テセントリク点滴静注1200 mg
（アテゾリズマブ（遺伝子組換え））
［非小細胞肺癌］

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
ATA	anti-therapeutic antibody	抗薬物抗体
AUC	area under the concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
AUC_{ss}	AUC at steady state	定常状態における AUC
$AUC_{t1\text{-}t2}$	AUC from time day t1 to day t2	t1日から t2日までの AUC
C_{max}	maximum serum concentration	最高血清中濃度
CR	complete response	完全奏効
D266A	amino acid substitution (aspartic acid to alanine) at position 266	266位のアミノ酸残基をアスパラギン酸からアラニンに置換
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	固相酵素免疫測定
FcγR	Fcγ receptor	Fcγ 受容体
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
Gp33	glycoprotein 33-41 peptide	（LCMV のエピトープペプチド）
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
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for human use	医薬品規制調和国際会議
IFN-γ	interferon-γ	インターフェロン γ
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IL	interleukin	インターロイキン
K_d	dissociation constant	解離定数
LCMV	lymphocytic choriomeningitis virus	リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス
LLC	Lewis Lung Carcinoma	ルイス肺癌
MHC	major histocompatibility complex	主要組織適合遺伝子複合体
N298A	amino acid substitution (asparagine to alanine) at position 298	298位のアミノ酸残基をアスパラギンからアラニンに置換
NOD	non-obese diabetic	非肥満糖尿病性
OVA	ovalbumin	卵白アルブミン
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PD	pharmacodynamics	薬力学
PD-1	programmed death-1	（PD-L1, PD-L2の受容体）
PD-L1	programmed death-ligand 1	（PD-1, B7-1のリガンド）
PD-L2	programmed death-ligand 2	（PD-1のリガンド）
PK	pharmacokinetics	薬物動態
PR	partial response	部分奏効
TGI	tumor growth inhibition	腫瘍増殖阻害
TNF-α	tumor necrosis factor-α	腫瘍壊死因子 α
TTP5X	time (in days) for animal to have tumor progress to 5-fold above starting volume	（試験開始時の腫瘍体積の5倍に到達するまでの日数）

目次

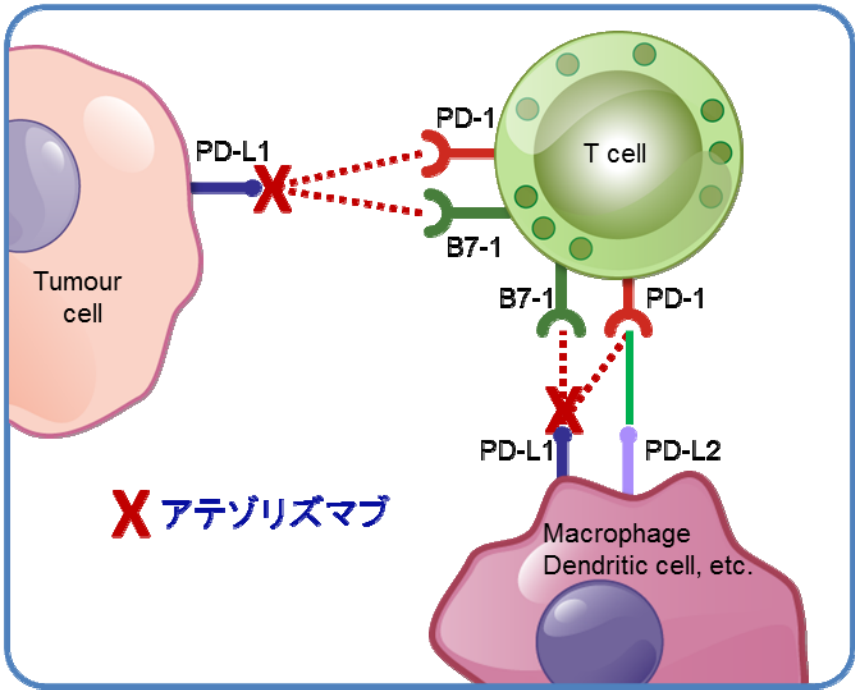
頁
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1 薬理試験 4
2.4.1.2 薬物動態試験 5
2.4.1.3 毒性試験 5
2.4.1.4 GLP 及びガイドライン適合性 6
2.4.2 薬理試験 6
2.4.2.1 *In vitro* 試験 6
2.4.2.1.1 結合性及び阻害活性 6
2.4.2.1.2 Fcγ 受容体との結合性 6
2.4.2.2 *In vivo* 抗腫瘍試験 6
2.4.2.3 副次的薬理試験 7
2.4.2.3.1 LCMV 感染マウスモデルを用いた *in vivo* 試験 7
2.4.2.4 安全性薬理試験 8
2.4.3 薬物動態試験 8
2.4.4 毒性試験 8
2.4.4.1 急性毒性試験 9
2.4.4.2 反復投与毒性試験 9
2.4.4.3 遺伝毒性試験及びがん原性試験 10
2.4.4.4 生殖発生毒性試験 10
2.4.4.5 その他の毒性試験 11
2.4.4.5.1 局所刺激性試験 11
2.4.4.5.2 *In vitro* サイトカイン放出試験 11
2.4.4.5.3 溶血性試験 11
2.4.4.5.4 組織交差反応性試験 11
2.4.4.6 アテゾリズマブの毒性のヒトへの外挿性及び曝露量の比較 11
2.4.5 総括及び結論 13
2.4.6 参考文献 14

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

アテゾリズマブ（遺伝子組換え）（以下，アテゾリズマブ又は本薬）は，programmed death-ligand 1 (PD-L1) を標的とした，ヒト化 IgG1モノクローナル抗体である（図 2.4.1-1）。免疫細胞又は腫瘍細胞上の PD-L1は，T 細胞上の受容体である programmed death-1（PD-1）又は B7-1（CD80）と結合することによって，T 細胞の機能を抑制する[1)-4)]。そのため，PD-L1/PD-1経路又は PD-L1/B7-1経路による抑制性シグナルを遮断する抗 PD-L1抗体は，抗腫瘍免疫応答の再活性化を誘導する手段の一つとして注目されている[5)-7)]。本薬は，両経路に由来する抑制性シグナルを遮断できるため，T 細胞の再活性化が促進され，強い抗腫瘍免疫応答の獲得が期待できる[8)]。また，本薬は PD-1のもう一つのリガンドである programmed death-ligand 2（PD-L2）には結合しないため，PD-L2/PD-1経路に由来する Th2型免疫応答の抑制を維持できると考えられる[5),8)]。

