目次

2.4 非臨床試験の概括評価 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 3
2.4.2 薬理試験 3
2.4.3 総括及び結論 5
2.4.4 参考文献一覧 9

非臨床試験の概括評価の略号一覧表

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）
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
DFG	aspartic acid-phenylalanine-glycine (Asp-Phe-Gly)	アスパラギン酸-フェニルアラニン-グリシン
dT/C	change in treatment / change in control	処理群での変化／対照群での変化
FGF	fibroblast growth factor	線維芽細胞増殖因子
FGFR	fibroblast growth factor receptor	線維芽細胞増殖因子受容体
HUVEC	human umbilical vein endothelial cell	ヒト臍帯静脈内皮細胞
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
K_i	inhibition constant	阻害定数
MAPK	mitogen-activated protein kinase	分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ
MVD	microvessel density	微小血管密度
NA	not applicable	該当せず
NS	not significant	有意差なし
PDX	patient-derived xenograft	患者由来腫瘍組織片移植
PO	oral	経口
QD	once a day	1 日 1 回
RTK	receptor tyrosine kinase	受容体型チロシンキナーゼ
T/C	treatment/control	処理/対照比
TAM	tumor associated macrophages	腫瘍関連マクロファージ
VEGF	vascular endothelial growth factor	血管内皮増殖因子
VEGFR	vascular endothelial growth factor receptor	血管内皮増殖因子受容体

2.4 非臨床試験の概括評価

レンバチニブメシル酸塩は，経口投与で有効性を示すマルチキナーゼ阻害剤であり，血管内皮増殖因子(VEGF)受容体（VEGFR1～3）をはじめ，線維芽細胞増殖因子（FGF）受容体（FGFR1～4），血小板由来増殖因子受容体の一つ PDGFRα，KIT，RET などの腫瘍血管新生あるいは腫瘍の悪性形質に関与する受容体型チロシンキナーゼ（RTK）に対する選択的な阻害活性を有する。VEGFR2-レンバチニブ複合体の X 線結晶構造解析から，本薬の VEGFR2 への結合様式は他の市販されているマルチキナーゼ阻害剤とは異なることが示されている。レンバチニブメシル酸塩は主として VEGFR シグナル及び FGFR シグナルの阻害による腫瘍血管新生阻害作用に基づき，様々ながん腫に対し抗腫瘍効果を発揮する。国内では 2015 年 3 月に根治切除不能な甲状腺癌の適応で承認されている。本申請は，レンバチニブメシル酸塩の医薬品製造販売承認事項に効能・効果として，「切除不能な肝細胞癌」を追加するため，及び当該適応症に対する用法・用量を追加するための承認事項一部変更承認申請である。

以下本セクションでは，特にことわらない限り，「レンバチニブ」あるいは「本薬」を用いるが，用量あるいは濃度については「レンバチニブメシル酸塩」としての値を表示する。

2.4.1 非臨床試験計画概略

本申請では，レンバチニブの効力を裏付ける薬力学的試験として以下の in vitro 及び in vivo 試験を実施した。本薬の作用機序として，初回申請では，VEGFR2 に対する結合様式，VEGF 誘導性の血管新生に対する阻害作用，等を記載している。本申請にあたり，新たに FGFR1 に対する結合様式，VEGF 及び FGF 誘導性の血管新生に対する阻害作用等を検討した。また，本薬の肝細胞癌に対する抗腫瘍効果について，ヒト肝細胞癌細胞株に対する細胞増殖阻害作用，患者由来腫瘍組織片移植（patient-derived xenograft：PDX）モデルを含む 5 種のヒト肝細胞癌無胸腺マウス皮下移植モデルにおける腫瘍増殖抑制作用等を評価した。免疫応答性マウスを用いたマウス肝細胞癌同種移植モデルでは，本薬の腫瘍免疫に及ぼす作用についても検討した。

主薬効を裏付ける in vitro 薬力学的試験；

- FGFR1-レンバチニブ複合体のX線結晶構造解析
- 内皮細胞の FGF 誘導性血管様管腔構造形成に対する阻害作用
- 内皮細胞の VEGF 誘導性及び FGF 誘導性シグナル伝達に対する阻害作用
- ヒト肝細胞癌細胞株の FGFR シグナルに対する阻害作用
- ヒト肝細胞癌細胞株の細胞増殖に対する直接阻害作用

主薬効を裏付ける in vivo 薬力学的試験；

- In vivo 血管新生モデルに対する阻害作用
- マウス in vivo における FGFR シグナル阻害作用
- ヒト肝細胞癌移植マウスモデルにおける腫瘍増殖抑制作用
- マウス肝細胞癌同種移植モデルにおける腫瘍免疫促進作用

