヒト及びカニクイザルの CD38 に結合する抗カニクイザル CD38 mAb（HuMab-CD38）を用いた。上記の反復投与試験には急性毒性，局所刺激性及び安全性薬理の評価項目を組み入れた。毒性試験の結果を以下に要約する。詳細は CTD 2.6.6 及び CTD 2.6.7 に示す。

ダラツムマブが成人の進行性がんへの適用を目的とする抗体医薬品であり，薬理学的に適切な唯一の動物種であるチンパンジーで毒性試験を実施する必要があるという制約上，遺伝毒性試験，慢性毒性試験，がん原性試験及び生殖発生毒性試験は実施しなかった【CTD 2.6.6.1 参照】。

表 2.4.4-1 ダラツムマブ又は HuMab-CD38 の毒性試験一覧表

試験の種類	動物種／試験系	投与方法 （投与頻度）	被験物質	GLP 適用
反復投与毒性試験				
2 週間投与試験	カニクイザル	静脈内（週 1 回）	HuMab-CD38	非 GLP
6 週間投与試験	チンパンジー	静脈内（週 1 回）	ダラツムマブ	GLP
その他の毒性試験				
組織交差反応性試験	カニクイザル組織	*In vitro*	HuMab-CD38	GLP
組織交差反応性試験	チンパンジー組織	*In vitro*	ダラツムマブ	GLP
組織交差反応性試験	ヒト組織	*In vitro*	ダラツムマブ	GLP

2.4.4.1 反復投与毒性試験

2.4.4.1.1 カニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験

カニクイザルを用いた予備試験では，ダラツムマブの代用抗体として，ヒト及びカニクイザルの CD38 に結合する mAb である HuMab-CD38 を用いて毒性を評価した。カニクイザルに HuMab-CD38 を 0（対照），20 及び 100 mg/kg の用量で週 1 回，1 回につき 30 分間かけて 2 週間持続静脈内投与した。本試験では一般状態観察，理学的検査（腹部触診，胸部聴診及び生検部位の視診），眼科学的検査，体重測定，体温測定，心電図（ECG）検査，心拍数測定，血液学的検査，血液生化学的検査，血液凝固系検査，尿検査，TK，ADA 測定，T 細胞依存性抗体反応試験，クームス試験，フローサイトメトリー及び IHC 検査を実施した。また，2 回目投与の 3 日後に安楽死させた主試験群の動物（1 例/性/群）及び 2 回目投与の 56 日後に安楽死させた回復試験群の動物（1 例/性/群）について剖検，骨髄塗抹検査，器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

TK の結果から，動物が投与期間及び回復期間を通じて HuMab-CD38 に曝露されていたことが確認された。HuMab-CD38 投与群の全例が Day 8 の時点でクームス試験陽性であった。HuMab-CD38 投与により，血清中抗スカシ貝ヘモシアニン（KLH）特異的 IgG 及び免疫グロブリン M（IgM）抗体価は減少した。20 mg/kg 回復群の 2 例から抗 HuMab-CD38 抗体が検出された。ADA

反応が 20 mg/kg 投与群に認められ，100 mg/kg 投与群にはみられなかった理由として，血液中に存在する高濃度の HuMab-CD38 が抗体検出に干渉した可能性が考えられる【CTD 2.6.6.3.1 参照】。

主な毒性は，貧血並びに CD38 を発現している CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞の減少／枯渇であった。HuMab-CD38 のカニクイザル RBC への結合性は強いが，ダラツムマブのヒト RBC への結合性は弱い【CTD 2.6.2.2.3.1 (4)参照】ことから，カニクイザルで観察された貧血の臨床的意義は低いと考えられる。HuMab-CD38 の RBC への影響は可逆的であった。カニクイザルに対する HuMab-CD38 の薬理作用がヒトに対するダラツムマブの薬理作用と異なることと，HuMab-CD38 を投与したカニクイザルで貧血が観察されたことから，HuMab-CD38 を用いた追加試験は実施しなかった。