図 2.4.1-1 本薬の作用機序



文献[8),9)]を参考にして作成した。

本薬の薬理活性，薬物動態及び毒性を明らかにするため，以下に示す非臨床試験を実施した。

2.4.1.1 薬理試験

本薬はヒト抗体由来のフレームワーク配列を有するため，マウスを用いた *in vivo* 薬理試験では，抗薬物抗体（anti-therapeutic antibody; ATA）産生による効果減弱を避けることを目的として，本薬の誘導体であるヒト／マウスキメラ抗体（PRO304397及び PRO314483）を使用した。これらのキメラ抗体は，マウス IgG2a のフレームワーク配列に，本薬由来の PD-L1結合配列（すなわち可変領域）を組み込んで作製したものである。

本薬のアイソタイプは IgG1であるが，1アミノ酸置換（N298A）を施すことにより，N 結合

型糖鎖が欠如しており，Fcγ 受容体（Fcγ receptor; FcγR）との結合性が低減するように改変されている。この改変により，本薬は Fcγ 受容体を介したエフェクター活性化機能を発揮せず，PD-L1発現免疫細胞を傷害しないと考えられる。キメラ抗体の PRO304397は，マウス Fcγ 受容体との結合性減弱を目的として，Fc 領域に二つの遺伝子変異（D266A，N298A）が導入されている。また，PRO314483は Fc 領域に変異を導入していないものの，大腸菌（*Escherichia coli*）を用いて作製したため，Fcγ 受容体と効果的に相互作用するために必要な N 結合型糖鎖が欠如している。

本薬及びキメラ抗体の *in vitro* 活性を評価するために，ヒト又はマウス PD-L1発現293細胞を用いた結合親和性試験，ヒト又はカニクイザルの活性化 T 細胞を用いた結合活性試験，ヒト又はマウスの PD-1，PD-L1及び B7-1の組換え蛋白を用いた結合阻害活性試験，並びに6種類のヒト Fcγ 受容体を用いた結合性試験を実施した。

キメラ抗体 PRO314483の *in vivo* 抗腫瘍活性は，5種類のマウス腫瘍移植モデルを用いて，PRO314483（10 mg/kg）を週3回，1～3週間投与して評価した。

副次的薬理試験として，リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（lymphocytic choriomeningitis virus; LCMV）感染モデルにおける抗 PD-L1抗体の *in vivo* 薬理作用を評価した。[redacted]

本薬については，独立した安全性薬理試験を実施していないが，ICH S6(R1)（バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価）及び ICH S7A（安全性薬理試験ガイドライン）に従い，中枢神経系，心血管系及び呼吸器系に及ぼす影響を，カニクイザル8週間静脈内及び皮下投与試験，並びに26週間静脈内投与試験で評価した。

2.4.1.2 薬物動態試験

本薬の薬物動態学的特性を評価するために，単回及び反復投与の薬物動態試験を実施した。

単回投与の薬物動態（PK）は，毒性試験で選択した動物種であるカニクイザルを用い，臨床適用経路（静脈内投与）で投与した結果を用いて評価した。

反復投与の PK は，C57BL/6及び CD-1マウス（以下マウス）を用いた探索的2週間静脈内投与試験，並びにカニクイザルを用いた8週間反復投与毒性試験（週1回静脈内あるいは皮下投与）及び26週間反復投与毒性試験（週1回静脈内投与）の結果を用いて評価した。

分布に関しては，放射性標識体を用いた定型的な分布試験は実施していない。

カニクイザルにおいて本薬は一般的な IgG1サブタイプと同様な PK を示し，他のヒト化モノクローナル抗体と同じ IgG フレームワークを有していることから，代謝及び排泄の経路は内因性 IgG と同様であると判断し，代謝及び排泄試験は実施していない。本薬の乳汁中排泄試験は実施していないが，IgG は乳汁中に移行することが知られている。

なお，分布，代謝及び排泄試験の実施・評価に関する方針決定には，「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価（ICH S6（R1））」に準拠した。

BALB/c マウスにキメラ抗体 PRO304397を静脈内投与したときの薬物動態／薬力学（PK/PD）試験を実施し，PK 及び PD マーカーとして CD8陽性及び CD4陽性 T リンパ球上の PD-L1に結合した抗 PD-L1抗体量を評価した。

2.4.1.3 毒性試験

本薬の毒性試験プログラムは，悪性腫瘍患者への静脈内投与及び皮下投与をサポートするよう計画され，マウス探索的2週間静脈内投与試験，カニクイザル8週間静脈内及び皮下投与試験，カニクイザル26週間静脈内投与試験，ヒト末梢血単核細胞（PBMC）を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験，カニクイザル及びヒト血液を用いた溶血性試験，並びにヒト及びカニクイザル正常組織を用いた組織交差反応性試験を実施した。C57BL/6及び CD-1マウスを用いた探索的2週間静脈内投与試験では，反復投与後の血中薬物濃度が急速に低下し，また，ATA 産生が

高頻度に認められた。そのため，マウスを用いた2週間を超える投与期間の毒性試験は実施しなかった。本薬はヒト及びカニクイザルの PD-L1に対し同程度の結合活性を示し，反復投与による全身曝露が維持可能であることから，本薬の全身毒性評価に最も適した動物種としてカニクイザルを選択した。

これまでの文献報告において，PD-L1/PD-1経路の阻害により，胚致死を含むヒト胎児発生に及ぼす安全性リスクが存在することが示されている。本薬は妊娠に対して悪影響を及ぼす可能性が高いと考えられるため，本薬の生殖発生毒性試験は実施していない。

2.4.1.4 GLP 及びガイドライン適合性

マウス探索的2週間静脈内投与試験及びヒト PBMC を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験を除き，すべての毒性試験は米国 FDA の非臨床試験における GLP 規則（21 CFR, Part 58）を遵守して実施した。また，試験項目及び実施時期については ICH ガイドラインに準拠した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 *In vitro* 試験

2.4.2.1.1 結合性及び阻害活性

本薬の結合親和性（K_d: 解離定数）は，ヒト及びマウス PD-L1を発現させた293細胞を用いて，平衡結合試験により測定した。ヒト PD-L1に対する K_d 値は0.433, 0.400 nmol/L（n = 2），マウス PD-L1に対する K_d 値は0.134, 0.120 nmol/L（n = 2）であった。

