# 2.6.1　緒言

## 2.6.1.1　名称及び化学構造式

ギルテリチニブフマル酸塩の名称及び化学構造式は以下のとおりである。

一般名：INN: gilteritinib

JAN:（日本名）ギルテリチニブフマル酸塩,（英名）Gilteritinib Fumarate

化学名：6-エチル-3-{3-メトキシ-4-[4-(4-メチルピペラジン-1-イル)ピペリジン-1-イル]アニリノ}-5-[(オキサン-4-イル)アミノ]ピラジン-2-カルボキサミド　ヘミフマル酸塩

構造式：

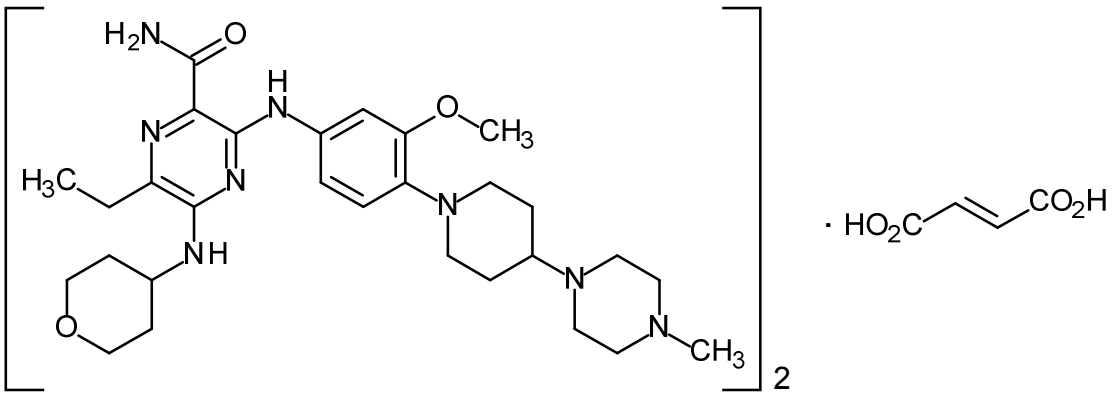


図 2.6.1- 1　　ギルテリチニブフマル酸塩の構造式

## 2.6.1.2　ギルテリチニブフマル酸塩の薬理作用

ギルテリチニブフマル酸塩は，Fms 様チロシンキナーゼ 3（FMS-like tyrosine kinase 3：FLT3）に対する阻害活性を有する。ギルテリチニブフマル酸塩は，FLT3 活性化変異を有する種々の細胞の増殖を阻害した。また，ギルテリチニブフマル酸塩は，ヒト急性骨髄性白血病細胞株を皮下に移植したマウスにおいては腫瘍の増殖を抑制し，同細胞を骨髄に移植したマウスでは腫瘍増殖を抑制し延命効果を示した。

## 2.6.1.3　効能・効果

再発又は難治性の *FLT3* 遺伝子変異陽性の急性骨髄性白血病

## 2.6.1.4　用法・用量

通常，成人にはギルテリチニブとして 120 mg を 1 日 1 回経口投与する。なお，患者の状態により適宜増減するが，1 日 1 回 200 mg を超えないこと。

# 目次

2.6.2 薬理試験の概要文 ..... 3
2.6.2.1 まとめ ..... 5
2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験 ..... 5
2.6.2.1.2 副次的薬理試験 ..... 7
2.6.2.1.3 安全性薬理試験 ..... 7
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 ..... 8
2.6.2.2.1 各種チロシンキナーゼに対するギルテリチニブフマル酸塩の阻害作用 ..... 8
2.6.2.2.2 変異型 FLT3 を発現させた Ba/F3 細胞株に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用 ..... 9
2.6.2.2.3 ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用 ..... 9
2.6.2.2.4 ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞皮下移植担癌マウスにおけるギルテリチニブフマル酸塩の作用 ..... 10
2.6.2.2.5 ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞脛骨骨髄内移植担癌モデルにおけるギルテリチニブフマル酸塩の腫瘍増殖抑制作用及び延命効果 ..... 11
2.6.2.2.6 ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞皮下移植担癌モデルにおけるギルテリチニブフマル酸塩単回投与後の血漿中ギルテリチニブ濃度及び腫瘍内ギルテリチニブ濃度の経時変化 ..... 12
2.6.2.3 副次的薬理試験 ..... 13
2.6.2.3.1 EML4-ALK 変異体を発現させた 3T3 細胞（マウスの皮膚に由来する繊維芽細胞培養細胞株）及び NCI-H2228 細胞（ヒト NSCLC 細胞株）に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用 ..... 13
2.6.2.3.2 各種受容体，イオンチャネル及びトランスポーターに対する親和性並びに酵素反応に対する作用 ..... 13
2.6.2.4 安全性薬理試験 ..... 14
2.6.2.4.1 コアバッテリー試験 ..... 14
2.6.2.4.2 フォローアップ試験 ..... 16
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 17
2.6.2.6 考察及び結論 ..... 17
2.6.2.6.1 薬理作用及び作用機序 ..... 17

2.6.2.6.2　非臨床試験及び臨床試験成績の関連性（薬効用量と有効性）.....18
2.6.2.6.3　安全性薬理.....18
2.6.2.7　図表.....19
2.6.2.8　参考文献.....19

## 表

表 2.6.2- 1　略号及び用語の定義一覧.....3
表 2.6.2- 2　各種チロシンキナーゼに対するギルテリチニブフマル酸塩の阻害作用.....8
表 2.6.2- 3　ギルテリチニブフマル酸塩を単回投与した MV4-11 細胞皮下移植担癌モデルにおける血漿中（A）及び腫瘍内（B）ギルテリチニブ薬物動態パラメータ.....12

## 図

図 2.6.2- 1　MV4-11 細胞皮下移植担癌モデルにおけるギルテリチニブフマル酸塩の抗腫瘍作用.....10
図 2.6.2- 2　MV4-11 細胞脛骨骨髄内移植担癌モデルにおけるギルテリチニブフマル酸塩の抗腫瘍作用.....11
図 2.6.2- 3　MV4-11 細胞脛骨骨髄内移植担癌モデルにおけるギルテリチニブフマル酸塩のカプラン・マイヤー曲線.....12

## 2.6.2　薬理試験の概要文

本項で使用した略号及び用語の定義一覧を表 2.6.2- 1 に示す。

**表 2.6.2- 1　　略号及び用語の定義一覧**

| 略号及び用語 | 定義 |
|---|---|
| AKT | AKT tyrosine kinase（AKT キナーゼ） |
| ALK | Anaplastic lymphoma kinase（未分化リンパ腫キナーゼ） |
| Amax | Action-potential amplitude（活動電位最大振幅） |
| AML | Acute myeloid leukemia（急性骨髄性白血病） |
| $APD_{30}$ | Action potential duration at 30% repolarization（30%再分極時の活動電位の持続時間） |
| $APD_{50}$ | Action potential duration at 50% repolarization（50%再分極時の活動電位の持続時間） |
| $APD_{90}$ | Action potential duration at 90% repolarization（90%再分極時の活動電位の持続時間） |
| $AUC_t$ | Area under the concentration versus time curve from time zero to t h after dosing（投与後時間 0 から時間 t までの濃度–時間曲線下面積） |
| AXL | AXL tyrosine kinase（AXL キナーゼ） |
| $Ca_V1.2$ | $Ca_V1.2$ カルシウムチャネル |
| CHO 細胞 | チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 |
| $C_{max}$ | Maximum concentration（最高濃度） |
| $C_{max, u}$ | Unbound maximum concentration（最高非結合型濃度） |
| DMSO | Dimethylsulfoxide（ジメチルスルホキシド） |
| ERK | Extracellular signal-regulated kinase（細胞外シグナル制御キナーゼ） |
| EML4 | Echinoderm microtubule-associated protein-like 4（棘皮動物微小管結合蛋白質様 4） |
| FLT3 | FMS-like tyrosine kinase 3（Fms 様チロシンキナーゼ 3） |
| FLT3-ITD | FLT3-Internal tandem duplication（FLT3 遺伝子内縦列重複） |
| FLT3-D835Y | 835 番目のアミノ酸残基であるアスパラギン酸がチロシンに置換された FLT3 |
| FLT3-ITD-D835Y | FLT3 の ITD 変異及び 835 番目のアミノ酸残基であるアスパラギン酸のチロシンへの置換 |
| HEK293 細胞 | ヒト胎児腎臓由来 293 細胞 |
| hERG | Human *ether-a-go-go*-related gene（ヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子） |
| hERG 電流 | hERG チャネルを介するカリウム電流 |
| $IC_{50}$ | Concentration with 50% inhibition（50%阻害濃度） |
| $K_{ir}2.1$ | $K_{ir}2.1$ カリウムチャネル |
| KIT | KIT tyrosine kinase（KIT キナーゼ） |
| $K_V4.3$ | $K_V4.3$ カリウムチャネル |
| $K_V7.1$/minK | $K_V7.1$/minK カリウムチャネル |
| LTK | Leukocyte tyrosine kinase（白血球チロシンキナーゼ） |
| NPM1 | Nucleophosmin 1（ヌクレオフォスミン 1） |
| $Na_V1.5$ | $Na_V1.5$ ナトリウムチャネル |
| NSCLC | Non-small cell lung cancer（非小細胞肺癌） |
| MER | MER tyrosine kinase（MER キナーゼ） |
| RET | RET tyrosine kinase（RET キナーゼ） |
| RMP | Resting membrane potential（静止膜電位） |
| ROS | ROS tyrosine kinase（ROS キナーゼ） |
| SD | Sprague Dawley（スプラーグ・ドーリー） |
| STAT5 | Signal transducer and activator of transcription 5（シグナル伝達性転写因子 5） |
| STV | Short term variability for $APD_{90}$（$APD_{90}$ の短期的ばらつき） |

| 略号及び用語 | 定義 |
|---|---|
| $t_{1/2}$ | Elimination half-life（消失半減期） |
| $t_{max}$ | Time to maximum concentration：最高濃度到達時間 |
| TRKA | Tropomyosin receptor kinase A（トロポミオシン受容体キナーゼ A） |

## 2.6.2.1 まとめ

ギルテリチニブフマル酸塩は，アステラス製薬株式会社が寿製薬株式会社と共同で見いだしたFms 様チロシンキナーゼ 3（FMS-like tyrosine kinase 3：FLT3）チロシンキナーゼ阻害薬である。今回の申請にあたり，本薬の薬理学的特性を明らかにする目的で，以下の各種試験を実施した。

効力を裏付ける試験として，FLT3 キナーゼ阻害作用，変異型 FLT3 を発現させた Ba/F3 細胞株及び FLT3 遺伝子内縦列重複（FLT3-Internal tandem duplication：FLT3-ITD）を発現するヒト急性骨髄性白血病（acute myeloid leukemia：AML）細胞株である MV4-11 細胞に対する増殖阻害作用及び FLT3 リン酸化阻害作用，MV4-11 細胞皮下異種移植マウス担癌モデルにおける抗腫瘍作用、MV4-11 細胞骨髄異種移植マウス担癌モデルにおける腫瘍増殖抑制作用及び延命作用を検討した。

さらに，安全性薬理試験としてコアバッテリー試験及びフォローアップ試験を実施した。ヒト標本を使用したフォローアップ試験を除き，いずれの試験も「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準」適合試験として「安全性薬理試験ガイドライン」に準拠して実施した。

なお，本資料中の被験物質の投与量，血漿中未変化体濃度及び処置濃度は，ギルテリチニブ換算値で表記した。以下に，本薬の効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験の成績をまとめた。

### 2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

**各種チロシンキナーゼに対するギルテリチニブフマル酸塩の阻害作用**

ギルテリチニブフマル酸塩は，1 及び 5 nmol/L で FLT3，ヌクレオフォスミン 1（nucleophosmin 1：NPM1）-未分化リンパ腫キナーゼ（anaplastic lymphoma kinase：ALK）融合キナーゼ，白血球チロシンキナーゼ（leukocyte tyrosine kinase：LTK），ALK 及び AXL キナーゼ（AXL tyrosine kinase：AXL）の活性を 50%以上阻害した。FLT3，LTK，AXL，棘皮動物微小管結合蛋白質様 4（echinoderm microtubule-associated protein-like 4：EML4）-ALK バリアント 1 融合キナーゼ及び KIT キナーゼ（KIT tyrosine kinase：KIT）の活性に対する本薬の 50%阻害濃度（concentration with 50% inhibition：$IC_{50}$）値は，それぞれ 0.291，0.350，0.726，1.2 及び 229 nmol/L であった。

