# ポートラーザ点滴静注液 800mg

# 2.4　非臨床試験の概括評価

日本イーライリリー株式会社

# 目次

2.4　非臨床試験の概括評価 2
2.4.1　非臨床試験計画概略 2
2.4.2　非臨床評価における留意点 3
2.4.2.1　薬物動態試験での留意点 3
2.4.2.2　毒性試験での留意点 3
2.4.3　薬理試験の要約 4
2.4.4　薬物動態試験の要約 5
2.4.5　毒性試験の要約 5
2.4.6　総括及び結論 5
2.4.7　参考文献 7

略語一覧

| | |
|---|---|
| ADCC | 抗体依存性細胞傷害 |
| EGFR | 上皮成長因子受容体 |
| GLP | Good Laboratory Practice |
| Erk | 細胞外シグナル制御キナーゼ |
| ICH | 日米 EU 医薬品規制調和国際会議 |
| Ig | 免疫グロブリン |
| IMC-11F8 | ネシツムマブ |
| NOAEL | 無毒性量 |
| PK | ファーマコキネティクス |
| Sq CLC | 肺癌（扁平上皮癌）、扁平上皮非小細胞肺癌 |
| $t_{1/2}$ | 半減期 |
| TK | トキシコキネティクス |

## 2.4　非臨床試験の概括評価

ネシツムマブ（LY3012211 又は IMC-11F8 とも表記）はヒト上皮成長因子受容体（EGFR）に結合する完全ヒト免疫グロブリン G1（IgG1）モノクローナル抗体であり、EGFR リガンドの EGFR への結合に拮抗する。ネシツムマブは進行・再発の肺癌（扁平上皮癌）（扁平上皮非小細胞肺癌、Sq CLC）患者の治療を目的として開発中である。

### 2.4.1　非臨床試験計画概略

ネシツムマブは進行がんの治療を目的とした抗体医薬品であることから、毒性試験は日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）S6(R1)、S9 及び M3 ガイドラインに準じて実施した。カニクイザル（以下、サルと表記）を用いた 5 週間及び 26 週間反復投与毒性試験並びに組織交差反応性試験は Good Laboratory Practice（GLP）を適用して実施した。反復投与毒性試験において、安全性薬理（心血管系、呼吸系及び中枢神経系）及び生殖能（生殖器官の病理組織学的検査）についての評価も実施した。遺伝毒性、がん原性及び生殖発生毒性を評価する試験は実施しなかった（CTD 第 2.4.2.2 項）。なお、反復投与毒性試験の一部［トキシコキネティクス（TK）及び免疫原性評価］については GLP 非適用下で実施したが、適切な科学的基準及び信頼性の確保された手順で実施したものであり、試験の全体的な結論に影響を及ぼさなかった（CTD 第 2.6.6.3 項）。このほか、試験の信頼性及び結果に影響を及ぼす GLP 逸脱は認められなかった。

ネシツムマブの薬理学的特徴を明らかにする目的で、EGFR に対する結合能、並びにリガンド刺激による EGFR 活性化及びその下流シグナル伝達に対する阻害能を各種 in vitro 試験で評価した。また、マウス腫瘍移植モデルを用いて、ネシツムマブの抗腫瘍効果と血中曝露量との関連性を評価し、臨床で抗腫瘍効果を得るために必要な血中濃度を推定した。さらに、ヒト Sq CLC 細胞を異種移植したマウスにネシツムマブをプラチナダブレット（ゲムシタビン及びシスプラチン）と併用投与する試験を実施し、臨床効果の裏付けとなる成績を得た。

薬物動態試験はマウス及びサルを用いて実施した。ファーマコキネティクス（PK）はマウス及びサルを用いた単回投与試験で、TK はサルを用いた反復投与毒性試験の一部としてそれぞれ評価した。投与経路には臨床で予定している静脈内投与を主に用いた。ネシツムマブはモノクローナル抗体であることから、分布、代謝、排泄に関する試験は実施しなかった（CTD 第 2.4.2.1 項参照）。