本薬の結合活性（EC_{50}: 50%有効濃度）は，ヒト及びカニクイザルの活性化 T 細胞を用いたフローサイトメトリー法において測定した。ヒト PD-L1に対する EC_{50}値は0.395 ± 0.030 nmol/L（平均値 ± 標準偏差，以下同様），カニクイザル PD-L1に対する EC_{50}値は0.704 ± 0.084 nmol/L であった。

本薬による結合阻害活性（IC_{50}: 50%阻害濃度）は，ヒト及びマウスの PD-1，PD-L1及び B7-1の組換え蛋白を用いて，競合 ELISA 法により評価した。本薬は，ヒト PD-L1とその標的受容体 PD-1（IC_{50}: 82.8 ± 40.3 pmol/L）及び B7-1（IC_{50}: 48.4 ± 25.9 pmol/L）との結合を阻害した。また，マウス PD-L1とその標的受容体 PD-1（IC_{50}: 104 ± 38.7 pmol/L）及び B7-1（IC_{50}: 75.6 ± 14.8 pmol/L）との結合も阻害した。

なお，キメラ抗体 PRO304397及び PRO314483も，本薬と同程度の結合親和性及び結合阻害活性を示した。

以上の結果から，本薬及びキメラ抗体は PD-L1との結合性を示すこと，PD-L1/PD-1又は PD-L1/B7-1経路を阻害する活性を有することが確認された。また，キメラ抗体を本薬のサロゲート抗体として使用することの妥当性も示された。

2.4.2.1.2 Fcγ 受容体との結合性

本薬のアイソタイプは IgG1であるが，1アミノ酸置換（N298A）を施すことにより N 結合型糖鎖が欠如し，Fcγ 受容体との結合性が低減するように改変されている。本薬と Fcγ 受容体との結合性については，6種類のヒト Fcγ 受容体（FcγRIA, FcγRIIA-R131, FcγRIIA-H131, FcγRIIB, FcγRIIIA-F158, FcγRIIIA-V158）を用いて，ELISA 法により評価した。本薬は，いずれの Fcγ 受容体に対しても，ほとんど結合性を示さなかった。

以上の結果から，本薬は Fcγ 受容体にほとんど結合せず，Fcγ 受容体を介した免疫応答を誘導しないことが示唆された。

2.4.2.2 *In vivo* 抗腫瘍試験

マウス結腸・直腸癌 MC38移植モデルにおいて，PRO314483（10 mg/kg，週3回 × 1-3週間）は，投与期間に応じた抗腫瘍効果を示し，腫瘍増殖阻害率（Tumor Growth Inhibition, TGI）は，

1週間投与が76%，2週間投与が98%，3週間投与が103%であった。2週間及び3週間投与では，それぞれ完全奏効（CR）3例（腫瘍体積が測定限界 [8 mm^3] 以下に縮小した時に CR と判定）と部分奏効（PR）3例（腫瘍体積が試験開始時の半分以下に縮小した時に PR と判定）が認められ，全奏効率（CR + PR）は60%であった。また，TTP5X（試験開始時の腫瘍体積の5倍に到達するまでの日数）は，PRO314483投与によって，対照群よりも1.4-3.0倍延長された。

MC38に異種蛋白である卵白アルブミン遺伝子を導入して免疫原性を高めた MC38.OVA を移植したモデルでは，PRO314483（10 mg/kg，週3回 × 1-3週間）を投与したすべての個体で腫瘍が完全に退縮し（CR rate: 100%），強い抗腫瘍効果が認められた。

マウス結腸・直腸癌 CT26移植モデルにおいて，PRO314483（10 mg/kg，週3回 × 3週間）は，TGI 92%，全奏効率（CR 1例，PR 1例）20%の抗腫瘍効果を示した。TTP5X は，PRO314483投与によって，対照群よりも2.4倍延長された。

マウス悪性黒色腫 Cloudman S91移植モデルにおいて，PRO314483（10 mg/kg，週3回 × 3週間）は，TGI 78%，全奏効率（PR 2例）20%の抗腫瘍効果を示した。TTP5X は，PRO314483投与によって，対照群よりも1.75倍延長された。

マウス肺癌 Lewis Lung Carcinoma（LLC）移植モデルにおいて，PRO314483（10 mg/kg，週3回 × 3週間）は，抗腫瘍効果を示さなかった。TGI は-10%であり，全奏効率は0%であった。また，TTP5X の延長も認められなかった。

なお，いずれのモデルにおいても，試験期間中の平均体重減少率は5%未満であり，PRO314483の忍容性は良好であった。また，これらのモデルでは，遺伝的に異なるバックグランドを持つ3種類の近交系マウス（C57BL/6，Balb/c，DBA/2）を使用したが，いずれの系統においても抗腫瘍効果が認められており，PRO314483の薬効はマウスの系統に左右されないことが明らかとなった。

以上の結果から，抗 PD-L1抗体はいくつかの *in vivo* マウス腫瘍移植モデルにおいて抗腫瘍効果を示すこと，特に MC38.OVA のような免疫原性の高い腫瘍に対しては強い薬効を示すことが確認された。

2.4.2.3 副次的薬理試験

2.4.2.3.1 LCMV 感染マウスモデルを用いた *in vivo* 試験

LCMV 感染マウスモデルを用いて，抗 PD-L1抗体の *in vivo* 薬理作用を評価した。LCMV CL-13株感染後14日目から，抗 PD-L1抗体（PRO314483, 10 mg/kg, 週3回 × 1-2週間）を投与すると，血液，肝臓，肺及び腎臓（組織）中のウイルス力価は，対照群と比較して有意に減少した。脾臓では，LCMV 由来 gp33ペプチドに反応する CD107a 発現あるいはインターフェロン γ（IFN-γ）産生 CD8陽性 T 細胞の割合が対照群より増加しており，LCMV 特異的な CD8陽性 T 細胞の機能増強が推察された。

LCMV CL-13株感染後17及び19日目（感染の慢性期）に，コントロール抗体（Anti-gp 120 mAb, 10 mg/kg）又は抗 PD-L1抗体（キメラ抗体 [PRO314483, PRO304397] 又はマウス抗体 [PRO304135], 10 mg/kg）を投与した場合には，マウスの死亡例はみられなかったが，感染後7日目（感染の急性期）に抗 PD-L1抗体を投与した場合には，60-100%のマウスが死亡した。他のウイルス（LCMV Armstrong 株又はアデノウイルス）を感染させたモデルでは，感染の急性期に抗 PD-L1抗体を投与しても，死亡例は発生しなかった。

