

オニバイド[®]点滴静注 43mg

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.6.1 緒言

日本セルヴィエ株式会社

目次

1 緒言	4
参考文献	5

略号及び用語の説明

記号	日本語	英語
BAX2398	ナノリポソーム型 CPT-11 別称：nLs-CPT-11、nal-IRI、 Lipo-CPT-11、HBI-202、PEP02 及び MM-398	nanoliposomal CPT-11, nLs-CPT-11, nal-IRI, Lipo-CPT-11, HBI-202, PEP02 and MM-398
CES	カルボキシシルエステラーゼ	carboxylesterase
CPT-11	イリノテカン塩酸塩水和物 (JAN)	irinotecan hydrochloride hydrate (Japanese Accepted Name)
DNA	デオキシリボ核酸	deoxyribonucleic acid
ICH	医薬品規制調和国際会議	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for human use
SN-38	イリノテカンの活性代謝物	7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin, active metabolite of irinotecan

1 緒言

BAX2398 は、イリノテカン塩酸塩水和物 (7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-piperidino] carbonyloxycamptothecin hydrochloride trihydrate、CPT-11) のナノリポソーム製剤であり、循環血中に長時間滞留するリポソームベースのナノ粒子にイリノテカンを封入し、製剤の高含量及び高い生体内安定性を得るための新規リポソーム内薬物安定化技術を用いている。ナノリポソーム製剤は薬物の滞留時間を延長させ、細胞毒性作用を持続させることで抗腫瘍作用を増強させるようにデザインされている。

BAX2398 はイリノテカン 4.3 mg/mL 濃度 (イリノテカン塩酸塩水和物として 5.0 mg/mL 濃度) の注射用液であり、付属物を含まない 10 mL バイアルの 1 製剤として提供される。本品は無菌かつ半透明のリポソーム分散液であり、静脈内投与のために 5%ブドウ糖又は生理食塩液で希釈する。各バイアル (10 mL) は、43 mg のイリノテカンを含有している。

BAX2398 は、ゲムシタビンによる治療後に増悪した転移性膵癌に対して使用することを予定している。

BAX2398 の予定する用法・用量は、通常、成人にはイリノテカンとして 1 回 70 mg/m² を 90 分かけて点滴静注する。BAX2398 投与終了直後にレボホリナートカルシウム 200 mg/m² を 2 時間かけて点滴静注し、その後、フルオロウラシル 2400 mg/m² を 46 時間かけて点滴静注する。これを 2 週間ごとに繰り返す。なお、患者の状態により適宜減量する。

イリノテカンは、トポイソメラーゼ I 阻害剤に属する薬剤であり、天然アルカロイドであるカンプトテシンの水溶性半合成誘導体である。トポイソメラーゼ I 阻害剤は、デオキシリボ核酸 (DNA) の巻戻し、即ち複製を阻害することによって、制御不能な細胞増殖を抑制する。イリノテカンの薬理作用は複雑であり、イリノテカンの活性化、不活性化及び除去過程での広範な代謝変換に関連する [2、3、4]。イリノテカンは、非特異的カルボキシルエステラーゼ (CES) によって、100~1000 倍強力な活性を有する代謝物 SN-38 に変換される [2]。SN-38 は、グルクロン酸化によって除去されるため、患者において主要な薬理遺伝学的相違が示されている [1]。これらの薬物特性は、その臨床的有効性及び毒性の顕著な個体差の原因となる。したがって、薬物担体技術は、イリノテカンの薬物動態及び生体内分布を改善し、早期代謝を回避するための合理的な手立てである。

非臨床開発プログラムは、該当する場合は ICH S9、ICH M3(R2)及び ICH S7 を含む医薬品規制調和国際会議 (ICH) ガイドラインに従い計画し、薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的特性を検討するため *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。

参考文献

1. Innocenti F, Kroetz DL, Schuetz E, Dolan ME, Ramírez J, Relling M, et al. Comprehensive pharmacogenetic analysis of irinotecan neutropenia and pharmacokinetics. *J Clin Oncol* 2009; 27:2604-14.
2. Mathijssen RHJ, van Alphen RJ, Verweij J, Loos WJ, Nooter K, Stoter G, et al. Clinical pharmacokinetics and metabolism of irinotecan (CPT-11). *Clin Cancer Res* 2001; 7:2182-94.
3. Slatter JG, Schaaf LJ, Sams JP, Feenstra KL, Johnson MG, Bombardt PA, et al. Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of irinotecan (CPT-11) following I.V. infusion of [¹⁴C]CPT-11 in cancer patients. *Drug Metab Dispos* 2000; 28:423-33.
4. Xie R, Mathijssen RHJ, Sparreboom A, Verweij J, Karlsson MO. Clinical pharmacokinetics of irinotecan and its metabolites: a population analysis. *J Clin Oncol* 2002; 20:3293-301.

オニバイド[®]点滴静注 43mg

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.6.2 薬理試験の概要文

日本セルヴィエ株式会社

目次

1	まとめ	7
2	効力を裏付ける試験	9
2.1	<i>In Vitro</i> 試験	9
2.1.1	各種 <i>in vitro</i> 培養細胞での蛍光標識低密度 PEG リポソームの細胞内取り込み (MM-398-NC-N-Ph-017 試験)	9
2.1.2	各種 <i>in vitro</i> 培養細胞での BAX2398 取り込み後のマクロファージ様細胞からの イリノテカン放出 (MM-398-NC-N-Ph-025 試験)	12
2.1.3	腫瘍溶解液中でのイリノテカンから SN-38 への変換 (MM-398-NC-N-Ph-026 試 験)	13
2.1.4	分化誘導した U937 細胞株での BAX2398 活性化 (Kalra 2014)	15
2.1.5	各種膀胱癌細胞株での SN-38 の <i>in vitro</i> 細胞傷害作用 (MM-398-NC-N-Ph-028 試 験)	16
2.2	<i>In Vivo</i> 試験	17
2.2.1	同所性及び異所性膀胱癌移植モデルマウスに対する BAX2398 の抗腫瘍作用	18
2.2.2	その他の腫瘍移植モデルマウスに対する BAX2398 の抗腫瘍作用	29
2.3	その他の薬理試験	41
2.3.1	代謝物の薬理学的プロファイル	41
3	副次的薬理試験	43
4	安全性薬理試験	44
4.1	<i>In Vitro</i> 試験	45
4.2	<i>In Vivo</i> 試験	45
4.2.1	テレメトリー装着ビーグル犬での心血管系及び呼吸器系に対する作用 (20036143 試験)	45
5	薬力学的薬物相互作用試験	47
6	考察及び結論	48
	参考文献	50

表目次

表 2.6.2-1 各種細胞株における蛍光標識リポソーム取り込み.....	10
表 2.6.2-2 食食能を有するマウス細胞株における蛍光標識した 低密度又は高密度 PEG リポソーム取り込み.....	11
表 2.6.2-3 各種膀胱癌細胞株での SN-38 の IC ₅₀ 値及び殺細胞率.....	17
表 2.6.2-4 MM-398-NC-N-Ph-016 試験計画概要.....	19
表 2.6.2-5 MM-398-NC-N-Ph-023A1 試験計画概要.....	20
表 2.6.2-6 MM-398-NC-N-Ph-024A1 試験計画概要.....	22
表 2.6.2-7 MM-398-NC-N-Ph-027 試験計画概要.....	23
表 2.6.2-8 CB.17 SCID マウスの異所性 PDX 膀胱癌モデルに対する BAX2398、CPT-11 及 びゲムシタピンの腫瘍増殖抑制作用.....	25
表 2.6.2-9 MM-398-NC-N-Ph-018A1 試験計画概要.....	26
表 2.6.2-10 NOD-SCID マウスの異所性 CDX 膀胱癌モデルに対する BAX2398、CPT-11 及 びゲムシタピンの腫瘍増殖抑制作用.....	27
表 2.6.2-11 各種膀胱癌モデルにおける BAX2398 静脈内投与後の 腫瘍内イリノテカン及 び SN-38 濃度.....	29
表 2.6.2-12 PEP02-NC-N-Ph-005 試験計画概要.....	30
表 2.6.2-13 PEP02-NC-N-Ph-006、PEP02-NC-N-Ph-007 及び PEP02-NC-N-Ph-008 試験計 画概要.....	31
表 2.6.2-14 PEP02-NC-N-Ph-011 試験計画概要.....	33
表 2.6.2-15 PEP02-NC-N-Ph-012 試験計画概要.....	34
表 2.6.2-16 同程度の AUC _{SN-38} を示す CPT-11 及び BAX2398 による 抗腫瘍作用試験計 画概要.....	35
表 2.6.2-17 BAX2398 による抗腫瘍作用の用量依存性試験計画概要.....	37
表 2.6.2-18 BAX2398-NC-N-Ph-022 試験計画概要.....	40
表 2.6.2-19 安全性薬理試験一覧.....	44
表 2.6.2-20 20036143 試験デザイン.....	46

図目次

図 2.6.2-1 腫瘍溶解液中のイリノテカンから SN-38 への変換	15
図 2.6.2-2 PMA で分化誘導した U937 細胞株での BAX2398 活性化.....	16
図 2.6.2-3 NOD-SCID マウスの HT-29 大腸癌モデルに対する BAX2398 及び CPT-11 の抗腫瘍作用	36
図 2.6.2-4 NOD-SCID マウスの HT-29 モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用の用量依存性	37
図 2.6.2-5 BAX2398 及び CPT-11 の <i>in vivo</i> 活性と腫瘍内 SN-38 滞留時間との関係.....	38
図 2.6.2-6 腫瘍内 SN-38 滞留時間に影響するモデルパラメータ	39

略号及び用語の説明

記号	日本語	英語
5-FU	5-フルオロウラシル	5-fluorouracil
ANOVA	分散分析	analysis of variance
APC	イリノテカンのアミノ吉草酸代謝物	7-ethyl-10-[4-N-(5-aminopentanoic acid)-1-piperidino]-carbonyloxycamptothecin, aminopentanoic acid metabolite of irinotecan
ATCC	-	American Type Culture Collection
AUC	濃度-時間曲線下面積	area under the concentration-time curve
AUC _{SN-38}	SN-38 の AUC	AUC of SN-38
BAX2398	ナノリポソーム型 CPT-11 別称：nLs-CPT-11、nal-IRI、Lipo-CPT-11、HBI-202、PEP02 及び MM-398	nanoliposomal CPT-11, nLs-CPT-11, nal-IRI, Lipo-CPT-11, HBI-202, PEP02 and MM-398
BLI	生物発光イメージング	bioluminescence imaging
CA9	炭酸脱水素酵素 9	carbonic anhydrase 9
CDX	細胞株由来異種移植片	cell-line derived xenograft
CES	カルボキシシルエステラーゼ	carboxylesterase
CNS	中枢神経系	central nervous system
CPT-11	イリノテカン塩酸塩水和物 (JAN)	irinotecan hydrochloride hydrate (Japanese Accepted Name)
CT	X 線コンピュータ断層撮影法	computed tomography
CYP	シトクロム P450	cytochrome P450
DiI5	脂溶性カルボシアニン色素 DiIC ₁₈ (5)-DS 標識	fluorescent lipophilic carbocyanine DiIC ₁₈ (5)-DS tag
DNA	デオキシリボ核酸	deoxyribonucleic acid
DSPC	1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン	1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine
EF5	2-ニトロイミダゾール (低酸素マーカー)	2- nitroimidazole hypoxia marker
EPR	腫瘍組織の血管透過性及び滞留性亢進	enhanced permeability and retention
FAZA	フルオロアゾマイシンアラビノシド	fluoroazomycin arabinoside
FBS	ウシ胎児血清	fetal bovine serum
FLT	フルオロチミジン	fluorothymidine
HPLC	高速液体クロマトグラフィー	high performance liquid chromatography
IACUC	-	Institutional Animal Care and Use Committee
IC ₅₀	50%阻害濃度	50% inhibitory concentration
MDSC	骨髄由来免疫抑制細胞	myeloid-derived suppressor cell
MFI	平均蛍光強度	mean fluorescence intensity

略号及び用語の説明（続き）

記号	日本語	英語
MPEG-2000-DSPE	N-(カルボニル-メトキシポリエチレングリコール 2000)-1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン	N-(carbonyl-methoxypolyethyleneglycol-2000)-1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine
MRI	磁気共鳴映像法	magnetic resonance imaging
MTD	最大耐量	maximum tolerated dose
NOD	非肥満糖尿病	non obese diabetes
NPC	イリノテカンのアミノピペリジノ代謝物	7-ethyl-10-[4-(1-piperidino)-1-amino]-carbonyloxycamptothecin, amino-piperidino metabolite of irinotecan
PBS	リン酸緩衝生理食塩水	phosphate buffered saline
PDX	患者由来異種移植片	patient-derived xenograft
PEG	ポリエチレングリコール	polyethyleneglycol
PET	陽電子放出断層撮影	positron emission tomography
PK	薬物動態	pharmacokinetic
PMA	ホルボールエステル	phorbol 12-myristate 13-acetate
qxd	X 日に 1 回	every x days
qxw	X 週に 1 回	every x weeks
SCID	重症複合免疫不全	severe combined immune deficiency
SD _g	幾何平均の標準偏差	standard deviation of the geometric mean
SN-38	イリノテカンの活性代謝物	7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin, active metabolite of irinotecan
SN-38G	SN-38 グルクロニド G	SN-38 glucuronide
TAM	腫瘍随伴マクロファージ	tumor-associated macrophage
TGI	腫瘍増殖抑制率	tumor growth inhibition
TV _t	投薬群の平均腫瘍体積	tumor volume treatment
TV _c	対照群の平均腫瘍体積	tumor volume control
UGT1A	ウリジン-二リン酸-グルクロン酸転移酵素 1A	uridine diphosphate-glucuronosyl transferase 1A
%ID/g	組織重量当たりの投与量%	percent injected dose per gram of tissue
%rCV	ロバスト変動係数	robust coefficient of variation

1 まとめ

BAX2398 は、リポソーム（平均直径：約 110 nm）に医薬品有効成分であるイリノテカン塩酸塩水和物（CPT-11）を封入した製剤である。本資料中、BAX2398 又は CPT-11 にかかわらず、各投与量は CPT-11 に基づき表示する。CPT-11 50 mg はイリノテカン 43 mg に相当する。

In vivo 試験結果を裏付けるため、複数の *in vitro* 試験を実施した。各種マウス及びヒト細胞株での蛍光標識リポソームの集積を評価するため、*in vitro* 培養細胞を用いたリポソーム取り込み試験を実施した。マウス及びヒトの両マクロファージ様細胞株は、腫瘍細胞よりも 10~40 倍高い濃度のリポソームを集積し、リポソーム取り込みは、ポリエチレングリコール（PEG）修飾の程度がより少ないリポソームで増加した（MM-398-NC-N-Ph-017 試験）。リポソーム取り込み後、貪食細胞からペイロードであるイリノテカンの一部が放出された（MM-398-NC-N-Ph-025 試験）。さらに、薬物動態（PK）モデリングにより、リポソーム送達後の腫瘍内イリノテカンの変換が *in vivo* 活性における重要なパラメータであることが予測された。薬物変換試験において、ヒトマクロファージ様細胞と同様に腫瘍試料を含む広範な腫瘍から採取した腫瘍溶解液は、イリノテカンを活性代謝物 SN-38 に酵素的に加水分解できることが示された（MM-398-NC-N-Ph-026 試験、Kalra 2014）。各種腫瘍細胞株において SN-38 濃度と細胞死との関連を検討した結果、大部分の細胞株に対する SN-38 の 50%阻害濃度（IC₅₀）は 10 nmol/L（3.9 ng/mL）未満であり

（MM-398-NC-N-Ph-028 試験）、分化させたヒト U937 細胞と BAX2398 とのインキュベーション 48 時間後の培地中 SN-38 濃度と同程度であった（Kalra 2014）。

腫瘍に対する *in vivo* 試験では、複数の同所性及び異所性腫瘍異種移植モデルを用いて BAX2398 の効果を評価した。結果、BAX2398 は強力な抗腫瘍作用を示した。同所性 BxPC3 腫瘍異種移植モデルにおいて、BAX2398 は腫瘍増殖を抑制し、転移腫瘍量を減少させた

（MM-398-NC-N-Ph-016 試験）。また、著しく低酸素性である同所性 OCIP51 腫瘍異種移植モデルでは、BAX2398 により腫瘍低酸素状態の減少に続いて腫瘍退縮が認められた。また、同モデルにおいて、BAX2398 によりデオキシリボ核酸（DNA）損傷を示すヒストン H2AX の Ser139 部位へのリン酸化（ γ H2AX）染色が増加した（MM-398-NC-N-Ph-023A1 試験）。BAX2398 の抗腫瘍作用は、カルボキシルエステラーゼ（CES）活性の有無に関わらず認められ

（MM-398-NC-N-Ph-024A1 試験）、複数の異所性患者由来異種移植片（PDX）腫瘍モデルでも観察された（MM-398-NC-N-Ph-027 試験）。また、BAX2398 の抗腫瘍作用は、ゲムシタビン非感受性腫瘍異種移植モデル及びその他複数の細胞株由来異種移植片（CDX）腫瘍モデルでも認められた（MM-398-NC-N-Ph-018A1 試験）。PDX モデルでは、CDX モデルよりも BAX2398 投与 72 時間後の腫瘍内イリノテカン及び SN-38 濃度が低かったが（Kalra 2014）、これらの腫瘍モデルで観察された抗腫瘍作用から、BAX2398 の十分な腫瘍内滞留及び SN-38 の持続的曝露が示唆された（MM-398-NC-N-Ph-023A1、MM-398-NC-N-Ph-024A1 及び MM-398-NC-N-Ph-027 試験）。

その他の癌種に対する *in vivo* 試験では、ヒト大腸癌及び子宮頸癌の異種移植モデルを用いた薬理試験を実施した。これらの試験の目的は、同等又はそれ以上の用量の CPT-11 と比較して BAX2398 がより高い有効性を示すか否かを明らかにすることであり、試験では高い有効性が一貫して観察された。確立された大腸癌モデルにおいて、BAX2398 15 mg/kg を 7 日に 1 回（q7d）

投与したときの抗腫瘍作用は、CPT-11 50 mg/kg を q7d 投与したときよりも増強したが、体重増加を指標とした動物に対する毒性は減弱した (PEP02-NC-N-Ph-006、PEP02-NC-N-Ph-007 及び PEP02-NC-N-Ph-008 試験)。また、ヒト子宮頸癌異種移植モデルにおいて、BAX2398 10 及び 25 mg/kg の q7d 投与による有効性が認められた (PEP02-NC-N-Ph-012 試験)。以上の試験結果から、各種動物モデルにおける BAX2398 の抗腫瘍作用は CPT-11 と比較して実質的に改善されることが示唆された。

BAX2398 の抗腫瘍作用と腫瘍組織での PK との相関を評価するモデルを複数の試験で検討し、これまでのデータ (PEP02-NC-N-PK-005 試験) と合わせて、CPT-11 及び BAX2398 の腫瘍内滞留並びに活性代謝物 SN-38 への変換を評価する、作用機序に基づく PK モデルを開発した。CPT-11 又は BAX2398 投与による血漿中及び腫瘍内の SN-38 曝露量 [SN-38 の濃度-時間曲線下面積 (AUC_{SN-38})] はマウスでの *in vivo* 活性と相関していたが、同程度の AUC_{SN-38} を示す CPT-11 を投与したときと比較して、BAX2398 はより優れた抗腫瘍作用を示した (Kalra 2014)。腫瘍内の臨界閾値を上回る SN-38 濃度の持続時間の延長は、マウスにおける *in vivo* 活性の主な薬理的決定因子であることが示唆された。

さらに、BAX2398 の 2 つの *in vivo* 薬力学的特性を評価した。同程度の AUC_{SN-38} を示す用量の BAX2398 又は CPT-11 を投与したときの腫瘍微小環境の早期変化を陽電子放出断層撮影 (PET) による低酸素イメージングにより評価した。HT-29 大腸癌異種移植モデルにおいて、BAX2398 10 mg/kg 投与により低酸素マーカー及び低酸素領域の有意な減少が投与期間を通して持続した。一方、CPT-11 50 mg/kg 投与によりこれらの低酸素に関する測定値は増加した (MM-398-NC-N-Ph-022 試験)。

上記試験に加え、テレメトリー装着ビーグル犬を用いて、BAX2398 の心血管系及び呼吸器系に関する安全性薬理試験を実施した。雌雄ビーグル犬への 21 mg/kg (420 mg/m²)¹までの BAX2398 単回静脈内投与は、心血管系、血行動態、心電図、呼吸器系パラメータ及び体温に影響を及ぼさなかった (20036143 試験)。

¹ FDA ガイダンス (FDA 2005, Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers [9]) に基づき、マウス、ラット及びイヌでの体表面積あたりの投与量を変換係数それぞれ 3、6 及び 20 を用いて計算した。

2 効力を裏付ける試験

2.1 *In Vitro* 試験

BAX2398 の薬理的プロファイルに関して、以下の *in vitro* 試験を実施した。

1. 培養単球細胞及び／又は腫瘍細胞における BAX2398 の代替となる蛍光標識リポソームの取り込み
2. 各種 *in vitro* 培養細胞での BAX2398 取り込み後の細胞上清へのイリノテカン放出
3. 腫瘍溶解液でのイリノテカンから SN-38 への変換
4. ヒトマクロファージ様細胞株による BAX2398 から SN-38 への活性化
5. SN-38 曝露による膀胱癌細胞株での *in vitro* 細胞傷害作用

2.1.1 各種 *in vitro* 培養細胞での蛍光標識低密度 PEG リポソームの細胞内取り込み (MM-398-NC-N-Ph-017 試験)

本試験の目的は、各種マウス及びヒト細胞株を用いて、BAX2398 の代替となる蛍光標識リポソームの細胞内取り込み特性を評価することであった。

BAX2398 は、コレステロール及び 1,2-ジステアロイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン (DSPC) から構成される二分子膜中に N-(カルボニル-メトキシポリエチレングリコール 2000)-1,2-ジステアロイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (MPEG-2000-DSPE) を組み込んだ立体的に安定なリポソーム製剤である。本製剤の PEG 含有量は低く、ドキシル®のようなりポソーム型ドキシソルピシンの 1/20~1/17 である [10, 14]。近年、ドキシル®のメラノーマ細胞への取り込みは、非封入型ドキシソルピシンと比較して非常に限定的であることが報告されており、130 nmol リン脂質/mL に相当するドキシル® 20 µg/mL とメラノーマ細胞を 24 時間インキュベートしたとき、ドキシル®の取り込みは極めて少なかった [33]。