5 週間反復投与毒性試験ではプロセス A で製造されたネシツムマブが、26 週間反復投与毒性試験ではプロセス B で製造されたネシツムマブが用いられた。また、サルを用いた薬物動態試験において、プロセス B 及び C で製造したネシツムマブを投与した際の PK を比較したところ、PK に明らかな差は認められなかった。なお、臨床試験では、4 種の異なる製造プロセス（プロセス A、B、C 及び D）により製造したネシツムマブ原薬が使用され（CTD 第 2.5.2.1 項）、市販予定製剤としては、プロセス D 原薬から製造した製剤が用いられる。各製造プロセスで製造した原薬及びその製剤の同等性／同質性は、理化学試験により確認されており、プロセス C 及び D で製造したネシツムマブ原薬を用いて製造した製剤の同等性／同質性は、臨床試験におけるネシツムマブの薬物動態を評価することで確認されている（CTD 第 2.7.1.1 項）。

### 2.4.2 非臨床評価における留意点

ネシツムマブの非臨床試験成績を評価する上での留意点とその考察を以下に列挙する。

#### 2.4.2.1 薬物動態試験での留意点

- **サルの反復投与毒性試験で抗ネシツムマブ抗体を正確に評価できなかったこと：**サルを用いた反復投与毒性試験において抗ネシツムマブ抗体を分析したが、血清試料の多くで抗ネシツムマブ抗体の検出を妨害する可能性のある濃度のネシツムマブが検出されたため、免疫原性を正確に評価することができなかった。しかしながら、個々の動物の血清中濃度–時間推移に反復投与に伴う顕著な変化は認められず、抗ネシツムマブ抗体によるネシツムマブの曝露量への大きな影響は示唆されなかった。
- **吸収/代謝/排泄に関する試験を実施しなかったこと：**ネシツムマブはモノクローナル抗体であり、その分布は主に血管系に限られると予想されたことから、組織分布試験は実施しなかった。この推測は、サルにおける分布容積が血液量にほぼ等しかったことから裏付けられた。また、ネシツムマブはタンパク質の異化経路によりペプチド及びアミノ酸に分解されて体内から消失すると考えられること［ICH S6(R1)］から、代謝及び排泄に関する試験は実施しなかった。

#### 2.4.2.2 毒性試験での留意点

- **サル 1 種を選択した妥当性：**ネシツムマブはサルの EGFR に対し結合親和性を示すが、ウサギ、マウス及びラット EGFR への結合親和性は低い、あるいはほとんど結合しないことから（CTD 第 2.6.2.2.1.2 項）、ネシツムマブの安全性評価にはサルを用いた。以下の理由により、サルは適切な動物種であると考えられた。ネシツムマブのサル EGFR に対する結合親和性はヒト EGFR と同程度であった。また、組織交差反応性試験において、蛍光標識ネシツムマブの組織結合パターンはヒト及びサル組織パネルで類似していた（CTD 第 2.6.6.8.1 項）。さらに、サル 26 週間反復投与毒性試験でネシツムマブの薬理作用（EGFR 阻害）を示唆する皮膚毒性が見られた。

- **サルで見られた皮膚毒性に無毒性量が得られていないこと：**サルの 26 週間反復投与毒性試験（6、19 及び 60 mg/kg）において、全用量群で皮膚毒性が観察されたため無毒性量（NOAEL）は得られなかった。ネシツムマブによる皮膚毒性は発現までの期間が長く、休薬により回復性が認められた。サルの 5 週間反復投与毒性試験（4、12 及び 40 mg/kg）では毒性変化は認められなかった。皮膚毒性は EGFR 阻害に関連すると考えられ、他の EGFR を標的とする医薬品でも報告されている。サルの長期試験で皮膚毒性に関する NOAEL は得られていないものの、ヒトにおいては皮膚毒性について注意深くモニターすることにより適切な投薬管理が可能と考えられる。