副次的薬理試験，安全性薬理試験，薬物動態試験，毒性試験については新たな試験を実施していない。

2.4.2 薬理試験

初回申請で記載した VEGFR2-レンバチニブ複合体の X 線結晶構造解析に続き，FGFR1-レンバチニブ複合体の X 線結晶構造解析を実施した。レンバチニブは，FGFR1 キナーゼドメインのアデノシン三リン酸（ATP）結合サイト及び，隣接するアロステリック領域に結合しており，キナーゼドメインのアスパラギン酸-フェニルアラニン-グリシン（DFG）モチーフは，DFG-in 構造

をとっていた。これらの結果は type V キナーゼ阻害剤の結合様式の基準を満たすものであり，レンバチニブの FGFR1 への結合様式は，VEGFR2 への結合様式と同様に type V（Okamoto, et al., 2015）であることが示された。

ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）を用いた in vitro 血管新生モデルにおいてレンバチニブは VEGF 誘導性血管様管腔構造の形成を阻害する（初回申請資料）のみならず，FGF 誘導性血管様管腔構造の形成も阻害し，50%阻害濃度（IC_{50}）値は 7.3 nmol/L（無血清培地での測定値）であった。レンバチニブは HUVEC において VEGF あるいは FGF によって促進された Erk1/2，S6K，S6 のリン酸化を阻害し，血管新生に重要とされている分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ（MAPK）経路及び PI3K–AKT–mTOR–S6K–S6 経路（以下 mTOR–S6K–S6 経路）の両者を阻害することが確認された。以上，レンバチニブは in vitro において VEGF 及び FGF 誘導性の血管新生を阻害することが示された。dorsal air sac マウス in vivo 血管新生モデル（Funahashi, et al., 1999）において，レンバチニブの経口（PO）投与（1 日 1 回 [QD] ×4）は，VEGF 誘導性及び FGF 誘導性の血管新生を 10 及び 30 mg/kg の用量で有意に阻害した。マウスにおいてレンバチニブの単回投与（PO，10 mg/kg）は，FGFR シグナル阻害の薬力学バイオマーカーとして知られる FGF23 の血漿濃度を有意に増加させた。以上，レンバチニブは in vivo において，VEGF 及び FGF 誘導性の血管新生を阻害すること，FGFR シグナルが実際に阻害されていることが示唆された。

レンバチニブは FGF19-FGFR4 オートクリンループにより FGFR シグナルが恒常的に活性化しているヒト肝細胞癌細胞株 Hep 3B2.1-7 及び HuH-7 の細胞増殖を濃度依存的に阻害し，IC_{50} 値はタンパク質非結合型として 86 及び 160 nmol/L であった。この細胞増殖阻害は，FGFR の下流に位置するシグナル分子 FRS2 のリン酸化を指標にした試験において，レンバチニブが両細胞の細胞内 FGFR シグナルを 30，100，300，1000 及び 3000 nmol/L の範囲で濃度依存的に阻害したことと対応していた。FGFR シグナルの恒常的活性化が報告されていないヒト肝細胞癌細胞株 PLC/PRF/5 の細胞増殖に対してはレンバチニブの阻害作用は比較的弱く，IC_{50} 値はタンパク質非結合型として 3750 nmol/L 以上であった。

レンバチニブ（QD×7～28，PO）の肝細胞癌に対する腫瘍増殖抑制作用を患者由来腫瘍組織片移植（patient-derived xenograft：PDX）モデルを含む 5 種の無胸腺マウス皮下移植モデルで評価した。すべての移植モデルにおいて，レンバチニブは有意な腫瘍増殖抑制作用と高い忍容性を示した。レンバチニブは，ヒト肝細胞癌細胞株 PLC/PRF/5 移植モデルにおいて 3～100 mg/kg あるいは 1～100 mg/kg の用量で有意な腫瘍増殖抑制作用を示した。FGFR シグナルの亢進が知られているヒト肝細胞癌細胞株 Hep 3B2.1-7 及び LIXC-012 の移植モデルにおいて 3～30 mg/kg の用量で有意な腫瘍増殖抑制を示した。LIXC-012 移植モデルでは媒体対照群でみられた体重減少が，レンバチニブ投与により緩和された。これは腫瘍負荷軽減に伴う全身症状の改善のためと考えられた。レンバチニブは，2 種類の PDX モデルにおいて，10 及び 30 mg/kg の用量で，また，PDX 由来肝細胞癌細胞株の移植モデルにおいて，3～30 mg/kg の用量で有意な腫瘍増殖抑制作用を示した。