上記公表論文の試験条件に基づき、薬物濃度 20 µg/mL に相当する 40 nmol リン脂質/mL までのリポソーム濃度を検討した。細胞は非標的指向性リポソームである BAX2398 との受容体を介した結合が無い場合、インキュベーション時間を 24 時間まで延長させた。ラテックスビーズに対して食食能を有することが知られている複数のマウス及びヒト細胞株を使用した。細胞と 40 nmol リン脂質/mL に相当する脂溶性カルボシアニン色素 DiIC₁₈(5)-DS 標識 (DiI5) リポソームとを 10%ウシ胎児血清 (FBS) 含有培地で最長 24 時間インキュベートした。その後、リポソーム取り込みをフローサイトメトリーにより評価し、the FlowJo7.6.5 program を用いて 10 パーセントイル及び 90 パーセントイル蛍光強度並びに平均蛍光強度 (MFI) 及びロバスト変動係数 (%rCV) を算出した。

食食能を有するマウス細胞株として、リンパ性腫瘍由来 PU5-1.8、肥満細胞腫由来 P815、単球・マクロファージ様 J774A.1 及びマクロファージ様 RAW264.7 を使用した。また、食食能を有するヒト細胞株として、単球様 THP-1 及び U937 細胞を使用した。これら 2 種類の細胞株は、ホルボールエステル (PMA) 刺激で分化誘導した。正常末梢血から採取したヒト単球由来マクロファージは、Allcells 社から入手した。凍結保存した精製ラットクッパー細胞は Invitrogen/Gibco 社

から入手した。その他の細胞株は American Type Culture Collection (ATCC) から入手した。P815 細胞株は懸濁液中で増殖するが、それ以外の細胞株は接着細胞であった。

インキュベーション 24 時間後、マウス J774A.1 細胞でリポソーム取り込み量が最も多く、次は Raw264.7 細胞であった (表 2.6.2-1)。PMA で分化誘導したヒトマクロファージ様 U937 細胞、マウス PU5-1.8 細胞、PMA で分化誘導した THP-1 細胞の DiI5 シグナルに対する MFI は、J774A.1 細胞の 1/5~1/4 であった。しかし、これらの細胞におけるリポソーム取り込みの %rCV は極めて大きかった。90 パーセントイル蛍光強度は Raw264.7 細胞と同程度であり、10 パーセントイル蛍光強度はヒト腫瘍細胞又はマウス P815 細胞における MFI と同程度であった。ラットクッパー細胞の MFI は J774A.1 細胞と比較して約 1/11.7 であったが、%rCV はヒトマクロファージよりも小さかった。マウス P815 細胞の MFI は J774A.1 細胞の約 1/19 であった。マウス P815 細胞及び J774A.1 細胞は、腫瘍細胞 (Hela 及び HT-29 細胞) 又は J774A.1 細胞におけるバックグラウンド値 (%rCV=44.3、MFI=2.75) と同程度の %rCV を示した。HeLa 細胞や HT-29 細胞等の腫瘍細胞のリポソーム取り込みは低下し、MFI は J774A.1 細胞のそれぞれ 1/34.5 及び 1/45.6 であった。インキュベーション 2 時間後の J774A.1 及び Raw264.7 細胞のリポソーム取り込み量は、インキュベーション 24 時間後の HeLa 及び HT-29 腫瘍細胞のリポソーム取り込み量よりもすでに顕著に高かった。以上の結果から、マクロファージは高濃度の BAX2398 を取り込むことが可能であることが示唆される。

表 2.6.2-1 各種細胞株における蛍光標識リポソーム取り込み

Cell line	Incubation length	MFI	10%- 90% percentile	%rCV ^a
J774A.1	24h	844	326 - 1490	62.84 (n=5)
Raw264.7	24h	368	151- 652	59.2 (n=3)
Human MQ	24h	268	43.5 - 563	108
U937/PMA	24h	195	14.3 - 497	208
PU5-1.8	24h	202	18.1 - 480	151
THP1/PMA	24h	170	11 - 410	196
Rat Kupffer	24h	71.9	19.2 - 140	81.2
P815	24h	44.2	20 - 70.2	46.4
HeLa	24h	24.4	11.5 - 40.2	50.6
HT-29	24h	18.5	8.49 - 30.6	51.8
J774A.1	2h	125	38.2 - 252	85.1
Raw264.7	2h	42.7	15.2 - 75.6	61.8

40 nmol/mL phospholipid concentration

^a The %rCV output defined as $[100 * 0.5 * (\text{Intensity} [@84.13\%ile] - \text{Intensity} [@15.87\%ile]) / \text{Median}]$ assesses the normalized spread of each dataset

MFI = mean fluorescence intensity, %rCV = robust coefficient of variation, MQ = macrophage

PMA で分化誘導した U937 細胞内において、Hoechst 染色による核対比染色とは異なる分画での蛍光標識リポソーム取り込みが、顕微イメージングにより確認された。また、フローサイトメ

トリー法で観察された顕著に大きい%rCV と一致して、細胞サイズ及び蛍光標識の分布に大きなばらつきが認められた (MM-398-NC-N-Ph-029 試験)。

BAX2398 の低密度 PEG は、血漿タンパク質との相互作用に影響を与え、細胞受容体との相互作用を媒介する可能性が考えられる。このことはまた、BAX2398 のクリアランス及び腫瘍内での異なる細胞種との相互作用に影響する可能性がある。マウスマクロファージ様 J774A.1 及び Raw264.7 細胞を低密度 PEG リポソーム (リポソーム型イリノテカンである BAX2398 の代替) 又は高密度 PEG リポソーム (リポソーム型ドキシソルビシンであるドキシル®の代替) と 2.5～20 nmol/mL リン脂質濃度範囲において 24 時間インキュベートした。2.5 nmol/mL において、低密度 PEG リポソームとインキュベートした J774A.1 及び Raw264.7 細胞での DiI5 シグナルの MFI は、高密度 PEG リポソームと比較してそれぞれ 8.5 及び 15.7 倍高かった (表 2.6.2-2)。同濃度において、低密度 PEG リポソームとインキュベートしたときの%rCV は高密度 PEG リポソームと比較して 1.9～4.5 倍大きかった。20 nmol/mL において、低密度 PEG リポソームとインキュベートした J774A.1 及び Raw264.7 細胞での DiI5 シグナルの MFI は、高密度 PEG リポソームと比較してそれぞれ 3.1 及び 6.3 倍高かった。同濃度において、低密度 PEG リポソームとインキュベートしたときの%rCV は減少し、高密度 PEG リポソームとの差は著しく小さくなった。以上の結果から、BAX2398 に含まれる PEG は、その目的とする特性 [7] と一致してマクロファージへの取り込みを促進することが示唆される。

表 2.6.2-2 貪食能を有するマウス細胞株における蛍光標識した
低密度又は高密度 PEG リポソーム取り込み

Cell line	Low-PEG content			High-PEG content		
	MFI (Ratio ^a)	10%- 90% percentile	%rCV ^c (Ratio ^b)	MFI	10%- 90% percentile	%rCV ^c
J774A.1						
2.5 nmol/mL	329 (8.5)	44.6 - 827	187 (4.5)	38.8	19.9 - 60.1	41.9
5 nmol/mL	444 (6.1)	75 - 1064	149 (3.5)	72.2	37.8 - 111	42.3
10 nmol/mL	564 (4.4)	135 - 1261	117 (2.4)	127	63.3 - 212	49.3
20 nmol/mL	862 (3.1)	270 - 1725	89.1 (1.9)	275	131 - 446	46.6
Raw264.7						
2.5 nmol/mL	128 (15.7)	22.8 - 283	111 (1.9)	8.17	2.9 - 14.1	57.9
5 nmol/mL	175 (11.5)	39.6 - 367	95.9 (1.7)	15.2	6.63 - 26.4	56
10 nmol/mL	224 (9.1)	58.9 - 440	81.8 (1.5)	24.5	11 - 42	55.9
20 nmol/mL	288 (6.3)	96 - 535	67.8 (1.4)	45.7	20.7 - 75.4	50.2

^a MFI ratio of Low-PEG content/High-PEG content

^b %rCV ratio of Low-PEG content/High-PEG content

^c The %rCV output defined as $[100 * 0.5 * (\text{Intensity} [@84.13\%ile] - \text{Intensity} [@15.87\%ile]) / \text{Median}]$ assesses the normalized spread of each dataset

MFI = mean fluorescence intensity, %rCV = robust coefficient of variation, PEG = polyethyleneglycol

要約すると、マウスマクロファージ様細胞株 (J774A.1 及び Raw264.7) は一貫して高いリポソーム取り込み作用を示した。ヒトマクロファージ様細胞又は PMA で分化誘導した単球様細胞株

(U937/PMA 及び THP1/PMA) は、J774A.1 細胞と比較して DiI5 シグナルの MFI はやや低かった。マウス及びヒトの両マクロファージ様細胞株は、腫瘍細胞 (Hela 及び HT-29) より 10~40 倍高い DiI5 シグナルを示した。低密度 PEG リポソーム (BAX2398 の代替) で観察された MFI は、高密度 PEG リポソームと比較して一貫して高かった。この差異は特に低濃度のときに顕著であった。

2.1.2 各種 *in vitro* 培養細胞での BAX2398 取り込み後のマクロファージ様細胞からのイリノテカン放出 (MM-398-NC-N-Ph-025 試験)

本試験の目的は、BAX2398 取り込み後、マクロファージ様細胞株からのイリノテカン放出を示すことであった。

長時間循環する非標的指向性リポソームは、腫瘍内に効率的に浸潤し、腫瘍間質、特に細胞外間隙及び腫瘍随伴マクロファージ (TAM) 内に集積する [20]。TAM はリポソームの保持及び恐らくイリノテカンから活性代謝物 SN-38 への変換にも寄与していると考えられる。BAX2398 とインキュベートした PMA 刺激 U937 培養細胞において、SN-38 への変換が認められた (Kalra 2014)。BAX2398 に関しては、間質腔内で例えば腫瘍内アンモニア [34] により、あるいは食食後に細胞を介することにより、イリノテカンがリポソームから放出された後にも、SN-38 へ変換される。ドキシル®のメラノーマ細胞への取り込みは遊離型ドキソルビシンと比較して非常に限定的であったと報告されている [33]。これらの細胞のリソソーム成分にリポソーム型ドキソルビシンが捕捉され、核に到達可能な全体の薬物量が制限されたと考えられる [33]。しかし、細胞外でリポソームから放出された薬剤は遊離型ドキソルビシンと同様に効果的にメラノーマ細胞の核に到達した。

薬物放出を検討するため、マウスマクロファージ様 J774A.1 細胞及び PMA で分化誘導したヒトマクロファージ様 THP-1 細胞を DiI5 標識 BAX2398 (最高濃度 20 µg/mL) と 10%FBS 含有培地でそれぞれ 2、4 及び 24 時間、並びに 4 及び 24 時間インキュベートした。リポソーム取り込み及びイリノテカン由来蛍光シグナルをフローサイトメトリー法で評価し、the FlowJo7.6.5 program を用いて MFI を算出した。

J774A.1 細胞及び THP-1 細胞では、BAX2398 の濃度及び時間依存的な取り込みが認められている (MM-398-NC-N-Ph-017 試験)。

BAX2398 で処理した細胞のイリノテカン由来蛍光シグナル強度もそれぞれの測定時点において濃度依存的であった。J774A.1 細胞における DiI5 (リポソーム) とイリノテカン (ペイロード) とのシグナル比は、リポソーム曝露時間が長いほど増加した。リポソームシグナルの増加量は、それに相当する薬物シグナルの増加量と一致しなかった。本結果から、イリノテカンはリポソームの脂質に固定された蛍光標識と同程度には細胞内に保持されないことが示唆された。THP-1 細胞のリポソームシグナルは J774A.1 細胞と比較して低いにも関わらず、イリノテカンシグナルは顕著に上昇していたことから、リポソーム保持能力は細胞株特異的である可能性も考えられる。

薬物放出を検討するため、J774A.1 細胞を BAX2398 (10 及び 20 µg/mL) 又は CPT-11 (2.5~20 µg/mL) と 2 時間インキュベーション後、3 回洗浄し、10~180 分後までの連続した測定時間

で新鮮培地から試料を回収し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によりイリノテカン濃度を測定した。細胞溶解後 (200 分後) に細胞内総薬物量を算出した。本試験では、BAX2398 取り込み後のマクロファージからのイリノテカン放出を評価した。

BAX2398 (又は CPT-11) とインキュベートした J774A.1 細胞からのイリノテカン放出が示された。細胞上清中の累積イリノテカン濃度は、後半の測定時点でプラトーに達する *efflux-specific pattern* を示し、細胞溶解後に更なる濃度上昇が観察されたことから、細胞内でのイリノテカン残留が示唆された。細胞溶解後の総イリノテカン濃度は初期 (10 分後) の培地中イリノテカン濃度に比例し、BAX2398 処理後の培地中イリノテカン濃度は、半分の濃度の CPT-11 で処理したときと同程度であった。CPT-11 で処理した細胞では 10 分間で総イリノテカン濃度の約 50% が放出されたのに対し、BAX2398 で処理した細胞では 10 分間で総イリノテカン濃度の約 72% が放出された。

要約すると、マクロファージ細胞株は濃度依存的かつ時間依存的にリポソームを集積した。イリノテカンの蛍光シグナル増加はリポソームシグナル増加と一致せず、このことは、インキュベーション時間を延長しても、イリノテカンはリポソームの脂質に固定された蛍光標識と同程度には細胞内に保持されないことを示唆している。

2.1.3 腫瘍溶解液でのイリノテカンから SN-38 への変換 (MM-398-NC-N-Ph-026 試験)

本試験の目的は、腫瘍溶解液中でのイリノテカンから SN-38 への変換を評価し、膀胱癌を含む各種ヒト腫瘍試料でのイリノテカン活性化の程度を明らかにすることであった。

イリノテカンは主に肝臓及び腸の CES1 及び CES2 によって活性代謝物 SN-38 に変換される。複数のヒト腫瘍組織で CES2 の発現が認められ [40]、結腸直腸癌組織でイリノテカン変換酵素活性が報告されている [11]。非臨床試験 [19、28] 及び臨床試験 [29] において、腫瘍内 CES 活性からのイリノテカンの反応予測は限定的であった。局所腫瘍内の薬物曝露には、BAX2398 からのイリノテカン放出抑制とともに、腫瘍内の SN-38 変換がより重要であると考えられる。

一連の PDX [大腸癌 (n=26)、膀胱癌 (n=26)、肺癌 (n=18) 及び卵巣癌 (n=8)] は、Champions TumorGraft® technology を有する Champions Oncology (Hackensack, NJ) から入手した。CDX [HT-29 及び LoVo (大腸癌)、H157、H841 及び A549 (肺癌)、MDA-MB-231 及び HCC38 (乳癌)、AsPC-1、BxPC3、MiaPaCa-2、Panc-1 (膀胱癌)、SK-ES-1 (ユーイング肉腫)、DU145 (前立腺癌)、N87 (胃癌) 並びに A2780 及び OvCAR8 (卵巣癌)] 又は PDX [CTG-0062 及び CTG-0079 (結腸直腸癌)、CTG-0158 (肺癌)、CTG-0252 (卵巣癌) 並びに CTG-0283 及び CTG-0288 (膀胱癌)] を含む一連の腫瘍細胞由来の腫瘍溶解液を用いた。イリノテカン活性化アッセイでは、腫瘍溶解液 (タンパク質 250 µg) を 5 µmol/L のイリノテカンと 37°C で 24 時間インキュベートし、SN-38 濃度を HPLC により測定した。

PDX (78 例) の腫瘍溶解液ではイリノテカン活性化作用に大きなばらつきが認められ、SN-38 の最高濃度は約 25 ng/mL であった (図 2.6.2-1A)。大腸癌 (n=26)、膀胱癌 (n=26)、肺癌 (n=18) 及び卵巣癌 (n=8) 試料で産生された SN-38 は、それぞれ 7.7 ± 5.8 、 5.4 ± 5.1 、 3.9 ± 2.1 及び

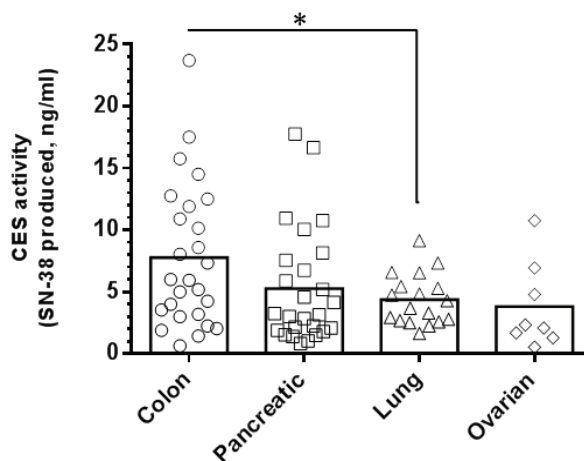
3.6 ± 3.4 ng/mL (平均値±標準偏差) であった。このことから、局所腫瘍内でのイリノテカン活性化には、癌種によらず大きなばらつきが示唆された。

CDX の腫瘍溶解液で産生された SN-38 濃度は 3.9 ng/mL (中央値) であった (図 2.6.2-1B)。膵癌細胞株のうち、BxPC3 (n=4)、AsPC-1 (n=4) 及び MiaPaCa-2 (n=4) 由来腫瘍溶解液での SN-38 濃度はそれぞれ 6.1、5.8 及び 4.4 ng/mL であった。また Panc-1 (n=4) 由来腫瘍溶解液での SN-38 濃度は、本細胞パネルでは低い方であった (3.2 ng/mL)。PDX の腫瘍溶解液で産生された SN-38 濃度は 3.3 ng/mL であった。本試験において結腸直腸癌モデルである CTG-0062 で最大変換活性 (8.6 ng/mL, n=2) が示されたが、2 種類の膵癌モデル (CTG-0283 及び CTG-0288) の CES 活性 (それぞれ 4.1 及び 2.6 ng/mL、いずれも n=2) は、CDX の腫瘍溶解液の中央値に近似していた。

要約すると、腫瘍溶解液はイリノテカンから SN-38 への変換能を有し、CES 酵素活性によることが示唆される。また、局所腫瘍内でのイリノテカン活性化には、癌種によらず大きなばらつきが示唆される。患者由来又は細胞株由来の膵癌モデルでの腫瘍溶解液における変換活性は、他の癌種と同様であった。

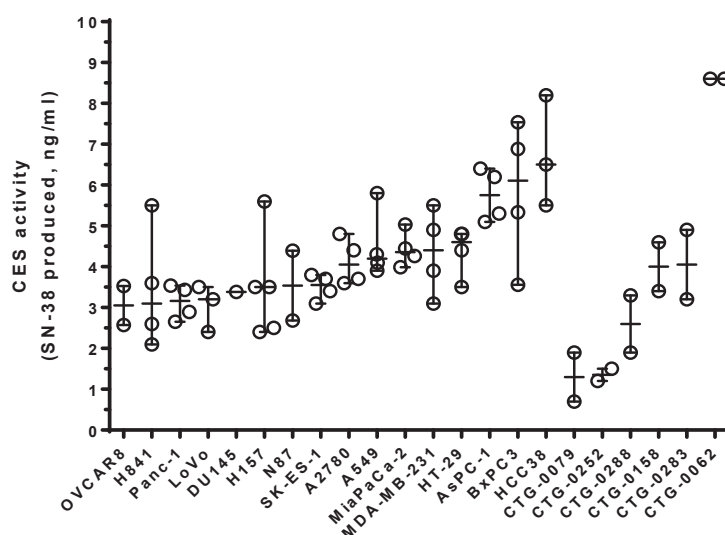
図 2.6.2-1 腫瘍溶解液中のイリノテカンから SN-38 への変換

A



* P<0.05, Colon vs Lung (t-test)

B



Median with 95% CI, n=1-5

Tumor tissue lysates were prepared from patient-derived or cell-line xenograft tumors. Two separate study sets are shown (A, B). For each activation assay 250 µg of lysate protein was incubated with irinotecan (5 µmol/L) for 24h at 37°C. The amount of SN-38 produced was measured with HPLC analysis.

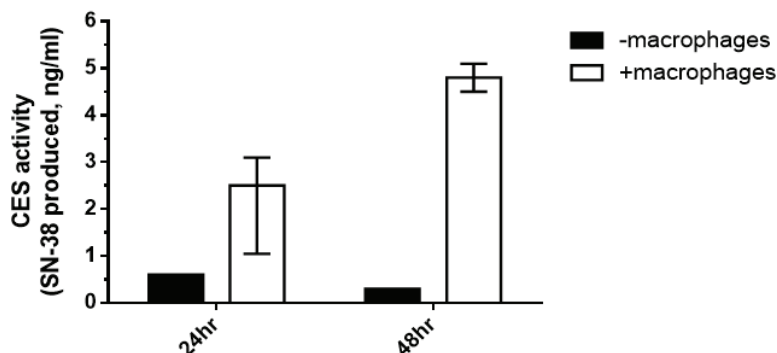
2.1.4 分化誘導した U937 細胞株での BAX2398 活性化 (Kalra 2014)

CES はイリノテカンから SN-38 への主要な変換酵素である。単球特異的エステラーゼとしても知られるヒト CES1 アイソザイムは、肝臓及び単球/マクロファージに豊富に発現しているが [26]、CES2 も腫瘍組織に共通して発現が認められる [40]。

PMA で分化誘導したヒト単球様細胞株 U937 は、効率的にリポソームを集積する (MM-398-NC-N-Ph-017 試験)。本試験の目的は、分化誘導したヒトマクロファージモデルを用いてイリノテカンから SN-38 への変換を示すことであった。

U937 細胞を PMA (16.2 nmol/L) に 24 時間曝露してマクロファージに分化誘導し、BAX2398 5 $\mu\text{mol/L}$ と 37°C でインキュベートした。24 及び 48 時間後に HPLC で SN-38 濃度を測定し、U937 細胞を含まない試料と比較した (図 2.6.2-2)。U937 細胞は、24 及び 48 時間後にそれぞれ約 2.5 (6.37 nmol/L) 及び 4.8 ng/mL (12.2 nmol/L) の SN-38 を産生した。24 及び 48 時間後の背景値はそれぞれ約 0.6 (1.53 nmol/L) 及び 0.3 ng/mL (0.765 nmol/L) であった。

図 2.6.2-2 PMA で分化誘導した U937 細胞株での BAX2398 活性化



The human monocyte-like cell line U937 was differentiated to macrophages after 24 hours exposure to 16.2 nmol/L PMA. BAX2398 (5 $\mu\text{mol/L}$) was incubated at 37°C with (white bars) or without (black bars) the differentiated macrophages. The amount of SN-38 released in the media was measured at 24 hours and 48 hours following incubation using HPLC analysis (n=2-3).