LCMV CL-13株感染マウスの血清中腫瘍壊死因子 α（TNF-α）及び IFN-γ のレベルは，抗 PD-L1抗体（PRO314483, 10 mg/kg）投与により顕著に増加し，T 細胞の機能増強が考えられた。一方，Armstrong 株感染マウスに抗 PD-L1抗体を投与しても，これらのサイトカインレベルはわずかしか上昇しなかった。また，CL-13株感染マウスでは，CD8陽性 T 細胞の PD-1発現レベルは，抗 PD-L1抗体投与により顕著に増加したが，Armstrong 株感染マウスでは，抗 PD-L1抗体投与による増加はわずかであった。

以上の結果から，抗 PD-L1抗体の投与は，*in vivo* において，CD8陽性 T 細胞の機能を促進し，

抗原特異的な免疫応答の増強・誘導が示唆された。

2.4.2.4 安全性薬理試験

GLP 下でのカニクイザル8週間静脈内／皮下投与試験及び26週間静脈内投与試験において，中枢神経系，心血管系及び呼吸器系に対する影響を評価した。本薬の50 mg/kg までの用量における週1回，計9回の静脈内又は皮下投与において，一般症状，体温，神経行動学的パラメータ，体表心電図測定における各種パラメータ，血圧，呼吸数及び血中酸素飽和度に異常は認められなかった。50 mg/kg の静脈内投与については，別途テレメトリー評価群を設定し，テレメトリー測定における心電図パラメータ，平均動脈圧，心拍数及び体温に異常は認められなかった。更に，本薬の50 mg/kg までの用量における週1回，計27回の静脈内投与において，一般症状，体温，神経行動学的パラメータ，体表心電図測定における各種パラメータ，血圧及び呼吸数に異常は認められなかった。

2.4.3 薬物動態試験

本薬の PK をマウス及びカニクイザルで評価した。また，キメラ抗体 PRO304397を用いた BALB/c マウスでの PK/PD 試験を実施し，T リンパ球上の PD-L1に結合した抗 PD-L1抗体量を評価した。

カニクイザルに0.5，5及び20 mg/kg の本薬を単回静脈内投与したとき，3用量間で曝露量は用量に伴って増加し，PK パラメータに雌雄差は認められなかった。投与後14日の時点において，全個体で ATA が検出された。

マウスに10及び50 mg/kg の本薬を週1回，計3回反復静脈内投与したとき，3回目投与後（初回投与後14日）の血清中アテゾリズマブ濃度は急速に低下し，全個体において ATA が検出された。3回目投与後0日から7日の曝露量は初回投与後0日から7日の約1/2倍と減少していた。

カニクイザルに5，15及び50 mg/kg の本薬を週1回，計9回反復静脈内投与したとき，5～50 mg/kg の用量間で投与後7日までの曝露量は用量に伴って増加し，PK パラメータに雌雄差は認められなかった。15及び50 mg/kg で皮下投与したときの $AUC_{0\text{-}7}$を用いて算出した生物学的利用率（F）は，それぞれ54.3%及び51.8%であった。また，56例中50例（89%）に ATA の産生が認められた。ATA は低用量では PK に影響を与えたものの，高用量における ATA 陽性及び陰性動物の平均曝露量は同程度であった。

カニクイザルに5，15及び50 mg/kg の本薬を週1回，計27回反復静脈内投与したとき，15及び50 mg/kg の用量間で曝露量は用量に伴って増加し，PK パラメータに雌雄差は認められなかった。30例中21例（70%）の個体に ATA の産生が認められ，最終投与後低用量の5 mg/kg 群で顕著に血清中濃度が低下した。

BALB/c マウスに1，10及び30 mg/kg のキメラ抗体 PRO304397を単回静脈内投与したとき，PRO304397はいずれの用量も4日目までは二相性の濃度推移を示し，それ以降急速に低下した。PRO304397の全身クリアランスは16.3～57.7 mL/day/kg であり，定常状態の分布容積は概ね血漿量と同程度であった。曝露量は用量に伴って増加したものの，1 mg/kg と10 mg/kg の間では用量比以上の増加が認められた。また，いずれの投与量においても，キメラ抗体 PRO304397投与後24時間から48時間では，CD8陽性及び CD4陽性リンパ球上の PD-L1が PRO304397と結合し，完全に飽和状態になっていたが，1 mg/kg 投与群では投与7日後までに，10及び30 mg/kg 投与群では投与14日後までに，全個体において，T リンパ球上の PD-L1から PRO304397の消失が認められた。

2.4.4 毒性試験

本薬の悪性腫瘍患者への投与をサポートするため，以下の毒性試験を実施した。

- マウス探索的2週間静脈内投与試験（4週間回復性試験）

- カニクイザル8週間静脈内及び皮下投与試験（12週間回復性試験）
- カニクイザル26週間静脈内投与試験（13週間回復性試験）
- ヒト PBMC を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験
- カニクイザル及びヒト血液を用いた溶血性試験
- ヒト及びカニクイザル正常組織を用いた組織交差反応性試験

2.4.4.1 急性毒性試験

本薬の急性毒性試験は実施していない。週1回投与による反復投与試験の初回投与後に，死亡及び瀕死状態を含む明らかな毒性所見は認められなかった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

(1) マウスを用いた反復投与試験

PD-L1/PD-1経路はラットよりマウスで詳細に解析が進んでいること，本薬のマウス PD-L1に対する結合親和性はヒト PD-L1に対する結合親和性と同程度であることから，マウスは本薬の毒性評価に適したげっ歯類動物種であると考えられた。探索的2週間静脈内投与試験において ATA 産生が高頻度にみられ，血清中アテゾリズマブ濃度が急速に低下した。本薬に対するこの免疫反応により，マウスを用いた2週間を超える投与期間の反復投与試験において，PD-L1/PD-1阻害に基づく毒性学的影響を評価することは困難と考えられた。

本薬を週1回の頻度で計3回投与したとき，C57BL/6及び CD-1マウスの50 mg/kg 群で，対照群と比較して脾臓重量及び脾臓/脳重量比の高値が認められた。しかし，これらの変化に関連した病理組織学的所見はみられなかった。すべての投薬群において，休薬期間終了時（43日目）の脾臓重量は対照群と同程度であり，上記所見は回復性を有する変化であると考えられた。脾臓重量の高値は，本薬投与による PD-L1/PD-1経路阻害の結果として，投与された異種タンパクに対する免疫反応が亢進したことによるものと考えられた。関連する病理組織学的変化はみられず，脾臓重量の高値は休薬により回復したことから，有害な所見ではないと考えられた。