マウス肝細胞癌細胞株 BNL 1ME A.7R.1 を免疫応答性マウス（同種同系）及び無胸腺マウス（同種異系）に移植したモデルにおいて，レンバチニブは免疫応答性マウスモデルに対し，無胸腺マウスモデルよりも有意に強い腫瘍増殖抑制作用を示した。レンバチニブの経口投与（QD×7，10 mg/kg）により，腫瘍組織内の腫瘍関連マクロファージ（tumor-associated macrophage：TAM）の有意な減少と，腫瘍所属リンパ節内の活性化細胞傷害性 T 細胞の有意な増加がみられた。TAM は腫瘍免疫の抑制，また活性化細胞傷害性 T 細胞等は腫瘍免疫に関わる

とされていることから，免疫応答性マウスの移植モデルでは，レンバチニブの腫瘍増殖抑制作用に，腫瘍免疫の促進作用も貢献している可能性が示唆された。

2.4.3 総括及び結論

肝臓癌は 5 年相対生存率約 30%と予後不良であり（国立がんセンター：がん情報サービス），未だ満足すべき治療法は確立されていない。肝臓癌の 90%を占める肝細胞癌は腫瘍血管網が発達した典型的な多血性腫瘍（Finn and Zhu, 2009）であることから，VEGF 依存の血管新生を標的とした腫瘍血管新生阻害療法が注目され（Zhu, et al., 2011；Zhu, 2012）、ソラフェニブが承認されている（Wilhelm, et al., 2004）。肝細胞癌は一方で，各種 FGFR（FGFR1～4）を発現しており，FGFR シグナルの亢進が癌の悪性形質あるいは予後不良に関連することが示唆されている（Gu, et al., 2015；Huang, et al., 2006；Lee, et al., 2015；Ho, et al., 2009；Sawey, et al., 2011；Miura, et al., 2012）。特に FGF19 を過剰産生する肝細胞癌においては FGF19 と対応する受容体 FGFR4 のオートクリンループによる FGFR シグナルの亢進が肝細胞癌患者全体の約 1/2～1/3 で報告されている（Desnoyers, et al., 2008；French, et al., 2012；Hyeon, et al., 2013；Repana and Ross, 2015）。したがって血管新生阻害に加えて，肝細胞癌の悪性形質にかかわる FGFR を阻害することは，肝細胞癌に対する有効な手段になると考えられる。

レンバチニブはエーザイ筑波研究所で創製されたマルチキナーゼ阻害剤であり，腫瘍血管新生を含む腫瘍の悪性化に関与する複数の RTK を標的とする。本薬の VEGFR2 に対する結合様式は，ソラフェニブを含む既存のマルチキナーゼ阻害剤とは異なることが示されている。レンバチニブは VEGFR1～3 及び RET を阻害定数（K_i）約 1 nmol/L（それぞれ 1.3，0.74，0.71 及び 1.5 nmol/L）で極めて強力に阻害し，FGFR1～3 及び KIT もそれぞれ K_i 値 22，8.2，15 及び 11 nmol/L で強力に阻害する。66 種類のタンパク質キナーゼに対する IC_{50} 値のパネルでは，レンバチニブは VEGFR1～3 及び RET に対し 10 nmol/L 以下，また FGFR1～4，PDGFRα，及び KIT に対して 10～100 nmol/L の IC_{50} 値を示している（初回申請資料）。VEGFR1～3 に加え FGFR1～4 も阻害することは，市販されている既存のマルチキナーゼ阻害剤のなかでの本薬の大きな特徴である（Stjepanovic and Capdevila, 2014；Schlumberger, et al., 2015）。

初回申請では VEGFR2-レンバチニブ複合体の X 線結晶構造解析結果を記載し，レンバチニブの VEGFR2 に対する結合様式は，多くの市販されているマルチキナーゼ阻害剤の結合様式とは異なるタイプであることを示している。今回レンバチニブが，VEGFR2 以外の主要な標的キナーゼであり，VEGFR1～3 とは分子構造上異なるクラスに分類されている FGFR1（Robinson, et al., 2000）に対しても同様の結合様式をとるかどうかを確認するために，新たに FGFR1-レンバチニブ複合体の X 線結晶構造解析を行った。レンバチニブの FGFR1 に対する結合様式は，VEGFR2 に対する結合様式と同じく，type V であること，すなわちレンバチニブがキナーゼドメインの 1) ATP 結合サイト及び，隣接する 2)アロステリック領域に結合すること，キナーゼドメインの 3) DFG モチーフは DFG-in 構造をとる，という type V の基準（Okamoto, et al., 2015）を満たしていることを示した。多くの市販されているマルチキナーゼ阻害剤は 1)と 3)を満たすが 2)を満たさない type I，あるいは 1)と 2)を満たすが 3)を満たさない（DFG-out 構造をとる ）type II（Liao, 2007；Zuccotto, et al., 2010；Blanc, et al., 2013）に分類される。Wu らはレンバチニブ及びレンバチニブより以前に FDA で承認された計 28 のキナーゼ阻害剤の中で唯一レンバチニブのみが type V の結合様式であると報告している（Wu, et al., 2016）。