**変異型 FLT3 を発現させた Ba/F3 細胞株に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用**

ギルテリチニブフマル酸塩は，FLT3-ITD，835 番目のアミノ酸残基が置換された FLT3（FLT3-D835Y）又はそのいずれも併せ持つ FLT3（FLT3-ITD-D835Y）を発現させた Ba/F3 細胞の増殖を阻害し，その $IC_{50}$ 値はそれぞれ 1.8，1.6 及び 2.1 nmol/L であった。これらの細胞においてギルテリチニブフマル酸塩の処理により FLT3 のリン酸化が抑制された。また，FLT3 のシグナル伝達系の下流にあるシグナル伝達性転写因子 5（signal transducer and activator of transcription 5：STAT5），AKT キナーゼ（AKT tyrosine kinase：AKT）及び細胞外シグナル制御キナーゼ（extracellular signal-regulated kinase：ERK）のリン酸化も抑制された。

**ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用**

ギルテリチニブフマル酸塩は，FLT3-ITD を発現するヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞の増殖を阻害し，その $IC_{50}$ 値は 0.92 nmol/L であった。ギルテリチニブフマル酸塩で処置した MV4-11 細胞において，FLT3 のリン酸化が抑制された。また，この細胞において FLT3 シグナル伝達系の下流にある STAT5，AKT，ERK のリン酸化も阻害された。ギルテリチニブフマル酸塩は，3 及び 10 nmol/L で G1 期細胞の割合を有意に増加させたことから，MV4-11 細胞の細胞周期を停止させることが示唆された。また，ギルテリチニブフマル酸塩は 3，10 及び 30 nmol/L で MV4-11 細胞におけるアネキシン V 陽性細胞の割合を有意に増加させたことから，MV4-11 細胞のアポトーシスを誘導することが示された。

**ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞皮下移植担癌マウスにおけるギルテリチニブフマル酸塩の作用**

MV4-11 細胞皮下移植担癌マウスにギルテリチニブフマル酸塩を 28 日間反復経口投与した。その結果，ギルテリチニブフマル酸塩は MV4-11 腫瘍の増殖を有意に阻害し，腫瘍退縮を誘導した。特に，6 及び 10 mg/kg/日投与群において 6 匹中それぞれ 4 匹及び 6 匹で腫瘍の完全退縮が認められた。いずれの用量においてもマウスの体重に対する影響は認められなかった。また，同担癌マウスにギルテリチニブフマル酸塩を単回経口投与したところ，1，3，6 及び 10 mg/kg 投与群において腫瘍における FLT3 及び STAT5 のリン酸化が抑制された。

**ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞脛骨骨髄内移植マウスにおけるギルテリチニブフマル酸塩の腫瘍増殖抑制作用及び延命作用**

ルシフェラーゼ発現ベクターを組み込んだ MV4-11 細胞を脛骨骨髄内に移植した担癌マウスにギルテリチニブフマル酸塩 30 mg/kg/日を移植後 15 日目から 70 日目まで反復経口投与した。その結果，ギルテリチニブフマル酸塩投与群で腫瘍増殖が抑制された。また，対照群の生存期間中央値は 61.5 日であったのに対し，ギルテリチニブフマル酸塩投与群では 168 日目までの観察期間中に死亡例は確認されなかった。

**ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞皮下移植マウスにおけるギルテリチニブフマル酸塩単回投与後の血漿中ギルテリチニブ濃度及び腫瘍内ギルテリチニブ濃度の経時変化**

MV4-11 細胞を皮下に異種移植したマウスにギルテリチニブフマル酸塩 1，6 又は 10 mg/kg を単回経口投与した後の血漿中ギルテリチニブ濃度及び腫瘍内ギルテリチニブ濃度の経時変化を検討した。ギルテリチニブの血漿中濃度はいずれの用量においても投与後 2 時間で最大に達し，腫瘍内濃度は 1，6 又は 10 mg/kg 投与群において投与後それぞれ 4，8 及び 8 時間で最大に達した。

### 2.6.2.1.2 副次的薬理試験

**EML4-ALK 変異体を発現させた 3T3 細胞（マウスの皮膚に由来する繊維芽細胞培養細胞株）及び NCI-H2228 細胞（ヒト非小細胞肺癌［non-small cell lung cancer：NSCLC］細胞株）に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用**

ギルテリチニブフマル酸塩は，EML4-ALK バリアント 1，2 又は 3 融合タンパク質を発現させた 3T3 細胞の増殖を阻害し，その $IC_{50}$ 値はそれぞれ 0.42，0.50 及び 0.95 nmol/L であった。また，EML4-ALK バリアント 3 融合タンパク質を内在するヒト NSCLC 細胞である NCI-H2228 細胞の増殖を阻害し，その $IC_{50}$ 値は 0.74 nmol/L であった。ギルテリチニブフマル酸塩で処置した NCI-H2228 細胞で ALK のリン酸化が抑制された。

**各種受容体，イオンチャネル及びトランスポーターに対する親和性並びに酵素反応に対する作用**

ギルテリチニブフマル酸塩は，アデノシン $A_1$ 受容体（ラット），セロトニン $5HT_1$ 受容体（非選択的，ラット），セロトニン $5HT_{2B}$ 受容体（ヒト）及びシグマ受容体（非選択的，モルモット）に対する放射性リガンドの特異的結合を阻害し，その $IC_{50}$ 値はそれぞれ 4.57，4.90，0.190 及び 0.615 μmol/L であった。ギルテリチニブフマル酸塩は，細胞機能アッセイにおいてヒト $5HT_{2B}$ 受容体の機能を阻害し，$IC_{50}$ 値は 5.82 μmol/L であったが，アゴニスト活性を示さなかった。

### 2.6.2.1.3 安全性薬理試験

コアバッテリー試験として，中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対する作用を検討した。スプラーグ・ドーリー（Sprague Dawley：SD）系ラットに本薬（10～100 mg/kg）を単回経口投与した際の一般症状及び行動に及ぼす影響を Irwin の変法に従って検討したところ，30 mg/kg 以上の投与量で排尿した動物数の減少，100 mg/kg では更に排便した動物数の減少が認められた。これらの所見は，追加試験により，可逆的なものであることが確認された。In vitro 電気生理学的試験において，本薬（1～30 μmol/L）はヒト胎児腎臓由来 293 細胞（HEK293 細胞）におけるヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子（human *ether-a-go-go*-related gene：hERG）チャネルを介するカリウム電流を濃度依存的に抑制し，$IC_{50}$ 値は 16 μmol/L（8.84 μg/mL）であった。また，無麻酔ビーグル犬に本薬（1～100 mg/kg）を単回経口投与した際の心血管系及び呼吸系に及ぼす影響についてテレメトリーを用いて検討した結果，体温，血圧，心拍数，心電図，呼吸数及び血液ガスには影響は認められなかったが，3 mg/kg で空吐，10 mg/kg より嘔吐及び便潜血反応陽性，30 mg/kg では血中カルシウム濃度の減少，100 mg/kg では流涎及び血中カルシウム濃度の増加及び減少がそれぞれ認められた。

フォローアップ試験として，心血管系に対する作用を検討した。本薬（0.1～10 μmol/L）の心筋イオンチャネルに及ぼす影響をヒト由来の各種心筋チャネル（$Na_V1.5$ ナトリウムチャネル［$Na_V1.5$］，$Ca_V1.2$ カルシウムチャネル［$Ca_V1.2$］，$K_V7.1$/minK カリウムチャネル［$K_V7.1$/minK］，$K_V4.3$ カリウムチャネル［$K_V4.3$］及び $K_{ir}2.1$ カリウムチャネル［$K_{ir}2.1$］）を発現させた HEK293 細胞あるいはチャイニーズハムスター卵巣由来細胞（CHO 細胞）を用いて検討したところ，本薬

は 1 μmol/L（553 ng/mL）以上の濃度で $Ca_V1.2$ 及び $K_V7.1$/minK を介した電流を増加させた。また，本薬（0.1～10 μmol/L）の hERG trafficking に及ぼす影響を hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を用いて検討したところ，10 μmol/L（5.53 μg/mL）の濃度まで hERG trafficking に影響を及ぼさなかった。さらに参考情報であるが，脳死した健康成人男性ドナーの心室プルキンエ線維標本を用いた微小電極法により，本薬（0.05570～4.245 μmol/L）の静止膜電位（resting membrane potential：RMP），活動電位最大振幅（action-potential amplitude：Amax），30%，50%及び 90%再分極時の活動電位の持続時間（action potential duration at 30%, 50%, and 90% repolarization：$APD_{30}$，$APD_{50}$ 及び $APD_{90}$），第 3 相における三角形化（90%再分極時の活動電位持続時間と 30%再分極時の活動電位持続時間の差）及び $APD_{90}$ の短期的ばらつき（short term variability for $APD_{90}$：STV）に対する影響を検討したところ，本薬は 4.245 μmol/L（2346 ng/mL）の濃度までいずれのパラメータにも影響を及ぼさなかった。

## 2.6.2.2　効力を裏付ける試験

### 2.6.2.2.1　各種チロシンキナーゼに対するギルテリチニブフマル酸塩の阻害作用

‥‥‥‥ 添付資料 4.2.1.1-1, 2, 3

79 種のチロシンキナーゼに対するギルテリチニブフマル酸塩の阻害活性を調べた。ギルテリチニブフマル酸塩は，1 nmol/L で FLT3，NPM1-ALK 融合キナーゼ，LTK，ALK 及び AXL キナーゼの活性を 50%以上阻害し，5 nmol/L ではさらにトロポミオシン受容体キナーゼ A（tropomyosin receptor kinase A：TRKA），ROS キナーゼ（ROS tyrosine kinase：ROS），RET キナーゼ（RET tyrosine kinase：RET）及び MER キナーゼ（MER tyrosine kinase：MER）の活性を 50%以上阻害した（表 2.6.2- 2）。

**表 2.6.2- 2　　各種チロシンキナーゼに対するギルテリチニブフマル酸塩の阻害作用**

| キナーゼ | 阻害率% | |
|---|---|---|
| | ギルテリチニブフマル酸塩 (nmol/L) | |
| | 1 | 5 |
| FLT3 | 86.8 | 96.4 |
| NPM1-ALK | 82.2 | 99.5 |
| LTK | 81.8 | 97.5 |
| ALK | 76.1 | 97.6 |
| AXL | 54.3 | 85.5 |
| TRKA | 38.3 | 74.9 |
| ROS | 35.0 | 71.7 |
| RET | 26.0 | 65.5 |
| MER | 21.5 | 55.7 |

n=1，duplicate

（添付資料 4.2.1.1-1 表 7 を改変）

ギルテリチニブフマル酸塩の FLT3，LTK 及び AXL の各キナーゼに対する $IC_{50}$ 値はそれぞれ 0.291，0.350 及び 0.726 nmol/L であった。また，ギルテリチニブフマル酸塩は EML4-ALK バリアント 1 キナーゼ及び受容体型チロシンキナーゼの一つである KIT を阻害し，その $IC_{50}$ 値は 1.2 及び 229 nmol/L であった。

#### 2.6.2.2.2 変異型 FLT3 を発現させた Ba/F3 細胞株に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用

‥‥‥‥ 添付資料 4.2.1.1-4, 5

FLT3-ITD，FLT3-D835Y 又は FLT3-ITD-D835Y を発現させた Ba/F3 細胞の増殖に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用を調べた。ギルテリチニブフマル酸塩は，これらの細胞の増殖を阻害し，その $IC_{50}$ 値はそれぞれ 1.8，1.6 及び 2.1 nmol/L であった。

これらの細胞の FLT3 リン酸化に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用を調べた。ギルテリチニブフマル酸塩（0.1，1 又は 10 nmol/L）で処置した FLT3 のリン酸化率は溶媒対照群と比較し，FLT3-ITD を発現させた Ba/F3 細胞においてそれぞれ 78%，34%又は 3%，FLT3-D835Y を発現させた Ba/F3 細胞においてそれぞれ 74%，45%又は 1%，FLT3-ITD-D835Y を発現させた Ba/F3 細胞においてそれぞれ 75%，42%又は 4%であった。また，これらの細胞においては FLT3 のシグナル伝達系因子である STAT5，AKT 及び ERK のリン酸化が抑制された。