C57BL/6マウスの10及び50 mg/kg 群では，投与期間終了時（17日目）及び休薬期間終了時（43日目）に，本薬投与に関連した軽微な坐骨神経病変（ニューロパチー：リンパ球浸潤を伴う空胞化病変）がみられた。この変化に関連した一般状態の異常は認められなかった。この軽微な坐骨神経病変は，PD-1欠損雌マウスで観察された所見と同様であり，本薬投与による PD-L1阻害に関連した変化と推察された。C57BL/6マウスと同一の MHC ハプロタイプ（H-2^{b}）を有する PD-1欠損雌マウス（NOD-*H2*$^{b/b}$*Pdcd1*$^{-/-}$）では，20～25週齢の間に末梢神経を含む全身諸器官において，自然発生性の自己免疫性炎症を発症することが報告されている[10]。CD-1マウスでは坐骨神経病変は認められなかったことから，本系統は PD-L1を阻害しても自己免疫状態へ誘導されにくい可能性が示唆された。

(2) カニクイザルを用いた反復投与試験

本薬はヒト及びカニクイザルの PD-L1に対し同程度の結合活性を示し，反復投与による全身曝露が維持可能であることから，カニクイザルが本薬の全身毒性の評価に最も適した動物種と考えられた。カニクイザルを用いた毒性試験として，週1回投与による8週間及び26週間投与試験（それぞれ，休薬期間として12及び13週間を設定）を実施した。

本薬の50 mg/kg/週までの用量による8週間（計9回投与）の静脈内及び皮下投与，並びに26週間（計27回投与）の静脈内投与による忍容性は良好であった。一般状態，体重，摂餌量（8週間投与試験のみ），中枢神経系，心血管系及び呼吸器系パラメータ，眼科学的検査，各種臨床検査（血液学的検査，血液化学的検査，血液凝固検査及び尿検査），免疫学的パラメータ（フローサイトメトリーを用いた末梢血イムノフェノタイピング及び血清中サイトカイン），器官重量及び剖検において，対照群と比較して本薬投与に関連した変化は認められなかった。

8週間投与試験の投与期間終了時剖検例において，本薬投与に関連した軽微～中等度の動脈炎/動脈周囲炎が実質臓器（心臓，腎臓，肝臓，膵臓及び精巣上体）の間質及び胃腸管，雌性生殖器等の管腔臓器，舌の粘膜下組織及び筋層で認められた（静脈内投与50 mg/kg 及び皮下投与15 mg/kg の各1/6例，並びに皮下投与50 mg/kg の2/6例）。また，26週間投与試験でも同様に，投与期間終了時剖検例において，軽微～軽度の動脈炎/動脈周囲炎が全身諸器官（心臓，膵臓，腎臓，膀胱，胆嚢，下顎腺，皮膚/皮下織，骨/骨髄，喉頭，腸間膜リンパ節，胃腸管及び雌性生殖器）で認められた（15 及び50 mg/kg の各1/6例）。カニクイザルにおいて同様の動脈炎/動脈周囲炎（一般状態の異常を伴わず，炎症部位の分布が類似）が自然発生性に認められることが報告されている[11),12)]が，これらの所見は本薬投与動物のみで認められ，用量依存性がみられたこと，発生頻度が試験施設における背景値を超えていたことから，本薬投与に関連したものと考えられた。動脈炎/動脈周囲炎は12週間又は13週間の休薬期間終了時には認められず，これらの変化は休薬により回復したか，休薬群の動物では発生していなかったことが考えられた。本薬投与により動脈炎/動脈周囲炎が発現した機序の詳細は不明であるが，自己免疫素因が関連している可能性が推察される。また，自然発生性病変の発生頻度の増加は，本薬の薬理作用である PD-L1阻害及び末梢性免疫寛容の制御解除に一致するものと考えられた。

カニクイザル26週間投与試験では，さらなる毒性所見として月経周期に対する影響が50 mg/kg 群の雌で認められ，投与期間中の月経周期異常（月経周期の停止を伴う不規則な月経パターン）が，8～14週目ではほぼ全例に観察された。この変化に関連して，投与期間終了時剖検例（3例）の卵巣では，新生黄体が認められなかった（月経周期の欠如を反映）。50 mg/kg 群の休薬終了時剖検例（2例）については，休薬期間中に正常な月経周期に回復し，剖検時の卵巣の病理組織学的所見は対照群と比較して差が認められなかったことから，本薬投与による月経周期に対する作用は回復性を有するものと考えられた。雄については，精子検査，超音波による精巣検査，精巣の病理学的検査（精子形成ステージ解析を含む）及び血清テストステロン濃度の評価を行い，本薬投与による変化は認められなかった。

8週間静脈内及び皮下投与試験の5 mg/kg/週（静脈内投与），並びに26週間静脈内投与試験の5 mg/kg/週では毒性学的所見が認められなかったことから，これらの用量を各試験における無毒性量と判断した。

2.4.4.3 遺伝毒性試験及びがん原性試験

ICH S6(R1)及び ICH S9ガイドラインに従い，本薬の遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施していない。

2.4.4.4 生殖発生毒性試験

本薬の生殖発生毒性試験は実施していないが，カニクイザルを用いた26週間投与試験において，雌雄生殖器に対する評価を行った。雄では本薬投与による変化は認められなかった。雌では投与期間中に50 mg/kg 群の全例で月経周期異常が観察され，この変化に関連して，卵巣では新生黄体が認められなかった。月経周期は休薬期間中に正常に回復し，卵巣の病理組織学的所見も対照群と比較して差が認められなかった（2.4.4.2）。

いくつかの非臨床研究において，PD-L1/PD-1経路が母体/胎児間の免疫寛容成立に必須であり，妊娠期間中の胚・胎児の生存性に重要な役割を果たしていることが示されている[13)-15)]。異系統間妊娠マウスモデル（CBA/CaJ × C57BL/6）において抗 PD-L1抗体を投与して PD-L1/PD-1経路を阻害したとき，胎児吸収率が対照群（コントロール IgG 投与）と比較して増加した[13)]。また，別の異系統間妊娠マウスモデル（Thy1.1 B6 × Bm12）においても，胎児吸収率が対照群と比較して抗 PD-L1抗体投与群において増加した[15)]。PD-L1/PD-1経路の阻害と免疫介在性の胎児拒絶との関連性について，これまで得られた知見からその重要性（weight of evidence）を考察すると，本薬投与において，胚致死を含むヒト胎児発生に及ぼす安全性リスクが存在するこ