Kalra 2014, Figure S5 (supplementary material)

2.1.5 各種膀胱癌細胞株での SN-38 の *in vitro* 細胞傷害作用 (MM-398-NC-N-Ph-028 試験)

本試験の目的は、膀胱癌細胞株パネルを用いて SN-38 の細胞傷害作用を評価することであった。

膀胱癌細胞株は 384 穴プレート中で sub confluent 状態まで培養し、各種濃度の SN-38 と 24 時間インキュベートした。その後、細胞生存評価の前に細胞をさらに 72 時間培養した。SN-38 は大部分の細胞株で細胞生存率を約 90%減少させた。IC₅₀ 値のばらつきは大きく、その差は 5 桁に及んだ (表 2.6.2-3)。膀胱癌細胞株モデルのパネルにおいて、大部分の細胞株に対して SN-38 の IC₅₀ 値は、10 nmol/L 未満 (3.9 ng/mL ; 範囲 1 pmol/L~100 nmol/L) であった。各細胞株の IC₅₀ 値の順列は、イリノテカン処理後と同様であった [2]。

表 2.6.2-3 各種膵癌細胞株での SN-38 の IC₅₀ 値及び殺細胞率

Cell Line	IC ₅₀ Log(μmol/L)			IC ₅₀ (nmol/L)	Max Tumor Cell Kill (%)	
	n	mean	SEM	mean	mean	SEM
Aspc1	3	-2.40	0.30	3.9811	91.61	4.57
BxPC3	2	-4.77	0.33	0.0170	77.37	1.00
Capan-2	3	-1.69	0.07	20.4174	94.61	2.75
CFPAC1	2	-5.50	0.06	0.0032	84.74	4.06
Colo357	2	-4.21	0.10	0.0617	94.47	0.69
HPAFII	3	-2.69	0.29	2.0417	93.24	1.92
Hs766t	2	-1.20	0.07	63.0957	86.41	2.89
KP4	2	-5.10	0.09	0.0079	86.62	3.05
L3.3	2	-5.69	0.27	0.0020	93.01	1.75
L3.6pL	2	-5.55	0.10	0.0028	95.18	1.72
Miapaca2	3	-5.38	0.50	0.0042	91.23	3.26
Panc1	4	-1.86	0.31	13.8038	89.54	3.95
Panc6.03	4	-2.94	0.24	1.1482	87.68	5.58
PL45	2	-5.45	0.14	0.0035	92.16	0.34
SU8686	2	-3.16	0.05	0.6918	95.82	4.18
SW1990	4	-4.06	0.42	0.0871	91.92	4.67

SEM = standard error of mean, IC₅₀ = 50% inhibitory concentration

検討した複数の細胞株 (AsPC1、BxPC3、CFPAC1、Miapaca2 及び Panc1) に対して、BAX2398 は *in vivo* で有意な腫瘍増殖抑制作用を示した (MM-398-NC-N-Ph-018A1 試験)。また、*in vitro* 細胞死の惹起に必要な濃度は、投与 72 時間後の PDX 膵癌モデルにおける腫瘍内 SN-38 濃度と一致しており、腫瘍内 SN-38 曝露量のサロゲートとして利用できる可能性がある (Kalra 2014、MM-398-NC-N-Ph-023A1、MM-398-NC-N-Ph-024A1 及び MM-398-NC-N-Ph-027 試験)。さらに、分化誘導したヒトマクロファージ様 U937 細胞と BAX2398 とのインキュベーション 48 時間後 (本項 2.1.4) の培地中 SN-38 濃度 [12.2 nmol/L (4.8 ng/mL)] は、特定の細胞株に対して増殖抑制作用を示すために十分であると考えられる。

要約すると、広範囲にわたる細胞パネルのうち大部分の膵癌細胞株は SN-38 に感受性であり、IC₅₀ 値が 10 nmol/L 以下で細胞生存率の低下を示した。

2.2 *In Vivo* 試験

BAX2398 の薬理的プロファイルに関して以下の *in vivo* 試験を実施した。

1. 同所性及び異所性膵癌異種移植モデルマウスに対する BAX2398 の *in vivo* 抗腫瘍作用
2. 同等用量の CPT-11 及び BAX2398 を大腸癌異種移植モデルマウスに q4d (計 4 回) 投与したときの中程度の可逆的な毒性所見を伴う *in vivo* 抗腫瘍作用
3. CPT-11 より低用量の BAX2398 を大腸癌異種移植モデルマウスに q7d (計 4 回) 投与したときの限定的な毒性所見を伴う *in vivo* 抗腫瘍作用

4. 子宮頸癌異種移植モデルマウスに対する BAX2398 の *in vivo* 抗腫瘍作用
5. CPT-11 と同程度の AUC_{SN-38} を示す BAX2398 を担癌マウスに投与したときの *in vivo* 抗腫瘍作用
6. CPT-11 と同程度の AUC_{SN-38} を示す BAX2398 を担癌マウスに投与したときの腫瘍低酸素状態に対する *in vivo* 作用

腫瘍増殖遅延効果を評価するため、投薬群及び対照群の腫瘍体積が 1000 mm^3 に達するまでの日数 [36] に重点を置きながら、*in vivo* 有効性の結果を記述的に示す。腫瘍退縮の結果については、一過性の最大及び最小腫瘍体積並びに試験終了時の腫瘍体積の統計値をまとめた。該当する場合は、所定の日における腫瘍増殖抑制率 (TGI) を $[100 \cdot (1 - TV_t / TV_c)]$ (TV_t : 投薬群の平均腫瘍体積、 TV_c : 対照群の平均腫瘍体積) により算出した。動物の全身状態に対する薬剤の作用及び相対体重減少量を Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) ガイドライン [18] に従い、可能な限り評価した。10%及び20%の体重減少をそれぞれ中等度及び重度の毒性閾値とした。GraphPad Prism を用いて追加の統計解析を行い、腫瘍体積及び相対体重について群間有意差を算出した。

2.2.1 同所性及び異所性膀胱癌移植モデルマウスに対する BAX2398 の抗腫瘍作用

BAX2398 の抗腫瘍作用を数種類の同所性及び異所性膀胱癌異種移植モデルを用いて評価した。ヒト膀胱癌細胞株をマウスに同所移植することにより、ヒト膀胱癌と類似する腫瘍が形成される。腫瘍細胞株はルシフェラーゼ酵素を発現するよう改変し、腫瘍量を生物発光イメージング (BLI) で定量した。2番目の同所性 PDX 膀胱癌モデルでは、磁気共鳴映像法 (MRI) を用いて腫瘍量を定量した。PDX モデルもまた、患者の腫瘍動態により類似すると考えられている。これらの試験の目的は、BAX2398 の抗腫瘍作用を評価することであった。

2.2.1.1 SCID マウスの同所性 PDX BxPC3 膀胱癌モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用 (MM-398-NC-N-Ph-016 試験)

ヒト膀胱癌細胞株 BxPC3-luc2 を同所性移植した重症複合免疫不全 (SCID) マウスに、BAX2398 10 mg/kg を $q7d$ (計5回) 静脈内投与した。試験期間中、腫瘍体積及び動物の体重を40日目まで測定した。特定の臓器における原発及び転移性腫瘍量を切除組織の *ex vivo* BLI により評価した。試験計画概要を表 2.6.2-4 に示す。

表 2.6.2-4 MM-398-NC-N-Ph-016 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 : 10 mg/kg を腫瘍移植 7 日後から q7d (計 5 回) 静脈内投与 溶媒対照 [リン酸緩衝生理食塩水 (PBS)] : q3d 腹腔内投与
投与経路	尾静脈内ボーラス投与
マウス系統	雄 SCID マウス、6~8 週齢、12 匹/群
腫瘍モデル	BxPC3-luc2 細胞株を脾臓に同所性移植
評価項目	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍体積 (全身 BLI、3~7 日毎) 腫瘍体積 (<i>ex vivo</i> BLI、試験終了時) 体重 (3~7 日毎) 腫瘍重量 (試験終了時) 転移性腫瘍量 (<i>ex vivo</i> BLI、試験終了時)
統計解析	<ul style="list-style-type: none"> 二元配置分散分析 (Two-way ANOVA) 後、多重比較補正のない Fisher's LSD 検定 (体重、全身 BLI、転移性腫瘍量) 一元配置分散分析 (One-way ANOVA) 後、多重比較補正のない Fisher's LSD 検定 (<i>ex vivo</i> BLI、腫瘍重量)

対照群の標準化全身 BLI は次第に増加し、投与開始時 (7 日目) と比較して 40 日目に 261 倍 [幾何平均値の標準偏差 (SD_g) = 2.34] に達した。これに対して、BAX2398 投与群の標準化全身 BLI は一定であり、40 日目でわずか 2.32 倍 (SD_g = 3.23) の増加であった ($P < 0.001$)。標準化光子計数は 21~25 日目に最小となった (標準化全身 BLI は 0.89 倍 [SD_g = 3.34])。BAX2398 投与群における切除腫瘍の *ex vivo* BLI は、対照群と比較して 40 日目で 803 倍低かった ($P < 0.0001$)。

BAX2398 投与群ではいずれも体重減少を示さなかった。

溶媒又は BAX2398 10 mg/kg の 5 回目投与後、40 日目に BxPC3 腫瘍を切除し、湿重量を測定した。対照群の腫瘍重量は 1.71 ± 0.52 g (平均値 \pm 標準偏差、 $n=12$) であり、BAX2398 投与群の腫瘍重量は 0.25 ± 0.08 g ($n=12$) と約 7 倍小さかった ($P < 0.0001$)。

Ex vivo BLI により測定した転移性腫瘍重量 (幾何平均値) は、対照群と比較して BAX2398 投与群の脾臓 (2441 倍)、腸管リンパ節 (182 倍)、肝臓 (96 倍) 及び肺 (5.2 倍) で有意に低く ($P < 0.0001$)、横隔膜 (331 倍、 $P < 0.05$) でも低下していた。大腿骨に明らかな転移性腫瘍は認められなかった。

2.2.1.2 NOD-SCID マウスの同所性 PDX OCIP51 膵癌モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用 (MM-398-NC-N-Ph-023A1 試験)

低酸素性腫瘍モデルとして特徴づけられる患者由来膵癌細胞 OCIP51 [3] を同所性移植した非肥満糖尿病 (NOD) -SCID マウスに、BAX2398 20 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与した。同所性 PDX OCIP51 膵癌モデルでは、組織構造を維持するため OCIP51 腫瘍細胞の断片がマウスに移植されている。試験期間中、腫瘍体積及び動物の体重を 28 日目まで測定した。腫瘍体積は MRI により測定した。腫瘍の低酸素状態は、PET を用いた [^{18}F]フルオロアゾマイシンアラビノシド (FAZA) の取り込みで評価した。また、本モデルにおけるチミジンのサルベージ経路利用に

応じた細胞増殖を^[18F]フルオロチミジン (FLT) を用いた PET/X 線コンピュータ断層撮影法 (CT) により探索試験的に評価した。別のマウスに腫瘍組織での代謝物濃度測定のため、BAX2398 10 mg/kg を単回静脈内投与し、投与 24 及び 72 時間後に腫瘍を採取した。これらの腫瘍試料では γ H2AX 染色による DNA 損傷も評価した。試験計画概要を表 2.6.2-5 に示す。

表 2.6.2-5 MM-398-NC-N-Ph-023A1 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 : 20 mg/kg を腫瘍移植 28 日後から q7d (計 4 回) 静脈内投与又は代謝物測定及び DNA 損傷評価のため 10 mg/kg を単回静脈内投与 溶媒対照 (PBS)
投与経路	尾静脈内ボラス投与
マウス系統	NOD-SCID マウス、雌 6~8 週齢、5~10 匹/群
腫瘍モデル	患者由来膀胱癌細胞 OCIP51 細胞を膀胱に同所性移植 ; 第 9 継代
評価項目	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍体積 (MRI) 体重 腫瘍低酸素状態 (^[18F]FAZA-PET イメージング [0、6、13、20 日目] : 組織重量当たりの FAZA 投与量% (%ID/g) 及び低酸素分画) 細胞増殖 (^[18F]FLT-PET イメージング [-1、16 日目] : FLT 平均値及び FLT 最大値) 腫瘍重量 (試験最終日) 代謝物濃度 DNA 損傷 (γH2AX 染色)
統計解析	<ul style="list-style-type: none"> Two-way ANOVA 後、多重比較補正のない Fisher's LSD 検定 (腫瘍体積) 対応のない 2 群間に対する Welch の両側 <i>t</i> 検定 (FAZA) One-way ANOVA (FLT)

患者由来膀胱癌細胞 OCIP51 を同所性に移植したマウスにおいて、投与開始時の腫瘍体積は、対照群の $419.3 \pm 309.1 \text{ mm}^3$ (平均値 \pm 標準偏差、*n*=5) に対し、BAX2398 投与群では $461.7 \pm 226.9 \text{ mm}^3$ (*n*=10) であった。対照群の腫瘍体積は次第に増加し、投与開始 3~14 日目で 2 倍となった (5 日目で $127.0 \pm 83.0\%$)。全ての腫瘍は投与開始 1~21 日目 (中央値 9.5 日) までに 1000 mm^3 に達した。BAX2398 投与群では初回投与後 5 日目付近で全ての腫瘍体積が最大 (増加率 $45.8 \pm 33.5\%$) に達し、10 例中 2 例で腫瘍体積は 1000 mm^3 を超えた。5 日目以降、週 1 回の BAX2398 投与により腫瘍体積は次第に減少した。21 日目に腫瘍体積は投与開始時と比較して $27.6 \pm 28.7\%$ 減少した。最大腫瘍体積 (1 又は 5 日目) と比較すると減少率は $50.3 \pm 20.2\%$ であった。

全てのイメージング評価及び投薬に対していずれの動物も良好な忍容性を示した。投薬群の平均体重減少は、ベースラインと比較して 10% を超えなかった。

投与開始時、%ID/g で定量化した FAZA 取り込み量に 2 群間で有意差は認められなかった (*P*=0.236)。対照群腫瘍の FAZA シグナル (%ID/g) は 1 回目の投与サイクル期間は一一定であ

り、13日目に26.6%増加した。この増加は統計学的に有意であった ($P=0.0382$)。その後 FAZA シグナルは次第に減少し、20日目にベースラインと比較して約14%高い値まで戻った。対照群腫瘍の低酸素分画は同様の傾向を示し、投与開始時と比較して13日目に33%、20日目に54%の増加が認められた。20日目の増加は統計学的に有意であった ($P=0.0030$)。

投薬群腫瘍の平均 FAZA シグナルは、投与開始時の平均値と比較して、6日目に36% ($P=0.0031$)、13日目に42% ($P=0.0012$)、20日目でも28% ($P=0.0133$) 減少した。1回目の投与サイクル期間での各個体の減少率の平均は $31.40 \pm 22.87\%$ であった。投薬群腫瘍の低酸素分画は同様の傾向を示し、6日目で50% ($P=0.0025$)、13日目で57% ($P=0.0019$) と顕著に減少した。その後、低酸素分画は20日目でベースラインと比較して40%の減少とわずかに増加したが、依然として統計学的に有意であった ($P=0.0210$)。

[^{18}F]FLT PET イメージングで得られた投与前の FLT 最大値は、対照群で12.73%ID/g、投薬群で13.52%ID/g であった。投与16日目の FLT 最大値は、対照群で13.56%ID/g、投薬群で8.56%ID/g であった。投薬群における投与前後の FLT 最大値の差は有意であった ($P < 0.0001$)。投薬群では投与16日目の FLT 最大値が有意に減少したことに加え、投与前 ($6.35 \pm 0.78\%$ ID/g) と投与後 ($5.01 \pm 0.80\%$ ID/g) の FLT 平均値の差も統計学的に有意であった ($P=0.0014$)。一方、対照群の投与前 ($6.29 \pm 0.92\%$ ID/g; $n=5$) と投与後 ($6.50 \pm 1.82\%$ ID/g; $n=3$) の FLT 平均値の差は有意ではなかった ($P=0.8657$)。

試験終了時の腫瘍重量は、対照群で 1025 ± 258 mg、投薬群で 267 ± 143 mg であり、投薬群で約1/4であった。この差は統計学的に有意であった ($P=0.0020$ 、対数変換値)。

代謝物濃度データを得るため、抗腫瘍作用の検討に使用しなかった担癌動物に BAX2398 10 mg/kg を投与し、投与24時間後 ($n=3$) 又は72時間後 ($n=4$) に腫瘍を採取した。BAX2398 単回投与後の腫瘍内 SN-38 濃度 (中央値) は24及び72時間後でそれぞれ23.2及び3.9 ng/g に達した。また、総イリノテカン濃度 (中央値) は24及び72時間後でそれぞれ1821及び345 ng/g に達した。

BAX2398 10 mg/kg を投与し、BAX2398 の薬力学作用である DNA 損傷に反応してリン酸化される γH2AX を測定した。OCIP51 腫瘍全体で投与24及び72時間後の γH2AX 染色レベルに顕著な上昇が認められた。しかし、 γH2AX 染色の大部分は腫瘍細胞に限定的であり、腫瘍細胞周辺の間質領域内には認められなかった。

2.2.1.3 CB.17 SCID マウスの異所性 PDX 膵癌モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用における血漿 CES 活性の影響 (MM-398-NC-N-Ph-024A1 試験)

患者由来膵癌細胞#18254 を異所性移植した CB.17 SCID マウスに BAX2398 20 mg/kg を q7d (計4回) 静脈内投与した。#18254 PDX モデルには、組織構造を維持するため腫瘍細胞の断片をマウスに移植した。試験期間中、腫瘍体積及び動物の体重を28日目まで測定した。血漿中及び腫瘍内薬物濃度は HPLC で測定した。BAX2398 20 mg/kg 投与1、4、24、48及び72時間後に腫瘍を採取した。血漿カルボキシルエステラーゼ ES1 活性が正常 (野生型) 又は欠損している (Es1°) 2系統のマウスを用いた。 Es1° マウスの血漿中 SN-38 濃度は野生型マウスの25%であった [25]。ES1 はげっ歯類には存在するが、イヌやヒトには存在せず、イリノテカン活性化に寄

与するため、異種移植モデル試験においてイリノテカン活性を促進し得る [25]。試験計画概要を表 2.6.2-6 に示す。

表 2.6.2-6 MM-398-NC-N-Ph-024A1 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 : 20 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与又は血漿中及び腫瘍内 PK 測定のため 10 mg/kg を単回静脈内投与 溶媒対照 (PBS)
投与経路	尾静脈内ボーラス投与
マウス系統	CB.17 SCID 野生型又は Es1 ^o マウス、雄 6~8 週齢、6 匹/群、4 匹/時点
腫瘍モデル	患者由来膀胱癌細胞#18254 を皮下移植 ; 第 7 及び 8 継代 (それぞれ、Es1 ^o 及び CB.17 SCID 野生型マウス)
評価項目	<ul style="list-style-type: none"> • 腫瘍体積 • 体重 • 血漿中及び腫瘍内 PK
統計解析	<ul style="list-style-type: none"> • Two-way ANOVA

#18254-8P 細胞を移植した野生型 CB.17 SCID マウスの対照群では、投与開始時の腫瘍体積は $272 \pm 196 \text{ mm}^3$ であった。腫瘍体積は次第に増加し、28 日目 (4 回目投与サイクル終了後) に $1168 \pm 514 \text{ mm}^3$ に達した。6 例中 4 例で試験終了以前 (中央値 16 日、範囲 : 14~25 日) に腫瘍体積は 1000 mm^3 に達した。BAX2398 20 mg/kg 投与群の投与開始時の腫瘍体積は、 $350 \pm 210 \text{ mm}^3$ であった。6 例中 5 例では、投与開始時の腫瘍体積 ($278 \pm 127 \text{ mm}^3$) は試験終了時で $103 \pm 52 \text{ mm}^3$ 緩徐に増加した。残り 1 例では投与開始時の腫瘍体積が非常に大きく (710 mm^3)、14 日目まで体積はほぼ一定であったが、その後 2 日間で 754 mm^3 から 1163 mm^3 に急増し、最終日の 28 日目には 1269 mm^3 に達した。対照群と比較した BAX2398 20 mg/kg 投与群の 28 日目の TGI は 67% であった。BAX2398 20 mg/kg 投与による抗腫瘍作用は統計学的に有意であった ($P < 0.0001$)。

#18254-7P 細胞を移植した Es1^o CB.17 SCID マウスの対照群では、投与開始時の腫瘍体積は $268 \pm 98 \text{ mm}^3$ であった。腫瘍体積は次第に増加し、28 日目 (4 回目投与サイクル終了後) に $781 \pm 260 \text{ mm}^3$ に達した。試験終了以前に腫瘍体積が 1000 mm^3 に達した動物はいなかった。BAX2398 20 mg/kg 投与群の投与開始時の腫瘍体積は $296 \pm 140 \text{ mm}^3$ であった。投与開始時の腫瘍体積は 12~14 日目まで一定であり、その後次第に減少して 28 日目に最小となった。各腫瘍はそれぞれの最大腫瘍体積から平均約 54% 縮小した。対照群と比較した BAX2398 20 mg/kg 投与群の 28 日目の TGI は 78.9% であった。BAX2398 20 mg/kg 投与による抗腫瘍作用は統計学的に有意であった ($P < 0.0001$)。このように、血漿 CES 活性の有無に関わらず、BAX2398 は同様の抗腫瘍作用を示した。

本試験において体重減少は示されなかった。

血漿中及び腫瘍内イリノテカンの PK 挙動は野生型及び Es1^o マウスでほぼ同様であった。投与 72 時間後の Es1^o マウスの腫瘍内イリノテカン濃度は、野生型マウスと比較して 60% 高かった

が、統計学的に有意ではなかった。しかし、血漿中変換活性の低下と一致して、投与 24 時間以内の全ての測定時点で Es1^eマウスの血漿中 SN-38 濃度は 10 倍以上減少した。それ以降、血漿中 SN-38 濃度は検出できなかったが、腫瘍内 SN-38 濃度は 72 時間後でも測定可能であった。投与 1~24 時間後に Es1^eマウスの腫瘍内 SN-38 濃度は野生型マウスと比較して 5~10 倍減少し、以降の測定でその差はより小さくなった。野生型マウスにおける投与 72 時間後までの AUC_{SN-38} は 4007 h·ng/mL であり、Es1^eマウス (958 h·ng/mL) と比較して約 4 倍高い曝露量であった。それ以降の測定時点では、Es1^e及び野生型マウスの腫瘍内 SN-38 濃度は同様であった (72 時間後の中央値はそれぞれ 7 及び 12.1 ng/g)。