#### 2.6.2.2.3 ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用

‥‥‥‥ 添付資料 4.2.1.1-6, 7, 8, 9 (参), 10 (参)

FLT3-ITD を発現するヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞を用いてギルテリチニブフマル酸塩の作用を調べた。

ギルテリチニブフマル酸塩は MV4-11 細胞の増殖を阻害し，その $IC_{50}$ 値は 0.92 nmol/L であった。MV4-11 細胞の FLT3 のリン酸化はギルテリチニブフマル酸塩の処置により抑制された。0.1，1 又は 10 nmol/L を処置した MV4-11 細胞の FLT3 のリン酸化率は対照群と比較して，それぞれ 57%，8%及び 1%であった。また，FLT3 のシグナル伝達系因子である STAT5，AKT 及び ERK のリン酸化率も低下し，0.1，1 又は 10 nmol/L の処置により，対照群と比較して STAT5 はそれぞれ 114%，23%又は 0%，AKT はそれぞれ 65%，48%又は 9%，ERK はそれぞれ 54%，22%又は 1%であった。

MV4-11 細胞の細胞周期分布に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用を調べた。MV4-11 細胞を溶媒又はギルテリチニブフマル酸塩 1, 3, 10 又は 30 nmol/L で処置したところ，3 及び 10 nmol/L 処置群の G1 期細胞の割合は溶媒対照群に比べ有意に高かった（参考データ）。

また，ギルテリチニブフマル酸塩（3，10 又は 30 nmol/L）の処置によりアネキシン V 陽性を示す MV4-11 細胞の割合が有意に増加したことから，ギルテリチニブフマル酸塩はこの細胞株でアポトーシスを誘導することが示された（参考データ）。

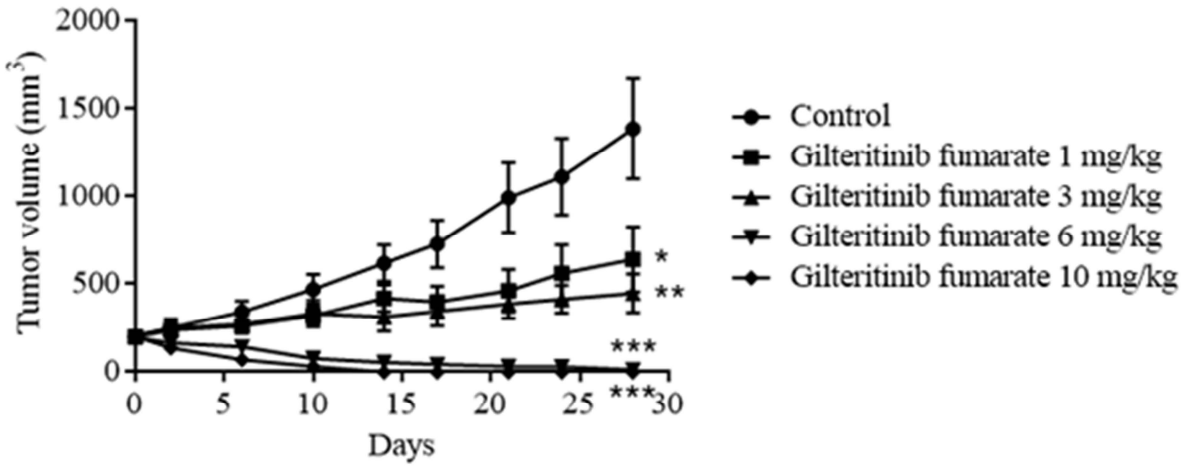
### 2.6.2.2.4 ヒトAML細胞株であるMV4-11細胞皮下移植担癌マウスにおけるギルテリチニブフマル酸塩の作用

‥‥‥‥添付資料 4.2.1.1-11, 12 (参)

ヒト AML 由来 MV4-11 細胞を皮下移植したマウスにギルテリチニブフマル酸塩を 1，3，6 又は 10 mg/kg/日を 28 日間経口投与し，本薬の抗腫瘍作用を調べた。

1 及び 3 mg/kg/日投与群では MV4-11 腫瘍の増殖が抑制され，6 及び 10 mg/kg/日投与群では退縮が認められた（図 2.6.2- 1）。6 及び 10 mg/kg/日投与群においては，6 匹中それぞれ 4 及び 6 匹で腫瘍の完全退縮が認められた。いずれの用量においてもマウスの体重に対する影響は認められなかった。

**図 2.6.2- 1　　MV4-11 細胞皮下移植担癌モデルにおけるギルテリチニブフマル酸塩の抗腫瘍作用**




マウスにギルテリチニブフマル酸塩を 0 日目から 27 日目まで投与した。各点は平均値±標準誤差 (6 匹) を表す。−1 日目のデータを 0 日目のデータとしてプロットした。28 日目の値に関して統計解析を行った。

*：P<0.05，**：P<0.01，***：P<0.001（対照群との比較，Dunnett 検定）

（添付資料 4.2.1.1-11 図 1 を引用）

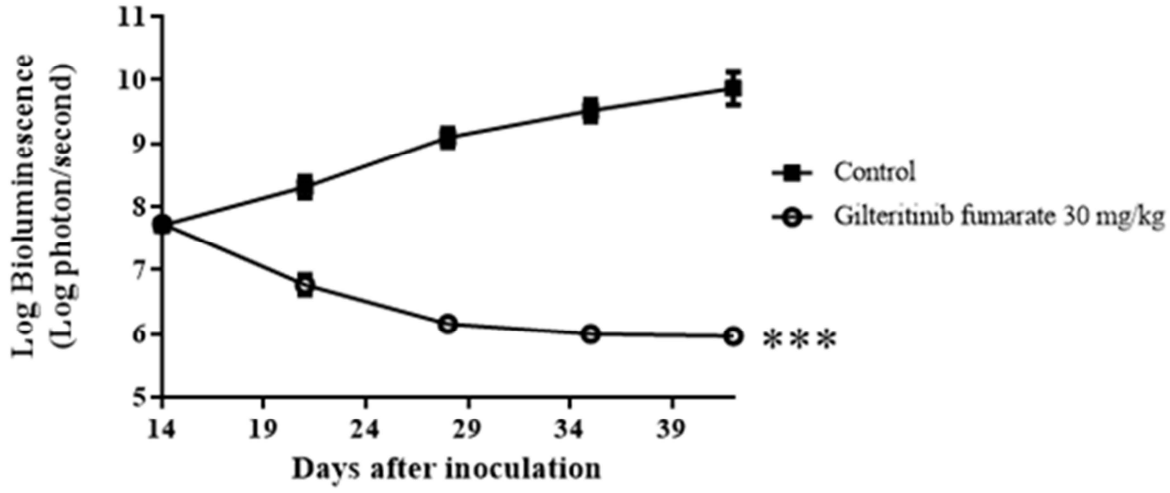
MV4-11 細胞を皮下移植したマウスにギルテリチニブフマル酸塩を 1，3，6 又は 10 mg/kg 単回経口投与した。その 1，2，4，8 及び 24 時間後に腫瘍組織を採取し，リン酸化 FLT3 及びリン酸化 STAT5 を測定した。いずれも，ギルテリチニブフマル酸塩の投与量に応じてそのリン酸化の割合が減少した（参考データ）。

### 2.6.2.2.5 ヒトAML細胞株であるMV4-11細胞脛骨骨髄内移植担癌モデルにおけるギルテリチニブフマル酸塩の腫瘍増殖抑制作用及び延命効果

‥‥‥‥添付資料 4.2.1.1-13

ルシフェラーゼ発現ベクターを組み込んだ MV4-11 細胞脛骨骨髄内移植モデルを用いて，ギルテリチニブフマル酸塩の腫瘍増殖抑制作用及び延命効果を調べた。腫瘍増殖は生体位におけるバイオルミネセンスの変化により評価した。本担癌マウスにギルテリチニブフマル酸塩 30 mg/kg/日を担癌後 15 日目から 70 日目まで 1 日 1 回経口投与した。その結果，投与 42 日目におけるギルテリチニブフマル酸塩投与群の腫瘍増殖が抑制された（図 2.6.2- 2）。また，対照群の生存期間中央値は 61.5 日であったのに対し，ギルテリチニブフマル酸塩投与群では 168 日目までの観察期間中に死亡例は確認されなかった（図 2.6.2- 3）。

**図 2.6.2- 2　　MV4-11 細胞脛骨骨髄内移植担癌モデルにおけるギルテリチニブフマル酸塩の抗腫瘍作用**

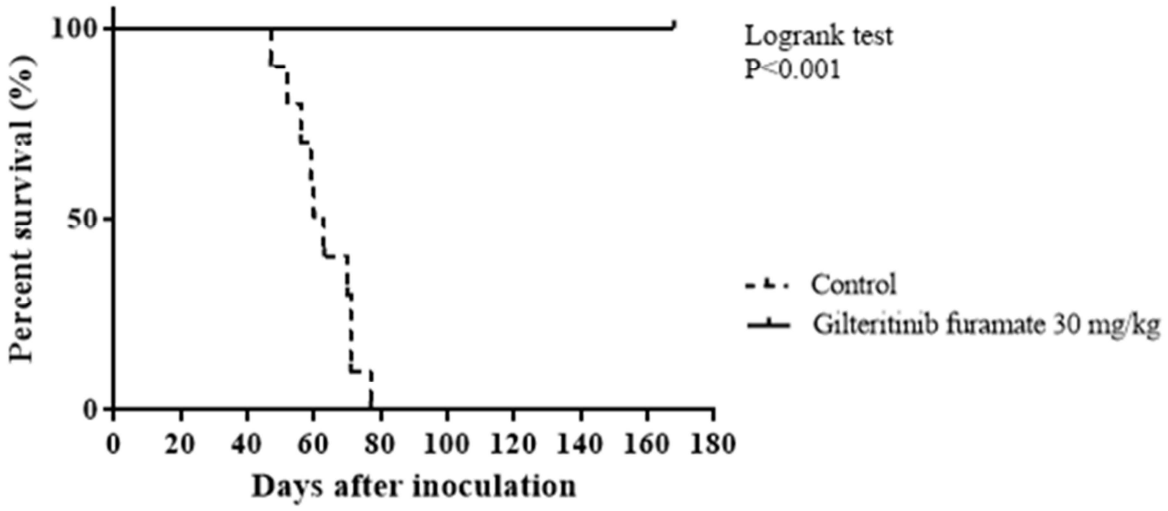



MV4-11 細胞のマウス脛骨骨髄内への移植は 0 日目に行い，14 日目に 2 群に分けた。マウスにギルテリチニブフマル酸塩を 15 日目から 70 日目まで投与した。各点は平均値±標準誤差（10 匹）を表す。初めの死亡例が確認される前の測定日である 42 日目の値に関して統計解析を行った。

***：P<0.001（対照群との比較，Student’s t 検定）

（添付資料 4.2.1.1-13 図 1 を引用）

図 2.6.2- 3　　MV4-11 細胞脛骨骨髄内移植担癌モデルにおけるギルテリチニブフマル酸塩のカプラン・マイヤー曲線




MV4-11 細胞のマウス脛骨骨髄内への移植は 0 日目に行い、14 日目に 2 群に分けた。マウスにギルテリチニブフマル酸塩を 15 日目から 70 日目まで投与した（10 匹）。マウスは 168 日目まで毎日一般状態の観察をした。

P<0.001（対照群との比較，Logrank 検定）

（添付資料 4.2.1.1-13 図 2 を引用）

## 2.6.2.2.6　ヒト AML 細胞株である MV4-11 細胞皮下移植担癌モデルにおけるギルテリチニブフマル酸塩単回投与後の血漿中ギルテリチニブ濃度及び腫瘍内ギルテリチニブ濃度の経時変化

‥‥‥‥ 添付資料 4.2.1.1-14

MV4-11 細胞を皮下に異種移植したマウスにギルテリチニブフマル酸塩 1，6 又は 10 mg/kg を単回経口投与し，血漿中ギルテリチニブ濃度，腫瘍内ギルテリチニブ濃度の経時変化を検討した。