とが示唆される。

2.4.4.5 その他の毒性試験

2.4.4.5.1 局所刺激性試験

本薬の局所刺激性試験は実施していないが，カニクイザル8週間投与試験において，投与部位の肉眼的及び病理組織学的検査を実施した。カニクイザル8週間投与試験における投与期間終了時剖検において，本薬を皮下投与した15 mg/kg 群の3/6例及び50 mg/kg 群の6/6例で投与部位に病理組織学的変化がみられた。この変化は，投与部位の皮下組織における軽微な限局性又は多巣性の単核細胞浸潤（多くの場合血管周囲性）であった。投与部位における変化は休薬期間終了時には認められず，可逆的であることが示された。投与部位の所見は異種タンパクを皮下投与した際にみられる変化に一致しており，休薬により回復したことから，有害な変化ではないと考えられた。

2.4.4.5.2 *In vitro* サイトカイン放出試験

PD-L1/PD-1相互作用は，T 細胞活性化の調節及び T 細胞のエフェクター機能に対する抑制性の制御に必須の役割を果たしている。PD-L1/PD-1経路の阻害により，炎症性サイトカインの放出を含む T 細胞の活性化が誘導される可能性が考えられるため，本薬処置による異常なサイトカイン産生リスクの可能性を，*in vitro* サイトカイン放出試験で検討した。

初回臨床試験において想定された血中アテゾリズマブ濃度の範囲内（0.25～250 μg/mL）において，ヒト PBMC からのサイトカイン放出は認められなかった。また，カニクイザル8週間投与試験における静脈内投与50 mg/kg 群の1例で，一過性の IL-12/23 p40，TNF-α 及び IFN-γ の増加（投与期間中に回復）がみられたことを除き，マウス及びカニクイザルへの50 mg/kg までの投与において，血中サイトカインプロファイルに変化は認められなかった。これらの結果から，臨床において本薬投与に関連した過剰なサイトカイン放出リスクは低いと推察された。

2.4.4.5.3 溶血性試験

本薬は試験可能な最高濃度である125 mg/mL において，ヒト及びカニクイザル赤血球に対し溶血作用を示さなかった。

2.4.4.5.4 組織交差反応性試験

ビオチン標識アテゾリズマブのヒト及びカニクイザル正常組織に対する交差反応性を，各種組織の凍結切片を用いた免疫組織化学により評価した。

ヒト組織では，ビオチン標識アテゾリズマブによる特異的染色が，胎盤，リンパ節，扁桃及び胸腺で確認された。胎盤の合胞体性栄養膜細胞では，内腔側の細胞質及び細胞膜に中等度の染色が高頻度に認められた。リンパ節及び扁桃の類洞細胞では，細胞質に軽微～軽度の染色がごく低頻度に観察された。胸腺の皮質及び髄質細胞では，細胞質に軽度～中等度の染色が低頻度～高頻度に観察された。カニクイザル組織では，ビオチン標識アテゾリズマブによる特異的染色がリンパ節のみで検出された。リンパ節の類洞細胞において，細胞質に軽微～中等度の染色が，低頻度～高頻度に観察された。

ビオチン標識アテゾリズマブによる上記の特異的染色の結果は，PD-L1発現がリンパ組織及び非リンパ組織で認められるという報告[2),16)]に一致している。

2.4.4.6 アテゾリズマブの毒性のヒトへの外挿性及び曝露量の比較

本薬の毒性試験はマウス及びカニクイザルを用いて実施した。カニクイザルでは，50 mg/kg を最高用量とし，週1回の頻度で26週間までの反復静脈内投与時における潜在的毒性を評価した。マウス探索的2週間投与試験の50 mg/kg，並びにカニクイザル26週間投与試験の15及び50

mg/kg における3週間当たりの曝露量（AUC_{0-7}又は AUC_{0-3}/$AUC_{182-185}$の3倍値）は，臨床推奨用量（1200 mg/3週）における曝露量と比較して同程度以上であることが確認された。また，カニクイザル26週間投与試験の無毒性量（5 mg/kg）における3週間当たりの曝露量は，臨床推奨用量における曝露量のおよそ0.1～0.2倍であった（表 2.4.4.6-1）。

表 2.4.4.6-1 マウス及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験における曝露量と臨床推奨用量における曝露量比較

動物種 試験の種類	投与量	C_{max}		AUC		
		雌雄平均 (μg/mL)	曝露量比 a)	雌雄平均 (day•μg/mL)	AUC × 3	曝露量比 a)
マウス 2週間 1回/週，静脈内	10 mg/kg 50 mg/kg	— —	— —	537b) 2250b)	1611 6750	0.24 1.01
カニクイザル 26週間 1回/週，静脈内	5 mg/kg 15 mg/kg 50 mg/kg	123c) / 61.4d) 301c) / 1290d) 1200c) / 3680d)	0.07 – 0.15 0.36 – 1.55 1.44 – 4.42	243c) / 378d) 693c) / 3350d) 2790c) / 8400d)	729 / 1134 2079 / 10050 8370 / 25200	0.11 – 0.17 0.31 – 1.51 1.25 – 3.78
臨床推奨用量 1回/3週，静脈内	1200 mg	832e)		6670e)		

—: 未測定又は未算出

a) 曝露量比 = 動物曝露量/ヒト曝露量

b) C57BL/6雌性マウスにおける初回投与時の AUC（AUC_{0-7}）

c) 初回投与時の C_{max} 又は AUC（AUC_{0-3}）

d) 最終投与時の C_{max} 又は AUC（$AUC_{182-185}$）。ATA 産生による曝露低下例（5 mg/kg 群で明らか）を含む

e) 国際共同第 II 相試験（GO28754試験）に登録された日本人に1200 mg/body（3週間に1回）を投与した際の定常状態における C_{max} 及び AUC_{ss} を，母集団薬物動態モデルを用いて推定した[17]。

マウス探索的2週間静脈内投与試験，カニクイザル8週間静脈内及び皮下投与試験，並びに26週間静脈内投与試験において，本薬の50 mg/kg/週までの用量での良好な忍容性が確認された。本薬投与により認められた変化は，薬理作用である PD-L1/PD-1経路の阻害に一致したものであり，潜在的なリスクとして，免疫反応の亢進及び炎症性病態の増加，並びに急性感染期における免疫反応の変調が示唆された。