2.2.1.4 CB.17 SCID マウスの異所性 PDX 膵癌モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用 (MM-398-NC-N-Ph-027 試験)

6 種類の異所性 PDX 膵癌モデルを用いて BAX2398、CPT-11 (#14244 のみ) 及びゲムシタビン (#18269 以外) の抗腫瘍作用を評価した。BAX2398 5~20 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与した。本試験で用いた PDX モデルは、切除した患者の腫瘍を直接 CB.17 SCID マウスに移植して増殖させ、維持する異種移植モデルである。試験期間中、腫瘍体積及び動物の体重を 100 日目まで測定した。代謝物データを得るために別試験を実施し、#14244-12P 細胞を移植した担癌マウスに BAX2398 10 mg/kg を単回投与し、24 又は 72 時間後に腫瘍を採取した。試験計画概要を表 2.6.2-7 に示す。

表 2.6.2-7 MM-398-NC-N-Ph-027 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 : 5、10 及び 20 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与又は代謝物測定のため 10 mg/kg を単回静脈内投与 CPT-11 : 25 及び 50 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与 (#14244 のみ) ゲムシタビン : 100 及び 200 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与 (#18269 以外) 溶媒対照 (生理食塩溶液)
投与経路	尾静脈内ボーラス投与
マウス系統	CB.17 SCID マウス、雄又は雌 6~8 週齢、7~8 匹/群、4 匹/時点
腫瘍モデル	患者由来膵癌細胞#12424、14244、14312、15010、19015 及び 18269 を皮下移植；継代数は表 2.6.2-8 に記載
評価項目	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍体積 体重 代謝物濃度 (#14244 のみ)
統計解析	<ul style="list-style-type: none"> Two-way ANOVA 後、Fisher's LSD 検定 (Sidak 補正による多重比較)

BAX2398、CPT-11 及びゲムシタビン投与による TGI の結果を表 2.6.2-8 に示す。

BAX2398 は複数の PDX モデルに対して単剤で有効性を示した。BAX2398 の抗腫瘍作用は、6 種類の膵癌 PDX モデルに加え、MM-398-NC-N-Ph-024A1 試験の#18254 モデルでも検討した。

#18269 モデル以外の大部分の腫瘍モデルは BAX2398 に非常に感受性が高く、BAX2398 10 mg/kg の TGI は 61.6～97.8%に達した。同用量において、BAX2398 は対照と比較して腫瘍増殖を 21～64 日遅延させた。3 種類のモデル (#14244、#14312、#15010) は、BAX2398 投与により一貫した腫瘍退縮を示した。

記録によると、本試験に使用した膀胱癌細胞の由来となる患者は、初回手術後にその複数ゲムシタビン又はゲムシタビン+放射線による治療を受けており、#18254 又は#18269 モデルに関連する患者はそれぞれ完全奏功又は部分奏功を示していた。#19015 モデルに関連する患者の治療成績に係る情報はないが、ゲムシタビン投与を 2 週間のみ受けていた。ゲムシタビンに対して #19015 モデルは抵抗性を示し、#14312 モデルは抵抗性又は非感受性を示した。Hylander ら

[17] は、#12424 モデルはゲムシタビンに抵抗性を示すことを報告しており、本試験でも抵抗性が確認された (第 8 継代)。このように、BAX2398 はゲムシタビン抵抗性モデル (#12424、#14312 及び#19015) に対して腫瘍増殖抑制作用を示し、ゲムシタビン感受性モデル (#14244 及び#15010) に対しても効果を示した。

#14244-10P モデルでは、2 用量の BAX2398 (5 及び 10 mg/kg) と、それと同程度の SN-38 曝露量を示す CPT-11 (25 及び 50 mg/kg) の作用を比較した。両用量とも CPT-11 と比較して BAX2398 はより高い腫瘍増殖抑制作用を示した。対照群と比較して CPT-11 による腫瘍増殖遅延は 5～7 日であったのに対し、BAX2398 による腫瘍増殖遅延は 24～33 日であった。

表 2.6.2-8 CB.17 SCID マウスの異所性 PDX 腫瘍モデルに対する
BAX2398、CPT-11 及びゲムシタビンの腫瘍増殖抑制作用

PDX model	Treatment	Dose ^a (mg/kg)	TGI (%)	# doses; day	Growth delay ^b (days)	2-way ANOVA ^e	Gem insensitive
12424-8P	BAX2398	5	28.6	4; d35	-	N	Y
	BAX2398	10	67.2		21	Y	
	Gemcitabine	100	-13.9		-	N	
12424-9P	BAX2398	10	76.4	4; d36	42	Y	Y
14244-9P	BAX2398	5	69.7	4; d28	18	Y	N
	BAX2398	10	93.8		39	Y	
	Gemcitabine	100	78.4		14	Y	
14244-10P	BAX2398	5	80.3	4; d21	24	Y	N
	BAX2398	10	93.3		33	Y	
	CPT-11	25	33.3		5	Y	
	CPT-11	50	46.0		7	Y	
	Gemcitabine	100	85.5		25	Y	
14312-4P	BAX2398	20	96.2	4; d35	57	Y	Y
	Gemcitabine	100	28.9		7	Y	
15010-4P	BAX2398	5	94.9	4; d35	40	Y	N
	BAX2398	10	97.8		64	Y	
	Gemcitabine	100	81.6		42	Y	
19015-7P	BAX2398	5	-13.4	4; d35	-	N	Y
	BAX2398	10	61.6		28	Y	
	Gemcitabine	100	-8.5		-	N	
	Gemcitabine	200	34.4		21	Y	
18269-7P	BAX2398	20	39.4	4; d30	3	N	^d
<i>PDX model 18254 included in table for comparison. See study report MM-398-NC-N-Ph-024A1 for complete analysis.</i>							
18254-7P ^c	BAX2398	10	70.8	4; d28	ND	Y	N
	BAX2398	20	78.9		ND	Y	
	BAX2398	40	75.0		ND	Y	
18254-8P	BAX2398	20	67.4	4; d28	ND	Y	N

^a Doses are given as bolus intravenously q7d

^b Time relative to saline control to reach 1000mm³ volume (-: no delay relative to saline control)

^c Evaluated in Es1⁺ SCID mice without plasma CES activity

^d Patient showed partial response to gemcitabine

^e Post-hoc Fisher's LSD test with Sidak's correction for multiple comparisons, Y indicates statistical significance (P < 0.05), N: no statistical significance.

PDX = patient-derived xenograft, TGI = tumor growth inhibition, ANOVA = analysis of variance, Gem = gemcitabine, P = passage, ND = Not Determined

#12424、14244、14312、15010、19015 及び 18269 モデルを用いた試験において、動物の有意な体重変化はいずれも認められなかった。

BAX2398 10 mg/kg 単回投与後の腫瘍内 SN-38 濃度の中央値は、24 及び 72 時間後でそれぞれ 86.5 及び 10.3 ng/g であった。総イリノテカン濃度の中央値は、24 及び 72 時間後でそれぞれ 6909 及び 606.5 ng/g であった。

2.2.1.5 NOD-SCID マウスの異所性 CDX 膵癌モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用 (MM-398-NC-N-Ph-018A1 試験)

様々な膵癌細胞株を異所性に異種移植した NOD-SCID マウスに、20 mg/kg までの BAX2398 を q7d (計 2~5 回) 静脈内投与した。PANC-1 細胞株は 56 歳男性上皮性膵癌患者の膵管由来である。MiaPaCa-2 細胞株は 65 歳男性膵癌患者の膵臓由来である。BxPC3 細胞株は 61 歳女性膵臓腺癌患者の膵管由来である。AsPC-1 細胞株はゲムシタビン非感受性で 62 歳女性転移性膵臓腺癌患者の腹水由来であり、比較薬としてゲムシタビン 100 及び 200 mg/kg 投与群を含めた。CFPAC-1 細胞株は膵管腺癌及び嚢胞性線維症を有する 26 歳男性患者の肝転移巣由来であり、比較薬としてゲムシタビン 100 mg/kg 投与群を含めた。試験期間中、腫瘍体積及び動物の体重を 72 日目まで測定した。試験計画概要を表 2.6.2-9 に示す。

表 2.6.2-9 MM-398-NC-N-Ph-018A1 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 : 1.25~20 mg/kg を q7d 静脈内投与 (計 2~5 回) CPT-11 : 25~50 mg/kg を q7d 静脈内投与 ゲムシタビン : 100 及び 200 mg/kg を q7d 静脈内投与 (AsPC-1) 又は 100 mg/kg を q7d 静脈内投与 (CFPAC-1) 溶媒対照 (PBS)
投与経路	尾静脈内ボラス投与
マウス系統	NOD-SCID マウス、雌 4~8 週齢、4~8 例/群
腫瘍モデル	PANC-1、MiaPaCa-2、BxPC3、CFPAC-1 及び AsPC-1 細胞を皮下移植
評価項目	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍体積 体重
統計解析	<ul style="list-style-type: none"> Two-way ANOVA 後、Fisher's LSD 検定 (Sidak 補正による多重比較)

全ての腫瘍モデルにおいて、BAX2398 20 mg/kg の初回投与後から腫瘍増殖抑制作用が認められた。BAX2398、CPT-11 及びゲムシタビンによる TGI を表 2.6.2-10 にまとめる。

BAX2398 20 mg/kg では、BxPC3、CFPAC-1、MiaPaCa-2 及び PANC-1 モデルに対する TGI は 90%超であったが、AsPC-1 モデルに対する TGI は 2 試験でそれぞれ 52.4%及び 62.4%であった。

BAX2398 ではより低用量も検討し、CPT-11 の効果と比較した。BxPC-3 及び CFPAC-1 モデルに対する BAX2398 5 mg/kg の腫瘍増殖抑制作用は、それぞれ CPT-11 25 及び 50 mg/kg の作用よりも有意に高かった (BxPC3 : $P < 0.0001$ 、CFPAC-1 : 2 試験でそれぞれ $P = 0.0037$ 及び $P = 0.0039$)。AsPC-1 モデルでは、BAX2398 2.5 及び 5 mg/kg の TGI (それぞれ 27.8%及び 27.3%) は、CPT-11 50 mg/kg (23.3% ; 29 日目で $P > 0.7150$) と同程度であり、5 mg/kg より高用量の BAX2398 による TGI は、対照群と比較して全てのモデルで有意に高かった。

ゲムシタビン抵抗性細胞株 AsPC-1 に対してゲムシタビン 100 及び 200 mg/kg は効果を示さなかったが、CFPAC-1 細胞株においては、ゲムシタビン 100 mg/kg の TGI は 2 試験でそれぞれ 74.0%及び 71.5%であり、ゲムシタビンによる効果は対照群と比較して有意に高かった（いずれも P<0.0001）。

表 2.6.2-10 NOD-SCID マウスの異所性 CDX 腫瘍モデルに対する
BAX2398、CPT-11 及びゲムシタビンの腫瘍増殖抑制作用

Tumor model	Treatment	Dose (mg/kg)	TGI ^a (%)	# doses; day	Two-way ANOVA ^b
AsPC1 [1]	BAX2398	20	52.4	2; d10	P=0.0013
AsPC-1 [2]	BAX2398	20	62.4	5; d29	P<0.0001
	BAX2398	10	56.0	5; d29	P<0.0001
	BAX2398	5	27.3	5; d29	P=0.0231
	BAX2398	2.5	27.8	5; d29	P=0.0208
	CPT-11	50	23.3	5; d29	P=0.069
	Gemcitabine	100	-3.7	5; d29	P=0.7579
	Gemcitabine	200	2.1	5; d29	P=0.8637
BxPC3 [1]	BAX2398	20	91.7	5; d33	P<0.0001
BxPC3 [2]	BAX2398	5	64.7	4; d27	P<0.0001
	CPT-11	25	41.4	4; d27	P<0.0001
CFPAC-1 [1]	BAX2398	20	97.6	3; d20	P<0.0001
	BAX2398	10	89.8	3; d20	P<0.0001
	BAX2398	5	79.1	3; d20	P<0.0001
	CPT-11	50	46.3	3; d20	P<0.0001
	Gemcitabine	100	74.0	3; d20	P<0.0001
CFPAC-1 [2]	BAX2398	5	85.0	3; d22	P<0.0001
	CPT-11	50	50.9	3; d22	P<0.0001
CFPAC-1 [3]	BAX2398	5	78.8	4; d26	P<0.0001
	BAX2398	2.5	71.8	4; d26	P<0.0001
	Gemcitabine	100	71.5	4; d26	P<0.0001
MiaPaCa-2	BAX2398	20	97.1	4; d22	P<0.0001
PANC-1	BAX2398	20	94.3	4; d22	P<0.0001

^a Tumor growth inhibition (TGI) rate at end of treatment calculated as $[100*(1-TV_v/TV_t)]$

^b between treatment group and vehicle control group

[1], [2] and [3] indicate 1st, 2nd and 3rd experiments, respectively.

ANOVA = analysis of variance

投与開始時と比較して体重減少が散見されたが、程度はわずかであり（最大で MiaPaCa-2 モデルでの平均体重 3.9%減少）、ほとんどの場合が断続的で、数例は初期の腫瘍体積が大きかったこと及び／又は強い投薬反応によると考えられる。

2.2.1.6 各種膵癌モデルに対する抗腫瘍作用に関するまとめ及び結論

SCID マウスの同所性 PDX BxPC3 膵癌モデルにおいて、脾臓、肝臓及び肺を含む複数の組織の転移性腫瘍に対しても投薬による腫瘍増殖遅延及びそれに伴う腫瘍増殖抑制が認められた (MM-398-NC-N-Ph-016 試験)。

より増殖速度が速く、プロモデオキシウリジン取り込み率が増加した、低酸素レベルの高い患者由来膵癌細胞 OCIP51 [3] を SCID マウスに同所性移植したモデルに対しても、BAX2398 は効果を示した (MM-398-NC-N-Ph-023A1 試験)。BAX2398 の初回投与サイクル期間中、同モデルの MRI による腫瘍サイズは依然として約 50%増加していたが、低酸素レベルは 36%低下した。 [¹⁸F]FLT 取り込み減少は、腫瘍増殖抑制作用及び γ H2AX 染色で確認される初期の強い DNA 損傷反応と一致していた。

BAX2398 は複数の異所性膵癌モデルに対しても有効性を示した。#18254 PDX モデル (MM-398-NC-N-Ph-024A1 試験)、ゲムシタビン非感受性 AsPC-1 細胞株モデル並びに Panc-1、MiaPaCa-2 及び BxPC3 細胞株モデル (MM-398-NC-N-Ph-018A1 試験) はいずれも BAX2398 に感受性を示した。CDX モデルに対する BAX2398 の腫瘍増殖抑制作用は、5~10 倍高い用量の CPT-11 と比較して、同程度 (AsPC-1) 又は有意に強かった (BxPC3 及び CFPAC-1)。

投与 72 時間後の腫瘍内イリノテカン及び SN-38 濃度は、それぞれ腫瘍内の BAX2398 集積及び SN-38 滞留時間のサロゲートとして利用できる可能性があり (Kalra 2014、本項 2.2.2.4)、近年様々な CDX モデルのデータが報告されている (Kalra 2014)。BAX2398 投与 72 時間後の PDX 膵癌モデルでのイリノテカン濃度 (140~702 ng/g) は、CDX モデルでの濃度 (844~5496 ng/g) と比較して低く、PDX モデルでの SN-38 濃度 (3.9~12.1 ng/g) は CDX モデルでの濃度 (7.8~127.1 ng/g ; HT-29 109 ng/g) の下限レベルであった。72 時間後での低い SN-38 濃度はまだ薬効に寄与しているが、特定の PDX 膵癌モデルは HT-29 モデルよりも SN-38 に対する感受性が高いことが示唆される (OCIP51 モデルで認められた γ H2AX DNA 損傷反応からも示唆される)。OCIP51、#14244 及び#18254 PDX モデルで認められた BAX2398 の抗腫瘍作用から、血漿中 CES 活性、つまり血中での SN-38 への変換に依存しない、十分に持続的な腫瘍内 SN-38 曝露が示唆される。

担癌マウスに BAX2398 を投与した 24 及び 72 時間後の腫瘍ホモジネート中イリノテカン及び SN-38 濃度 (中央値) を表 2.6.2-11 に示す。

表 2.6.2-11 各種腫瘍モデルにおける BAX2398 静脈内投与後の
腫瘍内イリノテカン及び SN-38 濃度

Tumour model (Study report or reference No.)	24h		72h		TGI (%)
	irinotecan	SN-38	irinotecan	SN-38	
AsPC-1 (Kalra 2014, MM-398-NC- N-Ph-018A1)	4665.0 (22.3)	84.1 (43.1)	1341.3 (51.5)	24.9 (12.1)	56.0
CTG-0283 (Kalra 2014)	1158.0 (33.1)	39.8 (69.1)	140.0 (42.6)	11.1 (110.2)	-
CTG-0288 (Kalra 2014)	995.0 (72.8)	24.3 (32.6)	171.9 (63.4)	8.1 (-)	-
OCIP51-9P (MM-398-NC-N-Ph- 023A1)	1821.0 (73.1)	23.2 (112)	345.0 (81.2)	3.9 (79.2)	71.6 (20 mg/kg)
	4737.2 (43.9) ^a	140.6 (24.8) ^a	-	-	
#18254-8P (wt) (MM-398-NC-N-Ph- 024A1, MM-398-NC-N- Ph-027)	6858.0 (25.3)	100.4 (19.4)	410.9 (36.6)	12.1 (32.5)	67.4 (20 mg/kg)
#18254-7P (Es1 ^c) (MM-398-NC-N-Ph- 024A1, MM-398-NC-N- Ph-027)	5358.0 (56.1)	16.0 (31.5)	702.0 (55.0)	7.0 (3.6)	78.9 (20 mg/kg)
#14244-12P (MM-398-NC-N-Ph-027)	6909 (19.5)	86.5 (21.9)	606.5 (60.9)	10.3 (75.6)	93.8 (9P)
	12055 (66.6)	129.9 (45.8)	-	-	
#15010-4P (MM-398-NC-N-Ph-027)	6789 (40.0)	66.1 (16.3)	-	-	97.8 (4P)
#20410-4P (MM-398-NC-N-Ph-027)	1513 (38.7)	56.2 (84.2)	413.1 (34.1)	10 (-)	-

Median concentrations for irinotecan and SN-38 are expressed as ng/g (%CV). Unless indicated otherwise a dose of 10 mg/kg BAX2398 was given intravenously to tumour-bearing mice 24h and 72h prior to tumour isolation. Tumour growth inhibition (TGI) is referenced from the respective study reports.

-: Not available

^a End of treatment 20 mg/kg

2.2.2 その他の腫瘍移植モデルマウスに対する BAX2398 の抗腫瘍作用

2.2.2.1 CPT-11 と同等用量の BAX2398 を q4d 投与したときの抗腫瘍作用

2.2.2.1.1 SCID マウスのヒト HT-29 大腸癌異種移植モデルに対する CPT-11 及び BAX2398 の抗腫瘍作用 (PEP02-NC-N-Ph-005 試験)

非臨床試験において、CPT-11 の反復投与は単回投与よりも有意に優れた効果を示した。主な投与レジメンは q7d 計 5 回の静脈内投与であり、2 コースの最大耐量 (MTD) は 40 mg/kg/day であった [41]。CPT-11 60 mg/kg を q4d で 4 週間投与したときの各種ヒト腫瘍異種移植モデルにおける抗腫瘍作用が Hardman ら [13] により評価された。

HT-29 大腸癌異種移植モデルを用いた *in vivo* 試験を実施した。本試験の目的は、BAX2398 の抗腫瘍作用及び毒性を評価することであった。ヒト大腸癌細胞株 HT-29 を移植した SCID マウスに、CPT-11 (50 mg/kg) 又は BAX2398 (25 及び 50 mg/kg) を q4d (計 4 回) 静脈内投与した。試験期間中、腫瘍体積及び動物の体重を 60 日目まで測定した。試験計画概要を表 2.6.2-12 に示す。

表 2.6.2-12 PEP02-NC-N-Ph-005 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 : 25 及び 50 mg/kg を 1、5、9 及び 13 日目に投与 CPT-11 : 50 mg/kg を 1、5、9 及び 13 日目に投与 溶媒対照 (リボソーム対照)
投与経路	尾静脈内ボーラス投与
マウス系統	SCID C.B-17/Icr マウス、雄 6~8 週齢、体重 20~24g、6 匹/群
腫瘍モデル	HT-29 細胞を皮下移植
評価項目	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍体積 (4 日毎にノギスで測定) 体重 (4 日毎)

投与開始時の腫瘍体積は $91 \pm 19 \text{ mm}^3$ (n=24、平均値±標準偏差) であった (初回投与を 1 日目とする)。対照群の腫瘍体積は 17 日目 (範囲 : 13~17 日目) に 1000 mm^3 に達した。CPT-11 投与群の腫瘍増殖は進行が遅く、腫瘍体積は 29 日目 (範囲 : 25~33 日目) に 1000 mm^3 に達した。最も遅い腫瘍増殖平均速度は 5~17 日目に観察された。BAX2398 25 mg/kg 投与群の腫瘍体積は 5 日目に $274 \pm 43 \text{ mm}^3$ (n=6) に達し、その後腫瘍は次第に退縮し、最小値 $21 \pm 15 \text{ mm}^3$ (n=12) となった。腫瘍退縮は 21~25 日目 (6 匹中 1 匹又は 6 匹中 2 匹で検出されず) まで維持され、その後全ての腫瘍は再び増殖した。腫瘍体積は 49 日目 (範囲 : 49~57 日目) に 1000 mm^3 に達した。BAX2398 50 mg/kg 投与群の腫瘍体積は 5 日目に $205 \pm 43 \text{ mm}^3$ (n=6) に達し、その後検出されないレベルにまで退縮し、33~41 日目まで維持された後、全ての腫瘍は再び増殖した。60 日目に腫瘍体積は $184 \pm 66 \text{ mm}^3$ (n=6) に達した。