2.4.4.1.2 チンパンジーを用いた 6 週間反復投与毒性試験

ダラツムマブの反復投与毒性は，チンパンジーにダラツムマブを 0（溶媒），5 及び 25 mg/kg の用量で週 1 回，1 回につき 30 分間又は 1 時間かけて 6 週間持続静脈内投与した後，91 又は 105 日間の回復期間を設定して評価した。本試験では一般状態観察，眼科学的検査，体重測定，摂餌量測定，ECG，血圧，脈拍数及び呼吸数の測定，体温測定，血液学的検査，血液生化学的検査，血液凝固系検査，直接抗グロブリン試験，尿検査，TK 及び ADA 評価，並びにフローサイトメトリー及び IHC 検査を実施した。TK の結果から，動物が投与期間及び回復期間を通じてダラツムマブに曝露されていたことが確認された。ADA は検出されなかった【CTD 2.6.6.3.2 参照】。

主な毒性所見はサイトカイン放出反応及び血小板減少症であった。サイトカイン放出反応はダラツムマブの初回持続投与時に認められたが，2 回目以降の投与時には発現しなかった。低用量（5 mg/kg）群のチンパンジー1 例が初回持続投与後に死亡した。高用量（25 mg/kg）群でサイトカインの過剰放出を予防するため，25 mg/kg 投与群にはダラツムマブの初回持続投与の 24 時間前にダラツムマブ 10 mg のボーラス静脈内投与を行うとともに，初回投与時のみ持続投与時間を 1 時間に延長した。サイトカイン放出反応は 25 mg/kg 投与群でも前投与後及び初回投与後に認められたが，低用量群でみられたサイトカイン放出反応より軽度であった。サイトカイン放出反応は臨床では IRR に相当すると考えられる。本剤の臨床試験では被験者に副腎皮質ステロイド，解熱鎮痛剤及び抗ヒスタミン剤の前投薬を行うとともに，本剤の投与調節を行うことにより，ほとんどの IRR は臨床的に管理可能であった【CTD 2.7.4.2.1.5 (1)参照】。チンパンジーの血小板減少は，循環血液中からダラツムマブが消失するに伴い回復した。ダラツムマブの薬理作用から予想されたとおり，ヘルパーT 細胞，NK 細胞及び B 細胞の減少／枯渇が観察された。チンパンジーは絶滅危惧種であり，屠殺して検査を行うことは許されないことから，計画外の死亡が発生しない限り，剖検，器官重量，又は病理組織学的検査のデータは得られない。

2.4.4.2 その他の毒性試験

その他の毒性試験として *in vitro* 組織交差反応性試験を実施し，本薬の組織に対する結合特異性を評価した。組織交差反応性試験には，カニクイザル，チンパンジー及びヒトの組織パネルを使用した。

2.4.4.2.1 組織交差反応性試験

組織交差反応性試験では，フルオレセインイソチオシアナート（FITC）標識 HuMab-CD38 のカニクイザル正常組織への結合性並びに FITC 標識ダラツムマブのチンパンジー及びヒト正常組織への結合性を評価した。ダラツムマブとの特異的結合が認められた組織は，ほとんどがリンパ系組織であった。

なお，いずれの種でも結合が複数組織の細胞質で認められたが，細胞質における mAb 結合は非特異的な結合であることに加え，mAb は細胞内へ移行しないことから，細胞質に認められた mAb 結合に毒性学的及び臨床的意義はない【CTD 2.6.6.8.7 参照】。よって，本試験結果からは安全性に関する懸念は示されなかった。

2.4.4.3 毒性試験の結論

主要試験であるチンパンジーを用いた 6 週間反復投与試験は GLP に準拠して実施した。本試験には急性毒性，局所刺激性及び安全性薬理試験の評価項目を組み入れた。投与期間中，動物全例に薬物曝露が確認された。ADA は検出されなかった。