ギルテリチニブの血漿中、腫瘍内の薬物動態パラメータを表 2.6.2- 3 に示した。

表 2.6.2- 3　　ギルテリチニブフマル酸塩を単回投与した MV4-11 細胞皮下移植担癌モデルにおける血漿中（A）及び腫瘍内（B）ギルテリチニブ薬物動態パラメータ

(A)

| 用量 (mg/kg) | $C_{max}$ (ng/mL) | $t_{max}$ (h) | $AUC_t$ (ng·h/mL) | $t_{1/2}$ (h) |
|---|---|---|---|---|
| 1* | 6.558 | 2.0 | 25.20 | 2.47 |
| 6* | 45.90 | 2.0 | 269.0 | 3.56 |
| 10 | 83.01 | 2.0 | 492.8 | 3.14 |

(B)

| 用量 (mg/kg) | $C_{max}$ (ng/g) | $t_{max}$ (h) | $AUC_t$ (ng·h/g) |
|---|---|---|---|
| 1 | 90.61 | 4.0 | 1186 |
| 6 | 772.1 | 8.0 | 12880 |
| 10 | 1125 | 8.0 | 17330 |

同一個体からの経時的な試料採取ではないため 1 時点 3 例の平均値から算出した。

*:1 mg/kg 群の 1，8 及び 24 h 時点，及び 6 mg/kg 群の 1 及び 4 h 時点は 2 例の平均値を使用した。

$C_{max}$：最高濃度，$t_{max}$：最高濃度到達時間，$AUC_t$：投与後時間 0 から時間 t までの濃度-時間曲線下面積，$t_{1/2}$：消失半減期（添付資料 4.2.1.1-14 表 1 を改変）

## 2.6.2.3 副次的薬理試験

### 2.6.2.3.1 EML4-ALK 変異体を発現させた 3T3 細胞（マウスの皮膚に由来する繊維芽細胞培養細胞株）及び NCI-H2228 細胞（ヒト NSCLC 細胞株）に対するギルテリチニブフマル酸塩の作用

‥‥‥‥ 添付資料 4.2.1.2-1, 2, 3

ギルテリチニブフマル酸塩は，EML4-ALK バリアント 1，2 又は 3 融合タンパク質を発現させた 3T3 細胞の増殖を阻害し，$IC_{50}$ 値はそれぞれ 0.42，0.50 及び 0.95 nmol/L であった。また，EML4-ALK バリアント 3 融合タンパク質を内在するヒト NSCLC 細胞である NCI-H2228 細胞の増殖を阻害し，その $IC_{50}$ 値は 0.74 nmol/L であった。

ギルテリチニブフマル酸塩を 0.1，1 又は 10 nmol/L で処置した NCI-H2228 細胞における ALK のリン酸化率は，無処置細胞のそれぞれ 69%，18%及び 2%であった。

### 2.6.2.3.2 各種受容体，イオンチャネル及びトランスポーターに対する親和性並びに酵素反応に対する作用

‥‥‥‥ 添付資料 4.2.1.2-4, 5

46 種の受容体，5 種のイオンチャネル，3 種のトランスポーターに対するギルテリチニブフマル酸塩の親和性及び 3 種の酵素反応に対するギルテリチニブフマル酸塩の阻害作用を調べた。ギルテリチニブフマル酸塩は 10 μmol/L でセロトニン $5HT_{2B}$ 受容体（ヒト），シグマ受容体（非選択的，モルモット），セロトニン $5HT_1$ 受容体（非選択的，ラット）及びアデノシン $A_1$ 受容体（ラット）に対する各放射性リガンドの特異的結合を 50%以上阻害し，それぞれの $IC_{50}$ 値は 0.190, 0.615, 4.90 及び 4.57 μmol/L であった。他のいずれの受容体，イオンチャネル及びトランスポーターへの放射性リガンドの特異的結合，並びに検討した酵素反応に対するギルテリチニブフマル酸塩の阻害作用は，10 μmol/L で 50%未満であった。

ヒトセロトニン $5HT_{2B}$ 受容体に対するギルテリチニブフマル酸塩のアゴニスト作用及びアンタゴニスト作用を，ヒトセロトニン $5HT_{2B}$ 受容体発現細胞におけるカルシウム濃度の変動を指標に

検討した。ギルテリチニブフマル酸塩は 10 μmol/L までの濃度でアゴニスト作用を示さなかったが，アンタゴニスト作用を示し，その $IC_{50}$ 値は 5.82 μmol/L であった。

## 2.6.2.4 安全性薬理試験

### 2.6.2.4.1 コアバッテリー試験

#### 2.6.2.4.1.1 中枢神経系に及ぼす影響

‥‥‥‥添付資料 4.2.1.3-1, 2

本薬を 0.5 w/v%メチルセルロース水溶液に懸濁し，10，30 及び 100 mg/kg の投与量で 1 群各 6 例の雄性 SD ラットに単回経口投与し，投与後 24 時間までの一般症状及び行動の変化を指標として中枢神経系に対する作用を Irwin の変法により検討した（4.2.1.3-1）。対照群には媒体である 0.5 w/v%メチルセルロース水溶液を投与した。また，サテライト群を用いて本薬の血漿中薬物濃度を測定した。

その結果，本薬は 10 mg/kg では一般症状及び行動に影響を及ぼさなかった。30 mg/kg では，排尿した動物数の減少が投与後 4 から 10 時間まで認められた。100 mg/kg では，排尿した動物数の減少が投与後 4 から 24 時間まで, 排便した動物数の減少が投与後 2 から 24 時間まで認められた。そのほかには 100 mg/kg まで一般症状及び行動の変化は認められなかった。本薬の 10，30 及び 100 mg/kg における最高血漿中濃度到達時間（time to maximum plasma concentration：$t_{max}$）はそれぞれ 10，10 及び 8 時間，最高濃度（maximum concentration：$C_{max}$）はそれぞれ 109.71，318.62 及び 805.52 ng/mL であった。

100 mg/kg において認められた所見の回復性を確認するため，雄性 SD ラット各群 6 例に本薬 100 mg/kg あるいは媒体（0.5 w/v%メチルセルロース水溶液）を単回経口投与し，投与後 168 時間までの一般症状及び行動に及ぼす影響を検討した（4.2.1.3-2）。また，サテライト群を用いて本薬の血漿中薬物濃度を測定した。その結果，100 mg/kg では排尿した動物数の減少が投与後 8 から 48 時間まで認められたが，投与後 72 時間以降は認められなかった。同様に，排便した動物数の減少が投与後 4 から 24 時間まで認められたが，投与後 48 時間以降は認められなかった。$t_{max}$ は 10 時間，$C_{max}$ は 729 ng/mL であった。

以上の結果から，本薬は 30 mg/kg 以上で排尿動物数の減少，100 mg/kg で排便動物数の減少をそれぞれ誘発し，これらの所見はいずれも投与後 72 時間には回復することが示された。

### 2.6.2.4.1.2　心血管系及び呼吸系に及ぼす影響

#### 2.6.2.4.1.2.1　hERG チャネルに対する作用

‥‥‥‥添付資料 4.2.1.3-3

本薬の hERG チャネルを介するカリウム電流（hERG 電流）に及ぼす影響を hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を用いて検討した。本薬をジメチルスルホキシド（dimethylsulfoxide：DMSO）に溶解した後，灌流液中でそれぞれ 1，3，10 及び 30 μmol/L の濃度になるように希釈した（いずれも DMSO 濃度は 0.1%）。HEK293 細胞に灌流液を 13 分間曝露させ，hERG 電流の変化をパッチクランプ法にて測定した。媒体対照として 0.1%DMSO を同様に処置した。

その結果, 媒体対照群の抑制率（9.0%）で補正した本薬の 1, 3, 10 及び 30 μmol/L における hERG 電流の補正抑制率はそれぞれ 1.0%，18.1%，32.8%及び 70.7%であり，3 μmol/L 及びそれ以上の濃度における補正抑制率は対照群と比較して有意差が認められた。$IC_{50}$ 値は 16 μmol/L（8.84 μg/mL）であった。

#### 2.6.2.4.1.2.2　無麻酔ビーグル犬における心血管系及び呼吸系に対する作用

‥‥‥‥添付資料 4.2.1.3-4

本薬を 0.5 w/v%メチルセルロース水溶液に懸濁し，1，3，10，30 及び 100 mg/kg の投与量で漸増式に 4 例の雄性ビーグル犬に一夜絶食後に単回経口投与し，心血管系及び呼吸系に及ぼす影響についてテレメトリーを用いて検討した。投与前及び投与後 2，4，6，8，10，24 及び 48 時間における一般症状及び行動，体温，血圧，心拍数，心電図，呼吸数，血液ガス及び血中電解質を評価し，血漿中薬物濃度を測定した。対照として 0.5 w/v%メチルセルロース水溶液を最初に投与した。

その結果，本薬は 1 mg/kg では一般症状及び行動，体温，血圧，心拍数，心電図，呼吸数，血液ガス及び血中電解質濃度のいずれにも影響を及ぼさなかった。3 mg/kg では 1 例で空吐が認められた。10 mg/kg では嘔吐及び便潜血反応陽性がそれぞれ 2 例で認められた。30 mg/kg では嘔吐が 3 例，便潜血反応陽性が 1 例で認められたほか，投与後 48 時間に血中カルシウム濃度の減少（投与前から 7%）が認められた。100 mg/kg では嘔吐が全例，便潜血反応陽性が 2 例，流涎が 1 例で認められたほか，血中カルシウム濃度が投与後 24 時間に増加（投与前から 11%）し，48 時間後に減少（投与前から 3%）した。これらの所見は全て，1 週間あるいは 2 週間の休薬期間の最終日までに消失した。体温，血圧，心拍数，心電図，呼吸数及び血液ガスへの影響は 100 mg/kg においても認められなかった。

本薬の 1，3，10，30 及び 100 mg/kg における血漿中濃度の $t_{max}$ はそれぞれ 8.0，9.0，9.5，13.0 及び 9.0 時間，$C_{max}$ はそれぞれ 13.85，46.02，125.64，265.76 及び 257.44 ng/mL であった。

以上のように，本薬は，100 mg/kg までの単回投与では心血管系と呼吸系に影響を及ぼさなかった。また，3 mg/kg 以上の用量で嘔吐や便潜血反応陽性などの変化が認められたものの，そのほか一般症状及び行動に変化が認められなかった。

## 2.6.2.4.2 フォローアップ試験

### 2.6.2.4.2.1 心血管系に及ぼす影響

#### 2.6.2.4.2.1.1 心筋イオンチャネルに対する作用

‥‥‥‥添付資料 4.2.1.3-5

本薬の心筋イオンチャネルに及ぼす影響をヒト由来の各種心筋チャネル（$Na_V1.5$，$Ca_V1.2$，$K_V7.1$/minK，$K_V4.3$ 及び $K_{ir}2.1$）を発現させた HEK293 細胞（$Na_V1.5$ 及び $K_V7.1$/minK）あるいは CHO 細胞（$Ca_V1.2$，$K_V4.3$ 及び $K_{ir}2.1$）を用いて検討した。本薬を DMSO に溶解した後，灌流液中でそれぞれ 0.1, 1 及び 10 μmol/L の濃度になるように希釈した（いずれも DMSO 濃度は 0.1%）。各種細胞に灌流液を 15 分間（$Na_V1.5$，$K_V7.1$/minK，$K_V4.3$ 及び $K_{ir}2.1$）あるいは 13 分間（$Ca_V1.2$）曝露させ，各チャネル電流の変化をパッチクランプ法にて測定した。媒体対照として 0.1%DMSO を同様に処置した。0.1 μmol/L の濃度については，別試験の結果において装置などへの吸着が認められたことから，その各回収率に基づいて補正した灌流液中濃度は 0.0884 μmol/L（$Na_V1.5$），0.0887 μmol/L（$Ca_V1.2$）及び 0.0882 μmol/L（$K_V7.1$/minK，$K_V4.3$ 及び $K_{ir}2.1$）となった。