血管内皮細胞は，VEGFR2 及び FGFR1 を発現しており，VEGF あるいは FGF からのリガンド刺激によって，血管新生等を誘導する 2 つのシグナル伝達経路，MAPK 経路及び mTOR–S6K–S6 経路が活性化される（Matsuki, et al., 2017）。HUVEC を用いた in vitro 細胞系において，

レンバチニブは VEGF あるいは FGF により促進された Erk1/2，S6K，S6 のリン酸化を阻害し，MAPK 経路及び mTOR–S6K–S6 経路の両者を阻害することが確認された。

HUVEC を用いた in vitro 血管新生モデルにおいて，レンバチニブが VEGF 誘導性血管様管腔構造の形成を IC_{50} 値 2.1 nmol/L で阻害することは，初回申請で記載している。今回，HUVEC の FGF 誘導性血管様管腔構造の形成に対するレンバチニブの作用を検討し，IC_{50} 値は 7.3 nmol/L（無血清培地での測定値＝タンパク質非結合型の濃度）であった。一方同時に測定したソラフェニブの IC_{50} 値は 380 nmol/L であり，レンバチニブの約 50 倍の濃度であった。マウスを用いた in vivo 血管新生モデル（dorsal air sac model）において，レンバチニブの経口投与（QD×4）は，VEGF 誘導性及び FGF 誘導性の血管新生を 10 及び 30 mg/kg の用量で有意に，かつそれぞれの用量でほぼ同程度に阻害した。この用量は，本薬がヒトがん移植マウスモデルで腫瘍増殖抑制作用を示す濃度と対応している。一方，ソラフェニブ（QD×4，100 及び 300 mg/kg）は VEGF 誘導性の血管新生は阻害したが，FGF 誘導性の血管新生は阻害しなかった。マウスにおいてレンバチニブの単回投与（10 mg/kg）は，FGFR シグナル阻害の薬力学バイオマーカーとして知られる FGF23（Wöhrle, et al., 2011；Kim, et al., 2011）の血漿中濃度を有意に増加させた。一方，ソラフェニブ単回投与は 30 mg/kg までの投与で有意な増加は示さなかった。以上の結果から，レンバチニブは in vitro 及び in vivo モデルにおいて，VEGF 誘導性血管新生及び FGF 誘導性血管新生の両者を強力に阻害することが示された。VEGF を標的とした血管新生阻害療法では，代償的に FGF 誘導性の血管新生が亢進することが報告されており（Stjepanovic and Capdevila, 2014；Dieci, et al., 2013），レンバチニブが VEGF 誘導性血管新生阻害に加え，ソラフェニブには見られない FGF 誘導性血管新生阻害作用を併せ持つことは，より効果的な血管新生阻害療法を可能にするものと考えられる。

レンバチニブが VEGF 誘導性血管新生及び FGF 誘導性血管新生を阻害することについての非臨床薬理試験成績は，臨床での探索的バイオマーカー解析結果によっても支持される。すなわち，臨床第 3 相 SELECT 試験（303 試験）においてレンバチニブを投与した甲状腺癌患者の血清では投与期間中に VEGFR2 シグナルの阻害を反映する VEGF の継続的な増加と，FGFR1 シグナルの阻害を反映する FGF23 の継続的な増加がともに認められた。303 試験において FGF23 の増加は progression-free survival の延長と関連しており，レンバチニブによる FGFR シグナル阻害が薬効に貢献していることが示唆された（Tahara, et al., 2017）。レンバチニブの肝細胞癌に対する臨床第 3 相 E7080-G000-304 試験（304 試験）のサブグループにおける探索的バイオマーカー解析結果でも本薬投与群の患者血清で同様の VEGF 及び FGF23 の変化，及び血管新生阻害剤に対する腫瘍の耐性化因子として報告されている angiopoietin-2（Rigamonti, et al., 2014）の継続的な減少が示された。一方，本試験で対照としたソラフェニブ投与群の患者血清では，VEGF の増加はみられたものの，FGF23 の増加及び angiopoietin-2 の減少はみられなかった（添付資料 5.3.5.1.1　11.5.1.1.1 項）。