チンパンジーに対する本薬の無毒性量（NOAEL）は 5 mg/kg 未満であった。サイトカイン放出反応がダラツムマブを投与した全例で認められたことから，臨床的に重要な所見であると考えられる。また，可逆性の血小板減少症がチンパンジーで観察された。

可逆性の貧血が HuMab-CD38 の 2 週間反復投与試験でカニクイザルに観察された。サイトカイン放出症候群は認められなかった。HuMab-CD38 のカニクイザル RBC への結合性は強いが，ダラツムマブのヒト RBC への結合性は弱い。ダラツムマブのヒト RBC への結合性と HuMab-CD38 のカニクイザル RBC への結合性が異なること【CTD 2.6.2.2.3.1 (4)参照】と，*in vitro* でダラツムマブによるヒト RBC の溶血が認められなかったこと【CTD 2.6.2.3.3 参照】を考え合わせると，カニクイザルで観察された貧血の臨床的意義は低いと考えられる。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 非臨床試験のまとめ

ヒト CD38 タンパク質に対するダラツムマブの結合親和性は高かった（K_D 値；4.36×10^{-9} mol/L）。ダラツムマブは CDC 作用，ADCC 作用，ADCP 作用及び腫瘍細胞のアポトーシス誘導といった複数の作用機序を示し，*in vitro* で患者由来 MM 細胞を傷害するとともに，*in vivo* マウスモデルにおいて抗腫瘍効果を示した。これらすべての生物学的作用がダラツムマブの抗腫瘍効果に寄与している可能性があるが，ダラツムマブの臨床効果においてそれぞれが果たす正確な役割を非臨床試験において明確に示すことは困難である。

ヒト全血，PBMC 及び分離単核球におけるダラツムマブのアゴニスト活性及びサイトカイン放出を評価したところ，ダラツムマブは細胞増殖に影響を及ぼさなかった。また，ダラツムマブにより少量のサイトカイン放出が誘導されたが，これは標的に関連した作用ではなく，主にダラツムマブの Fc 領域を介した作用であり，対照の IgG 又は標的の異なる国内外既承認の抗体医薬品による作用と同程度であった。

ダラツムマブの毒性試験を実施する場合，チンパンジーが薬理学的に適切な唯一の動物種であるために制約がある。したがって，ダラツムマブの毒性試験としてチンパンジーを用いた 6 週間反復投与毒性試験のみを実施した。チンパンジーで認められた毒性はサイトカイン放出反応及び血小板減少症であった。

ヒト及びチンパンジーの正常組織を用いて実施したダラツムマブの組織交差反応性試験において，ダラツムマブの特異的結合がみられた組織は，ほとんどがリンパ系組織であった。そのほかダラツムマブとの結合が複数組織の細胞質でも認められたが，mAb は細胞内へ移行せず細胞質に到達することはないことから，細胞質に認められた mAb 結合に毒性学的及び臨床的意義はないものと考えられる。本試験の結果からは，安全性に関する懸念は示されなかった。

カニクイザルを用いた 2 週間投与試験及び組織交差反応性試験において，カニクイザル CD38 に結合する mAb である HuMab-CD38 を評価した。*In vitro* における HuMab-CD38 の CDC 作用はダラツムマブより弱く，ヒト CD38 のシクラーゼ活性に対する阻害作用もダラツムマブより弱かった【CTD 2.6.2.2.1.6 参照】。HuMab-CD38 のカニクイザル組織への結合性は，ダラツムマブのヒト及びチンパンジー組織への結合性と同様であった。貧血が 2 週間投与試験で認められた主な毒性所見であった。低用量群の 2 例から抗 HuMab-CD38 抗体が検出されたのに対して，高用量群では ADA 反応がみられなかった理由として，血液中に存在する高濃度の HuMab-CD38 が抗体検出に干渉した可能性が考えられる。HuMab-CD38 とダラツムマブに作用の相違があること，並びに HuMab-CD38 の 2 回投与により貧血及び ADA が観察されたことを考え合わせて，HuMab-CD38 を用いた追加試験は実施しなかった。