(1) 免疫反応の亢進及び炎症性病態の増加

PD-L1/PD-1経路は末梢性免疫寛容に関係しており，この経路を阻害することにより，自己免疫状態などの免疫介在性有害事象のリスクが増大する懸念がある。本薬の *in vivo* 毒性試験では C57BL/6雌性マウスにおける末梢神経病変（ニューロパチー：リンパ球浸潤を伴う空胞化病変，10 mg/kg/週以上の静脈内投与で発現）及びカニクイザルにおける動脈炎/動脈周囲炎（15 mg/kg/週以上の静脈内又は皮下投与で発現）が認められており，これらの結果から，自己免疫素因を有するヒトにおいて，本薬などの抗 PD-L1抗体あるいは抗 PD-1抗体を投与することにより PD-L1/PD-1経路を阻害すると，自己反応性の増強あるいは増悪が誘導される可能性が示唆される。

(2) 急性感染期における免疫反応の変調

PD-L1/PD-1経路の阻害に基づき理論的に想定されるリスクとして，急性の感染症に対する免疫反応を変調させることにより，免疫病理学的病態や免疫系防御の調節不全が誘発される可能性が示唆される。

LCMV CL-13株を感染させたマウスにおいて，感染後2日（急性感染期及び T 細胞反応のピークよりも前）に本薬のキメラ抗体（10 mg/kg）を投与したとき，感染後7日の死亡率は37.5%であったが，感染後7日（急性感染期及び T 細胞反応のピーク）に投与したときの死亡率は60～100%であった（2.6.3.3）。CL-13株の急性感染期における宿主反応について検討した薬理試験の結果から，抗 PD-L1抗体の投与により CL-13株感染モデルで認められた死亡

は，全身諸器官における極めて高いウイルス負荷条件下において，CD8陽性 T 細胞の機能亢進に関連して生じたものと考えられた。ヒトにおいて，全身多臓器に高いウイルス負荷を生じる感染症はほとんどないことから，LCMV CL-13株を用いたマウス感染症モデルは，ヒトの多くのウイルス感染症を反映するものではないと考えられる。しかし，多量のウイルス抗原が全身的に負荷された場合，抗ウイルス性 T 細胞が過剰に活性化し，CD8陽性 T 細胞からのサイトカイン産生が増強される可能性が示唆される。LCMV CL-13株を感染させた PD-L1欠損マウスにおいても，感染後8日以内に100%が死亡するという類似した現象が報告されており，PD-L1/PD-1経路が T 細胞反応の急性相及びそれに関連する免疫病態の制御において重要であることが示唆された[18),19)]。

マウス LCMV CL-13株感染モデルの急性期における死亡は，抗体投与による PD-1又は PD-L1阻害（本薬とは異なる抗 PD-L1抗体），及び PD-1欠損マウスにおいても認められた（2.6.3.3.4）。一方，キメラ抗体 PRO314483の10 mg/kg（T 細胞反応の急性期において発現する PD-L1を完全に飽和すると考えられる用量）を，LCMV Armstrong 株（CL-13の親株）を感染させたマウスに投与したとき，感染ピーク前，ピーク時及びピーク後のいずれの時期に投与した場合においても死亡例は認められなかった（2.6.3.3.3）。これらの結果から，本薬のキメラ抗体投与による死亡は，キメラ抗体及びその標的分子である PD-L1に特有のものではなく，LCMV CL-13株感染の急性期における PD-L1/PD-1経路の阻害に関連して生じたものと考えられた。更に，LCMV CL-13株感染モデルでは，感染後8又は15日に IL-2を単回投与したときの死亡率が100%であり（2.6.3.3.4），本モデルにおいては慢性炎症の徴候が生じる前に免疫調節剤に対する感受性が高まっていることが示された。

このような潜在的なリスクが存在するものの，これまで本薬を投与した患者において急性のウイルス又は細菌感染に伴って病態が増悪したという証拠は示されていない。

2.4.5 総括及び結論

本薬は，ヒト，カニクイザル及びマウスの PD-L1に対して，サブナノモルレベルの結合親和性（K_d）又は結合活性（EC_{50}）を示した。また，本薬は PD-L1と結合することによって，PD-L1がその受容体である PD-1又は B7-1と結合することを，数十から百ピコモルレベルの IC_{50}値で阻害した。*In vivo* 試験に用いたキメラ抗体 PRO304397及び PRO314483も，本薬と同程度の結合性と阻害活性を示した。更に，本薬は，1アミノ酸置換（N298A）を施すことにより，Fcγ 受容体との結合性が低減するように改変されており，6種類のヒト Fcγ 受容体に対して，ほとんど結合性を示さなかった。これらの結果から，本薬及びキメラ抗体は PD-L1との結合性を持ち，PD-L1/PD-1又は PD-L1/B7-1経路を阻害する活性を有することが確認されるとともに，Fcγ 受容体を介した免疫応答を誘導しないことが示唆された。

抗 PD-L1抗体の *in vivo* 薬理作用は，宿主免疫を介して発揮されることから，様々な悪性腫瘍での効果が期待される[5)]。実際に，本薬のキメラ抗体 PRO314483は，マウス結腸・直腸癌 MC38及び CT26，マウス悪性黒色腫 Cloudman S91移植モデルにおいて，腫瘍増殖抑制効果と TTP5X の延長効果を示した。抗原性を高めた MC38.OVA 移植モデルにおいては，すべての個体で腫瘍が完全に退縮し，強い抗腫瘍効果が認められた。

一方，マウス肺癌 LLC 移植モデルでは，抗腫瘍効果が認められなかった。LLC 腫瘍は低免疫原性（poorly immunogenic model）であることが知られており[20)]，抗 PD-L1抗体によって免疫抑制状態が解除されても，それが抗腫瘍作用に結び付かなかったものと考えられた。

近年，ヒトがんゲノムデータの網羅的解析が進められ，肺癌や悪性黒色腫等の腫瘍細胞では，体細胞変異が高頻度で存在することが報告されている[21)]。本薬は，宿主免疫応答の再活性化を誘導して抗腫瘍効果を発揮するため，体細胞変異頻度が高く，高免疫原性を有すると考えられる悪性腫瘍に対しては，強い薬効を示すことが期待される。抗 PD-1抗体 pembrolizumab は，体細胞変異を高頻度で有する肺癌患者において，高い有効性を示すことが報告されており[22)]，