その結果，媒体対照群の抑制率は 8.2%（$Na_V1.5$），11.6%（$Ca_V1.2$），8.4%（$K_V7.1$/minK），5.6%（$K_V4.3$）及び 6.1%（$K_{ir}2.1$）であった。それらの抑制率で補正した本薬の 0.1，1 及び 10 μmol/L における各種電流の補正抑制率はそれぞれ 1.1%, 2.2%及び 1.0%（$Na_V1.5$）, 2.0%, −4.3%及び−12.3%（$Ca_V1.2$），5.1%, −5.1%及び−59.5%（$K_V7.1$/minK），−0.2%, −2.4%及び 3.5%（$K_V4.3$）並びに−2.7%, −3.0%及び−0.4%（$K_{ir}2.1$）であり，$K_V7.1$/minK の 10 μmol/L の補正抑制率のみ対照群と比較して統計学的有意差が認められた。また, $K_V7.1$/minK の 1 μmol/L の 5 細胞中 1 細胞（補正抑制率:−38.2%），$Ca_V1.2$ の 1 及び 10 μmol/L の各 5 細胞中各 2 細胞（補正抑制率：1 μmol/L で−33.9%及び−34.8%, 10 μmol/L で−24.8%及び−43.8%）において，各電流の増加が認められた。したがって，本薬は 1 μmol/L（553 ng/mL）以上の濃度で $Ca_V1.2$ 及び $K_V7.1$/minK を介した電流を増加させた。そのほかのチャネルには 10 μmol/L（5.53 μg/mL）の濃度まで影響は認められなかった。

#### 2.6.2.4.2.1.2 hERG Trafficking に対する作用

‥‥‥‥添付資料 4.2.1.3-6

本薬の hERG trafficking に及ぼす影響を hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を用いて検討した。本薬は DMSO に溶解した後，試験培地中でそれぞれ 0.1，1 及び 10 μmol/L の濃度になるように希釈した（いずれも DMSO 濃度は 0.09%）。HEK293 細胞に試験培地を 24 時間曝露させ, hERG 電流をパッチクランプ法にて測定した。媒体対照として 0.09%DMSO を同様に処置した。

その結果，媒体対照群の電流密度は 159.7 pA/pF であった。一方，本薬の 0.1，1 及び 10 μmol/L における各電流密度は，対照群の値に対して各々74.5%，75.7%及び 58.6%であり，統計学的有意差は認められなかった。したがって，本薬は 10 μmol/L（5.53 μg/mL）の濃度まで hERG trafficking に影響を及ぼさなかった。

#### 2.6.2.4.2.1.3　ヒト心筋活動電位に対する作用

‥‥‥‥添付資料 4.2.1.3-7(参)，添付資料 4.2.1.3-8(参)，添付資料 4.2.1.3-9(参) ，添付資料 4.2.1.3-10(参)

本薬の RMP，Amax，$APD_{30}$，$APD_{50}$，$APD_{90}$，第 3 相における三角形化及び STV に及ぼす影響を，脳死した健康成人男性ドナーの心室プルキンエ線維標本を用いた微小電極法により検討した（4.2.1.3-7(参)）。本薬を DMSO に溶解後，灌流液中でそれぞれ 0.1，1 及び 5 μmol/L となるように希釈した（いずれも DMSO 濃度は 0.1%）。標本（1 濃度当たり n=3）に微小電極を挿入し，閾値の 1.5 倍の刺激強度並びに 1 及び 2 Hz の刺激頻度で電気刺激を行い，RMP 及び活動電位を記録した。本薬処置前に 30～60 分間の安定化時間をおき，データを取得後，本薬の各濃度を 240 分間曝露した。媒体対照群では 0.1% DMSO を本薬処置群と同様の時間推移で処置した。その結果，本薬は 5 μmol/L の濃度までいずれのパラメータにも影響を及ぼさなかった。

ヒト標本を設置せずに本薬処置の開始時に灌流液中の薬物濃度を測定した結果，0.1 μmol/L では 0.05570 μmol/L（31 ng/mL）（n=1），1 μmol/L では 0.5219 μmol/L（288 ng/mL）（n=1）であった（4.2.1.3-8(参)）。また，同じく 5 μmol/L では平均 3.204 μmol/L（1771 ng/mL），範囲 2.071～4.336 μmol/L（n=2）であった（4.2.1.3-9(参)）ため，5 μmol/L 処置液の調製方法を改変し，ヒト標本を用いた実際のアッセイで 5 μmol/L 処置の開始時に灌流液中の薬物濃度を測定した結果，平均 4.245 μmol/L（2346 ng/mL），範囲 4.096～4.437 μmol/L（n=3）であった（4.2.1.3-10(参)）。

### 2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験に該当する試験は実施しなかった。

### 2.6.2.6　考察及び結論

#### 2.6.2.6.1　薬理作用及び作用機序

ギルテリチニブフマル酸塩は，アステラス製薬株式会社が寿製薬株式会社と共同で見いだした新規 FLT3 阻害薬である。本薬は FLT3 に加え，AXL，LTK 及び ALK などのチロシンキナーゼに対する阻害活性を有する。今回の申請にあたり，本薬の薬理学的特性を明らかにする目的で，各種試験を実施した。

FLT3 は主に造血前駆細胞の細胞膜上に発現している受容体型チロシンキナーゼであり，多能性幹細胞の増殖，生存及び分化に重要な役割を果たしている。AML 患者では，FLT3 の過剰発現が多くの症例で報告されており，また FLT3 の活性化変異も高頻度に認められる［Birg et al, 1992］。代表的な活性化変異は膜近傍領域の ITD 変異及びキナーゼ領域 D835 の点変異であり，その発現頻度はそれぞれ AML 患者の 28%～34%，及び 11%～14%である［Schlenk and Döhner, 2009］。FLT3 が活性化変異した細胞はがん細胞となる性質を持つようになり，形質転換活性を有する［Yamamoto et al, 2001］。また，FLT3 が活性化されている AML 患者では，標準療法によって完全

寛解に至っても短期間に高率で再発し，かつ無病生存率及び全生存率は低い［Patel et al, 2012; Gale et al, 2008; Yanada et al, 2005; Moreno et al, 2003］。したがって，FLT3 のみならず活性化変異を有した FLT3 にも強い阻害作用を示す薬剤は AML を治療する上で重要であると考えられる。

ギルテリチニブフマル酸塩は，FLT3 を阻害し，FLT3 活性化変異を有する細胞の増殖を抑制した。また，FLT3 活性化変異の一つである FTL3-ITD を発現するヒト AML 細胞株（MV4-11 細胞）を皮下に移植したマウスにおいて腫瘍の増殖を抑制，又は腫瘍を退縮させた。さらに，同細胞を骨髄に移植したマウスにおいては腫瘍の増殖を抑制するとともに延命効果を示した。これらのことから，本薬は AML 患者に対して治療効果を示す可能性が期待される。

### 2.6.2.6.2 非臨床試験及び臨床試験成績の関連性（薬効用量と有効性）

再発・治療抵抗性 AML 患者に，ギルテリチニブフマル酸塩の臨床推奨用量である 120 mg を 1 日 1 回反復経口投与した際の 15 日後の最高非結合型濃度（unbound maximum concentration：$C_{max,\,u}$）は 26.8 ng/mL と推定された（CL-0101; ME-0010）。一方，異種移植モデルマウスにおいて，腫瘍の完全退縮例が見られた 6 及び 10 mg/kg/日を単回経口投与した際のギルテリチニブの $C_{max}$ はそれぞれ 45.90 及び 83.01 ng/mL であった（表 2.6.2- 3）。これらの値からマウスにおける血漿蛋白結合率（75.4%～84.2%）（ME-0010）を考慮して算出される $C_{max,\,u}$ はそれぞれ 7.25～11.29 及び 13.12～20.42 ng/mL であった。また，6 及び 10 mg/kg/日を同モデルマウスに単回経口投与した際のギルテリチニブの投与後時間 0 から時間 t までの濃度-時間曲線下面積（area under the concentration versus time curve from time zero to t h after dosing：$AUC_t$）はそれぞれ 269.0 及び 492.8 ng·h/mL であった（表 2.6.2-3）。

以上のように，異種移植モデルマウスにおいて有効性が認められた用量におけるギルテリチニブの $C_{max,\,u}$ は，ヒトにおける臨床推奨用量投与時の $C_{max,\,u}$ と同等もしくはそれ以下であり，$AUC_t$ はヒト臨床推奨用量投与時の投与後時間 0 から投与後 24 時間までの濃度-時間曲線下面積である 6180 ng·h/mL（CL-0101）よりも小さかった。

### 2.6.2.6.3 安全性薬理

コアバッテリー試験として，中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対する本薬の作用を検討した。

ラットの一般症状及び行動を Irwin の変法により観察したところ，本薬は 10 mg/kg では一般症状及び行動に影響を及ぼさなかった。30 mg/kg では排尿動物数の減少，100 mg/kg ではこれに加えて排便動物数の減少が認められ，これらの所見はいずれも投与後 72 時間には回復することが確認された。そのほかには 100 mg/kg まで一般症状及び行動の変化は認められなかった。ラットの 100 mg/kg 投与時における $C_{max}$（729 ng/mL）の臨床推奨用量（120 mg/日）投与時の $C_{max}$（680.23 ng/mL，CL-0102）に対する比は約 1.1 であった。また，最大臨床用量（200 mg/日）との比較では，ラットの 100 mg/kg 投与時における $C_{max}$ の最大臨床用量（200 mg/日）投与時の $C_{max}$（1462 ng/mL，CL-0101）に対する比は約 0.5 であった。ラット単回投与試験（2.6.6.2.1 ラット単回経口投与毒性試験）に

おいて 300 mg/kg は致死量であることが確認されており，この試験において 100 あるいは 300 mg/kg で中枢神経系への明らかな影響を示唆する一般症状及び行動の変化は認められなかった。これらのことから，本薬の臨床での使用にあたって中枢神経系への影響が問題となる可能性は低いと考えられた。

HEK293 細胞の hERG 電流に対して本薬は用量依存的な抑制作用を示し，$IC_{50}$ 値は 16 μmol/L（8.84 μg/mL）であった。一方，臨床推奨用量（120 mg/日）投与時の $C_{max}$ である 680.23 ng/mL（CL-0102）及び血漿蛋白結合率（90.2%～90.5%，2.6.4.5.7 血漿蛋白結合）から，臨床推奨用量投与時の $C_{max,\,u}$ の最高値は約 66.66 ng/mL と算出され，$IC_{50}$ 値との間に約 133 倍の乖離があった。また，最大臨床用量（200 mg/日）投与時の $C_{max}$（1462 ng/mL，CL-0101）との比較では，算出された $C_{max,\,u}$ の最高値は 143 ng/mL であり，$IC_{50}$ 値との間に約 62 倍の乖離があった。したがって，本薬が臨床用量において hERG 電流の阻害による心電図変化をもたらす可能性は低いものと考えられた。心血管系に対するフォローアップ試験として実施された試験では，本薬は 10 μmol/L（5.53 μg/mL）の濃度まで hERG trafficking に影響を及ぼさなかった。また，本薬は 1 μmol/L（553 ng/mL）以上の濃度で $Ca_V1.2$ 及び $K_V7.1$/minK を介した電流を増加させたが，これらは各々，活動電位の延長及び短縮につながる可能性があり［Shah, 2010］，QT 間隔への影響において拮抗する作用であった。さらに参考情報であるが，本薬は，4.245 μmol/L（2346 ng/mL）の濃度までヒトの心室プルキンエ線維標本の RMP，Amax，$APD_{30}$，$APD_{50}$，$APD_{90}$，第 3 相における三角形化及び STV のいずれのパラメータにも影響を及ぼさなかった。

無麻酔イヌの心血管系及び呼吸系試験（0，1，3，10，30 及び 100 mg/kg 単回経口投与）において，3 mg/kg で空吐が，10 mg/kg 以上で嘔吐及び便潜血反応陽性がそれぞれ認められた。30 mg/kg 以上では，血中カルシウム濃度の減少あるいは増加に続く減少が認められたが，変化の程度はいずれも軽度（投与前からの変化率は−7%～11%）であった。体温，血圧，心拍数，心電図，呼吸数及び血液ガスへの影響は 100 mg/kg においても認められなかった。30 mg/kg 以上の投与量では血漿中薬物濃度が同等となる傾向がみられ，本試験で $C_{max}$ が最も高かったのは 30 mg/kg 投与時の 265.76 ng/mL であり，臨床推奨用量（120 mg/日）における $C_{max}$（680.23 ng/mL，CL-0102）の約 0.4 倍であった。しかしながら，イヌの 4 週間（2.6.6.3.2 イヌ 4 週間経口投与毒性試験）及び 13 週間（2.6.6.3.3 イヌ 13 週間経口投与毒性試験）反復投与毒性試験では，5 mg/kg は各々最大耐量及び致死量であったが，この投与量まで心電図への影響は認められなかった。

## 2.6.2.7　図表

図表は，各項の本文中の適切な場所に挿入した。

## 2.6.2.8　参考文献

Birg F, Courcoul M, Rosnet O, Bardin F, Pébusque MJ, Marchetto S, et al. Expression of the FMS/KIT-like gene FLT3 in human acute leukemias of the myeloid and lymphoid lineages. Blood 1992;80:2584-93.