- **遺伝毒性試験を実施しなかったこと：**ネシツムマブはモノクローナル抗体であり、DNA やその他の染色体成分とは反応しないと予想されるため、ネシツムマブの遺伝毒性試験は実施しなかった［ICH S6(R1)］。

- **がん原性試験を実施しなかったこと：**ネシツムマブは進行がんの患者の治療を目的とした医薬品であることから、がん原性試験は実施しなかった（ICH S9）。
- **生殖発生毒性試験を実施しなかったこと：**ネシツムマブの独立した生殖発生毒性試験は実施しなかった。進行がんの患者の治療を目的とした医薬品の製造販売承認申請において、科学的正当性がある場合、文献的評価など、通常の生殖発生毒性試験実施とは別のアプローチを考慮してもよいとされている（ICH S9）。ネシツムマブの標的分子である EGFR の生物学的作用に関する文献評価において、EGF/EGFR シグナル伝達経路を阻害すると、胚・胎児発生及び生後の発達に悪影響が生じる可能性が示されている（Sibilia et al. 1998; Wong 2003; Dackor et al. 2009）。また、EGFR を標的とする他の医薬品[1]において、生殖発生毒性が報告されている。特に、セツキシマブは、エピトープがネシツムマブのエピトープと類似する抗体であるため、セツキシマブのサルを用いた胚・胎児発生に関する試験で観察された変化（胚死亡及び流産の増加）と同様の変化がネシツムマブの投与によっても生じる可能性が高い。このように、ネシツムマブの妊婦及び胎児に対する重大なリスクが示唆され、医療関係者及び患者がネシツムマブを適正使用するために必要な情報は十分得られたものと考えており、添付文書において対象患者に対する注意喚起を行う予定である。仮にネシツムマブのサルを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施しても、ネシツムマブのベネフィット・リスク評価に影響する新たな情報は得られないと考えることから、動物福祉の観点からもネシツムマブの生殖発生毒性試験は不要と判断した。なお、雌雄の生殖能については、ネシツムマブの 26 週間反復投与毒性試験における生殖器官を評価した結果、影響は認められなかった。

### 2.4.3　薬理試験の要約

一連の in vitro 試験の成績から、ネシツムマブはヒトの EGFR に選択的に高い親和性で結合し、EGFR へのリガンド結合を強力に阻害することが示された。また、ネシツムマブはリガンド刺激による EGFR の活性化を阻害して細胞外シグナル制御キナーゼ（Erk）1/2 などの下流シグナル伝達を阻害すること、EGFR の内在化及び分解を誘導すること、並びに抗体依存性細胞傷害（ADCC）を誘導することが示された。

種々の異種移植腫瘍モデルを用いた Proof-of-Concept 試験において、ネシツムマブは顕著な抗腫瘍効果を示した。BxPC-3 細胞の異種移植モデルにおいて、ネシツムマブの血漿中トラフ濃度が 40 μg/mL を超えて維持されたとき 50%を超える腫瘍増殖抑制が見られたことから、臨床試験ではこの濃度を維持すると推測される用量を選択し、開発を進めた。その後に実施した、ヒト非小細胞肺癌細胞をマウスに異種移植した試験においてもネシツムマブは単独投与で有意な抗腫瘍効果を示した。ヒト Sq CLC 細胞をマウスに異種移植した試験では、プラチナダブレット（ゲムシタビン及びシスプラチン）の単独投与時と比較して、ネシツムマブとの併用投与による有意な相加作用が抗腫瘍効果に認められた。

ネシツムマブの安全性薬理評価を、サルを用いた 5 週間及び 26 週間反復投与毒性試験において実施した結果、心血管系、呼吸系及び中枢神経系に変化は認められなかった。

