2.4 非臨床試験の概括評価

目次

1. 非臨床試験計画概略 6
1.1 GLP 適用の有無 11
1.2 非臨床試験に使用した被験物質 11
2. 薬理試験 12
2.1 効力を裏付ける in vitro 試験 13
2.2 効力を裏付ける in vivo 試験 15
2.3 PK/PD 試験 20
2.3.1 テポチニブ 20
2.3.2 ヒト主要代謝物（MSC2571109） 20
2.4 副次的薬理試験 21
2.5 安全性薬理試験 21
3. 薬物動態試験 23
3.1 分析方法 24
3.2 吸収 24
3.3 分布 24
3.4 代謝 25
3.5 排泄 26
3.6 テポチニブが引き起こす薬物間相互作用 27
3.7 テポチニブが受ける薬物間相互作用 28
3.8 有効用量予測 29
4. 毒性試験 29
4.1 単回投与毒性試験 29
4.2 反復投与毒性試験 30
4.3 遺伝毒性試験 31
4.4 生殖発生毒性試験 31
4.5 局所刺激性 32
4.6 その他の毒性試験 33
4.6.1 免疫毒性 33
4.6.2 代謝物の毒性試験 33
4.6.3 不純物の毒性試験 33
4.6.4 光毒性試験 34
5. 毒性試験所見と臨床有害事象の関連 34
5.1 肝胆道系 34
5.2 胃腸障害 35
5.3 胚・胎児への影響 35
5.4 間質性肺疾患 35
5.5 末梢性浮腫 36

5.6 血液生化学的検査値の変化（血中クレアチニン、アミラーゼ/リパーゼ、アルブミン） 36
6. ヒト及び動物のテポチニブ曝露量の比較 37
7. 総括及び結論 39
8. 参考文献 44

表目次

表 1 発癌性 *MET* 遺伝子変異を有する腫瘍におけるテポチニブの in vivo 抗腫瘍活性の概要 17
表 2 発癌性 *MET* 遺伝子変異を伴わずに MET 又は HGF を高発現する腫瘍におけるテポチニブの in vivo 抗腫瘍活性の概要 19
表 3 500 mg/日のテポチニブを投与したヒトの定常状態におけるテポチニブと代謝物 MSC2571109A の最高血漿中濃度（C_{max}） 21
表 4 ウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する試験とヒト 500 mg/日投与時のテポチニブ曝露量の比較 32
表 5 反復投与毒性試験の MTD 又は最高用量とヒト 500 mg/日投与時のテポチニブ曝露量の比較 37
表 6 慢性毒性試験の NOAEL とヒト 500 mg/日投与時のテポチニブ曝露量の比較 38

略号一覧

AAG	alpha 1 acid glycoprotein	α_1 酸性糖蛋白
AE	adverse event	有害事象
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノ基転移酵素
AP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノ基転移酵素
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
AUC	area under the concentration vs time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-t}	area under the concentration vs time curve from zero to the time	0 から t 時間後における血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{τ}	area under the plasma concentration time curve over a dosing interval	投与間隔ごとの血漿中濃度-時間曲線下面積
BCS	biopharmaceutics classification system	生物薬剤学分類システム
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
C_B/C_P	blood-to-plasma ratio	血漿中濃度に対する血中濃度比
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use	EMA ヒト用医薬品委員会
CL	total clearance	全身クリアランス
CL_p	plasma clearance	血漿クリアランス
C_{max}	maximum concentration	最高血漿中濃度
$C_{max, ss}$	maximum concentration at steady state	定常状態における最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
DDI	drug-drug interaction	薬物間相互作用
EGFR	epidermal growth factor receptor	上皮成長因子受容体
EMA	European Medical Agency	欧州医薬品庁
ERK	extracellular signal-regulated kinase	細胞外シグナル調節キナーゼ
ex14	exon 14	エクソン 14
F	bioavailability	バイオアベイラビリティ
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
f_u	fraction unbound	非結合型分率