Gale RE, Green C, Allen C, Mead AJ, Burnett AK, Hills RK, et al. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. Blood. 2008;111:2776-84.

Moreno I, Martín G, Bolufer P, Barragán E, Rueda E, Román J, et al. Incidence and prognostic value of FLT3 internal tandem duplication and D835 mutations in acute myeloid leukemia. Haematologica. 2003;88:19-24.

Patel JP, Gönen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. N Eng J Med. 2012;366:1079-89.

Schlenk RF, Döhner K. Impact of new prognostic markers in treatment decisions in acute myeloid leukemia. Curr Opin Hematol. 2009;16:98-104.

Shah RR. Drug-induced QT interval shortening: potential harbinger of proarrhythmia and regulatory perspectives. Br J Pharmacol. 2010;159:58-69.

Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. Blood. 2001;97:2434-9.

Yanada M, Matsuo K, Suzuki T, Kiyoi H, Naoe T. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations for acute myeloid leukemia: a meta-analysis. Leukemia. 2005;19:1345-9.

# 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.....5
2.6.3.3　副次的薬理試験.....9
2.6.3.4　安全性薬理試験.....10
2.6.3.3　薬力学的薬物相互作用試験.....13

## 2.6.3 薬理試験概要表

### 2.6.3.1 薬理試験：一覧表

（その 1） 被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | 報告書番号 | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|
| 効力を裏付ける試験 | | | | | |
| 各種チロシンキナーゼに対する阻害作用 | 各種チロシンキナーゼ | in vitro | [redacted] アステラス製薬 | 2215-PH-0006<br>2215-PH-0017<br>2215-PH-0001 | 4.2.1.1-1<br>4.2.1.1-2<br>4.2.1.1-3 |
| 変異型 FLT3 発現細胞株での増殖抑制作用 | 変異型 FLT3 発現 Ba/F3 細胞株 | in vitro | アステラス製薬 | 2215-PH-0009 | 4.2.1.1-4 |
| 変異型 FLT3 及び FLT3 シグナル伝達系因子のリン酸化阻害作用 | 変異型 FLT3 発現 Ba/F3 細胞株 | in vitro | アステラス製薬 | 2215-PH-0015 | 4.2.1.1-5 |
| ヒト AML 細胞株での増殖抑制作用 | MV4-11 細胞 | in vitro | アステラス製薬 | 2215-PH-0008 | 4.2.1.1-6 |
| ヒト AML 細胞株での FLT3 リン酸化阻害作用 | MV4-11 細胞 | in vitro | アステラス製薬 | 2215-PH-0010 | 4.2.1.1-7 |
| ヒト AML 細胞株での FLT3 シグナル伝達系因子のリン酸化阻害作用 | MV4-11 細胞 | in vitro | アステラス製薬 | 2215-PH-0014 | 4.2.1.1-8 |
| ヒト AML 細胞株での細胞周期への影響及びアポトーシス誘導作用 | MV4-11 細胞 | in vitro | アステラス製薬 | 2215-PH-9004<br>2215-PH-9005 | 4.2.1.1-9 (参)<br>4.2.1.1-10 (参) |
| 皮下移植担癌モデルにおける抗腫瘍作用 | MV4-11 細胞皮下移植担癌マウスモデル | 経口 | アステラス製薬 | 2215-PH-0011 | 4.2.1.1-11 |
| 皮下移植担癌モデルにおける FLT3 及び STAT5 リン酸化阻害作用 | MV4-11 細胞皮下移植担癌マウスモデル | 経口 | アステラス製薬 | 2215-PH-9006 | 4.2.1.1-12 (参) |
| 脛骨骨髄内移植担癌モデルにおける抗腫瘍作用及び延命作用 | MV4-11 細胞脛骨骨髄内移植担癌マウスモデル | 経口 | アステラス製薬 | 2215-PH-0021 | 4.2.1.1-13 |
| 血漿中ギルテリチニブ濃度及び腫瘍内ギルテリチニブ濃度 | MV4-11 細胞皮下移植担癌マウスモデル | 経口 | アステラス製薬/ [redacted] | 2215-PH-0016 | 4.2.1.1-14 |

次ページに続く

薬理試験概要表

## 2.6.3.1 薬理試験：一覧表（その 2）

被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | 報告書番号 | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|
| 副次的薬理試験 | | | | | |
| EML4-ALK (variant 1-3) 融合タンパク質発現細胞株での増殖抑制作用 | EML4-ALK (variant 1-3) 発現 3T3 細胞株 | in vitro | アステラス製薬 | 2215-PH-0003 | 4.2.1.2-1 |
| EML4-ALK 融合タンパク質発現細胞株での増殖抑制作用 | NCI-H2228 細胞 | in vitro | アステラス製薬 | 2215-PH-0002 | 4.2.1.2-2 |
| 変異型 ALK リン酸化阻害作用 | NCI-H2228 細胞 | in vitro | アステラス製薬 | 2215-PH-0004 | 4.2.1.2-3 |
| 各種受容体等に対する親和性 | 各種受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素 | in vitro | [redacted] | 2215-PH-0007<br>2215-TX-0007 | 4.2.1.2-4<br>4.2.1.2-5 |
| 安全性薬理試験（コアバッテリー試験） | | | | | |
| 中枢神経系に及ぼす影響 | | | | | |
| 一般症状及び行動† | SD ラット | 経口 | [redacted] | 2215-PT-0003 | 4.2.1.3-1 |
| 一般症状及び行動（回復性）† | SD ラット | 経口 | [redacted] | 2215-PT-0004 | 4.2.1.3-2 |
| 心血管系及び呼吸系に及ぼす影響 | | | | | |
| hERG チャネルに対する作用† | hERG チャネル発現 HEK293 細胞 | in vitro | [redacted] | 2215-PT-0001 | 4.2.1.3-3 |
| 心血管系及び呼吸系に対する作用† | ビーグル犬 | 経口 | [redacted] | 2215-PT-0002 | 4.2.1.3-4 |
| 安全性薬理試験（フォローアップ試験） | | | | | |
| 心血管系に及ぼす影響 | | | | | |
| 心筋イオンチャネルに対する作用† | $hNa_V1.5$ 発現 HEK293 細胞, $hCa_V1.2/\beta_2/\alpha_2\delta_1$ 発現 CHO 細胞, $hK_V7.1$/minK 発現 HEK293 細胞，$hK_V4.3$ 発現 CHO 細胞, $hK_{ir}2.1$ 発現 CHO 細胞 | in vitro | [redacted] | 2215-PT-0006 | 4.2.1.3-5 |
| hERG Trafficking に対する作用† | hERG チャネル発現 HEK293 細胞 | in vitro | [redacted] | 2215-PT-0008 | 4.2.1.3-6 |
| ヒト心筋活動電位に対する作用 | 脳死した健康成人男性ドナーの心室プルキンエ線維標本 | in vitro | [redacted] | 2215-PT-0007 | 4.2.1.3-7 (参) |

*次ページに続く*

薬理試験概要表

## 2.6.3.1 薬理試験：一覧表（その 3）

被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | 報告書番号 | 添付資料番号 |
|---|---|---|---|---|---|
| ヒト心筋活動電位に対する作用の試験に由来する投与液サンプルの濃度測定 | 該当せず | 該当せず | [redacted] | 2215-PT-0009 | 4.2.1.3-8 (参) |
| ヒト心筋活動電位に対する作用の試験に由来する投与液サンプルの濃度測定 | 該当せず | 該当せず | [redacted] | 2215-PT-0010 | 4.2.1.3-9 (参) |
| ヒト心筋活動電位に対する作用の試験に由来する投与液サンプルの濃度測定 | 該当せず | 該当せず | [redacted] | 2215-PT-0012 | 4.2.1.3-10 (参) |

FLT3：Fms 様チロシンキナーゼ 3，AML：急性骨髄性白血病，STAT5：シグナル伝達性転写因子 5，ALK：未分化リンパ腫キナーゼ，EML4-ALK：棘皮動物微小管結合蛋白質様 4-ALK，hERG：ヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子，$hNa_V1.5$：ヒト $Na_V1.5$ ナトリウムチャネル，$hCa_V1.2/\beta_2/\alpha_2\delta_1$：ヒト $Ca_V1.2$ カルシウムチャネル，$hK_V7.1$/minK：ヒト $K_V7.1$/minK カリウムチャネル，$hK_V4.3$：ヒト $K_V4.3$ カリウムチャネル，$hK_{ir}2.1$：ヒト $K_{ir}2.1$ カリウムチャネル，HEK293 細胞：ヒト胎児腎臓由来 293 細胞，CHO 細胞：チャイニーズハムスター卵巣由来細胞

†：GLP に適合した試験

アステラス製薬：アステラス製薬株式会社，[redacted]

薬理試験概要表

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験

（その 1）

被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

<table>
<tr><th>試験項目</th><th>標本／試験系<br>（例数）</th><th>投与方法</th><th>濃度</th><th>試験成績</th><th>添付資料番号<br>試験実施施設</th></tr>
<tr><td>各種チロシンキナーゼに対する阻害作用</td><td>ヒトチロシンキナーゼ<br><br>阻害率%<br>(n=1，duplicate)<br><br>$IC_{50}$ 検討<br>(n=3，duplicate)</td><td>in vitro</td><td>阻害率%<br>1 及び 5 nmol/L<br><br>$IC_{50}$ 検討<br>0.003～100 nmol/L<br>（FLT3 キナーゼ）<br><br>0.0003～10 μmol/L<br>（KIT キナーゼ）</td><td>
<table>
<tr><th rowspan="3">キナーゼ</th><th colspan="2">阻害率%</th></tr>
<tr><th colspan="2">ギルテリチニブフマル酸塩<br>(nmol/L)</th></tr>
<tr><th>1</th><th>5</th></tr>
<tr><td>FLT3</td><td>86.8</td><td>96.4</td></tr>
<tr><td>NPM1-ALK</td><td>82.2</td><td>99.5</td></tr>
<tr><td>LTK</td><td>81.8</td><td>97.5</td></tr>
<tr><td>ALK</td><td>76.1</td><td>97.6</td></tr>
<tr><td>AXL</td><td>54.3</td><td>85.5</td></tr>
<tr><td>TRKA</td><td>38.3</td><td>74.9</td></tr>
<tr><td>ROS</td><td>35.0</td><td>71.7</td></tr>
<tr><td>RET</td><td>26.0</td><td>65.5</td></tr>
<tr><td>MER</td><td>21.5</td><td>55.7</td></tr>
</table>
<br>FLT3 キナーゼ及び KIT キナーゼに対する $IC_{50}$ 値は，それぞれ 0.291 及び 229 nmol/L であった。</td><td>4.2.1.1-1<br>[redacted]</td></tr>
<tr><td>AXL，LTK キナーゼ活性阻害</td><td>ヒト AXL 及び LTK キナーゼ<br>(n=3，duplicate)</td><td>in vitro</td><td>0.003～100 nmol/L<br>（AXL キナーゼ）<br><br>0.001～30 nmol/L<br>（LTK キナーゼ）</td><td>AXL キナーゼ及び LTK キナーゼに対する $IC_{50}$ 値は，それぞれ 0.726 及び 0.350 nmol/L であった。</td><td>4.2.1.1-2<br>[redacted]</td></tr>
<tr><td>EML4-ALK バリアント 1 キナーゼ活性阻害</td><td>EML4-ALK バリアント 1 キナーゼ<br>(n=3，triplicate)</td><td>in vitro</td><td>0.03～100 nmol/L</td><td>$IC_{50}$ 値は 1.2 nmol/L であった。</td><td>4.2.1.1-3<br>アステラス製薬株式会社</td></tr>
<tr><td>変異型 FLT3 発現細胞株での増殖抑制作用</td><td>変異型 FLT3 発現 Ba/F3 細胞株<br>(n=3，quadruplicate)</td><td>in vitro</td><td>0.05～12.8 nmol/L</td><td>FLT3-ITD 発現 Ba/F3 細胞株，FLT3-D835Y 発現 Ba/F3 細胞株及び FLT3-ITD-D835Y 発現 Ba/F3 細胞株の増殖に対する $IC_{50}$ 値は，それぞれ 1.8，1.6 及び 2.1 nmol/L であった。</td><td>4.2.1.1-4<br>アステラス製薬株式会社</td></tr>
<tr><td colspan="6">*次ページに続く*</td></tr>
</table>