2.4.5.2 本剤に特異的な毒性所見に関する考察

2.4.5.2.1 サイトカイン放出反応

チンパンジーを用いたダラツムマブの 6 週間反復投与試験において，サイトカイン放出反応が初回持続投与時に全例で認められたが，2 回目以降の持続投与時には発現しなかった。チンパン

ジー1 例が，ダラツムマブ 5 mg/kg を 30 分間かけて持続静脈内投与した約 1.5 時間後にサイトカイン放出反応のため死亡した。高用量群でサイトカインの過剰放出を予防するため，ダラツムマブ 25 mg/kg を初回持続投与する 24 時間前に 10 mg をボーラス静脈内投与するとともに，持続投与時間を 1 時間に延長した。サイトカイン放出反応は 10 mg の前投与時及び 25 mg/kg の初回持続投与時に認められたが，5 mg/kg 群で認められたサイトカイン放出反応よりも軽度であった。なお，ダラツムマブにより少量のサイトカイン放出が誘導されたが，これは標的に関連した作用ではなく，主にダラツムマブの Fc 領域を介した作用であり，対照の IgG 又は標的の異なる国内外既承認の抗体医薬品による作用と同程度であった【CTD 2.6.2.3.1 参照】。

サイトカイン放出反応は臨床では IRR に相当すると考えられ，本剤単剤療法の臨床試験において，16 mg/kg の投与を受けた被験者の約半数で IRR が認められた。ほとんどの IRR は Grade 1 又は 2 であり，Grade 3 の IRR は 4%の被験者で認められ，Grade 4 の IRR は認められなかった。臨床試験では，被験者に対して副腎皮質ステロイド，解熱鎮痛剤及び抗ヒスタミン剤の前投薬を行うとともに，本剤の投与調節を行うことにより，ほとんどの IRR は臨床的に管理可能であった【CTD 2.7.4.2.1.5 (1)参照】。IRR は本剤投与における重要な特定されたリスクと考えられる。

2.4.5.2.2 血小板減少症

チンパンジーを用いたダラツムマブの 6 週間反復投与試験において，用量に関連した可逆性の血小板減少症が認められた。*In vitro* 結合試験により，チンパンジーの血小板にはダラツムマブの結合部位があり，その結合親和性（EC_{50} 値）は約 1 μg/mL 付近であることが明らかとなった。一方，検討したダラツムマブの濃度範囲では結合が飽和しなかったことから，ヒトの血小板に対するダラツムマブの EC_{50} 値は算出できなかった【CTD 2.6.2.3.2 参照】。

本剤単剤療法の臨床試験において，血小板減少症は本剤 16 mg/kg の投与を受けた被験者の 20%で認められた【CTD 2.7.4.2.1.5 (1)参照】。本剤の曝露量と血小板減少症の発現割合に明らかな関係はみられなかった【CTD 2.7.2.3.2.2 参照】。

2.4.5.2.3 貧血

カニクイザルを用いた HuMab-CD38 の 2 週間反復投与試験において，クームス試験陽性及び用量に関連した可逆性の貧血が認められた【CTD 2.6.6.3.1 参照】。HuMab-CD38 のカニクイザル RBC への結合性及びダラツムマブのヒト RBC への結合性を *in vitro* で検討した結果，HuMab-CD38 のカニクイザル RBC への結合性は強いが，ダラツムマブのヒト RBC への結合性は弱いことから【CTD 2.6.2.2.3.1 (4)参照】，カニクイザルで観察された貧血の臨床的意義は低いと考えられる。

臨床では，輸血検査の専門機関等で実施される交差適合試験において，ダラツムマブは患者の赤血球に結合し赤血球の凝集を引き起こすため，間接クームス試験が陽性になる。このことは本剤の投与を受けた患者において，不規則抗体の評価が困難になる可能性を示している【CTD 2.7.4.1.1.2 (5)参照】。ダラツムマブの干渉について，関連する医療従事者及び輸血検査の専門機関に周知しておく必要がある。現在，この干渉を軽減する方法が開発されている[9)]。