PD-L1を標的とする本薬においても，同様の薬理作用が期待される。

副次的薬理試験として，LCMV 感染モデルにおける *in vivo* 薬理作用を評価した。LCMV CL-13株の感染慢性期にキメラ抗体 PRO314483を投与したところ，血中，肝臓，肺，腎臓のウイルス力価は有意に減少した。また，脾臓では，LCMV 由来 gp33ペプチドに反応する CD107a 発現あるいは IFN-γ 産生 CD8陽性 T 細胞の割合が増加していたことから，LCMV 特異的な CD8陽性 T 細胞の機能増強が推察された。

本薬をマウス及びカニクイザルに投与した場合，いずれも ATA が発現したが，カニクイザルにおいては，ATA により低用量（5 mg/kg）の血清中動態に影響を受けたものの，高用量では ATA 陽性及び陰性動物の平均曝露量は同程度であった。一方，マウスでは ATA の影響で血清中濃度が急速に低下した。なお，本薬の乳汁中排泄試験は実施していないが，IgG は乳汁中に移行することが知られており[23]，添付文書の妊婦，産婦，授乳婦等への投与の項において注意喚起を行う。

非臨床安全性プログラムにおいて，マウス及びカニクイザルに本薬を50 mg/kg までの用量で週1回，最長26週間（カニクイザルのみ）静脈内投与したときの忍容性は良好であった。実施済みの *in vivo* 毒性試験の結果は PD-L1/PD-1経路の阻害に一致するものであり，本剤の患者における潜在的な安全性リスクとして，免疫反応の亢進及び炎症性病態の増加，並びに急性感染期における免疫反応の変調が示唆された。上記の免疫介在性の炎症性病態は，臨床での安全性プロファイルにおいても一貫している。臨床では過度の免疫反応に起因すると考えられる様々な病態や疾患があらわれる可能性があり，また，自己免疫疾患のある患者又は自己免疫疾患の既往症のある患者では，それらの疾患が増悪するおそれがあることから，添付文書で注意喚起する予定である。更に，カニクイザルでは本薬投与による月経周期異常が認められた。PD-L1/PD-1経路が母体/胎児間の免疫寛容成立に必須であることが公表論文から示されており[13)-15)]，本薬投与による本経路の阻害において，胚致死を含むヒト胎児発生に及ぼす安全性リスクが存在することが示唆される。これらのリスクについても，本薬の添付文書に記載し，注意喚起する予定である。

以上，これまでに得られている非臨床試験の成績から，本薬は悪性腫瘍患者における新たな治療薬となることが期待される。

2.4.6 参考文献

1） Blank C, Gajewski TF, Mackensen A. Interaction of PD-L1 on tumor cells with PD-1 on tumor-specific T cells as a mechanism of immune evasion: implications for tumor immunotherapy. Cancer Immunol Immunother 2005;54:307-14.

2） Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. Annu Rev Immunol 2008;26:677-704.

3） Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. Cancer Immunol Immunother 2007;56:739-45.

4） Riella LV, Paterson AM, Sharpe AH, Chandraker A. Role of the PD-1 pathway in the immune response. Am J Transplant 2012;12:2575-87.

5） Cha E, Wallin J, Kowanetz M. PD-L1 inhibition with MPDL3280A for solid tumors. Semin Oncol 2015;42:484-7.

6） Carbognin L, Pilotto S, Milella M, Vaccaro V, Brunelli M, Caliò A, et al. Differential activity of nivolumab, pembrolizumab and MPDL3280A according to the tumor expression of programmed death-ligand-1 (PD-L1): Sensitivity analysis of trials in melanoma, lung and genitourinary cancers. PLoS One 2015;10:e0130142.

7） Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQM, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. N Engl J Med 2012;366:2455-65.

8) Chen DS, Irving BA, Hodi FS. Molecular pathways: Next-generation immunotherapy – Inhibiting programmed death-ligand 1 and programmed death-1. Clin Cancer Res 2012;18:6580-7.
9) Wolchok JD, Chan TA. Antitumour immunity gets a boost. Nature 2014;515:496-8.
10) Yoshida T, Jiang F, Honjo T, Okazaki T. PD-1 deficiency reveals various tissue-specific autoimmunity by H-2^b and dose-dependent requirement of H-2^{g7} for diabetes in NOD mice. Proc Natl Acad Sci U S A 2008;105:3533-8.
11) Beach JE, Blair AMJN, Pirani CL, Cox GE, Dixon FJ. An unusual form of proliferative arteriopathy in macaque monkeys (Macacca sps). Exp Mol Path 1974;21:322-38.
12) Chamanza R, Parry NMA, Rogerson P, Nicol JR, Bradley AE. Spontaneous lesions of the cardiovascular system in purpose-bred laboratory nonhuman primates. Toxicol Pathol 2006;34:357-63.
13) Guleria I, Khosroshahi A, Ansari MJ, Habicht A, Azuma M, Yagita H, et al. A critical role for the programmed death ligand 1 in fetomaternal tolerance. J Exp Med 2005;202:231-7.
14) Wafula PO, Teles A, Schumacher A, Pohl K, Yagita H, Volk H-D, et al. PD-1 but not CTLA-4 blockage abrogates the protective effect of regulatory T cells in a pregnancy murine model. Am J Reprod Immunol 2009;62:283-92.
15) D'Addio F, Riella LV, Mfarrej BG, Chabtini L, Adams LT, Yeung M, et al. The link between the PDL1 costimulatory pathway and Th17 in fetomaternal tolerance. J Immunol 2011;187:4530-41.
16) Dong H, Zhu G, Tamada K, Chen L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. Nat Med 1999;5:1365-9.
17) [redacted]. GO28754 薬物動態解析報告書（C_{max}, AUC_{ss} 予測）. 中外製薬株式会社 社内報告書, [redacted].
18) Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. Nature 2006;439:682-7.
19) Mueller SN, Vanguri VK, Ha S-J, West EE, Keir ME, Glickman JN, et al. PD-L1 has distinct functions in hematopoietic and nonhematopoietic cells in regulating T cell responses during chronic infection in mice. J Clin Invest 2010;120:2508-15.
20) Lechner MG, Karimi SS, Barry-Holson K, Angell TE, Murphy KA, Church CH, et al. Immunogenicity of murine solid tumor models as a defining feature of *in vivo* behavior and response to immunotherapy. J Immunother 2013;36:477-89.
21) Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, Kryukov GV, Cibulskis K, Sivachenko A, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. Nature 2013;499:214-8.
22) Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. Science 2015;348:124-8.
23) Van de Perre P. Transfer of antibody via mother's milk. Vaccine 2003;21:3374-6.