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験（その 2）

被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

| 試験項目 | 標本／試験系（例数） | 投与方法 | 濃度 | 試験成績 | 添付資料番号<br>試験実施施設 |
|---|---|---|---|---|---|
| 変異型 FLT3 及び FLT3 シグナル伝達系因子のリン酸化阻害作用 | 変異型 FLT3 発現 Ba/F3 細胞株 (n=1，triplicate) | in vitro | 0，0.1，1，10 nmol/L | ギルテリチニブフマル酸塩を 0.1, 1 又は 10 nmol/L で 2 時間処理した後のリン酸化 FLT3（p-FLT3）量は，溶媒対照群と比較して，FLT3-ITD を発現させた Ba/F3 細胞においてそれぞれ 78%，34%及び 3%，FLT3-D835Y を発現させた Ba/F3 細胞においてそれぞれ 74%，45%及び 1%，FLT3-ITD-D835Y を発現させた Ba/F3 細胞においてそれぞれ 75%, 42%及び 4%であった。また，これらの細胞において FLT3 のシグナル伝達系因子である STAT5，AKT 及び ERK のリン酸化が抑制された | 4.2.1.1-5<br>アステラス製薬株式会社 |
| ヒト AML 細胞株での増殖抑制作用 | MV4-11 細胞 (n=3，quadruplicate) | in vitro | 0.03～30 nmol/L | $IC_{50}$ 値は 0.92 nmol/L であった。 | 4.2.1.1-6<br>アステラス製薬株式会社 |
| ヒト AML 細胞株での FLT3 リン酸化阻害作用 | MV4-11 細胞 (n=1，triplicate) | in vitro | 0，0.1，1，10 nmol/L | ギルテリチニブフマル酸塩を 0.1, 1 又は 10 nmol/L で 2 時間処理した後のリン酸化 FLT3（p-FLT3）量は，溶媒対照群と比較してそれぞれ 57%，8%及び 1%であった。 | 4.2.1.1-7<br>アステラス製薬株式会社 |
| ヒト AML 細胞株での FLT3 シグナル伝達系因子のリン酸化阻害作用 | MV4-11 細胞 (n=1，triplicate) | in vitro | 0，0.1，1，10 nmol/L | ギルテリチニブフマル酸塩を 0.1, 1 又は 10 nmol/L で 2 時間処理した後の STAT5，AKT 及び ERK のリン酸化の割合は，対照群と比較して, リン酸化 STAT5 はそれぞれ 114%, 23%及び 0%, リン酸化 AKT はそれぞれ 65%，48%及び 9%，リン酸化 ERK はそれぞれ 54%，22%及び 1%であった。 | 4.2.1.1-8<br>アステラス製薬株式会社 |
| ヒト AML 細胞株での細胞周期への影響 | MV4-11 細胞 (n=4) | in vitro | 0，1，3，10，30 nmol/L | ギルテリチニブフマル酸塩 3 及び 10 nmol/L 処置群の G1 期細胞の割合は溶媒対照群と比較して有意に高かった。 | 4.2.1.1-9 (参)<br>アステラス製薬株式会社 |
| ヒト AML 細胞株でのアポトーシス誘導作用 | MV4-11 細胞 (n=4) | in vitro | 0，1，3，10，30 nmol/L | ギルテリチニブフマル酸塩 3，10 又は 30 nmol/L で処置したところ，アネキシン V 陽性を示す細胞の割合が有意に増加した。 | 4.2.1.1-10 (参)<br>アステラス製薬株式会社 |

*次ページに続く*

薬理試験概要表

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験（その 3）

被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

| 試験項目 | 動物／試験系 | 例数<br>（性別） | 用量・用法 | 試験成績 | 添付資料番号<br>試験実施施設 |
|---|---|---|---|---|---|
| 皮下移植担癌モデルにおける抗腫瘍作用 | ヌードマウス／<br>MV4-11 細胞皮下移植担癌モデル | n=6／群<br>（オス） | 0（溶媒対照），1，3，6，10 mg/kg/日<br>・<br>1 日 1 回 28 日間経口投与 | ギルテリチニブフマル酸塩は，1 及び 3 mg/kg/日の投与により MV4-11 腫瘍の増殖を有意に抑制し，6 及び 10 mg/kg/日の投与により腫瘍退縮を誘導した。6 及び 10 mg/kg/日投与群において，6 匹中それぞれ 4 匹及び 6 匹で腫瘍の完全退縮が認められた。いずれの用量においてもマウスの体重に対する影響は認められなかった。 | 4.2.1.1-11<br>アステラス製薬株式会社 |
| 皮下移植担癌モデルにおける FLT3 及び STAT5 リン酸化阻害作用 | ヌードマウス／<br>MV4-11 細胞皮下移植担癌モデル | n=2-5／群<br>（オス） | 0（溶媒対照），1，3，6，10 mg/kg<br>・<br>単回経口投与 | ギルテリチニブフマル酸塩を 1, 3, 6 又は 10 mg/kg 単回経口投与し，その 1，2，4，8 及び 24 時間後に腫瘍組織を採取し，リン酸化 FLT3 及びリン酸化 STAT5 を測定した。その結果，いずれの分子とも，ギルテリチニブフマル酸塩の投与量に応じてそのリン酸化の割合が減少した。 | 4.2.1.1-12 (参)<br>アステラス製薬株式会社 |
| 脛骨骨髄内移植担癌モデルにおける抗腫瘍作用及び延命作用 | NOD-SCID マウス／<br>MV4-11 細胞脛骨骨髄内移植担癌モデル | n=10／群<br>（メス） | 0（溶媒対照），30 mg/kg/日<br>・<br>1 日 1 回 56 日間経口投与 | ルシフェラーゼ発現ベクターを組み込んだ MV4-11 細胞を脛骨骨髄内に移植した担癌マウスにギルテリチニブフマル酸塩 30 mg/kg/日を移植後 15 日目から 70 日目まで反復経口投与した。その結果，ギルテリチニブフマル酸塩投与群で腫瘍増殖が抑制された。また，対照群の生存期間中央値は 61.5 日であったのに対し，ギルテリチニブフマル酸塩投与群では移植後 168 日目までの観察期間中に死亡例は確認されなかった。 | 4.2.1.1-13<br>アステラス製薬株式会社 |

*次ページに続く*

薬理試験概要表

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験（その 4）

被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

<table>
<tr><th>試験項目</th><th>動物／試験系</th><th>例数<br>（性別）</th><th>用量・用法</th><th>試験成績</th><th>添付資料番号<br>試験実施施設</th></tr>
<tr><td>血漿中ギルテリチニブ濃度，腫瘍内ギルテリチニブ濃度</td><td>ヌードマウス／MV4-11 細胞皮下移植担癌モデル</td><td>n=3／群<br>（オス）</td><td>1，6，10 mg/kg<br>・<br>単回経口投与</td><td>血漿中ギルテリチニブ薬物動態パラメータ<br><table><tr><th>用量 (mg/kg)</th><th>$C_{max}$ (ng/mL)</th><th>$t_{max}$ (h)</th><th>$AUC_t$ (ng·h/mL)</th><th>$t_{1/2}$ (h)</th></tr><tr><td>1*</td><td>6.558</td><td>2.0</td><td>25.20</td><td>2.47</td></tr><tr><td>6*</td><td>45.90</td><td>2.0</td><td>269.0</td><td>3.56</td></tr><tr><td>10</td><td>83.01</td><td>2.0</td><td>492.8</td><td>3.14</td></tr></table>腫瘍内ギルテリチニブ薬物動態パラメータ<br><table><tr><th>用量 (mg/kg)</th><th>$C_{max}$ (ng/g)</th><th>$t_{max}$ (h)</th><th>$AUC_t$ (ng·h/g)</th></tr><tr><td>1</td><td>90.61</td><td>4.0</td><td>1186</td></tr><tr><td>6</td><td>772.1</td><td>8.0</td><td>12880</td></tr><tr><td>10</td><td>1125</td><td>8.0</td><td>17330</td></tr></table>同一個体からの経時的な試料採取ではないため 1 時点 3 例の平均値から算出した。<br>*:1 mg/kg 群の 1，8 及び 24 h 時点，及び 6 mg/kg 群の 1 及び 4 h 時点は 2 例の平均値を使用した。</td><td>4.2.1.1-14<br>アステラス製薬株式会社，<br>[redacted]</td></tr>
</table>

FLT3：Fms 様チロシンキナーゼ 3，ALK：未分化リンパ腫キナーゼ，EML4-ALK：棘皮動物微小管結合蛋白質様 4-ALK，LTK：白血球チロシンキナーゼ，AXL：AXL キナーゼ，TRKA：トロポミオシン受容体キナーゼ A，ROS：ROS キナーゼ，RET：RET キナーゼ，MER：MER キナーゼ，$IC_{50}$：50%阻害濃度，FLT3-ITD：FLT3 遺伝子内縦列重複，FLT3-D835Y：FLT3 の 835 番目のアミノ酸残基であるアスパラギン酸のチロシンへの置換，FLT3-ITD-D835Y：FLT3 の ITD 変異及び 835 番目のアミノ酸残基であるアスパラギン酸のチロシンへの置換，p-FLT3：リン酸化 FLT3，STAT5：シグナル伝達性転写因子 5，AKT：AKT キナーゼ，ERK：細胞外シグナル制御キナーゼ，NOD-SCID：重度複合免疫不全

$C_{max}$：最高濃度，$t_{max}$：最高濃度到達時間，$AUC_t$：投与後時間 0 から時間 t までの濃度-時間曲線下面積，$t_{1/2}$：消失半減期