$f_{u, br}$	fraction unbound to brain tissue homogenate	脳組織ホモジネートにおける非結合型分率
GCN	gene copy number	増幅した遺伝子のコピー数
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
Gab1	Grb2 bindingprotein 1	Grb2 結合蛋白質 1
Grb2	growth factor receptor-bound protein 2	増殖因子受容体結合蛋白質 2
HCC	hepatocellular carcinoma	肝細胞癌
hERG	human ether-à-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（カリウムイオンチャネル KV11.1 をコード）
HGF	hepatocyte growth factor	肝細胞増殖因子
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
I1	imidazoline receptor 1	イミダゾリン I1 受容体
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IL-8	interleukin-8	インターロイキン-8
ILD	interstitial lung disease	間質性肺疾患
$K_{BC/plasma}$	distribution coefficient blood cells to plasma	血球/血漿分配係数
$K_{Pu, u}$	unbound brain-to-plasma partition ratio	脳/血漿間非結合型薬物濃度比
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
MATE	multidrug and toxic compound extrusion	多剤排出輸送体
MET	mesenchymal-epithelial transition factor	間葉上皮転換因子
MET	mesenchymal-epithelial transition factor gene	間葉上皮転換因子の遺伝子
MRP2	multidrug resistance-associated protein 2	多剤耐性関連タンパク質 2
MT3	melatonin binding site 3 (formerly known as ML2)	メラトニン結合部位 3
MTD	maximun tolerated dose	最大耐量
NA	not appricable	該当なし
NOAEL	no-observed-adverse-effect-level	無毒性量
NOD	non-obese diabetic	非肥満糖尿病の
NSCLC	non-small cell lung cancer	非小細胞肺癌

OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporter peptide	有機アニオントランスポーターペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PDCO	Paediatric Committee	EMA 小児委員会
PD	pharmacodynamics	薬力学
P-gp	P-glycoprotein	P 糖蛋白
PK	pharmacokinetics	薬物動態
SAR	structure-activity relationship	構造活性相関
sc	subcutaneous	皮下
SCID	severe combined immune deficiency	重症複合免疫不全
$t_{1/2}$	half-life	消失半減期
TEAE	treatment-emergent adverse event	試験治療下で発現した有害事象
TK	toxicokinetics	トキシコキネティックス
t_{max}	time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
T/C	Treated to Control	平均腫瘍体積の対照群値に対する割合
TPPO	triphenylphosphine oxide	トリフェニルホスフィンオキシド
UGT	UDP-glucuronosyl transferase	UDP-グルクロン酸転移酵素
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積
V_z	volume of distribution	分布容積

1. 非臨床試験計画概略

テポチニブ（開発記号: MSC2156119J 又は EMD1214063）は、受容体チロシンキナーゼである間葉上皮転換因子（mesenchymal-epithelial transition factor; MET）の可逆的 I 型アデノシン三リン酸（adenosine triphosphate; ATP）競合的阻害剤である。

テポチニブは、*MET* 遺伝子のエクソン 14（exon 14; ex14）スキッピング変異を伴う非小細胞肺癌（non-small cell lung cancer: NSCLC）患者の治療を適応とする。

今回提出した非臨床試験パッケージは、ICH S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」の要件を満たしている。テポチニブの臨床推奨用量は 500 mg であり、1 日 1 回、経口投与される。

非臨床開発では、テポチニブ遊離塩基（開発記号: MSC2156119A 又は EMD1160879）を、初期の効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験での被験物質として使用した。その後、塩酸塩水和物であるテポチニブを選択し、以降の非臨床試験を実施した。市販用製剤にはテポチニブを使用する。テポチニブとその遊離塩基の薬理学的特性は、in vitro 及び in vivo の効力を裏付ける試験の中で、ほぼ同等であることが確認されている。便宜上、本項では、両化合物について「テポチニブ」の用語を用いる。

MET のキナーゼドメインに結合したテポチニブの結晶構造を解析し、その結合特性を調べた。テポチニブの選択性は、精製酵素及び対応するペプチド基質を用いた数種のキナーゼスクリーニング法で評価し、MET 以外の 400 種以上のキナーゼ及びキナーゼ変異体を試験した。また、これらの試験では、テポチニブによる野生型 MET 及び数種の MET 変異体に対する阻害作用も検討した。遺伝子組換え MET タンパクを用いた生化学的試験により、テポチニブの濃度依存的 MET 阻害作用を検討した。

細胞レベルでの MET 阻害能を、肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor; HGF）で刺激した A459 細胞（NSCLC 細胞株）、リガンド非依存性に MET が活性化している Hs746T、GTL-16（いずれも胃癌細胞株）及び EBC-1 細胞（NSCLC 細胞株）を用いて評価した。さらに、MET 介在性シグナル伝達、腫瘍細胞増殖、足場非依存性増殖、及び HGF 誘導性細胞遊走に対するテポチニブの作用を、MET 依存性及び非依存性腫瘍細胞を用いた培養細胞の試験で検討した。