対照群の体重は次第に減少し、29~37 日目に最大 10.5% (範囲 : 9.3%~12.3%) 減少した。体重減少は腫瘍増殖と密接に関連していた。CPT-11 投与群の体重は 9 日目に 9.8%減少したが、その後部分的かつ一時的に回復した (13 日目で 6.1%減少)。その後、対照群と同様のレベルにまで再び次第に減少し、29~45 日目で 12.0% (範囲 : 10.4%~14.7%) 減少した。BAX2398 25 mg/kg 投与群の体重は 9 日目に 7.9%減少したが、その後回復して 25 日目に 4.3%増加した。その後腫瘍増殖のため再び体重は減少した。BAX2398 50 mg/kg 投与群の体重は 17 日目に 20.4%減少し、25~60 日目にはベースライン付近まで回復した。

2.2.2.2 CPT-11 より低用量の BAX2398 を q7d 投与したときの抗腫瘍作用

2.2.2.2.1 SCID マウスのヒト HT-29 大腸癌異種移植モデルに対する CPT-11 及び BAX2398 の抗腫瘍作用

SCID マウスのヒト HT-29 大腸癌異種移植モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用を 3 用量 (15、30 及び 50 mg/kg) で 3 回繰り返し評価した (PEP02-NC-N-Ph-006、PEP02-NC-N-Ph-007 及び PEP02-NC-N-Ph-008 試験)。3 試験とも同一の試験計画を用いた (表 2.6.2-13)。これらの試験の目的は、最も低用量での BAX2398 の効力及び忍容性を評価することであった。比較薬として CPT-11 50 mg/kg を含めた。試験期間中、腫瘍体積及び動物の体重を 60 日目まで測定した。

表 2.6.2-13 PEP02-NC-N-Ph-006、PEP02-NC-N-Ph-007 及び
PEP02-NC-N-Ph-008 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 : 15、30 及び 50 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与 CPT-11 : 50 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与 溶媒対照 (5%ブドウ糖)
投与経路	尾静脈内ボラス投与
マウス系統	SCID C.B-17/Icr マウス、雄 6~8 週齢、体重 20~24g、10 匹/群
腫瘍モデル	HT-29 細胞を皮下移植
評価項目	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍体積 (4 日毎にノギスで測定) 体重 (4 日毎)

(1) PEP02-NC-N-Ph-006 試験

投与開始時の腫瘍体積は $98 \pm 32 \text{ mm}^3$ (n=50、平均値±標準偏差) であった (初回投与を 1 日目とする)。対照群の腫瘍体積は 13 日目 (範囲 : 9~21 日目) に 1000 mm^3 に達した。CPT-11 投与群の腫瘍増殖は進行が遅く、腫瘍体積は 21 日目 (範囲 : 13~29 日目) に 1000 mm^3 に達した。BAX2398 15 mg/kg 投与群の腫瘍体積は 9 日目に $242 \pm 120 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。その後腫瘍はわずかに退縮し、17 日目に最小値 $197 \pm 107 \text{ mm}^3$ (n=10) となった。その後全ての腫瘍は再び増殖し、腫瘍体積は 41 日目 (範囲 : 33~49 日目) に 1000 mm^3 に達した。BAX2398 30 mg/kg 投与群の腫瘍体積は 5 日目に $176 \pm 42 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。その後腫瘍は次第に退縮して最小値 $36 \pm 21 \text{ mm}^3$ (n=30) となり、25~33 日目 (10 匹中 1 匹又は 10 匹中 2 匹で検出されず) まで維持された後、全ての腫瘍は再び増殖した。60 日目に腫瘍体積は $903 \pm 340 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。BAX2398 50 mg/kg 投与群の腫瘍体積は 5 日目に $137 \pm 59 \text{ mm}^3$ (n=10) に達し、その後検出限界付近 ($\leq 15 \text{ mm}^3$) まで退縮した。腫瘍退縮は 21~45 日目 (10 匹中 5 匹~10 匹中 8 匹で検出されず。17 日目に 3 匹及び 57 日目に 1 匹で検出されず) まで維持された後、再び全ての腫瘍は増殖した。60 日目に腫瘍体積は $157 \pm 187 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。

対照群の体重は 17 日目に 10.4%減少し、17~37 日目に平均 11.4% (範囲 : 10.4%~13.6%) 減少した。この体重減少は腫瘍増殖と密接に関連していた。CPT-11 投与群の体重は 13 日目に

10.2%減少し、試験期間中維持された（13～41日目の平均減少率は11.2%、範囲：9.3%～12.6%）。BAX2398 15 mg/kg 投与群の体重は29日目に7.1%減少し、13～60日目の平均減少率は5.3%（範囲：2.5%～7.1%）であった。BAX2398 30 mg/kg 投与群の体重は13日目に6.3%減少し、その後回復して45日目に8.8%増加した。その後、腫瘍増殖のため体重は再びわずかに減少した。BAX2398 50 mg/kg 投与群の体重は13日目に5.0%減少し、その後回復して57日目には13.0%増加した。その後、腫瘍増殖のため体重は再びわずかに減少した。

(2) PEP02-NC-N-Ph-007 試験

投与開始時の腫瘍体積は $111 \pm 32 \text{ mm}^3$ (n=50、平均値±標準偏差) であった（初回投与を1日目とする）。対照群の腫瘍体積は17日目（範囲：13～21日目）に 1000 mm^3 に達した。CPT-11 投与群の腫瘍増殖は遅延し、腫瘍体積は17日目（範囲：17～21日目）に 1000 mm^3 に達した。BAX2398 15 mg/kg 投与群の腫瘍体積は9日目に $254 \pm 44 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。その後腫瘍は次第に退縮し、13日目に最小値 $195 \pm 62 \text{ mm}^3$ (n=10) となった。その後全ての腫瘍は再び増殖し、腫瘍体積は41日目（範囲：37～45日目）に 1000 mm^3 に達した。BAX2398 30 mg/kg 投与群の腫瘍体積は5日目に $202 \pm 59 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。その後腫瘍は次第に退縮して最小値 $24 \pm 17 \text{ mm}^3$ (n=30) となり、25～33日目（10匹中1匹又は10匹中2匹で検出されず）まで維持された後、全ての腫瘍は再び増殖した。60日目に腫瘍体積は $831 \pm 348 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。BAX2398 50 mg/kg 投与群の腫瘍体積は5日目に $198 \pm 49 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した後、検出限界付近 ($\leq 15 \text{ mm}^3$) まで退縮した。腫瘍退縮は25～41日目（10匹中5匹～10匹中7匹で検出されず。17日目に1匹及び57日目に1匹で検出されず）まで維持された後、再び全ての腫瘍は増殖した。60日目に腫瘍体積は $139 \pm 89 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。

対照群の体重は次第に減少し、29日目に最大減少率14.5%に達した。この体重減少は腫瘍増殖と密接に関連していた。CPT-11 投与群の体重は17日目に9.6%減少し、試験期間中維持された（13～41日目の平均減少率は11.3%、範囲：7.5%～16.7%）。BAX2398 15 mg/kg 投与群の体重は9～13日目に7.7%減少し、17～60日目の平均減少率は7.5%（範囲：4.5%～10.9%）であった。BAX2398 30 mg/kg 投与群の体重は9日目に8.9%減少し、その後回復して45日目に8.5%増加した。その後、腫瘍増殖のため体重は再び減少した。BAX2398 50 mg/kg 投与群の体重は9日目に9.4%減少し、その後回復して53日目には9.0%増加した。

(3) PEP02-NC-N-Ph-008 試験

投与開始時の腫瘍体積は $119 \pm 31 \text{ mm}^3$ (n=50、平均値±標準偏差) であった（初回投与を1日目とする）。対照群の腫瘍体積は13日目（範囲：9～17日目）に 1000 mm^3 に達した。CPT-11 投与群の腫瘍増殖は進行が遅く、腫瘍体積は9～13日目に $650 \pm 150 \text{ mm}^3$ (n=20) で維持された後、17日目（範囲：17～37日目）に 1000 mm^3 に達した。BAX2398 15 mg/kg 投与群の腫瘍体積は9日目に $416 \pm 143 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。その後腫瘍はわずかに退縮し、21～25日目に最小値 $228 \pm 112 \text{ mm}^3$ (n=20) となった。その後全ての腫瘍は再び増殖し、腫瘍体積は45日目（範囲：37～49日目）に 1000 mm^3 に達した。BAX2398 30 mg/kg 投与群の腫瘍体積は9日目に $262 \pm 97 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。その後腫瘍は次第に退縮して33日目に最小値 $23 \pm 6 \text{ mm}^3$

(n=10) となった後 (10 匹のうち検出されなかった動物はなし)、全ての腫瘍は再び増殖した。60 日目に腫瘍体積は $962 \pm 556 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。BAX2398 50 mg/kg 投与群の腫瘍体積は 5 日目に $250 \pm 68 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した後、その後検出限界付近 ($\leq 15 \text{ mm}^3$) まで退縮した。腫瘍退縮は 37~45 日目 (10 匹中 6 匹又は 10 匹中 7 匹で検出されず。17 日目に 1 匹及び 49 日目に 2 匹で検出されず) まで維持された後、再び全ての腫瘍は増殖した。60 日目に腫瘍体積は $306 \pm 157 \text{ mm}^3$ (n=10) に達した。

対照群の体重は次第に減少し、37 日目の減少率は 10.7%であった。この体重減少は腫瘍増殖と密接に関連していた。CPT-11 投与群の体重は 13~17 日目に 7.8%減少した。29~33 日目にはさらに 13.6%まで減少し、その後わずかに回復した。BAX2398 15 mg/kg 投与群の体重は 13 日目に 7.1%減少し、17~60 日目の平均減少率は 4.3% (範囲: 2.1%~6.3%) であった。BAX2398 30 mg/kg 投与群の体重は 9~21 日目に 4.5%減少し、その後回復して 37 日目に 7.9%増加した。その後、腫瘍増殖のため体重は再び減少した。BAX2398 50 mg/kg 投与群の体重は 9 日目に 4.0%減少し、その後回復して 45 日目には 8.8%増加した。その後、腫瘍増殖のため体重は再びわずかに減少した。

2.2.2.3 SCID マウスのヒト SiHa 子宮頸癌異種移植モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用

2.2.2.3.1 SCID マウスのヒト SiHa 子宮頸癌異種移植モデルに対する BAX2398 及びシスプラチンの抗腫瘍作用 (PEP02-NC-N-Ph-011 試験)

ヒト SiHa 子宮頸癌細胞を異種移植した SCID マウスに、シスプラチン (6 mg/kg) 又は BAX2398 (25 及び 50 mg/kg) を q7d (計 4 回) 静脈内投与した。本試験は同モデルの BAX2398 又はシスプラチンの単剤投与に対する感受性を評価する探索的試験である。試験計画概要を表 2.6.2-14 に示す。

表 2.6.2-14 PEP02-NC-N-Ph-011 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 : 25 及び 50 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与 シスプラチン : 6 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与 溶媒対照 (5%ブドウ糖)
投与経路	尾静脈内ボース投与
マウス系統	SCID C.B-17/Icr マウス、雌 6~8 週齢、体重 18~22g、4 匹/群
腫瘍モデル	SiHa 細胞を皮下移植
評価項目	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍体積 (4 日毎にノギスで測定) 体重 (4 日毎)

投与開始時の腫瘍体積は $119 \pm 25 \text{ mm}^3$ (n=16、平均値±標準偏差) であった (初回投与を 1 日目とする)。対照群の腫瘍体積は 37 日目 (範囲: 25~41 日目) に 1000 mm^3 に達した。シスプラチン 6 mg/kg 投与群の腫瘍体積は 9~13 日目に $153 \pm 60 \text{ mm}^3$ (n=8) に達した後、25~29 日目に最小値 $80 \pm 57 \text{ mm}^3$ (n=8) で維持された。その後再び腫瘍は増殖し (29 及び 33 日目に 2 匹死亡)、60 日目に生存動物の腫瘍体積は 645 mm^3 (n=2) となった。BAX2398 25 mg/kg 投与群の腫

瘍体積は5～9日目に $144 \pm 38 \text{ mm}^3$ (n=8)に達した後、全ての腫瘍が25日目に完全に退縮し、再発は認められなかった。BAX2398 50 mg/kg 投与群の腫瘍はいずれも5～9日目に退縮し始め、21日目に完全に退縮し、再発は認められなかった。

対照群の体重は29日目に最大10.2%減少し、33～60日目は減少率8.1% (範囲：4.5%～10.6%)を維持した。シスプラチン6 mg/kg 投与群の体重は29日目に最大31.7%まで次第に減少した。29及び33日目にそれぞれ1匹ずつ計2匹死亡した。33～49日目の体重減少率は高いままであり、観察期間終了間際になってようやく許容範囲まで体重が回復した。BAX2398 25 mg/kg 投与群の体重は5～17日目に6.7%減少した後、完全に回復した(21～60日目で平均2.0%増加、範囲：-2.4%～4.9%)。BAX2398 50 mg/kg 投与群の体重は5～13日目に3.1%減少した後、完全に回復した(17～60日目で平均3.5%減少、範囲：-8.2%～1.2%)。対照群の1匹が57日目に死亡したが、腫瘍増殖とは関連がないと考えられた。

2.2.2.3.2 SCID マウスのヒト SiHa 子宮頸癌異種移植モデルに対する CPT-11 及び BAX2398 の抗腫瘍作用 (PEP02-NC-N-Ph-012 試験)

ヒト SiHa 子宮頸癌細胞を異種移植した SCID マウスに、CPT-11 (25 mg/kg) 又は BAX2398 (10 及び 25 mg/kg) を q7d (計 3 回) 静脈内投与した。本試験は同モデルの BAX2398 に対する感受性をより詳細に評価するための探索的試験であった。試験計画概要を表 2.6.2-15 に示す。

表 2.6.2-15 PEP02-NC-N-Ph-012 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 : 10 及び 25 mg/kg を q7d (計 3 回) 静脈内投与 CPT-11 : 25 mg/kg を q7d (計 3 回) 静脈内投与 溶媒対照 (5%ブドウ糖)
投与経路	尾静脈内ボラス投与
マウス系統	SCID C.B-17/Icr マウス、雌 6～8 週齢、体重 18～22g、8 匹/群
腫瘍モデル	SiHa 細胞を皮下移植
評価項目	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍体積 (4 日毎にノギスで測定) 体重 (4 日毎)

投与開始時の腫瘍体積は $243 \pm 92 \text{ mm}^3$ (n=32、平均値±標準偏差)であった(初回投与を1日目とする)。対照群の腫瘍体積は25日目(範囲：17～37日目)に 1000 mm^3 に達した。CPT-11 25 mg/kg 投与群の腫瘍増殖は遅延せず、腫瘍体積は29日目(範囲：29～41日目)に 1000 mm^3 に達した。BAX2398 10 mg/kg 投与群の腫瘍体積は5日目に $271 \pm 98 \text{ mm}^3$ (n=8)に達した後、21～33日目に $33 \pm 26 \text{ mm}^3$ (n=32)まで次第に退縮した(8匹中3匹で検出されず。25日目に3匹及び49日目に1匹で検出されず)。その後腫瘍は増殖し、60日目に腫瘍体積は $662 \pm 295 \text{ mm}^3$ (n=8)に達した。BAX2398 25 mg/kg 投与群の腫瘍はいずれも5～9日目に退縮し始め、21～25日目に完全に退縮した後、再発は認められなかった。

対照群の体重は25日目に最大12.5%減少し、29～60日目は減少率11.5% (範囲：8.3%～13.1%)を維持した。CPT-11 25 mg/kg 投与群の体重は21日目に最大8.9%減少し、25～57日目は

減少率 6.3% (範囲 : 4.2%~7.3%) を維持した。BAX2398 10 mg/kg 投与群の体重は 5~9 日目に 2.5%減少した後に回復し、25 日目に 7.8%増加した。その後、腫瘍増殖のため体重は再び減少した。BAX2398 25 mg/kg 投与群の体重は 9 日目に 9.5%減少した後、ベースラインレベルまで回復した (37~60 日目で平均 1.1%増加、範囲 : -1.1%~3.7%)。

2.2.2.4 CPT-11 と同程度の活性代謝物曝露量 AUC_{SN-38} を示す BAX2398 の抗腫瘍作用

BAX2398 の腫瘍組織での PK と抗腫瘍作用との相関を評価するモデルとして NOD-SCID マウスのヒト HT-29 大腸癌モデルを確立するため、複数の試験を実施した。これらの試験及び過去のデータ (PEP02-NC-N-PK-005 試験) から、腫瘍内の CPT-11 及び BAX2398 の集積並びに活性代謝物への変換を評価する、作用機序に基づく PK モデルの開発が可能となった。AUC_{SN-38}、腫瘍内の臨界閾値を上回る SN-38 濃度の持続時間の延長等の PK パラメータと関連した投与レジメンで CPT-11 及び BAX2398 の抗腫瘍活性を確認した。これらの結果は公表論文にまとめられている (Kalra 2014)。

2.2.2.4.1 同程度の活性代謝物曝露量 AUC_{SN-38} を示す CPT-11 及び BAX2398 の NOD-SCID マウスのヒト HT-29 大腸癌異種移植モデルに対する抗腫瘍作用 (Kalra 2014)

ヒト HT-29 大腸癌を異種移植した NOD-SCID マウスに、CPT-11 (50 mg/kg) 又は BAX2398 (10 mg/kg) を q7d (計 4 回) 静脈内投与した。試験期間中、腫瘍体積を 30 日目まで測定した。PK モデリング解析により、CPT-11 50 mg/kg 及び BAX2398 10 mg/kg は血漿中及び腫瘍内で同程度の AUC_{SN-38} を示した (Kalra 2014)。本試験の目的は、同程度の SN-38 曝露量を示す BAX2398 及び CPT-11 が同程度の *in vivo* 活性を示すか否かについて評価することであった。試験計画概要を表 2.6.2-16 に示す。

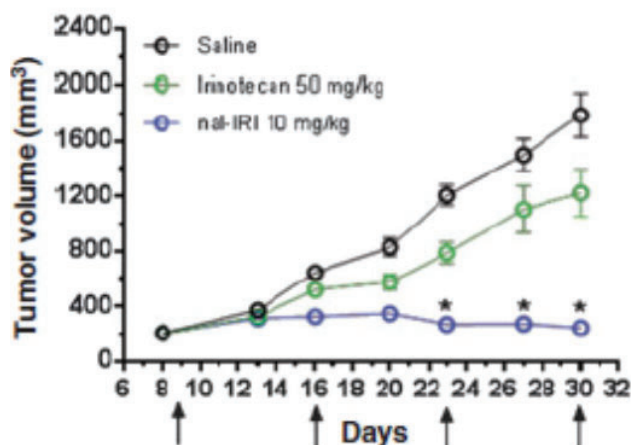
表 2.6.2-16 同程度の AUC_{SN-38} を示す CPT-11 及び BAX2398 による
抗腫瘍作用試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 ^a : 10 mg/kg を腫瘍移植 9 日後から q7d (計 4 回) 静脈内投与 (9、16、23 及び 30 日目) CPT-11 : 50 mg/kg を q7d (計 4 回) 静脈内投与 溶媒対照 (PBS)
投与経路	尾静脈内ボラス投与
マウス系統	NOD-SCID マウス、雌 5 週齢、8 匹/群
腫瘍モデル	HT-29 細胞を皮下移植
評価項目	腫瘍体積 (週 2 回ノギスで測定)
統計解析	One-way ANOVA

^a 論文では nal-IRI と表記

同程度の AUC_{SN-38} を示す用量において、BAX2398 10 mg/kg の HT-29 モデルに対する TGI (約 110%) は、投与量が 5 倍低いにも関わらず CPT-11 50 mg/kg (約 40%) と比較して有意に高かった (P < 0.05)。腫瘍体積の結果を図 2.6.2-3 に示す。

図 2.6.2-3 NOD-SCID マウスの HT-29 大腸癌モデルに対する
BAX2398 及び CPT-11 の抗腫瘍作用



Tumor response observed in HT-29 xenograft following weekly administration (arrows) of 50 mg/kg CPT-11 (Irinotecan) and 10 mg/kg BAX2398 (nal-IRI). The tumor volumes for BAX2398 (10 mg/kg) were significantly lower (*P<0.05) compared with saline and CPT-11 groups.
Kalra 2014, Figure 2B

要約すると、同程度の AUC_{SN-38} を示す用量の BAX2398 及び CPT-11 の抗腫瘍活性は同程度ではなく、BAX2398 10 mg/kg は CPT-11 50 mg/kg と比較して約 2.8 倍高い TGI（それぞれ約 110% 及び 40%）を示した。

2.2.2.4.2 NOD-SCID マウスのヒト HT-29 大腸癌異種移植モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用の用量依存性 (Kalra 2014)

NOD-SCID マウスのヒト HT-29 大腸癌異種移植モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用を、1.25~20 mg/kg までの複数用量で検討した。BAX2398 は q7d (計 2 回) 静脈内投与した。試験期間中、腫瘍体積を計 28 日間測定した。本試験の目的は、CPT-11 50 mg/kg と同程度の抗腫瘍作用を示す BAX2398 の用量を明らかにすることであった。試験計画概要を表 2.6.2-17 に示す。

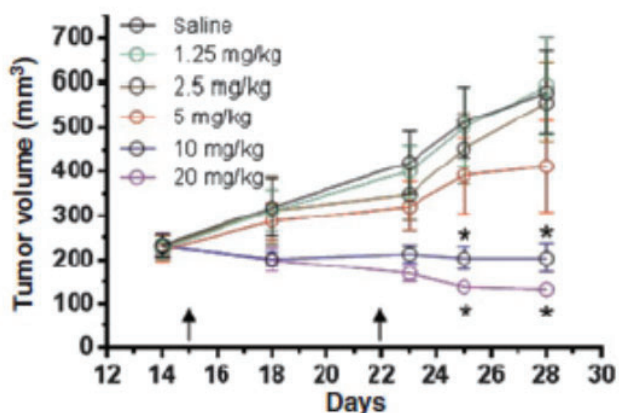
表 2.6.2-17 BAX2398 による抗腫瘍作用の用量依存性試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 ^a : 1.25~20 mg/kg を腫瘍移植 15 日後から q7d (計 2 回) 静脈内投与 (15 及び 22 日目) 溶媒対照 (PBS)
投与経路	尾静脈内ボラス投与
マウス系統	NOD-SCID マウス、雌 5 週齢、5 匹/群
腫瘍モデル	HT-29 細胞を皮下移植
評価項目	腫瘍体積 (週 2 回ノギスで測定)
統計解析	One-way ANOVA 検定

^a 論文中では nal-IRI と表記

BAX2398 5 mg/kg 投与群では CPT-11 50 mg/kg 投与群 (図 2.6.2-3) と同程度の部分的な増殖抑制作用が示されたが (TGI : 約 40%)、BAX2398 10 及び 20 mg/kg 投与群では対照群と比較して有意な増殖抑制作用 (TGI : 約 110%~130%) が示された (P<0.05)。腫瘍体積の結果を図 2.6.2-4 に示す。

図 2.6.2-4 NOD-SCID マウスの HT-29 モデルに対する BAX2398 の抗腫瘍作用の用量依存性



Tumor response in HT-29 xenografts following weekly administration (arrows) of various BAX2398 doses. The tumor volumes for BAX2398 (10 mg/kg) and BAX2398 (20 mg/kg) groups were significantly lower (*P<0.05) compared with saline.