## 2.6.3.3 副次的薬理試験

被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

| 試験項目 | 標本／試験系（例数） | 投与方法 | 濃度 | 試験成績 | 添付資料番号<br>試験実施施設 |
|---|---|---|---|---|---|
| EML4-ALK (variant 1-3) 発現細胞株での増殖抑制作用 | EML4-ALK (variant 1-3) 発現 3T3 細胞株 (n=3，quadruplicate) | in vitro | 0.1～100 nmol/L | EML4-ALK バリアント 1，2 又は 3 を発現させた 3T3 細胞の増殖を阻害し，その $IC_{50}$ 値はそれぞれ 0.42，0.50 及び 0.95 nmol/L であった。 | 4.2.1.2-1<br>アステラス製薬株式会社 |
| EML4-ALK 発現細胞株での増殖抑制作用 | NCI-H2228 細胞 (n=3，quadruplicate) | in vitro | 0.1～100 nmol/L | $IC_{50}$ 値は 0.74 nmol/L であった。 | 4.2.1.2-2<br>アステラス製薬株式会社 |
| 変異型 ALK リン酸化阻害作用 | NCI-H2228 細胞 (n=1, triplicate) | in vitro | 0，0.1，1，10 nmol/L | ギルテリチニブフマル酸塩 0.1, 1 又は 10 nmol/L で処置したところ, ALK のリン酸化の割合は，無処置細胞のそれぞれ 69 %，18%及び 2%であった。 | 4.2.1.2-3<br>アステラス製薬株式会社 |
| 各種受容体，イオンチャネル及びトランスポーターに対する親和性並びに酵素活性に対する作用 | 各種受容体，イオンチャネル，トランスポーター及び酵素／親和性，酵素活性 (阻害率：n=1, duplicate), $IC_{50}$ 値：n=3, duplicate) | in vitro | 阻害率：10 μmol/L<br>$IC_{50}$ 値：<br>30～30000 nmol/L（アデノシン $A_1$ 受容体［ラット］, セロトニン $5HT_1$ 受容体［非選択的，ラット］）；<br>3～3000 nmol/L（セロトニン $5HT_{2B}$ 受容体［ヒト］，シグマ受容体［非選択的，モルモット］） | ギルテリチニブフマル酸塩の，46 種の受容体，5 種のイオンチャネル，3 種のトランスポーターに対する親和性及び 3 種の酵素反応に対する阻害作用を調べた結果，ギルテリチニブフマル酸塩は 10 μmol/L でセロトニン $5HT_{2B}$ 受容体（ヒト），シグマ受容体（非選択的，モルモット），セロトニン $5HT_1$ 受容体（非選択的，ラット）及びアデノシン $A_1$ 受容体（ラット）に対する各放射性リガンドの特異的結合を 50%以上阻害し，それぞれの $IC_{50}$ 値は 0.190，0.615，4.90 及び 4.57 μmol/L であった。他の受容体，イオンチャネル及びトランスポーターへの放射性リガンドの特異的結合，並びに検討した酵素反応に対するギルテリチニブフマル酸塩の阻害作用は，10 μmol/L でいずれも 50%未満であった。 | 4.2.1.2-4<br>[redacted] |
| ヒト $5HT_{2B}$ 受容体の細胞機能アッセイ | ヒトセロトニン $5HT_{2B}$ 受容体発現細胞 (n=3，duplicate) | in vitro | アゴニスト活性：<br>0.03～10000 nmol/L;<br>アンタゴニスト活性：<br>0.02～6700 nmol/L | 細胞機能アッセイにおいて，ギルテリチニブフマル酸塩はヒト $5HT_{2B}$ 受容体の機能を阻害し，その $IC_{50}$ 値は 5.82 μmol/L であったが，アゴニスト活性を示さなかった。 | 4.2.1.2-5<br>[redacted] |

ALK：未分化リンパ腫キナーゼ，EML4-ALK：棘皮動物微小管結合蛋白質様 4-ALK，$IC_{50}$：50%阻害濃度

## 2.6.3.4　安全性薬理試験

（その 1）

被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

<table>
<tr><th>評価対象となる組織<br>（評価項目）</th><th>動物種／<br>系統<br>（試験方法）</th><th>投与<br>方法</th><th>濃度又は<br>投与量†</th><th>性別及び動<br>物数/群</th><th>特記すべき所見</th><th>GLP<br>適用</th><th>添付資料番号<br>（報告書番号）</th></tr>
<tr><td>中枢神経系<br>（一般症状及び行動）</td><td>ラット／<br>Crl:CD（SD）<br>（Irwin の変<br>法）</td><td>経口</td><td>0，10，30，<br>100 mg/kg</td><td>雄 6</td><td>10 mg/kg：影響なし<br>≥ 30 mg/kg：排尿した動物数の減少<br>100 mg/kg：排便した動物数の減少<br><br>投与日のギルテリチニブのトキシコキネティクス
<table>
<tr><th>投与量 (mg/kg)</th><th>$C_{max}$ (ng/mL)</th><th>$AUC_{24}$ (ng·h/mL)</th></tr>
<tr><td>10</td><td>109.71</td><td>1374.50</td></tr>
<tr><td>30</td><td>318.62</td><td>4858.38</td></tr>
<tr><td>100</td><td>805.52</td><td>13616.34</td></tr>
</table></td><td>適</td><td>4.2.1.3-1<br>（2215-PT-0003）</td></tr>
<tr><td>中枢神経系<br>（一般症状及び行動，<br>所見の回復性）</td><td>ラット／<br>Crl:CD（SD）<br>（Irwin の変<br>法）</td><td>経口</td><td>0，100 mg/kg</td><td>雄 6</td><td>100 mg/kg：排尿した動物数及び排便した動物数の減少。<br>それぞれ投与後 72 及び 48 時間までに回復した。<br><br>投与日のギルテリチニブのトキシコキネティクス
<table>
<tr><td>投与量 (mg/kg)</td><td>100</td></tr>
<tr><td>$C_{max}$ (ng/mL)</td><td>729</td></tr>
<tr><td>$AUC_{24}$ (ng·h/mL)</td><td>13900</td></tr>
<tr><td>$AUC_{48}$ (ng·h/mL)</td><td>22000</td></tr>
<tr><td>$AUC_{72}$ (ng·h/mL)</td><td>24200</td></tr>
<tr><td>$AUC_{120}$ (ng·h/mL)</td><td>24700</td></tr>
<tr><td>$AUC_{168}$ (ng·h/mL)</td><td>24800</td></tr>
</table></td><td>適</td><td>4.2.1.3-2<br>（2215-PT-0004）</td></tr>
<tr><td colspan="8">*次ページに続く*</td></tr>
</table>

## 2.6.3.4 安全性薬理試験（その 2）

被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

<table>
<tr><th>評価対象となる組織<br>（評価項目）</th><th>動物種／<br>系統<br>（試験方法）</th><th>投与<br>方法</th><th>濃度又は<br>投与量†</th><th>性別及び<br>動物数/群</th><th>特記すべき所見</th><th>GLP<br>適用</th><th>添付資料番号<br>（報告書番号）</th></tr>
<tr><td>心血管系<br>（hERG 電流）</td><td>hERGチャネル<br>発現 HEK293<br>細胞（パッチク<br>ランプ）</td><td>in<br>vitro</td><td>0，1，3，10，<br>30 μmol/L</td><td>5 細胞</td><td>1 μmol/L：影響なし<br>3, 10 及び 30 μmol/L では hERG 電流を濃度依存的に抑制し, hERG 電流の補正抑制率は各々18.1%，32.8%及び 70.7%であった。<br><br>$IC_{50}$ 値：16 μmol/L（8.84 μg/mL）</td><td>適</td><td>4.2.1.3-3<br>（2215-PT-0001）</td></tr>
<tr><td>心血管系及び呼吸系<br>（一般症状，体温，<br>血圧，心拍数，心電<br>図，呼吸数，血液ガ<br>ス，血中電解質濃度）</td><td>イヌ／<br>ビーグル<br>（無麻酔テレメ<br>トリー）</td><td>経口</td><td>0，1，3，10，<br>30，100 mg/kg<br>（7 日間間隔<br>で用量漸増単<br>回投与）</td><td>雄 4</td><td>1 mg/kg：影響なし<br>3 mg/kg：空吐<br>≥ 10 mg/kg：嘔吐及び便潜血反応陽性<br>30 mg/kg：血中カルシウム濃度の減少<br>100 mg/kg：流涎，血中カルシウム濃度の増加及びそれに続く減少<br><br>投与日のギルテリチニブのトキシコキネティクス
<table>
<tr><th>投与量<br>(mg/kg)</th><th>$C_{max}$<br>(ng/mL)</th><th>$AUC_{24}$<br>(ng·h/mL)</th><th>$AUC_{48}$<br>(ng·h/mL)</th></tr>
<tr><td>1</td><td>13.85</td><td>244.28</td><td>380.39</td></tr>
<tr><td>3</td><td>46.02</td><td>838.69</td><td>1314.88</td></tr>
<tr><td>10</td><td>125.64</td><td>2457.56</td><td>4242.26</td></tr>
<tr><td>30</td><td>265.76</td><td>5534.92</td><td>10591.36</td></tr>
<tr><td>100</td><td>257.44</td><td>5272.06</td><td>9580.06</td></tr>
</table></td><td>適</td><td>4.2.1.3-4<br>（2215-PT-0002）</td></tr>
</table>

*次ページに続く*

## 2.6.3.4 安全性薬理試験（その 3）

被験物質：ギルテリチニブフマル酸塩

| 評価対象となる組織<br>（評価項目） | 動物種／系統<br>（試験方法） | 投与<br>方法 | 濃度又は投与量 | 性別及び<br>動物数/群 | 特記すべき所見 | GLP<br>適用 | 添付資料番号<br>（報告書番号） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 心血管系<br>（$Na_V1.5$ 電流，$Ca_V1.2$ 電流，$K_V7.1$/minK 電流，<br>$K_V4.3$ 電流, $K_{ir}2.1$ 電流） | h$Na_V1.5$ 発現 HEK293 細胞，h$Ca_V1.2/\beta_2/\alpha_2\delta_1$ 発現 CHO 細胞，<br>h$K_V7.1$/minK 発現 HEK293 細胞，h$K_V4.3$ 発現 CHO 細胞，<br>h$K_{ir}2.1$ 発現 CHO 細胞<br>（パッチクランプ） | in vitro | 0，0.1，1，10 μmol/L<br>0.1 μmol/L の装置などへの吸着後の各回収率に基づいて補正した灌流液中濃度は 0.0884 μmol/L（$Na_V1.5$），0.0887 μmol/L（$Ca_V1.2$），0.0882 μmol/L（$K_V7.1$/minK，$K_V4.3$ 及び $K_{ir}2.1$） | 5 細胞 | 0.1 μmol/L：影響なし<br>1 μmol/L：$K_V7.1$/minK 電流及び $Ca_V1.2$ 電流の増加（各々1 細胞，2 細胞）<br>10 μmol/L：$K_V7.1$/minK 電流の増加（P<0.01），$Ca_V1.2$ 電流の増加（2 細胞） | 適 | 4.2.1.3-5<br>（2215-PT-0006） |
| 心血管系<br>（hERG 電流，<br>hERG Trafficking） | hERG チャネル発現 HEK293 細胞（24 時間曝露後のパッチクランプ） | in vitro | 0，0.1，1，10 μmol/L | 5 細胞 | 0.1，1 及び 10 μmol/L における各電流密度は，対照群の値に対して各々74.5%，75.7%及び 58.6%であり，統計学的有意差は認められなかった。 | 適 | 4.2.1.3-6<br>（2215-PT-0008） |
| 心血管系<br>（摘出心室プルキンエ線維標本における静止膜電位，活動電位最大振幅，30%，50%及び 90%再分極時の活動電位持続時間，第 3 相における三角形化及び $APD_{90}$ の短期的ばらつき） | 脳死した健康成人男性ドナー（微小電極法） | in vitro | 0，0.1，1 及び 5 μmol/L<br>適用開始時の灌流液中薬物濃度:<br>・0.1 μmol/L（ヒト標本設置無し）：0.05570 μmol/L（n=1），<br>・1 μmol/L（ヒト標本設置無し）：0.5219 μmol/L（n=1）<br>・5 μmol/L（ヒト標本設置無し）：平均 3.204 μmol/L（n=2）<br>・5 μmol/L（ヒト標本設置有り）：平均 4.245 μmol/L（n=3） | 3 標本 | 4.245 μmol/L（2346 ng/mL）の濃度までいずれのパラメータにも影響を及ぼさなかった。 | 非 | 4.2.1.3-7 (参)<br>（2215-PT-0007）<br><br>灌流液中濃度測定：<br>4.2.1.3-8 (参)<br>（2215-PT-0009）<br>4.2.1.3-9 (参)<br>（2215-PT-0010）<br>4.2.1.3-10 (参)<br>（2215-PT-0012） |

hERG: ヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子, HEK293 細胞: ヒト胎児腎臓由来 293 細胞, $IC_{50}$: 50%阻害濃度, $Na_V1.5$: $Na_V1.5$ ナトリウムチャネル, $Ca_V1.2$: $Ca_V1.2$ カルシウムチャネル, $K_V7.1$/minK: $K_V7.1$/minK カリウムチャネル，$K_V4.3$：$K_V4.3$ カリウムチャネル，$K_{ir}2.1$：$K_{ir}2.1$ カリウムチャネル，h$Na_V1.5$：ヒト $Na_V1.5$ ナトリウムチャネル，h$Ca_V1.2/\beta_2/\alpha_2\delta_1$：ヒト $Ca_V1.2/\beta_2/\alpha_2\delta_1$ カルシウムチャネル，h$K_V7.1$/minK：ヒト $K_V7.1$/minK カリウムチャネル，h$K_V4.3$：ヒト $K_V4.3$ カリウムチャネル，h$K_{ir}2.1$：ヒト $K_{ir}2.1$ カリウムチャネル，CHO 細胞：チャイニーズハムスター卵巣由来細胞

†：単回投与

### 2.6.3.3　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験に該当する試験は実施しなかった。