FGF19-FGFR4 オートクリンループにより FGFR シグナルが恒常的に活性化しているヒト肝細胞癌細胞株，Hep 3B2.1-7 及び HuH-7 を用いた試験において，レンバチニブは両細胞の増殖を，IC_{50} 値 86 及び 160 nmol/L（タンパク質非結合型）で濃度依存的に阻害した。また，FGFR の下流に位置するシグナル分子である FRS2 のリン酸化を指標にした試験で，レンバチニブは両細胞の FGFR シグナルを，細胞増殖阻害を示す濃度と同じ範囲の濃度で濃度依存的に阻害した。Hep 3B2.1-7 及び HuH-7 の増殖が FGFR シグナルに依存している（Sawey, et al., 2011；Guagnano, et al., 2012）ことと考え合わせると，レンバチニブの両細胞株に対する細胞増殖阻害作用は，主としてその FGFR 阻害に起因するものと考えられた。このことは，レンバチニブが FGFR シグナルの亢進が報告されていないヒト肝細胞癌細胞株，PLC/PRF/5 の細胞増殖に対しては弱い細胞増殖

阻害作用しか示さないこと（IC_{50}値 3750 nmol/L 以上 [タンパク質非結合型]）でも裏付けられた。レンバチニブは，ヒト肝細胞癌細胞株，SNU-449 において FGF で活性化された FGFR シグナルも阻害した。 一方，ソラフェニブは Hep 3B2.1-7，HuH-7，PLC/PRF/5 の細胞増殖に対して明らかな選択性は示さず，いずれの細胞株に対する阻害も，μmol/L オーダーの IC_{50} 値であったことから，ソラフェニブの細胞増殖阻害作用に FGFR 阻害は大きくは寄与していないと考えられた。ソラフェニブは RAF 阻害が比較的強く，これが細胞増殖阻害作用に寄与していることが報告されている（Wilhelm, et al., 2004）。

以上の非臨床成績は，レンバチニブ 304 試験でのサブグループにおける探索的バイオマーカー解析結果を裏付けていると考えられる。末梢血の FGF19 濃度は、FGFR4 シグナルが阻害されると代償的に増加することから、FGFR4 阻害の薬力学バイオマーカーとして検討されている。マウスモデルでは肝臓の FGFR4 の発現を阻害すると FGF19 のマウス相同分子（オーソログ）である FGF15 の血中濃度が増加することが報告されている（Yu, et al, 2013）。304 試験ではレンバチニブを投与した肝細胞癌患者血清中の FGF19 は投与期間中継続して増加していた。一方，対照としたソラフェニブを投与した肝細胞癌患者血清中の FGF19 は変化しなかった（添付資料 5.3.5.1.1　11.5.1.1.1 項）。この結果は，肝細胞癌患者においてレンバチニブは FGFR4 シグナルを阻害したが，ソラフェニブは FGFR4 シグナルを阻害しなかった可能性を示唆している。

レンバチニブ（QD×7～28，PO）の肝細胞癌に対する腫瘍増殖抑制作用を，PDX を含む 5 種の無胸腺マウス皮下移植モデルで評価した結果，本薬はすべてのモデルで有意な腫瘍増殖抑制作用と高い忍容性を示した。同時にソラフェニブ（QD×7～28，PO）の腫瘍増殖抑制作用を評価した結果を表 2.4-1 にまとめた。同じ用量での比較では，全てのモデルにおいてレンバチニブはソラフェニブより強い腫瘍増殖抑制作用を示した。なお PLC/PRF/5 移植モデルではレンバチニブ（1～100 mg/kg）とソラフェニブ（30～300 mg/kg）の腫瘍増殖抑制作用を比較したところ，レンバチニブは 1 mg/kg から，ソラフェニブは 30 mg/kg からそれぞれ有意な腫瘍増殖抑制作用を示した。腫瘍体積の投与開始日からの処理群での変化／対照群での変化（dT/C）はレンバチニブ 1～100 mg/kg では 63%から最小 14%まで低下したが，ソラフェニブ 30～300 mg/kg では 43%～30%の範囲であった。Hep 3B2.1-7 及び肝細胞癌 PDX 由来細胞株 LIXC-012 では FGF19-FGFR4 オートクリンループによる FGFR シグナルの恒常的活性化が報告されている（Sawey, et al., 2011 ; Guagnano, et al., 2012 ; Hagel, et al., 2015）。両モデルでみられたレンバチニブのソラフェニブより強い腫瘍増殖抑制作用には，本薬の FGFR 阻害に基づく細胞増殖抑制作用も寄与していると考えられる。Hep 3B2.1-7 移植モデルでは腫瘍内の微小血管密度（MVD）も評価したところ，レンバチニブは同じ用量のソラフェニブより強い血管新生阻害作用（腫瘍内 MVD 減少）を示した。LIXC-012 移植モデルでは，腫瘍増殖抑制作用に加え，腫瘍負荷の低減による全身症状の改善に伴うと考えられる体重減少の抑制でもレンバチニブはソラフェニブより強い効果を示した。すなわち媒体対照群で観察されたカケクシアによるとみられる強い体重減少が，レンバチニブ（10 及び 30 mg/kg）では大幅に緩和されたが，同用量のソラフェニブでは緩和されなかった。2 種類の PDX モデル（LI0050 及び LI0334）においてレンバチニブは 10 及び 30 mg/kg で有意な腫瘍増殖抑制作用を示したのに対し，30 mg/kg のソラフェニブは，忍容性を示さない（LI0050 モデル：薬効評価日までに 5/15 匹のマウスが死亡）か，あるいは有意な腫瘍増殖抑制作用を示さなかった（LI0334 モデル）。