Kalra 2014, Figure 2C

BAX2398 は CPT-11 50 mg/kg と同程度の抗腫瘍作用を 10 倍低い用量である 5 mg/kg で示したが、PK モデリング解析において、BAX2398 投与後の腫瘍内 AUC_{SN-38} 及び最高濃度は CPT-11 投与後と比較してそれぞれ約 2 及び 6 倍低いことが示された。

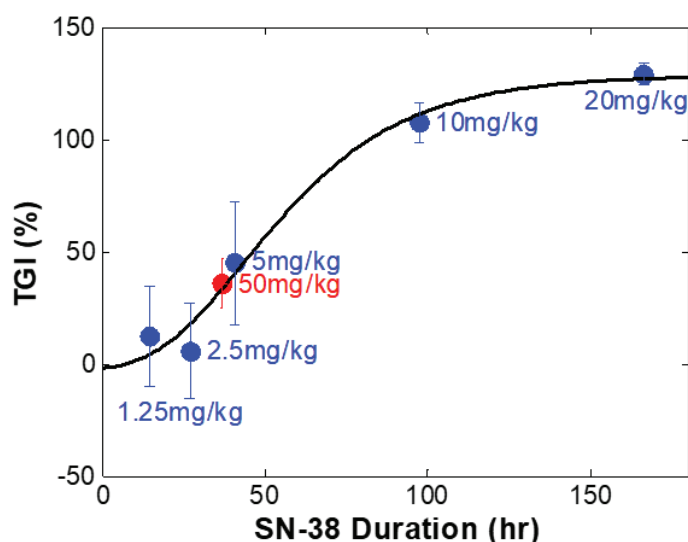
2.2.2.4.3 マウスでの抗腫瘍作用の決定因子となる腫瘍内 SN-38 滞留時間 (Kalra 2014)

PK モデリング解析において、CPT-11 50 mg/kg 及び BAX2398 10 mg/kg はヒト HT-29 大腸癌異種移植モデルマウスで同程度の血漿中及び腫瘍内 AUC_{SN-38} を示した。これまでの試験で、

BAX2398 10 mg/kg は CPT-11 50 mg/kg と比較して同程度の AUC_{SN-38} に達するにも関わらず、一貫して完全な腫瘍増殖抑制作用を示している。

一方、BAX2398 投与により達成された腫瘍内の臨界閾値を上回る SN-38 濃度の持続時間の延長は、マウスにおける *in vivo* 活性の主な薬理的決定因子であることが示唆された (図 2.6.2-5)。HT-29 モデルマウスの臨界閾値は 120 nmol/L と判断された。BAX2398 及び CPT-11 は SN-38 の最高濃度及び AUC に関して同様の用量依存性を示した。しかし、検討した用量域で CPT-11 投与後の腫瘍内 SN-38 滞留時間は 50 時間以内に限定された一方、BAX2398 は投与間隔を 168 時間まで延長してもより高い腫瘍内 SN-38 濃度を維持し、HT-29 モデルマウスに対してより強力な腫瘍増殖抑制作用を示した。これにより、BAX2398 では複数の細胞周期にわたる腫瘍細胞が SN-38 により長く曝露されたため、CPT-11 と比較して強い細胞傷害作用が示された可能性がある [1]。注目すべき点として、BAX2398 5 mg/kg 投与による腫瘍増殖抑制作用は CPT-11 50 mg/kg 投与と比較して強くはないが同程度であり、両群の腫瘍内 SN-38 滞留時間は同程度であった。

図 2.6.2-5 BAX2398 及び CPT-11 の *in vivo* 活性と腫瘍内 SN-38 滞留時間との関係



Tumour growth inhibition (TGI) (%) achieved by BAX2398 and CPT-11 treatment in HT-29 xenografts are compared to the tumor SN-38 duration above 120 nmol/L. CPT-11 (red) is dosed at 50 mg/kg, BAX2398 (blue) is dosed at 1.25–20 mg/kg. Note that the formula for the calculation of TGI(%) is modified in this figure.

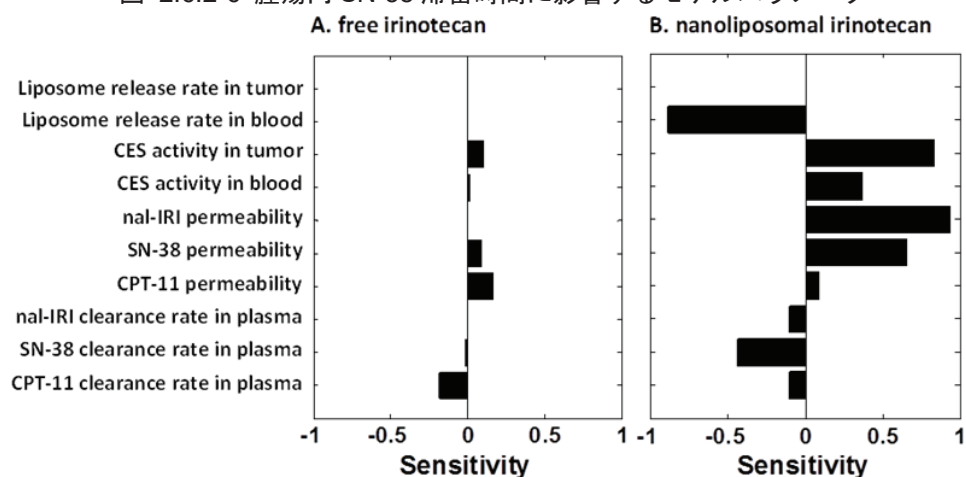
$$TGI(\%) = \left[1 - \frac{(V_{treated}(d_{final}) - V_{treated}(d_0))}{(V_{control}(d_{final}) - V_{control}(d_0))} \right]$$

with $V_{treated}$ and $V_{control}$ representing the volumes of tumor at a given time point following treatment with drug or PBS; d_0 and d_{final} represent first day and final day of treatment, respectively
Kalra 2014, Figure 2E

腫瘍内 SN-38 滞留時間に影響を与える過程を明らかにするため、PK モデルパラメータの局所感受性解析を実施した (Kalra 2014)。CPT-11 (50 mg/kg) 投与後、腫瘍内 SN-38 滞留時間は大部分のモデルパラメータに対して比較的非感受性であったことから、CPT-11 は腫瘍内 SN-38 滞留時間を調節できないことが示唆された。一方、BAX2398 (10 mg/kg) 投与後、腫瘍内 SN-38 滞留時間に有意に影響を与える複数のモデルパラメータが見いだされ (図 2.6.2-6)、以下の3つのカ

テゴリーに分類された：1) PK、血中リポソーム分解速度、2) CES によるイリノテカンから SN-38 への活性化、3) 腫瘍内へのリポソーム取り込み（すなわち腫瘍内リポソーム集積）。これらのパラメータのうち、血漿中リポソーム分解速度は、BAX2398 の全身曝露量の減少のため腫瘍内 SN-38 滞留時間に負の影響を与えたが、CES 活性、特に腫瘍内 CES（局所腫瘍内でのイリノテカン活性化）及びリポソーム透過性（腫瘍内集積）は正の影響を与えた。

図 2.6.2-6 腫瘍内 SN-38 滞留時間に影響するモデルパラメータ



Sensitivity analyses for CPT-11 (free irinotecan) (A) and BAX2398 (nanoliposomal irinotecan, nal-IRI)(B) were performed on key model parameters which are responsible for plasma clearance, tissue deposition and metabolic reactions. Parameters whose values were not estimated in this study including compartment volumes and tumor blood flow were excluded from the analysis. The doses of CPT-11 (50 mg/kg) and BAX2398 (10 mg/kg) that achieved similar SN-38 plasma and tumor exposure were used for sensitivity analysis. The model parameters were modulated by 10% and their effect on tumor SN-38 duration was determined as a sensitivity index
Kalra 2014, Figure 3

2.2.2.5 CPT-11 と同程度の活性代謝物曝露量 AUC_{SN-38} を示す用量を投与したときの BAX2398 の薬効評価のための $[^{18}F]$ FAZA-PET による経時的腫瘍低酸素イメージング (MM-398-NC-N-Ph-022 試験)

腫瘍低酸素状態の非侵襲的な測定は、病勢進行の評価並びに治療効果の予測及び評価に有用である可能性が示されている。 $[^{18}F]$ FAZA-PET 法は、非臨床及び臨床の両方で低酸素状態定量のための頑健な方法として認識されている。本試験の目的は、CPT-11 (50 mg/kg) 及び BAX2398 (5 及び 10 mg/kg) を両側性ヒト HT-29 大腸癌異種移植モデルマウスに q7d (計 3 回) 静脈内反復投与後、21 日にわたる反復性 FAZA-PET イメージングの実施可能性及び意義を評価することであった。PK モデリング解析において、CPT-11 50 mg/kg 及び BAX2398 10 mg/kg は同程度の血漿中及び腫瘍内 AUC_{SN-38} を示した。全ての投与用量は、両側性 HT-29 モデルの腫瘍増殖抑制には不十分であることが知られていた。試験計画概要を表 2.6.2-18 に示す。

表 2.6.2-18 BAX2398-NC-N-Ph-022 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 : 5 及び 10 mg/kg を腫瘍移植 17 日後から q7d (計 3 回) 静脈内投与 (0、7 及び 15 日目) CPT-11 : 50 mg/kg を q7d (計 3 回) 静脈内投与
投与経路	尾静脈内ボラス投与
マウス系統	NOD-SCID マウス、雌 4~5 週齢、5 匹/群
腫瘍モデル	HT-29 細胞を両側性 (両側横腹) に皮下移植
評価項目	<ul style="list-style-type: none"> 腫瘍体積 (週 2 回 CT 及びノギスで測定) [¹⁸F]FAZA PET イメージング (0、2、4、7、10、16 及び 21 日目) - 全体シグナル及び低酸素分画 2-ニトロイミダゾール (低酸素マーカー、EF5) 及び炭酸脱水素酵素 9 (CA9) 同時免疫蛍光染色 (試験最終日) 体重 (週 1 回計 4~5 回)
統計解析	<ul style="list-style-type: none"> One-way ANOVA 対応のない <i>t</i> 検定 (群間比較) 対応のある <i>t</i> 検定 (群内の経時変化)

平均腫瘍体積が $308 \pm 132 \text{ mm}^3$ となった腫瘍移植 17 日後に投与を開始した。CPT-11 50 mg/kg 投与群の腫瘍体積 (投与開始時 $264 \pm 76 \text{ mm}^3$) は次第に増大しておよそ 13 日目 (範囲 : 8.5~20 日目) に 1000 mm^3 に達した。BAX2398 5 mg/kg 投与群では投与開始時の腫瘍体積が大きく ($367 \pm 129 \text{ mm}^3$)、14 日目 (10 腫瘍中 4 腫瘍が閾値に達した範囲 : 5~17.5 日目) に 1000 mm^3 に達した。2 腫瘍では 4 日目 (初回投与後) に体積の断続的でわずかな縮小が認められたが、その他の 2 腫瘍では 21 日目でのみ体積の縮小が認められた。BAX2398 10 mg/kg 投与群の投与開始時の腫瘍体積は $291 \pm 165 \text{ mm}^3$ であり、9~13.5 日目に 10 腫瘍中 3 腫瘍のみが 1000 mm^3 に達した。10 腫瘍中 5 腫瘍では 7 日目に中等度の腫瘍体積縮小が認められ、16~21 日目まで持続した。16 及び 21 日目の腫瘍体積はそれぞれ 668 ± 348 及び $561 \pm 257 \text{ mm}^3$ であった (1 匹除外後)。

投与開始時の各群の FAZA 取り込みに有意差はなく ($P=0.579$)、ベースライン (投与開始時) での平均腫瘍内 FAZA 取り込み及び CT 腫瘍体積に相関関係は認められなかった ($R^2 = 0.008$)。CPT-11 50 mg/kg 投与群の FAZA 取り込みは次第に増加し、10 日目にベースラインより $81.5 \pm 56.8\%$ 高くなった。BAX2398 5 mg/kg 投与群の FAZA 取り込みは 4 日目まで変化せず、その後次第に増加して 10 日目にベースラインより $62.5 \pm 70.6\%$ 高くなった。BAX2398 10 mg/kg 投与群の FAZA 取り込みの変化はわずかであり、10 日目にベースラインより $18.2 \pm 39.4\%$ 高く、16 日目にはベースラインレベルに戻った。

BAX2398 10 mg/kg 投与群は CPT-11 投与群と比較して有意に低いレベルの腫瘍低酸素状態及び低酸素分画を維持し、これらの差は少なくとも投与 7 日目から有意であった (FAZA 取り込み及び低酸素分画についてそれぞれ $P=0.002$ 及び $P=0.018$)。また、BAX2398 の両投与群間の差も投与 7 日目から有意であった (FAZA 取り込み及び低酸素分画についてそれぞれ $P=0.001$ 及び $P=0.010$)。BAX2398 10 mg/kg 投与群の腫瘍増殖は明らかに抑制され、腫瘍体積は 10 日目 (vs. CPT-11 50 mg/kg; $P=0.038$) 及び 16 日目 (vs. CPT-11 50 mg/kg; $P=0.006$, vs. BAX2398 5 mg/kg; $P=0.029$) で有意となった。

試験終了時に腫瘍の EF5 及び CA9 領域を同時免疫蛍光染色により評価し、組織全体の核領域で標準化した染色領域として表した。EF5 領域は、CPT-11 50 mg/kg 投与群で $6.70 \pm 3.27\%$ (1つの外れ値は 35.38%)、BAX2398 5 mg/kg 投与群で $5.46 \pm 2.45\%$ 及び BAX2398 10 mg/kg 投与群で $1.56 \pm 2.07\%$ であった。CA9 領域は、CPT-11 50 mg/kg 投与群で $37.78 \pm 15.97\%$ 、BAX2398 5 mg/kg 投与群で $40.03 \pm 20.83\%$ 及び BAX2398 10 mg/kg 投与群で $20.39 \pm 8.07\%$ であった。BAX2398 10 mg/kg 投与群の腫瘍 EF5 (P=0.0014) 及び CA9 (P=0.0088) 領域は他群と比較して有意に減少した。

いずれの動物も全てのイメージング評価及び投薬に対して良好な忍容性を示した。投薬群の平均体重減少は、ベースラインと比較して 10% を超えなかった。

BAX2398 10 mg/kg 投与群は CPT-11 50 mg/kg 投与群と比較して有意に低いレベルの腫瘍低酸素状態及び低酸素分画を維持した。さらに、投薬群間での FAZA 取り込み量の違いによる腫瘍微小環境の早期変化は、腫瘍体積の有意な減少よりも早い投与 9 日目から検出可能であった。BAX2398 10 mg/kg 投与群では、試験終了時に同時免疫蛍光染色により評価した腫瘍 EF5 及び CA9 領域が減少し、PET により定量化した FAZA 分画減少と一致していた。

2.3 その他の薬理試験

2.3.1 代謝物の薬理学的プロファイル

BAX2398 に含まれるペイロード (イリノテカン) は、ナノキャリアの細胞又は非細胞分解によるリソソームからの放出後、代謝される。イリノテカンの代謝は公表論文で広く評価されている [35、23、39]。イリノテカンは主に肝臓及び腸の CES1 及び CES2 によって活性代謝物 SN-38 に変換される。単球特異的エステラーゼとしても知られるヒト CES1 は、肝臓及び単球/マクロファージに豊富に発現しているが [26]、CES2 は腫瘍組織に共通して発現している [40]。SN-38 はイリノテカンより約 100~1000 倍細胞傷害活性が強い [23]。

腫瘍内での CPT-11 及び BAX2398 の滞留特性並びに活性代謝物 SN-38 への変換を評価するため、作用機序に基づく PK モデルが開発された。CPT-11 及び BAX2398 の効果は、臨界閾値を上回る腫瘍内 SN-38 濃度の持続時間延長と関連していた (Kalra 2014 及び本項 2.2.2.4)。非臨床試験 [19、28] 及び臨床試験 [29] において、腫瘍内 CES 活性からのイリノテカンの反応予測は限定的であったが、局所腫瘍内の薬物曝露には BAX2398 からのイリノテカン放出抑制とともに、腫瘍内 SN-38 変換がより重要であると考えられた。腫瘍内 SN-38 滞留時間を延長したパラメータとして腫瘍内 CES 活性が同定され、BAX2398 の腫瘍内集積とともに最も影響を与えることが示唆された。

イリノテカンはシトクロム P450 (CYP) 3A4 により種々の酸化代謝物、特にアミノ吉草酸代謝物 (APC) 及びアミノピペリジノ代謝物 (NPC) にも代謝される [23]。NPC は CES によって SN-38 に変換可能であるが、APC は *in vivo* でイリノテカンの活性及び毒性プロファイルに直接関与しない [31]。

最後に、活性代謝物 SN-38 はウリジン-二リン酸-グルクロン酸転移酵素 1A (UGT1A) アイソフォームを介して不活性な SN-38 グルクロニド G (SN-38G) へさらに代謝され、これがイリノテカンの主な消失経路となる [23、39]。

3 副次的薬理試験

副次的薬力学試験は実施していない。

4 安全性薬理試験

テレメトリー装着覚醒ビーグル犬を用いて、BAX2398 単回静脈内投与による心行動態パラメータ、心電図、呼吸器系パラメータ及び体温への影響を検討する安全性薬理試験 1 試験を実施した。(表 2.6.2-19 及び表 2.6.2-20)。

表 2.6.2-19 安全性薬理試験一覧

Type of Study and Test System	Study Period	GLP Compliance	Study Number
Cardiovascular and Respiratory Telemetered Beagle Dogs	Single dose with 24h telemetry	Yes	20036143

GLP = Good Laboratory Practices

以下の理由により、中枢神経系 (CNS) に関する独立した安全性薬理試験は実施しなかった。

- CPT-11 は本邦において 1994 年から販売されている。CPT-11 のコリン作動性作用は、CPT-11 の 4-ピペリジノピペリジン部位によるアセチルコリンエステラーゼ阻害が原因とされており [16]、よって、活性代謝物 SN-38 の濃度には依存しないと考えられる。本邦既承認製剤であるイリノテカン塩酸塩水和物点滴静注 (カンプト®点滴静注) の添付文書 [42] には、[使用上の注意] 2. 重要な基本的注意の項に、早発型下痢の機序としてコリン作動性が考えられること、また、4. 副作用の項に、その他の副作用としてコリン作動性症候群 (頻度不明) が記載されており、臨床での CNS 安全性情報が得られている。海外では、Onivyde (BAX2398) の SmPC (Section 4.4 Special warnings and precautions for use) [27] に記載されているように、コリン作動性 (末梢神経系) 作用が患者で観察されている。副作用の自発報告では因子としての神経毒性は非常に稀であり [2017 年 11 月 7 日時点で CPT-11 を投与された患者 2750 例中 20 例 (0.73%)]、他の抗悪性腫瘍薬と同様に何らかの神経毒性が認められ、明確ではないものの、これらはコリン作動性症候群と考えられる [8]。
- CPT-11 投与中又は投与後の CNS 毒性を示す症例がいくつか報告されている。全ての症例で一過性の構音障害が認められ、いくつかの症例では失語症又は運動失調と関連していた [4、24]。ほとんどの場合、これらの症状は初回投与時に発現し、15 分から 8 時間以内に完全に回復した。発現期間は投与量と関連する傾向が報告されている [4]。これらの副作用に関する病態生理は明らかではないが、他の脳幹の核と比較して舌下神経にはコリン作動性受容体が豊富に発現している。実際、報告された 16 例中 5 例でアトロピン投与が有効であり、その他の 2 例では水分補給と点滴時間延長 (すなわちイリノテカンの最高血漿中濃度の低下) 及び/又は電解質補充が有効であった。しかし、最近公表された構音障害の報告例 (5 例) は FOLFIRINOX 療法 [CPT-11、オキサリプラチン、5-フルオロウラシル (5-FU)、レボホリナート] と関連しており、CPT-11 単剤又は FOLFIRI 療法 (CPT-11、5-FU、レボホリナート) (通常 CPT-11 投与量は 150~180 mg/m²) では発現が非常に稀であることが示されている。構音障害及び失語症は、現時点では BAX2398 投与に関連しないと考えられる。

- 脳腫瘍患者で CPT-11 (125~340 mg/m²) とベバシズマブの併用投与が評価され (2006~2012 年)、患者で報告された CNS の副作用は、痙攣 (30 例中 5 例)、疼痛/頭痛 (30 例中 3 例) 及び出血 (30 例中 1 例) であった [38]。これらの副作用は必ずしも投薬には関連せず、全ての患者は 3 つの副作用全てに関連したリスクがあったため、確実に疾患関連であった。さらに、CPT-11 を投与した 140 例以上の脳腫瘍患者で、明らかな血液脳関門の損傷があるにも関わらず CNS の副作用は認められなかったことが報告されている [12]。
- BAX2398 (30、75、190 mg/kg) 及び CPT-11 (75 mg/kg) を 3 週間に 1 回 (q3w) (計 6 回) ラットに投与した 18 週間反復投与毒性試験 (PEP02-NC-G-Tx-010 試験) において、振戦、協調運動障害による歩行、つま先歩行、流涎及びケージワイヤーをかじる行動が、CPT-11 75 mg/kg (450 mg/m²) 投与群でのみ観察された。しかし、BAX2398 投与群では、最高用量でも投与に関連した神経学的所見並びに脳脊髄組織の肉眼的及び組織学的変化は認められなかった。したがって、BAX2398 単回投与後の Irwin 変法による評価を実施しても、CNS の副作用に関する追加の情報は得られず、より包括的な結論には至らないと考えられる。
- PEP02-NC-N-PK-007 試験では、¹⁴C-BAX2398 及び ¹⁴C-CPT-11 10 mg/kg を 90 分にわたりラットに点滴静注し、大脳、小脳及び脊髄中放射能濃度を定量的全身オートグラフィーにより評価した。¹⁴C-BAX2398 を投与終了時、投与 8、24、48、72 及び 168 時間後に放射能濃度を測定した。¹⁴C-BAX2398 投与ラットでは、投与 2 日後までの CNS 中放射能濃度は 0.221~3.370 µg equiv/g であったが、¹⁴C-CPT-11 投与ラットでは、試験期間を通して CNS 中放射能濃度はほぼ検出限界又はそれ以下であった。BAX2398 投与群における CNS での放射能濃度上昇は、より長い血漿中半減期のためであると考えられる。しかし、検出された放射能が、¹⁴C-BAX2398 又はその代謝物のいずれかについての情報は得られていない。