本剤単剤療法の臨床試験において，貧血は本剤 16 mg/kg の投与を受けた被験者の 25%で認められた。本剤の曝露量と貧血の発現割合に明らかな関係はみられなかった【CTD 2.7.2.3.2.2 参照】。本剤単剤療法の臨床試験で 16 mg/kg の投与を受けた被験者において，有害事象として溶血が報告された被験者はいなかった【CTD 2.7.4.2.1.5 (1)参照】。

2.4.5.3 ダラツムマブの作用機序から推測される臨床的リスク

毒性試験で認められた毒性に加え，ダラツムマブの作用機序から推測される影響について検討した。CD38 は，ヒトの造血細胞/組織において高度に発現し，膵臓，脳のプルキンエ細胞，眼，腎臓，前立腺，平滑筋細胞及び骨での発現も報告されている[6)]。正常な CD38 機能の阻害は，悪性細胞の治療には有益であるが，一方では免疫機能及び正常組織におけるカルシウム放出に伴う生理学的機能に影響を与える可能性がある。

CD38 遺伝子の完全な欠損又はノックアウト（KO）により，CD38 の機能は完全に消失する。CD38 のホモ接合型ノックアウトマウスの外観，行動及び生殖能は正常である[6)，10)]。ダラツムマブによる CD38 の阻害は完全ではなく部分的であるのに対し，KO マウスでは CD38 の機能が完全に消失して代償性メカニズムを生じる可能性があるため，KO マウスの表現型が軽度となって現れる可能性もある。そのため，KO マウスの特性から，ヒトにおける CD38 阻害の影響を推測する場合は注意が必要である。

CD38 KO マウスの表現型はそのマウスの系統によっても異なる。CD38 の KO マウスで観察された影響を表 2.4.5.2-1 に示す。

表 2.4.5.2-1 CD38 KO マウスの表現型

組織	影響	文献
免疫系	・ B 細胞，T 細胞，マクロファージ，顆粒球及び好中球の分布並びに割合は正常	Cockayne, 1998[10]
	・ T 細胞依存性免疫応答：IgG2，IgG3 及び IgA の応答は正常 IgM，IgG1 及び IgE の応答は低下 ・ 二次応答：IgG1 の応答なし	Cockayne, 1998[10]
	・ T 細胞非依存性抗原（type 2）に対する免疫応答は同等又は増強	Cockayne, 1998[10]
	・ リステリア感染に対する応答： 自然免疫応答（単球及び好中球動員）の低下 CD8 陽性 T 細胞のプライミング又は免疫記憶に影響なし	Lischke, 2013[11]
	・ コラーゲン誘発関節炎：炎症反応及びサイトカイン産生の減少 iNKT 細胞の減少	Postigo, 2012[12]
膵臓	・ 膵 β 細胞：β 細胞容積の減少及び膵島構造破壊を伴う 膵島アポトーシスの増加 ・ インスリン応答性低下を誘導する静止時カルシウム濃度高値； 血糖恒常性は正常（C57BL/6 マウス） インスリン分泌の減少及び血糖高値（ICR マウス）	Johnson, 2006[13]
	・ 膵腺房細胞：膵炎減少につながる胆汁酸応答の低下	Orabi, 2013[14]
腎臓	・ 腎臓のレニン濃度は正常 ・ 高及び低塩分食に対する反応におけるレニン遊離は正常 ・ 血漿中レニン活性の増加 ・ 腎灌流圧低値又は腎虚血に対する反応におけるレニン遊離の増加	Xiong, 2013[15]
下垂体	・ オキシトシン放出の減少 ・ 親子間相互作用の減少 ・ 社会的健忘症状	Higashida, 2012[16] Lopatina, 2013[17]
心臓平滑筋	冠動脈心筋細胞の収縮の低下	Xu, 2012[18]
肺平滑筋	・ 気道抵抗の低下	Jude, 2012[19]
骨	・ 骨密度の減少（3 カ月齢まで発症，5 カ月齢までに完全回復） ・ 破骨細胞数の増加	Sun, 2003[20]