以上，様々なヒト肝細胞癌移植モデルにおいて，レンバチニブはソラフェニブと比較し，より強い腫瘍増殖抑制作用とより高い忍容性を示した。肝細胞癌 PDX モデルでの両化合物の比較は Gu ら（2015）も報告しており，FGFR1 過剰発現が認められた複数の肝細胞癌 PDX モデルにおいて，レンバチニブ（30 mg/kg）はソラフェニブ（60 mg/kg）より優れた腫瘍増殖抑制作用と

弱い体重減少を示している（Gu, et al., 2015）。

表 2.4-1 ヒト肝細胞癌移植マウスモデルにおけるレンバチニブとソラフェニブの薬効比較

移植モデル 投与法 用量	レンバチニブ dT/C					ソラフェニブ dT/C		
	1 mg/kg	3 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	100 mg/kg	10 mg/kg	30 mg/kg	100, 200, 300 mg/kg
PLC/PRF/5 QD×14	63%	54%	29%	14%	16%	NS	35%	30～43%
Hep.3B2.1-7 QD×7	—	56%	51%	31%	—	73%	47%	—
LIXC-012 QD×14[a]	—	61%	43%	25%	—	NS	55%	—
PDX (LI0050) QD×28	—	—	46%	33%	—	—	NA[b]	—
PDX (LI0334) QD×28	—	—	25%	14%	—	—	NS	—

有意な腫瘍増殖抑制作用がみられた場合に dT/C の値を示す。
a 媒体対照群（vehicle 1，vehicle 2）で Day11 の測定以降，過剰の腫瘍負荷あるいは顕著な体重減少により，それぞれ 2/8 及び 3/8 匹のマウスを除いた。このため dT/C は Day 11 に評価した。
b Day 10～19 にかけて 5/15 匹のマウスが死亡したため腫瘍増殖抑制作用の統計解析（Day 29）を実施せず。
dT/C＝ 処理群の変化/対照群の変化の比，NA＝ 該当せず，NS＝ 有意差なし（媒体対照群との比較），—＝ 実験なし.

悪性度の高いがんは，がん周囲の腫瘍微小環境を免疫抑制的な環境に変化させて宿主からの免疫攻撃を回避していると言われており，近年，その免疫抑制機構を標的とした様々な抗がん剤の開発が進んでいる（Hanahan and Weinberg, 2011）。TAM は，免疫抑制性フェノタイプをもつタイプ 2 マクロファージの一種で，肝細胞癌を含む多くの腫瘍組織に集積し，予後不良に関係している（Joyce and Pollard, 2009 ; Ding, et al., 2009 ; Heusinkveld and van der Burg, 2011）。TAM は TGFβ，IL-10，VEGF，FGF 等のサイトカイン・ケモカインの産生を介して，細胞傷害性 T 細胞（エフェクターT 細胞）のがん細胞攻撃を抑止する。また腫瘍血管新生を促進することによって、がんを増悪化させる（Pollard, 2004 ; Riabov, et al, 2014 ; Noy and Pollard, 2014）。このことから TAM の機能を抑制することは、腫瘍免疫を賦活するための新しいアプローチとして注目されている。マウス肝細胞癌細胞株（BNL 1ME A.7R.1）を免疫応答性マウス（同種同系）及び無胸腺マウス（同種異系）に移植したモデルにおいて，レンバチニブは免疫応答性マウスモデルに対し，無胸腺マウスモデルよりも有意に強い腫瘍増殖抑制作用を示した。レンバチニブの経口投与（QD×7，10 mg/kg）により，腫瘍組織内での TAM のポピュレーションの有意な減少と，腫瘍所属リンパ節内での活性化細胞傷害性 T 細胞のポピュレーションの有意な増加がみられた。この結果より，免疫応答性マウスの移植モデルでは，レンバチニブの腫瘍増殖抑制作用に，腫瘍免疫の促進作用も貢献している可能性が示唆された。