これまでに得られた以上の動物及び患者のデータから、CNS に関する独立した非臨床安全性薬試験を実施しても意義のある追加情報は得られないと判断した。

4.1 *In Vitro* 試験

In vitro 安全性薬理試験は実施しなかった。

4.2 *In Vivo* 試験

4.2.1 テレメトリー装着ビーグル犬での心血管系及び呼吸器系に対する作用 (20036143 試験)

本試験の目的は、ヒトの安全性に関連する可能性のある心血管系及び呼吸器系に対する BAX2398 の潜在的影響を明らかにすることであった。具体的には、BAX2398 の静脈内投与がテレメトリー装着覚醒ビーグル犬の血行動態パラメータ、心電図、呼吸器系パラメータ及び体温に及ぼす影響を検討した。試験デザインを表 2.6.2-20 に示す。

表 2.6.2-20 20036143 試験デザイン

Group No.	No. of Animals		Test Material	Dose Level (mg/kg)	Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg) ^a
	Male	Female				
1	3	3	Control Article	0	0	15
2	3	3	BAX2398	9	0.6	15
3	3	3	BAX2398	15	1.0	15
4	3	3	BAX2398	21	1.4	15

^a Animals were dosed via a 90-minute intravenous infusion at a rate of 10 mL/kg/hr

本試験では、臨床症状、体重、血行動態（心拍数、血圧）、心電図パラメータ（波形、PR、QRS、QT、QTc_a 及び RR 間隔）、呼吸器系パラメータ（呼吸数、1 回換気量、分時換気量）及び体温の評価並びに血漿中薬物濃度測定を実施した。

投薬に関連した臨床症状及び体重の変化は認められず、心拍数、血圧、心電図パラメータ（波形、PR、QRS、QT、QTc_a 及び RR 間隔）、呼吸器系パラメータ（呼吸数、1 回換気量、分時換気量）及び体温にも変化は認められなかった。

投与前及び対照試料にはいずれもイリノテカン及び SN-38 が含まれていないことが確認された。血漿中イリノテカン及び SN-38 濃度は用量依存的に増加した。イリノテカン及び SN-38 はいずれも点滴静注終了時に最高血漿中濃度に達し（9、15 及び 21 mg/kg 投与で、イリノテカン濃度はそれぞれ 121333、186167 及び 287000 ng/mL、SN-38 濃度はそれぞれ 8.84、11.6 及び 17.1 ng/mL）、投与終了 24 時間後（9、15 及び 21 mg/kg 投与で、イリノテカン濃度はそれぞれ 9912、19553 及び 56100 ng/mL、SN-38 濃度はそれぞれ 1.06、1.92 及び 2.73 ng/mL）でも検出された。

以上から、血行動態、心電図、呼吸器系パラメータ及び体温について投薬に関連した変化はいずれも認められず、ビーグル犬に最高用量 21 mg/kg（420 mg/m²）までの BAX2398 を 90 分にわたり単回点滴静注したときの忍容性は良好であった。

5 薬力学的薬物相互作用試験

5-FU 及びレボホリナートの体内動態に対するイリノテカンの影響を評価する単独の薬物相互作用試験は、*in vivo* 及び *in vitro* いずれでも実施していない。イリノテカン及び 5-FU（カペシタビンとして）を 23 例の固形癌患者に投与した第 I 相試験において、両薬物が併用投与されたとき、イリノテカンの体内動態は大きく変化しなかった [6]。一方、イリノテカンの活性代謝物 SN-38 は CYP3A4 誘導薬により血中濃度が低下すると予測される。

リポソーム製剤である BAX2398 からイリノテカンが放出された後、その代謝は既承認のカンプト®点滴静注と同様の経路を辿る。イリノテカンはこれまで多くの臨床試験及び実臨床において 5-FU/レボホリナートと併用投与されている。BAX2398 が 5-FU との併用により予期しない薬物相互作用を生じる可能性は低い。

以上を踏まえ、BAX2398 を用いた薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

6 考察及び結論

BAX2398 は、膵癌（同所性及び異所性の PDX 及び CDX 膵癌モデル）、大腸癌及び子宮頸癌の異種移植モデルにおいて、同等以上の用量及び／又は投与頻度の CPT-11 と比較して、一貫して再現良く高い抗腫瘍効果を示した。BAX2398 の一般的な投与レジメンである 10～15 mg/kg を q7d 投与したときの平均体重変化率は 10%未満であり、これは IACUC ガイドラインに基づく許容範囲にあった。さらに、体重減少は投与期間に限られ、投与期間終了後は持続せず、遅発型の副作用は観察されなかった。以上のように、BAX2398 は CPT-11 と比較して非臨床モデルでの良好な効果を実質的に示した。

このような効果は複数のモデルで認められ、膵癌異種移植モデルにおける q7d 投与レジメンでは、BAX2398 10 mg/kg は CPT-11 50 mg/kg と比較してより高い抗腫瘍効果を示し、同様の関係が大腸癌異種移植モデルでも観察された。また、BAX2398 10 及び 25 mg/kg の q7d 投与は子宮頸癌モデルに対しても良好な抗腫瘍効果を示した。

PK モデリングにより、CPT-11 50 mg/kg 及び BAX2398 10 mg/kg は HT-29 大腸癌異種移植モデルマウスで同程度の血漿中及び腫瘍内 AUC_{SN-38} を示した。マウスでの 10～15 mg/kg の用量を mg/m² に変換した 30～45 mg/m² q1w 投与は、臨床試験用量と同程度であることが示唆され、すなわち、BAX2398 80 mg/m² q2w 投与（NAPOLI-1 試験）又は 120 mg/m² q3w 投与 [21、32] と一致している。ヒト骨髄の SN-38 に対する感受性はマウス骨髄より 10～13 倍高いが [37]、これによりヒトでの BAX2398 の用量が制限されることはないと考えられる。

腫瘍組織の血管透過性及び滞留性亢進（EPR）効果のため、リポソームは腫瘍に優先的に集積する傾向がある [22]。この EPR 効果は、高分子を漏出する腫瘍組織血管異常及びリンパ液排出機能低下が原因である。これらの要因が腫瘍微小環境内に高分子の集積を促進させ、そのため、腫瘍部位に持続的に放出されて低用量頻回投与に類似する効果を示す。EPR 効果を十分に活用するため、薬物担体は循環中で薬剤を保持するよう設計される必要があり、これによって腫瘍内集積前の循環中早期薬物放出を防ぎ、細胞機序 [TAM 又は骨髄由来免疫抑制細胞（MDSC）を介した貪食及び放出を含むが、これに限定されない] 又は間質放出 [34] を介して腫瘍細胞近傍での薬剤放出を可能にする。非臨床モデル及び臨床試験で観察された BAX2398 の PK プロファイルでは、イリノテカンペイロード封入体の安定性が示されている。

概して、PDX モデルでは CDX モデルよりも BAX2398 の腫瘍内集積量が少なく、SN-38 の滞留時間が短かった。しかし、複数の PDX 膵癌モデルでは、BAX2398 10 mg/kg の q7d 投与により有意に腫瘍増殖が抑制された。そのうち、ES1 活性を欠損した Es1^o マウス及び野生型マウスに膵癌細胞（#18254）を異種移植したモデルでは、Es1^o マウスでの投与 24 時間以内の血漿中 SN-38 濃度は約 10 倍、腫瘍内曝露量は約 4 倍低いにも関わらず、両マウスでの BAX2398 による有効性及び投与 72 時間後の SN-38 濃度は同程度であった。Es1^o マウスでの血漿 ES1 活性欠損は、ヒト血漿中の CES 活性欠損を反映している。本結果から、血漿中イリノテカンの変換ではなく、腫瘍内リポソーム集積及びイリノテカンの変換が BAX2398 の抗腫瘍活性に寄与することが示唆された。実際、BAX2398 に関する免疫組織学的解析による腫瘍間質領域での集積、腫瘍ホモジネートでの代謝物プロファイル、 γ H2AX 染色による DNA 損傷及び複数の膵癌モデルにおける抗腫

瘍効果の結果より、腫瘍細胞内で効果を示す濃度のイリノテカン放出及びバイオアベイラビリティが裏付けられた。

固形癌でのリポソーム型薬物送達を理解する数学モデルを利用して、PEG 化リポソーム型ドキシソルビシンの腫瘍送達に影響するパラメータが検討され [15]、リポソームの PK 及びリポソームの腫瘍透過性（腫瘍内集積）が腫瘍へのリポソーム型薬物送達を制御する最も重要なパラメータであることが示された。

BAX2398 の腫瘍内 SN-38 利用率は非常に高いことが確認されている。作用機序に基づく PK モデルにより、BAX2398 又は CPT-11 による腫瘍内の臨界閾値を上回る SN-38 濃度の持続時間延長が、マウスにおける *in vivo* 活性の主な薬理的決定因子であることが示唆された。BAX2398 5 mg/kg による抗腫瘍作用は、10 倍の用量である CPT-11 50 mg/kg と同程度であり、いずれも腫瘍内 SN-38 滞留時間は類似していた。しかし、CPT-11 50~60 mg/kg 投与後の腫瘍内 SN-38 滞留時間は 50 時間以内に限定された一方、BAX2398 10~20 mg/kg は投与間隔を 168 時間まで延長してもより高い腫瘍内 SN-38 濃度を維持し、HT-29 モデルマウスに対してより強力な抗腫瘍作用を示した。SN-38 滞留時間の重要性は、細胞周期特異的に作用するカンプトテシンの細胞毒性が薬物曝露時間及び滞留時間の延長に伴って増大する [1、30] との知見と一致する。腫瘍内 SN-38 滞留時間に影響を与える過程を明らかにするため、PK モデルパラメータの局所感受性解析を実施した (Kalra 2014)。BAX2398 による腫瘍内 SN-38 滞留時間延長に特に影響を与えるパラメータとして、1) プロドラッグであるイリノテカンの腫瘍内集積量として測定した BAX2398 の腫瘍内集積及び 2) 局所腫瘍内 CES によるイリノテカンから SN-38 への活性化の 2 つが認められた。

薬物変換試験において、膀胱癌試料及びヒトマクロファージ様細胞を含む広範な腫瘍から採取した腫瘍溶解液は、イリノテカンを SN-38 に酵素的に加水分解できることが示された。分化させたヒト U937 細胞と BAX2398 とのインキュベーション 48 時間後の培養上清中 SN-38 濃度は (PDX 由来移植片とのインキュベーション 72 時間後の SN-38 濃度も)、膀胱癌細胞株で *in vitro* 細胞死を誘発するために概して十分であった。骨髄細胞及び特に TAM は、自然発症膀胱癌モデルの間質に広く存在し [5]、*in vivo* 腫瘍モデルでリポソームを集積する。マウス及びヒトの両マクロファージ様細胞株は、腫瘍細胞より 10~40 倍高濃度のリポソームを集積し、リポソームの PEG 修飾を減少させるとマクロファージのリポソーム取り込みは増大した。リポソーム取り込みは貪食細胞からのペイロード放出を伴い、これはリポソームからの推定腫瘍内放出機構の 1 つとして重要と考えられる。

安全性薬理プロファイルに関しては、BAX2398 の点滴静注は最高用量 (21 mg/kg) でもビーグル犬の心血管系及び呼吸器系パラメータにいずれも影響を与えず、BAX2398 の安全性プロファイルが裏付けられた。

これらの試験結果から、毒性プロファイルを悪化させることなく、多くの場合はその改善を伴って、CPT-11 の抗腫瘍効果を高める BAX2398 の効力が示された。また、BAX2398 は CPT-11 よりも 10 倍低用量で抗腫瘍効果を示した。これらの特性は膀胱癌患者を対象とした BAX2398 の臨床開発を支持するものであった。

参考文献

1. Aoyagi Y, Kobunai T, Utsugi T, Oh-hara T, Yamada Y. *In vitro* antitumor activity of TAS-103, a novel quinoline derivative that targets topoisomerases I and II. *Jpn. J. Cancer Res* 1999; 90:578-87.
2. Capello M, Lee M, Wang H, Babel I, Katz MH, Fleming JB, et al. Carboxylesterase 2 as a determinant of response to irinotecan and neoadjuvant FOLFIRINOX therapy in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107. doi:10.1093/jnci/djv132.
3. Chang Q, Jurisica I, Do T, Hedley DW. Hypoxia predicts aggressive growth and spontaneous metastasis formation from orthotopically grown primary xenografts of human pancreatic cancer. *Cancer Res* 2011; 71:3110-20.
4. Chandar M and de Wilton Marsh R. Severe generalized weakness, paralysis, and aphasia following administration of irinotecan and oxaliplatin during FOLFIRINOX chemotherapy. *Case Rep Oncol* 2015; 8:138-41.
5. Clark CE, Hingorani SR, Mick R, Combs C, Tuveson DA Vonderheide RH. Dynamics of the immune reaction to pancreatic cancer from inception to invasion. *Cancer Res* 2007; 67:9518-27.
6. Delord JP, Pierga JY, Dieras V, Bertheault-Cvitkovic F, Turpin FL, Lokiec F, et al. A phase I clinical and pharmacokinetic study of capecitabine (Xeloda®) and irinotecan combination therapy (XELIRI) in patients with metastatic gastrointestinal tumours. *Brit J Cancer* 2005; 92:820-6.
7. Drummond DC, Noble CO, Guo Z, Hong K, Park JW, Kirpotin DB. Development of a highly active nanoliposomal irinotecan using a novel intraliposomal stabilization strategy. *Cancer Res* 2006; 66:3271-7.
8. eHealthMe. Irinotecan hydrochloride and Neurotoxicity - from FDA reports.
<http://www.ehealthme.com/ds/irinotecan+hydrochloride/neurotoxicity>
9. FDA. Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. 2005.
10. Gabizon A, Catane R, Uziely B, Kaufman B, Safra T, Cohen R, et al. Prolonged circulation time and enhanced accumulation in malignant exudates of doxorubicin encapsulated in polyethylene-glycol coated liposomes. *Cancer Res* 1994; 54:987-92.
11. Guichard S, Terret C, Hennebelle I, Lochon I, Chevreau P, Frétigny E, et al. CPT-11 converting carboxylesterase and topoisomerase activities in tumour and normal colon and liver tissues. *Br J Cancer*. 1999; 80:364-70.

12. Hamberg P, De Jong FA, Brandsma D, Verweij J, Sleijfer S. Irinotecan-induced central nervous system toxicity. Report on two cases and review of the literature. *Acta Oncol* 2008; 47:974-8.
13. Hardman WE, Moyer MP, Cameron IL. Efficacy of treatment of colon, lung and breast human carcinoma xenografts with: doxorubicin, cisplatin, irinotecan or topotecan. *Anticancer Res* 1999; 19:2269-74.
14. Hendriks BS, Klinz SG, Reynolds JG, Espelin CW, Gaddy DF, Wickham TJ. Impact of Tumor HER2/ERBB2 expression level on HER2-targeted liposomal doxorubicin-mediated drug delivery: multiple low-affinity interactions lead to a threshold effect. *Mol Cancer Ther* 2013; 12:1816-28.
15. Hendriks BS, Reynolds JG, Klinz SG, Geretti E, Lee H, Leonard SC, et al. Multiscale kinetic modeling of liposomal doxorubicin delivery quantifies the role of tumor and drug-specific parameters in local delivery to tumors *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2012; 1:e15.
16. Hyatt JL, Tsurkan L, Morton CL, Yoon KJ, Harel M, Brumshtein B, et al. Inhibition of acetylcholinesterase by the anticancer prodrug CPT-11. *Chem Biol Interact* 2005; 157-158:247-52.
17. Hylander BL, Pitoniak R, Penetrante RB, Gibbs JF, Oktay D, Cheng J, et al. The anti-tumor effect of Apo2L/TRAIL on patient pancreatic adenocarcinomas grown as xenografts in SCID mice. *J Transl Med* 2005; 3: 22. doi:10.1186/1479-5876-3-22.
18. Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook 2nd Edition 2002. C.2.c, Table A (Page 107).
19. Jansen WJ, Zwart B, Hulscher ST, Giaccone G, Pinedo HM, Boven E. CPT-11 in human colon-cancer cell lines and xenografts: characterization of cellular sensitivity determinants. *Int J Cancer* 1997; 70:335-40.
20. Kirpotin DB, Drummond DC, Shao Y, Shalaby MR, Hong K, Nielsen UB, et al. Antibody targeting of long-circulating lipidic nanoparticles does not increase tumor localization but does increase internalization in animal models. *Cancer Res* 2006;66:6732-40.
21. Ko AH, Tempero MA, Shan YS, Su WC, Lin YL, Dito E, et al. A multinational phase 2 study of nanoliposomal irinotecan sucrosfate (PEP02, MM-398) for patients with gemcitabine-refractory metastatic pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2013; 109:920-5.
22. Maeda H. Tumor-selective delivery of macromolecular drugs via the EPR effect: background and future prospects. *Bioconjug Chem* 2010; 21:797-802.

23. Mathijssen RHJ, van Alphen RJ, Verweij J, Loos WJ, Nooter K, Stoter G, et al. Clinical pharmacokinetics and metabolism of irinotecan (CPT-11). *Clin cancer Res* 2001; 7:2182-94.
24. Matsuoka A, Maeda O, Inada-Inoue M, Ohno E, Hirooka Y, Yokoyama Y, et al. FOLFIRINOX-induced reversible dysarthria: A case report and review of previous cases. *Oncol Lett* 2015; 10: 2662-4.
25. Morton CL, Iacono L, Hyatt JL, Taylor KR, Cheshire PJ, Houghton PJ. Activation and antitumor activity of CPT-11 in plasma esterase-deficient mice. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56:629-36.
26. Needham LA, Davidson AH, Bawden LJ, Belfield A, Bone EA, Brotherton DH, et al. Drug targeting to monocytes and macrophages using esterase-sensitive chemical motifs. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 339:132-42.
27. Onivyde 5 mg/ml concentrate for solution for infusion, Summary of Product Characteristics, Last Updated on eMC 30 Nov 2016, <https://www.medicines.org.uk/emc/product/9200>
28. Pavillard V, Agostini C, Richard S, Charasson V, Montaudon D, Robert J. Determinants of the cytotoxicity of irinotecan in two human colorectal tumor cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49:329-35.
29. Pavillard V, Charasson V, Laroche-Clary A, Soubeyran I, Robert J. Cellular parameters predictive of the clinical response of colorectal cancers to irinotecan. A preliminary study. *Anticancer Res* 2004; 24:579-85.
30. Pommier Y. Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond. *Nat Rev Cancer* 2006; 6:789-802
31. Rivory LP, Riou JF, Haaz MC, Sable S, Vuilhorgne M, Commerçon A, et al. Identification and properties of a major plasma metabolite of irinotecan (CPT-11) isolated from the plasma of patients. *Cancer Res* 1996; 56:3689-94.
32. Roy AC, Park SR, Cunningham D, Kang YK, Chao Y, Chen LT, et al. A randomized phase II study of PEP02 (MM-398), irinotecan or docetaxel as a second-line therapy in patients with locally advanced or metastatic gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma. *Ann Oncol* 2013; 24:1567-73.
33. Seynhaeve AL, Dicheva BM, Hoving S, Koning GA, ten Hagen TL. Intact Doxil is taken up intracellularly and released doxorubicin sequesters in the lysosome: Evaluated by in vitro/in vivo live cell imaging. *J Control Release* 2013; 172:330-40.

34. Silverman L, Barenholz, Y. In vitro experiments showing enhanced release of doxorubicin from Doxil® in the presence of ammonia may explain drug release at tumor site. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 2015; 11: 1841-50.
35. Slatter JG, Schaaf LJ, Sams JP, Feenstra KL, Johnson MG, Bombardt PA, et al. Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of irinotecan (CPT-11) following I.V. infusion of [(14)C]CPT-11 in cancer patients. *Drug Metab Dispos* 2000; 28:423-33.
36. Teicher BA. Tumor models for efficacy determination. *Mol Cancer Ther.* 2006; 5:2435-43.
37. Teicher BA. Next generation topoisomerase I inhibitors: Rationale and biomarker strategies. *Biochem Pharmacol* 2008; 75:1262-71.
38. US National Library of Medicine. ClinicalTrials. gov. Bevacizumab and irinotecan to treat brain tumors
<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT00393094?sect=X437015#othr>
39. Xie R, Mathijssen RHJ, Sparreboom A, Verweij J, Karlsson MO. Clinical pharmacokinetics of irinotecan and its metabolites: a population analysis. *J Clin Oncol* 2002; 20:3293-301.
40. Xu G, Zhang W, Ma MK, McLeod HL. Human carboxylesterase 2 is commonly expressed in tumor tissue and is correlated with activation of irinotecan. *Clin Cancer Res* 2002; 8:2605-11.
41. Zamboni WC, Stewart CF, Cheshire PJ, Richmond LB, Hanna SK, Luo X, et al. Studies of the efficacy and pharmacology of irinotecan against human colon tumor xenograft models. *Clin Cancer Res* 1998; 4:743-53.
42. カンプト®点滴静注 40mg 添付文書. 株式会社ヤクルト本社. 2015年3月改訂 (第18版).