IgA = 免疫グロブリン A；IgE = 免疫グロブリン E；IgG1 = 免疫グロブリン G1；IgG2 = 免疫グロブリン G2；IgG3 = 免疫グロブリン G3；IgM = 免疫グロブリン M；iNKT = インバリアントナチュラルキラーT

2.4.5.3.1　免疫機能

臨床では，基礎疾患により低γグロブリン血症及び免疫抑制が引き起こされるため，MM 患者は感染症のリスクが高くなる【CTD 2.7.4.1.1.2 (5)参照】。本剤の臨床試験において，本剤 16 mg/kg の初回投与後速やかに末梢血中の総 NK 細胞数は減少し，本剤投与期間中総 NK 細胞数の低値が持続した【CTD 2.7.2.2.3.1 参照】。また，本剤単剤療法の臨床試験において，好中球減少症は被験者の 22%で認められ，感染症及び寄生虫症に分類される SOC の発現割合は 55%であった【CTD 2.7.4.2.1.5 (1)参照】。感染症及び寄生虫症のうち発現割合が高かった有害事象は上気道感染（17%）及び鼻咽頭炎（12%）であった。Grade 3 又は 4 の肺炎（5%）も報告された。初回発現までの期

間別の感染症及び寄生虫症の発現割合は，≤6 カ月が 51%，>6 カ月が 39%であった【CTD 2.7.4.2.1.5 (1)参照】。MM 患者では，疾患特性上免疫機能が低下していること，また複数の化学療法及び免疫抑制剤による治療歴からも易感染性の状態であり，臨床試験でのデータからは，本剤の与える影響は明確ではない。

CD38 の阻害は T 細胞依存性抗体産生を減弱させる可能性がある。CD38 KO マウスにおいてはワクチン接種に対する T 細胞依存性抗体産生が減弱し[10)]，HuMab-CD38 を投与したカニクイザルでは血清中抗 KLH 特異的 IgG 及び IgM 抗体価が対照群と比較して減少した【CTD 2.6.6.3.1 参照】。一方で，本剤の投与を受けた再発又は難治性の MM 患者から得られた臨床データによって，末梢血及び骨髄中における T 細胞の増殖が示されたことから，ヒトにおける T 細胞依存性応答の阻害の臨床的意義は限定的である可能性がある【CTD 5.3.5.4.3 参照】。

2.4.5.3.2 膵臓

CD38 遺伝子の変異がヒトにおいて報告されている。単一アミノ酸置換変異が日本人の 2 型糖尿病患者で同定され，CD38 に対する自己抗体が 2 型糖尿病の約 10%，及び 1 型糖尿病の 13%の患者で認められた[7)]。非糖尿病の対照被験者からは自己抗体は検出されなかった。自己抗体は CD38 のアゴニストとして作用し，カルシウム動員及びインスリン分泌をもたらす。自己抗体はグレーブス病にも認められる[21)]。ダラツムマブは，CD38 のパーシャルアンタゴニストとして作用し，これらの疾患の症状を引き起こすことはないと予想される。毒性試験では血中グルコースの変化は観察されなかった。

2.4.5.3.3 下垂体

CD38 の酵素活性は下垂体からのオキシトシン放出に関与している。オキシトシン減少は社会的行動の変化及び自閉症スペクトラム障害と関連性があることが知られている[17),22)]。ダラツムマブは，CD38 のシクラーゼ活性を阻害（40%）し，CD38 のヒドロラーゼ活性を亢進（65%）するが【CTD 2.6.2.2.1.6 参照】，高分子である mAb が脳に到達する可能性は非常に限られていると考えられる。