以上，レンバチニブは VEGF 誘導性の血管新生のみならず FGF 誘導性の血管新生も抑制すること，FGFR シグナルが亢進している肝細胞癌細胞に対しては FGFR シグナル抑制に基づく直接の細胞増殖抑制作用も期待できること，PDX を含む様々なヒト肝細胞癌移植マウスモデルにおいてソラフェニブよりも優れた腫瘍増殖抑制作用を発揮すること等を示した。また腫瘍微小環境においてレンバチニブが腫瘍免疫担当細胞のポピュレーションを変化させることで腫瘍免疫を促進する可能性も示唆された。これらの非臨床成績は本薬が肝細胞癌に対し，有効な治療法を提供し得ることを裏付けている。

2.4.4 参考文献一覧

Blanc J, Geney R, Menet C. Type II kinase inhibitors: an opportunity in cancer for rational design. Anticancer Agents Med Chem. 2013;13(5):731–47.

Desnoyers LR, Pai R, Ferrando RE, Hötzel K, Le T, Ross J, et al. Targeting FGF19 inhibits tumor growth in colon cancer xenograft and FGF19 transgenic hepatocellular carcinoma models. Oncogene. 2008;27(1):85–97.

Dieci MV, Arnedos M, Andre F, Soria JC. Fibroblast growth factor receptor inhibitors as a cancer treatment: from a biologic rationale to medical perspectives. Cancer Discov. 2013;3(3):264–79.

Ding T, Xu J, Wang F, Shi M, Zhang Y, Li SP, et al. High tumor-infiltrating macrophage density predicts poor prognosis in patients with primary hepatocellular carcinoma after resection. Hum Pathol. 2009;40(3):381–9.

Finn RS, Zhu AX. Targeting angiogenesis in hepatocellular carcinoma: focus on VEGF and bevacizumab. Expert Rev Anticancer Ther. 2009;9(4):503–9.

French DM, Lin BC, Wang M, Adams C, Shek T, Hötzel K, et al. Targeting FGFR4 inhibits hepatocellular carcinoma in preclinical mouse models. PLoS One. 2012;7(5):e36713.

Funahashi Y, Wakabayashi T, Semba T, Sonoda J, Kitoh K, Yoshimatsu K. Establishment of a quantitative mouse dorsal air sac model and its application to evaluate a new angiogenesis inhibitor. Oncol Res. 1999;11(7):319–29.

Gu Q, Zhang B, Sun H, Xu Q, Tan Y, Wang G, et al. Genomic characterization of a large panel of patient-derived hepatocellular carcinoma xenograft tumor models for preclinical development. Oncotarget. 2015;6(24):20160–76.

Guagnano V, Kauffmann A, Wöhrle S, Stamm C, Ito M, Barys L, et al. FGFR genetic alterations predict for sensitivity to NVP-BGJ398, a selective pan-FGFR inhibitor. Cancer Discov. 2012;2(12):1118–33.

Hagel M, Miduturu C, Sheets M, Rubin N, Weng W, Stransky N, et al. First Selective Small Molecule Inhibitor of FGFR4 for the Treatment of Hepatocellular Carcinomas with an Activated FGFR4 Signaling Pathway. Cancer Discov. 2015;5(4):424–37.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011;144(5):646–74.

Heusinkveld M, van der Burg SH. Identification and manipulation of tumor associated macrophages in human cancers. J Transl Med. 2011;9:216.

Ho HK, Pok S, Streit S, Ruhe JE, Hart S, Lim SK, et al. Fibroblast growth factor receptor 4 regulates

proliferation, anti-apoptosis and alpha-fetoprotein secretion during hepatocellular carcinoma progression and represents a potential target for therapeutic intervention. J Hepatol. 2009;50(1):118–27.

Huang X, Yu C, Jin C, Kobayashi M, Bowles CA, Wang F, et al. Ectopic activity of fibroblast growth factor receptor 1 in hepatocytes accelerates hepatocarcinogenesis by driving proliferation and vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis. Cancer Res. 2006;66(3):1481–90.

Hyeon J, Ahn S, Lee JJ, Song DH, Park CK. Expression of fibroblast growth factor 19 is associated with recurrence and poor prognosis of hepatocellular carcinoma. Dig Dis Sci. 2013;58(7):1916–22.

Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. Nat Rev Cancer. 2009;9(4):239–52.

Kim KB, Chesney J, Robinson D, Gardner H, Shi MM, Kirkwood JM. Phase I/II and pharmacodynamic study of dovitinib (TKI258), an inhibitor of fibroblast growth factor receptors and VEGF receptors, in patients with advanced melanoma. Clin Cancer Res. 2011;17(23):7451–61.