テポチニブの in vivo 作用を、*MET*ex14 スキッピング変異、*MET* 遺伝子融合、高度の *MET* 遺伝子増幅、MET/HGF 共発現（自己分泌循環による MET 活性化）、MET の変異を伴わない MET 過剰発現など、癌化の機序が異なる様々な癌種（NSCLC、胃癌、肝癌など）由来の様々な腫瘍モデルで検討した。

試験に使用した異種移植腫瘍モデルには、以下の細胞株を使用した。

- H596（NSCLC 由来、*MET*ex14 スキッピング変異を有する）
- Hs746T（胃癌由来、*MET*ex14 スキッピング変異及び *MET* 遺伝子の高度増幅を有する）
- EBC-1（NSCLC 由来、*MET* 遺伝子の高度増幅を有する）
- MKN-45（胃癌由来、*MET* 遺伝子の高度増幅を有する）
- MHCC97H（肝細胞癌由来、*MET* 遺伝子の高度増幅を有する）
- NIH3T3（マウス線維芽細胞に組換えヒト Tpr-Met 融合蛋白を強制発現させたもの）
- H441（NSCLC 由来、MET を過剰発現する）
- U-87 MG（膠芽腫由来、HGF/MET を共発現する）
- KP-4（胃癌由来、HGF/MET を共発現する）

・H1975、PC-9、HCC827（3 細胞株いずれも NSCLC 由来、MET を過剰発現すると共に、上皮成長因子受容体遺伝子（epidermal growth factor receptor gene; EGFR）に変異を有する）。
・NSCLC を含む様々な癌種由来の脳転移腫瘍を 63 名の患者から得て、テポチニブの in vivo 有効性評価を実施し、このうち 61 腫瘍の分子プロフィルを解析し、観察された有効性データと照合した。

MHCC97H 細胞を用いた同所性肝癌モデルでの 1 試験を除き、腫瘍は皮下で増殖させた。In vivo 試験の宿主動物には免疫不全マウス［CD-1 系ヌード、Balb/c 系ヌード、及び non-obese diabetic（NOD）- severe combined immune deficiency（SCID）系］を用いた。ヒト腫瘍では、MET は周囲の間質組織で産生される HGF によって活性化される。マウス HGF はヒト MET と交差反応しないため、in vivo 試験でヒトにおける MET 変異腫瘍の状況を正確に再現することは困難である。ヒト HGF を発現させた SCID トランスジェニックマウスを用いた検討も行ったが、確立された MET 依存性の腫瘍モデルは、MET の活性化や腫瘍の増殖に、外因性又は内分泌性のヒト HGF を使用し、間質性の HGF を必要としない系となると考えられるため、一般的には使用されない。本項及び CTD2.6.2 に記載した試験に使用した腫瘍モデルは、発癌性変異又は MET の強力な転写活性化による HGF 非依存性の MET 活性化、又は HGF/MET 自己分泌循環による MET 活性化のいずれかの特徴を有している。

本申請の対象患者を反映する *MET*ex14 スキッピング変異を有し、テポチニブに対して高感受性を有する Hs746T 異種移植モデルを用いて、薬物動態/薬力学（PK/PD）試験を実施し、腫瘍中の MET、ヒストン H3 リン酸化、サイクリン D1 及び p27 発現、並びにマウス血漿中へのインターロイキン 8（interleukin-8; IL-8）の放出に対するテポチニブの時間及び用量依存的作用を検討した。さらに、MET 及びヒト HGF を共発現する KP-4 異種移植モデルでも、単回投与 PK/PD 試験及び反復投与有効性試験を実施した。この結果、最大の抗腫瘍効果を得るには、MET リン酸化の持続的かつ強力な阻害が必要であることが示された。これらの試験成績は、PK/PD モデリングの基礎を構築するものであり、臨床試験成績とともに、患者における有効用量の特定及び用法の選択を助けるものとなった。