2.4.5.3.4 心血管系

CD38 を阻害すると，冠動脈の収縮性が減弱する可能性がある。ダラツムマブの非臨床試験では，心血管機能又は血圧の変化は認められなかった。また，組織交差反応性試験では，ダラツムマブの特異的結合は筋肉（横紋筋）又は心臓には認められなかった【CTD 2.6.6.8.7.3 参照】。臨床及び薬物動態/薬力学データから，本剤の投与により臨床的に意味のある QT 延長を生じる可能性は低いと考えられる【CTD 2.7.2.2.3.2 参照】。ダラツムマブは，他の mAb と同様，hERG チャネルに到達できず，膜貫通型 CD38 タンパク質の細胞外エピトープに特異的に結合することから，QT 間隔に直接，影響を及ぼすとは考えられない。したがって，心室再分極に影響を及ぼす可能性は低い。

2.4.5.3.5　呼吸系

CD38 の酵素活性が低下すると，カルシウム放出及び気管支平滑筋の収縮に影響が認められる可能性がある。CD38 を阻害すると，気道抵抗を低下させる可能性がある[19)]。ダラツムマブは，非臨床試験において呼吸機能に影響は認められなかった【CTD 2.6.2.4 参照】。また，組織交差反応性試験では，ダラツムマブの特異的結合が筋肉（平滑筋）又は肺には認められなかった【CTD 2.6.6.8.7.3 参照】。

本剤単剤療法の臨床試験において，本剤 16 mg/kg を投与された被験者の 1.3%で Grade 3 の気管支痙攣が認められ，当該事象は IRR と判断された【CTD 2.7.4.2.1.5 (1) 1)b)参照】。患者には副腎皮質ステロイド，解熱鎮痛剤及び抗ヒスタミン剤の前投薬を行い，患者の状態を十分に観察するなど添付文書の記載に従った管理を行う必要がある。

2.4.5.3.6　骨

CD38 KO マウスで，3 カ月齢までに骨密度減少及び破骨細胞数増加が認められた[20)]。CD38 KO マウスでみられた骨密度の減少は一過性であり，5 カ月齢までに完全に回復したことから，ダラツムマブは成人患者の骨密度に影響を及ぼさないと考えられる。

2.4.5.4　要約

CDC 作用，ADCC 作用，ADCP 作用及び腫瘍細胞のアポトーシス誘導などのダラツムマブの複数の作用機序により，*in vitro* での MM 細胞株及び患者由来 MM 細胞の傷害並びに *in vivo* マウスモデルでの抗腫瘍効果を示した。

ダラツムマブの毒性試験では，チンパンジーが薬理学的に適切な唯一の動物種であることから，ダラツムマブの *in vivo* 毒性試験としてチンパンジーを用いた 6 週間反復投与毒性試験のみを実施した。主要な毒性は，サイトカイン放出反応及び血小板減少症であった。サイトカイン放出反応は臨床では IRR に相当すると考えられ，本剤の臨床試験でも観察されていることから，ダラツムマブ投与に伴うリスクと考えられる。患者には副腎皮質ステロイド，解熱鎮痛剤及び抗ヒスタミン剤の前投薬を行い，患者の状態を十分に観察するなど添付文書の記載に従った管理を行う必要がある。チンパンジーの血小板にはダラツムマブの結合部位があり，その EC_{50} 値は約 1 μg/mL 付近であった。一方，検討したダラツムマブの濃度範囲では結合が飽和しなかったことから，ヒトの血小板に対するダラツムマブの EC_{50} 値は算出できなかった。

カニクイザルを用いた 2 週間投与試験では，ダラツムマブの代用抗体として HuMab-CD38 の毒性を評価した。カニクイザルにおける主要な毒性は貧血であり，クームス試験は陽性であった。HuMab-CD38 のカニクイザル RBC への結合性は強いが，ダラツムマブのヒト RBC への結合性は弱いことから，カニクイザルで観察された貧血の臨床的意義は低いと考えられる。クームス試験陽性は臨床試験の被験者でも観察されており，ダラツムマブの干渉を軽減する方法が開発されたことから，関連する医療従事者及び輸血検査の専門機関に通知する予定である。

MM 細胞は CD38 の発現が高いこと，ダラツムマブが複数の作用機序を介して MM 細胞を傷害すること，アゴニスト活性がないこと，並びにダラツムマブの非臨床有効性及び安全性，これらのすべてが，再発又は難治性 MM 患者におけるダラツムマブの有用性を裏付けると考えられる。

2.4.6 参考文献

1） Quarona V, et al. CD38 and CD157: a long journey from activation markers to multifunctional molecules. Cytometry B Clin Cytom. 2013;84:207-17.