Lee HJ, Kang HJ, Kim KM, Yu ES, Kim KH, Kim SM, et al. Fibroblast growth factor receptor isotype expression and its association with overall survival in patients with hepatocellular carcinoma. Clin Mol Hepatol. 2015;21(1):60–70.

Liao JJ. Molecular recognition of protein kinase binding pockets for design of potent and selective kinase inhibitors. J Med Chem. 2007;50(3):409–24.

Matsuki M, Adachi Y, Ozawa Y, Kimura T, Hoshi T, Okamoto K, et al. Targeting of tumor growth and angiogenesis underlies the enhanced antitumor activity of lenvatinib in combination with everolimus Cancer Sci. 2017;108(4):763–71.

Miura S, Mitsuhashi N, Shimizu H, Kimura F, Yoshidome H, Otsuka M, et al. Fibroblast growth factor 19 expression correlates with tumor progression and poorer prognosis of hepatocellular carcinoma. BMC Cancer. 2012;12:56.

Noy R, Pollard JW. Tumor-associated macrophages: From mechanisms to therapy. Immunity. 2014;41(1):49–61.

Okamoto K, Ikemori-Kawada M, Jestel A, von König K, Funahashi Y, Matsushima T, et al. Distinct binding mode of multikinase inhibitor lenvatinib revealed by biochemical characterization. ACS Med Chem Lett. 2015;6(1):89–94.

Pollard JW. Tumor-educated macrophages promote tumor progression and metastasis. Nat Rev Cancer 2004;4(1):71–8.

Repana D, Ross P. Targeting FGF19/FGFR4 pathway: A novel therapeutic strategy for hepatocellular

carcinoma. Diseases. 2015;3:294–305.

Riabov V, Gudima A, Wang N, Mickley A, Orekhov A, Kzhyshkowska J. Role of tumor associated macrophages in tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. Front Physiol. 2014;5:75.

Rigamonti N, Kadioglu E, Keklikoglou I, Wyser Rmili C, Leow CC, De Palma M. Role of angiopoietin-2 in adaptive tumor resistance to VEGF signaling blockade. Cell Rep. 2014;8(3):696–706.

Robinson DR, Wu YM, Lin SF. The protein tyrosine kinase family of the human genome. Oncogene. 2000;19(49):5548–57.

Sawey ET, Chanrion M, Cai C, Wu G, Zhang J, Zender L, et al. Identification of a therapeutic strategy targeting amplified FGF19 in liver cancer by Oncogenomic screening. Cancer Cell. 2011;19(3):347–58.

Schlumberger M, Tahara M, Wirth LJ, Robinson B, Brose MS, Elisei R, et al. Lenvatinib versus placebo in radioiodine-refractory thyroid cancer. N Engl J Med. 2015;372(7):621–30.

Stjepanovic N, Capdevila J. Multikinase inhibitors in the treatment of thyroid cancer: specific role of lenvatinib. Biologics:Targets and Therapy. 2014;8:129–39.

Tahara M, Schlumberger M, Elisei R, Habra MA, Kiyota N, Paschke R, et al. Exploratory analysis of biomarkers associated with clinical outcomes from the study of lenvatinib in differentiated cancer of the thyroid. Eur J Cancer. 2017;75:213–221.

Wilhelm SM, Carter C, Tang L, Wilkie D, McNabola A, Rong H, et al. BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral antitumor activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and receptor tyrosine kinases involved in tumor progression and angiogenesis. Cancer Res. 2004;64(19):7099–109.

Wöhrle S, Bonny O, Beluch N, Gaulis S, Stamm C, Scheibler M, et al. FGF receptors control vitamin D and phosphate homeostasis by mediating renal FGF-23 signaling and regulating FGF-23 expression in bone. J Bone Miner Res. 2011;26(10):2486–97.

Wu P, Nielsen TE, Clausen MH. Small-molecule kinase inhibitors: an analysis of FDA-approved drugs. Drug Discov Today. 2016;21(1):5–10.

Yu XX, Watts LM, Manchem VP, Chakravarty K, Monia BP, McCaleb ML, et al. Peripheral reduction of FGFR4 with antisense oligonucleotides increases metabolic rate and lowers adiposity in diet-induced obese mice. PLoS One. 2013;8(7):e66923.

Zhu AX, Duda DG, Sahani DV, Jain RK. HCC and angiogenesis: possible targets and future directions. Nat Rev Clin Oncol. 2011;8(5):292–301.

Zhu AX. Molecularly targeted therapy for advanced hepatocellular carcinoma in 2012. Current status and future perspectives. Semin Oncol. 2012;39:493–502.

Zuccotto F, Ardini E, Casale E, Angiolini M. Through the "gatekeeper door": Exploiting the active kinase conformation. J Med Chem. 2010;53(7):2681–94.