[1] エルロチニブ塩酸塩、ゲフィチニブ、セツキシマブ、パニツムマブ、バンデタニブ、ラパチニブトシル酸塩水和物

### 2.4.4　薬物動態試験の要約

得られた主な成績を以下に示す。

- ネシツムマブをマウスに単回静脈内又は腹腔内投与した際の半減期（$t_{1/2}$）は約 5 日であったことから、マウス腫瘍移植モデルを用いた試験での投与頻度は週 2 回とした。
- マウス及びサルにおけるネシツムマブの全身曝露量は、用量増加に伴って用量比を上回る増加を示した。
- ネシツムマブをサルに静脈内投与したところ、クリアランス及び $t_{1/2}$ は用量依存的にそれぞれ低下及び延長し、曝露量は用量比を上回って増加した。ネシツムマブのサルへの週 1 回 26 週間反復投与により蓄積が見られた。
- サルの定常状態におけるネシツムマブの分布容積は血液量にほぼ等しかった。
- ネシツムマブをサルに投与した際の TK パラメータに明らかな性差は認められなかった。
- サルを用いた免疫原性評価では、循環血中に存在する高濃度のネシツムマブによる分析の妨害が見られたが、毒性試験においてネシツムマブが血清中に検出され、反復投与に応じた曝露量の減少は見られなかった。
- 異なる製造プロセス（プロセス B 及び C）で製造したネシツムマブをサルに投与した際の PK に明らかな差は認められなかった。

### 2.4.5　毒性試験の要約

サルの 5 週間反復投与毒性試験（6 週間回復性評価を含む）及び 26 週間反復投与毒性試験（8 週間回復性評価を含む）を週 1 回の静脈内投与により実施し、毒性、局所刺激性及び安全性薬理について評価した。トキシコキネティクス及び抗ネシツムマブ抗体の分析も実施した。遺伝毒性試験、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 第 2.4.2.2 項）。

5 週間及び 26 週間反復投与毒性試験の曝露量は、臨床推奨用量での定常状態の曝露量と比較しそれぞれ 1.2 倍及び 5.4 倍であった（表 2.4-1）。毒性変化は 26 週間反復投与毒性試験で認められた過形成性皮膚炎のみであり、肉眼的所見としては紅斑及び落屑が見られ、病理組織学的検査では表皮過形成、過角化及びリンパ球性表皮真皮境界部炎症が観察された。皮膚毒性は他の EGFR を標的とする医薬品でも報告されている。作用機序からは予想されないような毒性所見は認められなかった。血清試料の多くで抗ネシツムマブ抗体の分析を妨害する濃度のネシツムマブが検出されたため、免疫原性を正確に評価することができなかったが、ネシツムマブの曝露量の明らかな低下は見られず、抗体産生による毒性評価への明らかな影響はなかったと考えられた。以上、反復投与毒性試験結果から、ネシツムマブによる治療を受けた患者においても皮膚反応関連事象の発現が予想されるが、適切な処置により管理可能と考えられる。

### 2.4.6　総括及び結論

一連の薬理、薬物動態及び毒性試験から得られた成績により、ネシツムマブの臨床使用時における有効性及び安全性が裏付けられた。ネシツムマブは EGFR リガンドの EGFR への結合を阻害することにより、EGFR の活性化及びその下流シグナル伝達を強力に阻害すること、ヒト腫瘍細胞の異種移植モデルにおいて有効性を示すことが示された。サルにおいて、ネシツムマブは他の

ヒトモノクローナル抗体と類似した PK プロファイルを示した。抗ネシツムマブ抗体産生による毒性評価への明らかな影響はないと考えられた。サル反復投与毒性試験において皮膚毒性が認められたが、用いた最高用量まで忍容性が認められた。皮膚毒性はネシツムマブの薬理作用（EGFR 阻害）に関連すると考えられ、サルがネシツムマブに十分曝露されていたことが示唆された。臨床試験において高い割合で報告された有害事象は、皮膚反応関連事象及び低マグネシウム血症関連事象であり、抗 EGFR モノクローナル抗体で予測される安全性プロファイルとおおむね一致したものであった（CTD 第 2.7.4 項）。サルの反復投与毒性試験では明らかな血清中マグネシウム値の低下は見られなかった。毒性試験は少数例の健康な動物を用いて実施するため、患者を用いた大規模試験で生じる有害事象と同様の変化を必ずしも検出できない場合がある。