また、ヒトの主要循環血中代謝物である MSC2571109A（代謝物 M506 の R-鏡像異性体）の薬効への貢献度を評価した。In vitro 試験では、A549（NSCLC）細胞における HGF 誘導性 MET リン酸化の阻害作用を検討した。In vivo 試験では、単回及び反復経口投与試験で複数の用量の MSC2571109A 及び高用量（200 mg/kg）のテポチニブでの処置後の MSC2571109A の血漿中及び腫瘍中濃度を測定し、有効性及び MET リン酸化に対して MSC2571109A が及ぼす影響を検討した。

ICH S7A「安全性薬理試験ガイドライン」、S7B「ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価」、及び M3（R2）「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験実施についてのガイダンス」に従い、広範な in vitro 及び in vivo の安全性薬理試験を実施して、テポチニブの心血管系、呼吸器系及び中枢神経系（central nervous system; CNS）機能に対する影響を評価した。テポチニブの代謝プロファイルのヒトとの類似性から、毒性試験と同様に、ラット及びイヌを安全性薬理試験に適した動物種と判断して使用した。In vivo 安全性薬理試験では、麻酔イヌを用いた心血管系に関する 1 試験（十二指腸内投与）を除き、臨床投与経路である経口投与により試験を実施した。

In vitro 安全性薬理試験では、広範な細胞受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素に対するテポチニブの影響を検討した。また、hERG チャネルの機能、hERG チャネル蛋白質の輸送、及び心筋活動電位の発生に寄与する幾つかの重要なイオンチャネルの機能に影響を及ぼす可能性に

ついて検討した。さらに、モルモット心臓から摘出した乳頭筋の収縮力、不応期及び活動電位持続時間に及ぼす影響を検討した。

テポチニブを 8 日間反復経口投与したラットを用いてテレメトリー試験を実施した。また、覚醒イヌを用いて単回経口投与による心血管系試験を実施した。次に、麻酔下のイヌに単回十二指腸内投与した際の、全身性及び種々の器官系における末梢性の血行動態に及ぼす影響を検討した。さらに、イヌを用いた反復投与毒性試験（最長 39 週間の反復経口投与）の中で、心血管系パラメータ（心拍数、心電図並びに心拍数で補正した QT 間隔及び動脈圧）の評価を行った。

テポチニブが呼吸機能に及ぼす影響について、ラット単回経口投与の全身プレチスモグラフィー試験により検討した。また、イヌの 4 及び 13 週間反復経口投与毒性試験の中で呼吸数を検討した。

テポチニブの中枢神経系に対する影響は、単回経口投与したラットで機能観察総合評価法により評価した。この試験では、自発運動量及び体温測定も実施した。また、イヌの 4 及び 13 週間反復経口投与毒性試験の中で、自律神経系の反射機能を検査した。

ヒトの主要循環血中代謝物である MSC2571109A について in vitro 安全性薬理試験を実施し、オフターゲット作用及び心血管系への作用を評価した。

初期の非臨床薬物動態試験において、テポチニブの吸収及び基本的な薬物動態（pharmacokinetics; PK）はマウス（薬理試験で使用）、ラット、イヌ（代謝試験データに基づいて非臨床安全性試験で使用）及びサルに非標識体のテポチニブを単回経口及び静脈内投与することで評価した。これらの投与経路は臨床予定投与経路及びその参照投与経路（静脈内）としてそれぞれ選択された。吸収は生理学的薬物速度論シミュレーションに基づいて推定された。

In vivo における組織内分布試験は、担癌マウス及びラット、排泄試験はラット及びイヌに ^{14}C-テポチニブ原薬をそれぞれ投与することで実施した。

テポチニブの代謝は、in vitro 試験では肝細胞（マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト）、ヒト肝ミクロソーム及び遺伝子組換えヒトチトクロム P450（human cytochrome P450s; hCYPs）、in vivo 試験ではラット、イヌ及びヒトを用いて評価した（CTD 2.6.4、5 項及び CTD2.7.2、2.7 項参照）。

血漿蛋白結合（及び結合蛋白の同定）、血球移行、肝取り込み輸送、テポチニブが引き起こす、及びテポチニブが受ける臨床薬物間相互作用（drug-drug interaction; DDI）を評価するため、薬物代謝酵素及びトランスポーター（CYP、UDP-glucuronosyl transferase; UGT、P-glycoprotein;P-gp、breast cancer resistance protein; BCRP、human organic anion transporter; hOAT、human organic cation transporter; hOCT、organic anion transporter peptide; hOATP、bile salt export pump; BSEP、human multidrug and toxic compound extrusion; hMATE 及び human multidrug resistance-associated protein 2; hMRP2）を用いた試験が追加試験として実施された。これらの試験は米国食品医薬品局（Food and Drug Administration; FDA、FDA Draft Guidance for Industry on Drug Interaction Studies, February 2012）及び欧州医薬品庁（European Medical Agency; EMA、EMA Draft Guideline on the Investigation of Drug Interactions, April 2010 及び EMA Guideline on the Investigation of Drug Interactions, June 2012）のガイドラインに基づいて実施した。