2） Lee HC, et al. Structures and activities of cyclic ADP-ribose, NAADP and their metabolic enzymes. Mol Cell Biochem. 1999;193:89-98.

3） Berthelier V, et al. Human CD38 is an authentic NAD(P)+ glycohydrolase. Biochem J. 1998;330:1383-90.

4） Konopleva M, et al. CD38 in hematopoietic malignancies. Chem Immunol. 2000;75:189-206.

5） Lin P, et al. Flow cytometric immunophenotypic analysis of 306 cases of multiple myeloma. Am J Clin Pathol. 2004;121:482-8.

6） Malvasi F, et al. Evolution and function of the ADP ribosyl cyclase/CD38 gene family in physiology and pathology. Physiol Rev. 2008;88:841-86.

7） Antonelli A, et al. CD38 autoimmunity: recent advances and relevance to human diabetes. J Endocrinolo Invest. 2004;27:695-707.

8） Deaglio S, et al. CD38/CD31 interactions activate genetic pathways leading to proliferation and migration in chronic lymphocytic leukemia cells. Mol Med. 2010;16:87-91.

9） Chapuy CI, et al. Resolving the daratumumab interference with blood compatibility testing. Transfusion. 2015;55:1545-54.

10） Cockayne DA, et al. Mice deficient for the ecto-nicotinamide adenine dinucleotide glycohydrolase CD38 exhibit altered humoral immune responses. Blood. 1998;92:1324-33.

11） Lischke T, et al. CD38 controls the innate immune response against Listeria monocytogenes. Infect Immun. 2013;81:4091-9.

12） Postigo J, et al. Mice deficient in CD38 develop an attenuated form of collagen Type II-induced arthritis. PLos One. 2012;7: e33534.

13） Johnson JD, et al. Suppressed insulin signaling and increased apoptosis in CD38-null islets. Diabetes. 2006;55:2737-46.

14） Orabi AI, et al. Cluster of differentiation 38 (CD38) mediates bile acid-induced acinar cell injury and pancreatitis through cyclic ADP-ribose and intracellular calcium release. J Biol Chem. 2013;288:27128-37.

15） Xiong J, et al. Regulation of renin release via cyclic ADP-ribose-mediated signaling: evidence from mice lacking CD38 gene. Cell Physiol Biochem. 2013;31:44-55.

16） Higashida H, et al. CD38 and its role in oxytocin secretion and social behavior. Horm Behav. 2012;61:351-8.

17） Lopatina O, et al. The roles of oxytocin and CD38 in social or parental behaviors. Front Neurosci. 2013;6:1-12.

18） Xu M, et al, NAD(P)H oxidase-dependent intracellular and extracellular O_2·-production in coronary arterial myocytes from CD38 knockout mice. Free Radic Biol Med. 2012;52:357-65.

19） Jude JA, et al. Altered CD38/Cyclic ADP-Ribose signaling contributes to the asthmatic phenotype. J Allergy. 2012:1-8.

20） Sun L, et al. Disordered osteoclast formation and function in a CD38 (ADP-ribosyl cyclase)-deficient mouse establishes an essential role for CD38 in bone resorption. FASEB J. 2003;17:369-75.

21） Antonelli A, et al. Anti-CD38 autoimmunity in patients with chronic autoimmune thyroiditis or Graves' disease. Clin Exp Immunol. 2001;126:426-31.

22） Riebold M, et al. All-trans retinoic acid upregulates reduced CD38 transcription in lymphoblastoid cell lines from autism spectrum disorder. Mol Med. 2011;17:799-806.