サルにおける曝露量を臨床推奨用量での定常状態の曝露量と比較した場合、5 週間反復投与毒性試験の NOAEL（40 mg/kg）における曝露量は約 1.2 倍、26 週間反復投与毒性試験で忍容性が認められた最高用量（60 mg/kg）における曝露量は約 5.4 倍に相当する。

**表 2.4-1 動物及びヒトのネシツムマブ曝露量比**

| | 曝露量 (AUC, µg·hr/mL) | Cave, ss [a] (µg/mL) | 曝露量比 [b] (Cave, ss に基づく) |
|---|---|---|---|
| **ヒトの用量** | | | |
| 800 mg、3 週間を 1 コースとして、1 日目及び 8 日目に投与、3 週目は休薬 | 130000[c](0-504 hours) | 259 | — |
| **サルの用量** | | | |
| 5 週間反復投与毒性試験の NOAEL[d] 40 mg/kg Q7D | 103552[f](0-336 hours) | 308 | 1.2 |
| 26 週間反復投与毒性試験で忍容性が認められた最高用量 [e] 60 mg/kg Q7D | 233431[g](0-168 hours) | 1389 | 5.4 |

略語：AUC = 濃度－時間曲線下面積、hr = 時間、NOAEL = 無毒性量、Q7D = 週 1 回。

[a] Cave, ss = AUC÷投与間隔（ヒト：504 時間、サル 5 週間反復投与毒性試験：336 時間、サル 26 週間反復投与毒性試験：168 時間）

[b] 曝露量比は、動物における Cave, ss をヒトにおける Cave, ss で除した値である。

[c] 800 mg の週 1 回投与を 2 週連続し 3 週目は休薬し、これを 1 コース（3 週間）として投与を繰り返した。6 コース目の 1 及び 8 日目に 800 mg を静脈内投与したときの AUC の予測値の中央値（90%信頼区間：77300～213000 µg·hr/mL）。母集団薬物動態解析における最終モデルを用いたシミュレーションより算出した JFCM 試験の日本人患者のデータ（JFCM PopPK 解析：第 5.3.3.5.2 項）

[d] 5 週間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（報告書 CR0878）における NOAEL。ネシツムマブを 40 mg/kg までの用量で週 1 回投与した。

[e] 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（報告書 [redacted].023.07）で忍容性が認められた最高用量。ネシツムマブを 60 mg/kg までの用量で週 1 回投与した。

[f] 初回投与後の雌雄平均の曝露量

[g] 週 1 回、26 週間投与後の雌雄平均の曝露量

要約すると、非臨床薬理学的評価から、Sq CLC 患者にネシツムマブをプラチナダブレットと併用投与することの妥当性が示された。ネシツムマブをサルに反復投与したときの主な変化は皮膚毒性であり、ネシツムマブの薬理作用（EGFR 阻害）に関連すると考えられた。臨床推奨用量での曝露量を上回る用量においても、作用機序から予想されないような毒性所見は見られなかった。ネシツムマブの一連の非臨床試験成績に基づき、Sq CLC 患者へのネシツムマブの臨床推奨用量での投与は可能であり、ネシツムマブの適正使用のために医療関係者及び患者に提供する非臨床情報は得られたものと考える。

## 2.4.7 参考文献

Dackor J, Caron KM, Threadgill DW. Placental and embryonic growth restriction in mice with reduced function epidermal growth factor receptor alleles. Genetics. 2009;183:207-218.

Sibilia M, Steinbach JP, Stingl L, Aguzzi A, Wagner EF. A strain-independent postnatal neurodegeneration in mice lacking the EGF receptor. EMBO J. 1998;17:719-731.

Wong RW. Transgenic and knock-out mice for deciphering the roles of EGFR ligands. Cell Mol Life Sci. 2003;60:113-118.