オニバイド[®]点滴静注 43mg

第2部（モジュール2）：CTDの概要（サマリー）

2.6.3 薬理試験概要表

日本セルヴィエ株式会社

目次

2.6.3.1	薬理試験：一覧表	3
2.6.3.2	効力を裏付ける試験	6
2.6.3.3	副次的薬理試験	15
2.6.3.4	安全性薬理試験	15
2.6.3.5	薬力学的薬物相互作用試験	15

2.6.3 薬理試験概要表

オニバイド®点滴静注 43mg

本資料中、BAX2398 又は CPT-11 にかかわらず、各投与量は CPT-11 に基づき表示する。CPT-11 50 mg はイリノテカン 43 mg に相当する。

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Primary Pharmacodynamics						
<i>In vitro</i> Pharmacodynamics						
<i>In vitro</i> pharmacology study	No	Murine and human cell lines	<i>In vitro</i>	Merrimack Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, United States	MM-398-NC-N-Ph-017	4.2.1.1.1
<i>In vitro</i> pharmacology study	No	Murine and human cell lines	<i>In vitro</i>	Merrimack Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, United States	MM-398-NC-N-Ph-025	4.2.1.1.2
<i>In vitro</i> pharmacology study	No	Tumor tissue lysates	<i>In vitro</i>	Merrimack Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, United States	MM-398-NC-N-Ph-026	4.2.1.1.3
<i>In vitro</i> pharmacology study	No	Differentiated human U937 cells	<i>In vitro</i>	Merrimack Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, United States	Kalra 2014	4.2.1.1.17
<i>In vitro</i> pharmacology study	No	Human pancreatic cell lines	<i>In vitro</i>	Merrimack Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, United States	MM-398-NC-N-Ph-028	4.2.1.1.4
<i>In vivo</i> Pharmacodynamics						
<i>In vivo</i> efficacy study	No	SCID mice / BxPC3-luc2 pancreatic cancer	IV	██████████, United States	MM-398-NC-N-Ph-016	4.2.1.1.5
<i>In vivo</i> efficacy study	No	NOD-SCID mice / PDX-OCIP51 pancreatic cancer	IV	██████████, Canada	MM-398-NC-N-Ph-023A1	4.2.1.1.6
<i>In vivo</i> efficacy study	No	SCID mice / PDX-#18254 pancreatic cancer	IV	██████████, United States	MM-398-NC-N-Ph-024A1	4.2.1.1.7

2.6.3 薬理試験概要表
オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
<i>In vivo</i> efficacy study	No	SCID mice / PDX-#12424, 14244, 14312, 15010, 19015, 18269 pancreatic cancer	IV	██████████ United States ██████████, United States	MM-398-NC-N-Ph-027	4.2.1.1.8
<i>In vivo</i> efficacy study	No	NOD-SCID mice / AsPC-1, Panc-1, MiaPaCa-2, BxPC3 pancreatic cancer	IV	Merrimack Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, United States	MM-398-NC-N-Ph-018A1	4.2.1.1.9
<i>In vivo</i> efficacy study	No	SCID mice / HT-29 colon cancer	IV	██████████, Taiwan	PEP02-NC-N-Ph-005	4.2.1.1.10
<i>In vivo</i> efficacy study	No	SCID mice / HT-29 colon cancer	IV	██████████, Taiwan	PEP02-NC-N-Ph-006	4.2.1.1.11
<i>In vivo</i> efficacy study	No	SCID mice / HT-29 colon cancer	IV	██████████, Taiwan	PEP02-NC-N-Ph-007	4.2.1.1.12
<i>In vivo</i> efficacy study	No	SCID mice / HT-29 colon cancer	IV	██████████, Taiwan	PEP02-NC-N-Ph-008	4.2.1.1.13
<i>In vivo</i> efficacy study	No	SCID mice / SiHa cervical cancer	IV	██████████, Taiwan	PEP02-NC-N-Ph-011	4.2.1.1.14
<i>In vivo</i> efficacy study	No	SCID mice / SiHa cervical cancer	IV	██████████, Taiwan	PEP02-NC-N-Ph-012	4.2.1.1.15
<i>In vivo</i> efficacy study	No	NOD-SCID mice / HT-29 colon cancer	IV	Merrimack Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, United States	Kalra 2014	4.2.1.1.17
<i>In vivo</i> efficacy study	No	NOD-SCID mice / HT-29 colon cancer	IV	██████████, Canada	MM-398-NC-N-Ph-022	4.2.1.1.16

2.6.3 薬理試験概要表
 オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Type of Study/Description	GLP ^a	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location
Secondary Pharmacodynamics						
N/A						
Safety Pharmacology						
<i>In vivo</i> cardiovascular and respiratory safety pharmacology	Yes	Beagle dogs	IV, 90 min infusion	██████████ United States	20036143	4.2.1.3.1
Pharmacodynamic Drug Interactions						
N/A						

GLP: Good Laboratory Practice, IV: intravenous, NOD: non obese diabetes, PDX: patient-derived xenograft, SCID: severe combined immune deficiency
 N/A: not applicable

^a An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement

2.6.3 薬理試験概要表
オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Study Type	Species / Cell line	No. and Gender per Group	Dose/Regimen	Evaluation	Results	Study Number
<i>In vitro</i> pharmacology study	Murine cell lines (J774A.1, Raw264.7, P815, PU5-1.8), rat Kupffer cells, human cell lines (macrophages, U937, THP-1, HeLa, HT-29)	N/A	Fluorescently-tagged low-PEG empty liposomes Fluorescently-tagged high-PEG empty liposomes 2.5-40 nmol phospholipid/mL (1.25-20 µg/mL)	Flow cytometry	Murine and human macrophage-like cell lines accumulated 10-40x higher levels of liposomes than tumor cells. Uptake levels seen for low-density PEG liposomes (i.e. representative of those used in BAX2398) were consistently elevated compared to those achieved with high-density PEG liposomes, particularly at low liposomal concentrations.	MM-398-NC-N-Ph-017
<i>In vitro</i> pharmacology study	Murine J774A.1; human THP-1 cell lines	N/A	BAX2398, fluorescently-tagged BAX2398, CPT-11 ^a 5-20 µg/mL	Flow Cytometry, HPLC	Release of irinotecan payload from macrophage cell lines after uptake of BAX2398 was demonstrated. BAX2398 liposomes accumulated in the cells in a dose- and time-dependent manner, but the irinotecan payload was not retained within the cells to the same extent as the liposome-associated fluorescent tag. J774A.1 cells loaded with BAX2398 released ~72% of the loaded drug amount into the culture supernatant within 10 min, while cells loaded with CPT-11 released ~50% during that time.	MM-398-NC-N-Ph-025
<i>In vitro</i> pharmacology study	Tumor tissue lysates from patient tumors or from tumor cell line derived mouse models	N/A	Irinotecan 5 µmol/L	HPLC	Tumor lysates had the ability to convert irinotecan to SN-38 suggesting the presence of CES enzymes. Lysates from patient-derived or cell-line derived tumor models yielded an SN-38 concentration of 3.7±2.7 and 4.2±1.3 ng/mL, respectively, in the irinotecan activation assay. Pancreatic cancer samples yielded an SN-38 concentration of 5.4±5.1 ng/mL in the irinotecan activation assay.	MM-398-NC-N-Ph-026

2.6.3 薬理試験概要表
オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Study Type	Species / Cell line	No. and Gender per Group	Dose/Regimen	Evaluation	Results	Study Number
<i>In vitro</i> pharmacology study	Human U937 cell line	N/A	BAX2398 5 µmol/L	HPLC	<i>In vitro</i> activation of BAX2398 was observed in the macrophage-like U937 cell line. Differentiated U937 cells released ~2.5 ng/mL SN-38 at 24 hr and ~4.8 ng/mL at 48 hr into the supernatant during incubation with BAX2398.	Kalra 2014
<i>In vitro</i> pharmacology study	Human pancreatic cell lines (16 cell lines)	N/A	SN-38 (10 fg/mL-10 µg/mL)	Cell Viability	Exposure to SN-38 for 24 hr with a recovery period of 72 hr led to significant cell killing in all pancreatic cell lines with IC ₅₀ ranging from 1 pmol/L to 100 nmol/L	MM-398-NC-N-Ph-028
<i>In vivo</i> efficacy study	SCID mice /BxPC3-luc2 pancreatic cancer	12 M	PBS control BAX2398 10 mg/kg IV, q7d x 5 doses (treatment started 7 days post-inoculation)	BLI of tumor and metastatic tissues Tumor Weight Body Weight	Significant tumor growth inhibition with BAX2398 was observed in an orthotopic pancreatic xenograft model. BAX2398 yielded a ~2.3x increase in normalized bioluminescence at day 40 compared to a 261x increase with vehicle control (P < 0.0001). Metastatic tumor load was significantly lower compared to vehicle control in spleen, GI-lymph node, liver and lung (P < 0.0001) as well as diaphragm (P < 0.05). Tumors from mice treated with 10 mg/kg BAX2398 were ~7x smaller than control tumors. None of the mice treated with BAX2398 experienced any body weight loss.	MM-398-NC-N-Ph-016

2.6.3 薬理試験概要表
 オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Study Type	Species / Cell line	No. and Gender per Group	Dose/Regimen	Evaluation	Results	Study Number
<i>In vivo</i> efficacy study	NOD-SCID mice / PDX OCIP51 pancreatic cancer	5 F (control) 10 F (BAX2398)	PBS control BAX2398 20 mg/kg IV, q7d x 4 doses (treatment started 28 days post-implantation) or 10 mg/kg for metabolite level and DNA damage analysis	Tumor volume (MRI, CT) Tumor hypoxia (FAZA PET) Tumor proliferation (FLT PET) Tumor Metabolite levels DNA damage (γ H2AX IHC)	<p>Significant tumor growth inhibition with BAX2398 was observed in an orthotopic high-hypoxia pancreatic xenograft model. Tumor hypoxia decreased by 36% during the first treatment cycle with BAX2398, while tumors still grew 50% to day 5 post-treatment; tumors regressed continuously from there to study end with a 50.3±20.2% decrease relative to maximal tumor size. Control tumors increased in size 127% at day 5.</p> <p>At day 16 after treatment the FLTmax values were 13.56%ID/g for control tumors and 8.56%ID/g for BAX2398-treated tumors. Post-treatment mean FLT levels (5.01 ± 0.80%ID/g) were also statistically significantly lower than pre-treatment mean FLT levels (6.35 ± 0.78%ID/g).</p> <p>Tumor weights at the end of study were almost 4x smaller in BAX2398-treated mice compared to control.</p> <p>Tumor metabolite levels for irinotecan and SN-38 levels at 72 hr after a single dose of BAX2398 reached median concentrations of 345 and 3.9 ng/g, respectively.</p> <p>Strongly elevated levels of γH2AX were detectable throughout the OCIP51 tumour at both 24 hr and 72 hr time-points after BAX2398 administration. The γH2AX signal appeared mostly absent from the stromal areas that surrounded the tumour cell areas.</p>	MM-398-NC-N-Ph-023A1

2.6.3 薬理試験概要表
 オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Study Type	Species / Cell line	No. and Gender per Group	Dose/Regimen	Evaluation	Results	Study Number
<i>In vivo</i> efficacy study	SCID mice (wildtype or Es1 ^e) / PDX #18254 pancreatic cancer	6 M	PBS control BAX2398 20 mg/kg IV, q7d x 4 doses (treatment started when tumor sizes had reached ~240-300 mm ³)	Tumor volume Plasma and Tumor PK	Significant tumor growth inhibition with BAX2398 of 67% and 78.9% was observed in a PDX model of pancreatic cancer both in the presence and absence of plasma carboxylesterase activity, respectively. Tumor levels of SN-38 in Es1 ^e mice were reduced 5-10x compared to wildtype mice at 1-24 hr time points. AUC _{0-72hr} for SN-38 was ~4x higher in wild type mice than in Es1 ^e mice. SN-38 levels at 72 hr in tumor were comparable in both mouse groups (12.1 ng/g vs 7 ng/g, respectively).	MM-398-NC-N-Ph-024A1

2.6.3 薬理試験概要表
 オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.2 効力を裏付ける試験 (続き)

Study Type	Species / Cell line	No. and Gender per Group	Dose/Regimen	Evaluation	Results	Study Number
<i>In vivo</i> efficacy study	SCID mice / PDX #12424, 14244, 14312, 15010, 19015, 18269 pancreatic cancer	7-8 M or F	PBS control BAX2398 5, 10 or 20 mg/kg CPT-11 ^a 25, 50 mg/kg Gemcitabine 100, 200 mg/kg IV, q7d x 4 doses (treatment started when tumors reached an average volume of 200-250 mm ³)	Tumor volume	Tumor models with the exception of #18269 were very responsive to BAX2398 with TGI values of 67.2%-97.8% achieved for 10 mg/kg BAX2398. Tumor growth delays for BAX2398 at 10 mg/kg relative to the saline control ranged from 21-64 days. Three models (#14244, #14312, #15010) showed consistent tumor regression with dosing of BAX2398. BAX2398 demonstrated efficacy and tumor growth inhibition in gemcitabine-resistant models (#12424, #14312, #19015) and was also active in gemcitabine-sensitive PDX models (#14244 and #15010). In the 14244-10P model, BAX2398 at 5-10 mg/kg demonstrated increased tumor growth inhibition and tumor growth delay relative to CPT-11 at 25-50 mg/kg. CPT-11 only led to a tumor growth delay of 5-7 days, BAX2398 yielded tumor growth delays of 24-33 days. In the 14244-12P model, tumor metabolite levels for irinotecan and SN-38 levels at 72 hr after a single dose of 10 mg/kg BAX2398 reached median concentrations of 607 and 10.3 ng/g, respectively	MM-398-NC-N-Ph-027

2.6.3 薬理試験概要表
オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Study Type	Species / Cell line	No. and Gender per Group	Dose/Regimen	Evaluation	Results	Study Number
<i>In vivo</i> efficacy study	NOD-SCID mice / AsPC-1, Panc-1, MiaPaCa-2, BxPC3, CFPAC-1 pancreatic cancer	4-8 F	PBS control BAX2398 1.25-20 mg/kg IV, q7d x 2-5 doses CPT-11 ^a 25-50 mg/kg q7d x 3-5 doses (select models) (treatment started when tumors reached an average volume of 200-250 mm ³)	Tumor volume Body Weight	Significant tumor growth inhibition with BAX2398 in all five pancreatic tumor models was observed. At study end (day 20-33), CFPAC-1, Panc-1, MiaPaCa-2 and BxPC3 tumors treated with 20 mg/kg BAX2398 were >91% smaller than control tumors. AsPC-1 tumors were 62.4% smaller than control tumors after three doses of BAX2398. Tumor growth inhibitions with BAX2398 at 5-10x lower levels than CPT-11 were either comparable (AsPC-1) or significantly stronger (BxPC3, CFPAC-1). Body weight loss with BAX2398 was observed occasionally, but was moderate (<3.9% average weight loss in the MiaPaCa-2 tumor model).	MM-398-NC-N-Ph-018A1
<i>In vivo</i> efficacy study	SCID mice / HT-29 colon cancer	6 M	Empty liposome placebo CPT-11 ^a 50 mg/kg BAX2398 25 and 50 mg/kg IV, q4d x 4 doses Mitomycin 2 mg/kg IP, q4d x 6 doses (positive control) (treatment started when the tumor growth reached ≥ 5 mm in diameter)	Tumor Weight Body Weight.	BAX2398 showed higher anti-tumor activity than CPT-11 in this animal model. A greater but reversible initial body weight (including tumor weight) loss was seen with BAX2398 at 50 mg/kg. With BAX2398 treatment tumors showed tumor growth delay of >43 days (50 mg/kg dose) and 32 days (25 mg/kg); tumor growth delay with CPT-11 was 12 days.	PEP02-NC-N-Ph-005

2.6.3 薬理試験概要表
オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Study Type	Species / Cell line	No. and Gender per Group	Dose/Regimen	Evaluation	Results	Study Number
<i>In vivo</i> efficacy study	SCID mice / HT-29 colon cancer	10 M	Vehicle control, CPT-11 ^a 50 mg/kg, BAX2398 15, 30 and 50 mg/kg, IV q7d (4 doses) (treatment started when the tumor growth reached \geq 6-7 mm in diameter)	Tumor Weight Body Weight	BAX2398 at 30 and 50 mg/kg caused sustained inhibition of tumor growth throughout the 60-day experimental period; however, a modest increase in tumor weight became evident from days 49 to 60 in the group treated with BAX2398 at 30 mg/kg. BAX2398 at 15 mg/kg also caused significant decrease in tumor weight and tumor regression from day 9 to day 37, but resumed rapid increase in tumor weight after day 33. CPT-11 at 50 mg/kg caused a moderate but non-significant decrease in tumor weight during the experiment period. A weekly dosing regimen of BAX2398 even at 15 mg/kg controlled tumor growth more effectively than CPT-11 at 50 mg/kg in the same dosing regimen. Furthermore, treatment with BAX2398 at 15, 30 or 50 mg/kg for 4 doses was associated with significant (unpaired Student's t test) increase in body weight gain from day 17 to day 37.	PEP02-NC-N-Ph-006 PEP02-NC-N-Ph-007 PEP02-NC-N-Ph-008
<i>In vivo</i> efficacy study	SCID mice / SiHa cervical cancer	4 F	Vehicle control, cisplatin 6 mg/kg, BAX2398 25 and 50 mg/kg, IV q7d for a total of 4 doses (treatment started when the tumor growth reached \geq 6 mm in diameter)	Tumor Weight Body Weight	Sustained tumor regression was observed, which was greatest in BAX2398 treated mice. Weight loss was reversible in BAX2398 mice as compared to marked weight loss and mortality in cisplatin treated animals. With both BAX2398 treatments (25 and 50 mg/kg) all tumors showed complete regression at study end (60 days). With the higher concentrated BAX2398 treatment of 50 mg/kg 100% regression was reached after day 21, for the 25 mg/kg concentration after day 25.	PEP02-NC-N-Ph-011

2.6.3 薬理試験概要表
オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Study Type	Species / Cell line	No. and Gender per Group	Dose/Regimen	Evaluation	Results	Study Number
<i>In vivo</i> efficacy study	SCID mice / SiHa cervical cancer	8 F	Vehicle control (5% Dextrose), CPT-11 ^a 25 mg/kg, BAX2398 10 and 25 mg/kg, IV q7d for a total of 3 doses at the beginning of the exponential growth (when tumor growth reached ≥ 7 mm in diameter)	Tumor Weight Body Weight	Overall dose related tumor regression with BAX2398 as compared to very modest inhibition with CPT-11 was observed. With BAX2398 at 10 mg/kg tumor growth delay was >35 days, while at 25 mg/kg all tumors completely regressed at study end (day 60); no tumor growth delay was observed with CPT-11. No apparent toxic symptoms were observed in treatment or control groups. However, BAX2398 at 25 and 10 mg/kg caused a significant decrease (ANOVA followed by Dunnet's method) in body weight on days 5 and 9, followed by an increase in body weight from day 17 to day 60 relative to the vehicle control group	PEP02-NC-N-Ph-012
<i>In vivo</i> efficacy study	NOD-SCID mice / HT-29 colon cancer	8 F	Vehicle control BAX2398 10 mg/kg CPT-11 ^a 50 mg/kg IV, q7d x 4 doses (treatment started 9 days post-implantation)	PK Tumor volume	Dose levels (50 mg/kg CPT-11; 10 mg/kg BAX2398) resulted in an equivalent AUC _{SN-38} exposure in either tumor or plasma; however, better control of tumor growth was observed with BAX2398. At study end (day 30), tumors after BAX2398 treatment were around 86% smaller than control tumors. Tumors after CPT-11 treatment were around 43% (50 mg/kg) smaller than control tumors.	Kalra 2014
		5 F	Vehicle control BAX2398 1.25, 2.5, 5, 10, 20 mg/kg IV, q7d x 2 doses (treatment started 15 days post-implantation)	PK Tumor volume	Significant and dose-dependent tumor growth inhibition with BAX2398 was observed. At study end (day 28), tumors after BAX2398 treatment were around 93% (20 mg/kg), 85% (10 mg/kg), 53% (5 mg/kg) and 15% (2.5 mg/kg) smaller than control tumors. Tumor growth inhibition for both CPT-11 and BAX2398 correlated with the duration of tumor drug levels for SN-38 >120 nmol/L achieved at a given dose of BAX2398.	Kalra 2014

2.6.3 薬理試験概要表
オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Study Type	Species / Cell line	No. and Gender per Group	Dose/Regimen	Evaluation	Results	Study Number
<i>In vivo</i> efficacy study	NOD-SCID mice / HT-29 colon cancer	5 F	BAX2398 5, 10 mg/kg CPT-11 ^a 50 mg/kg IV, q7d x 3 doses, 17 days post-inoculation	Tumor size Hypoxia status (FAZA-PET, IHC) Body Weight	At study end (day 21), tumors after BAX2398 treatment were around 59% (10 mg/kg) and around 18% (5 mg/kg) smaller than tumors treated with 50 mg/kg CPT-11. Tumors in mice treated with 10 mg/kg BAX2398 maintained significantly lower levels of hypoxia and smaller hypoxic fractions compared to those with 50 mg/kg CPT-11. FAZA uptake in tumors was 18.2% higher at day 10 compared to baseline before returning to baseline at day 16 in mice treated with 10 mg/kg BAX2398, while it was 81.5% higher at day 10 compared to baseline in mice treated with CPT-11. Levels in EF5 and CA9 hypoxia markers at study end were 4.3x and 1.9x lower, respectively, in tumor samples from mice treated with 10 mg/kg BAX2398 compared to tumors from mice treated with 50 mg/kg CPT-11.	MM-398-NC-N-Ph-022

ANOVA: analysis of variance, BLI: bioluminescence imaging, CES: carboxyl esterase, CT: computed tomography, F: female, FAZA: fluoroazomycin arabinoside, FLT: fluorothymidine, GI: gastro-intestinal, HPLC: high performance liquid chromatography, IHC: immune histochemistry, IP: intraperitoneal, IV: intravenous, M: male, MRI: magnetic resonance imaging, NOD: non obese diabetes, PBS: phosphate buffered saline, PDX: patient-derived xenograft, PEG: poly-ethylene glycol, PET: positron emission tomography, PK: pharmacokinetic, qxd: every x days, SCID: severe combined immune deficiency, TGI: tumor growth inhibition, %ID/g: percent injected dose per gram of tissue

N/A: not applicable

^a CPT-11 is a synonym for irinotecan hydrochloride hydrate (JAN)

2.6.3 薬理試験概要表
 オニバイド®点滴静注 43mg

2.6.3.3 副次的薬理試験

実施した試験はない。

2.6.3.4 安全性薬理試験

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Administration	Dose	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	GLP ^a	Study Number
Cardiovascular system Respiratory system	Beagle dog	IV, 90 min infusion	Vehicle control, BAX2398 9, 15, 21 mg/kg	3 M, 3 F	No BAX2398-related changes in cardiovascular hemodynamic (heart rate, blood pressure), electrocardiographic (morphology, PR, QRS, QT, QTc and RR intervals) or respiratory (respiratory rate, tidal volume and minute volume) parameters, clinical observations, body weight or temperature	Yes	20036143

F: female, GLP: Good Laboratory Practice, IV: intravenous, M: male, QTc: rate-corrected QT

^a An entry of "Yes" indicates that the study includes a GLP compliance statement.

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

実施した試験はない。