探索的液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法（liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LC-MS/MS）はマウス、ラット、イヌ、サル血漿中におけるテポチニブを定量するために開発され、初期の PK 試験を支持するために用いられた。その後、反復投与毒性試験に用いたラット及びイヌ血漿サンプルを定量するため、生物学的分析法は FDA ガイドライン（FDA Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation, May 2001）に基づいてバリデーションした。反復投与毒性試験において、テポチニブのトキシコキネティック（toxicokinetic; TK）パラメータは単回及び反復投

与後に評価した。血漿中テポチニブの分析及び TK 評価は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準（Good Laboratory Practice; GLP）に従って実施した。

適用可能なガイドライン（FDA Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation, May 2001 及び EMA Guideline on Bioanalytical Method Validation, February 2009）に従って、ヒト血漿における LC-MS/MS は 2 つの異なる検量線範囲で完全にバリデーションした。修正された検量線範囲を用いた部分バリデーションは臨床試験を支持する生物分析機関によって実施された。クロスバリデーションは分析結果の施設間信頼性を担保した。

MSC2571109A（キラル代謝物 M506 の R-体であり、マスバランス試験におけるヒト循環主代謝物［EMR200095-007 試験］）の同定はその特性を評価するため、さらなる非臨床試験（血漿蛋白結合、血球移行、固有クリアランス、薬物代謝酵素（CYP 及び UGT）及びトランスポーター（hOAT、hOCT、hOATP、hMATE）の阻害並びに誘導による DDI の可能性）を必要とし、トランスポーター（hOCT、hOATP 及び hMATE）の基質特異性も併せて評価した。また臨床試験において、ヒト血漿中のエナンチオ選択的 LC-MS/MS はテポチニブ及びその代謝物 M506（R-体：MSC2571109A、S-体：MSC2571107A）の同時定量を可能にするためバリデーションを実施した。さらに、アキラル及びエナンチオ選択的分析法はこの生体試料におけるテポチニブ定量の比較可能性を実証するため、クロスバリデーションを実施した。同様に、ラット及びイヌ血漿中テポチニブ及びその代謝物 M506（MSC2571109A 及び MSC2571107A）はエナンチオ選択的 LC-MS/MS よって、同時定量することを可能にした。

テポチニブは重篤な悪性腫瘍患者の治療を目的とすることから、ICH S9 ガイドラインの用件を満たす形で、製造販売承認申請を目的とした包括的な毒性試験パッケージを用意した。これには、ラット及びマウスの単回投与試験、ラット及びイヌの反復投与毒性試験（ラットで 4 週間～26 週間、イヌで 4 週間～39 週間の反復投与試験を含む）、in vitro 及び in vivo の遺伝毒性試験、ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験、ヒト主要循環血中代謝物 MSC2571109A の in vitro 遺伝毒性試験、不純物の遺伝毒性についての in silico 構造活性相関（structure-activity relationship; SAR）評価及び in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験が含まれる。

開発中に規制当局との協議を数度行った。第 3 相試験及びその後の製造販売承認申請に必要な非臨床安全性試験パッケージの妥当性について、FDA 及び EMA に具体的な質問を行い、得られた勧告を非臨床試験計画に反映させて適切に実行した。特に、20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日に実施した相談に対する回答書では、FDA はラットを用いた高用量での 4 週間反復投与毒性試験の実施を推奨し、最大耐量（maximum tolerated dose; MTD）の特定及び主要なヒト循環血中代謝物 MSC2571109A の生物活性の解明を求めた。申請者は、ラットに 2000 mg/kg/日までの高用量を投与する試験を実施し（報告書番号[redacted]- DA-0061-0）、血漿中 MSC2571109A 濃度を測定し、その生物活性を明らかにした。20[redacted] 年[redacted] 月には、[redacted] の準備のため、EMA のヒト用医薬品委員会（Committee for Medicinal Products for Human Use; CHMP）相談を実施した。20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日付けの CHMP の回答書では、非臨床安全性パッケージの妥当性が承認された。本非臨床安全性パッケージの概要については 20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日付の医薬品医療機器総合機構との[redacted] 相談資料にも記載した。

主要な毒性試験は、ICH M3（R2）及び ICH S9 ガイドラインに従って実施した。

毒性試験に用いる動物種は、in vitro 代謝データに基づいて適切と考えられたラット及びイヌを選択した。選択された動物種の妥当性は、その後の in vivo 代謝試験及び反復投与毒性試験における代

謝物の検討によっても確認された。特に、ヒトで生成される主要な循環血中代謝物であるMSC2571109A は、ラット及びイヌにも存在することが示された。

単回投与毒性試験では、ラット及びマウスを用いて、テポチニブを 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した後、15 日間の観察期間を設け、急性毒性を検討した。イヌの急性毒性に関する情報は、ICH M3（R2）ガイドラインに従って、短期用量漸増経口投与試験から得た。

ラットを用いた反復経口投与毒性試験としては、初め、0、3、10、30 及び 90 mg/kg/日、並びに 0、30、90 及び 270 mg/kg/日の用量で行った 4 週間反復経口投与毒性試験 2 試験（それぞれ 4 週間の回復性試験を含む）と、0、15、45 及び 135 mg/kg/日の用量での 26 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験を実施した。その後、MTD を求める目的で 2000 mg/kg/日までの高用量を投与した追加の4 週間反復経口投与毒性試験を実施した。この最後の4 週間反復経口投与毒性試験では、4 種類の原薬不純物（ 不純物1* 、 不純物2* 、 不純物3* 及び 不純物4* ）の安全性確認、並びに主要なヒト循環血中代謝物MSC2571109A の生成の有無の確認を合わせて行った。

ビーグル犬を用いた反復経口投与毒性試験では、初めに 1 mg/kg/日から 180 mg/kg/日までを漸増投与した 13 日間用量漸増試験、0、2.5、10 及び 40 mg/kg/日の用量での 4 週間反復経口投与毒性試験（高用量群のイヌでは 8 週間の回復性試験も実施）並びに 0、3、10 及び 30 mg/kg/日の用量での 13 週間反復経口投与毒性試験（12 週間の回復性試験も実施）を実施した。次に、[redacted]原薬とこれまで使用していた[redacted]原薬の TK 及び毒性を比較する目的で、10、40 及び 160/120 mg/kg/日の用量で 14 日間経口投与した予備試験を実施した。最後に、0、3、10 及び 30 mg/kg/日の用量での 39 週間反復経口投与毒性試験（12 週間の回復性試験も実施）を実施した。

テポチニブの遺伝毒性は、Ames 試験、マウスリンフォーマ試験及びラット小核試験により評価した。

癌原性試験は、本薬が進行癌を適応とすることから、ICH S9 ガイドライン及び ICH S1A「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス」に従い、実施しなかった。

生殖発生毒性試験では、最初に非妊娠ウサギを用いた用量設定試験を実施し、この動物種における毒性データを得た。次に、ウサギにおける胚・胎児発生に関する予備試験を 2 試験実施し、テポチニブを妊娠 6～18 日に 0、50、150 及び 450 mg/kg/日並びに 0、0.5、5 及び 25 mg/kg/日の用量で投与した。これら 2 試験で得られた結果は、全体として、テポチニブに催奇形性があると結論するのに十分であったことから、ICH S9 ガイドラインに従って、それ以上の胚・胎児発生に関する試験は実施しなかった。

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は、ICH S9 ガイドラインに従って実施しなかった。テポチニブの受胎能への影響は、反復投与毒性試験で得られた生殖器の病理組織学的検査の結果に基づいて評価した。テポチニブは小児患者への使用を意図していないため、幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。

本薬は錠剤の形で経口投与されるため、局所刺激性試験は実施していない。胃及び腸管の組織学的評価は反復投与毒性試験の中で実施した。

テポチニブが免疫系に及ぼす影響は、ラット及びイヌの反復投与毒性試験で収集したデータから評価した。

ヒトの主要循環血中代謝物 MSC2571109A の in vitro 遺伝毒性試験を実施して、その遺伝毒性を評価した。

原薬中に存在する可能性がある不純物について、in silico SAR 評価により変異原性を評価し（Bringezu 2019）、特定された不純物の規格値（許容上限値）はICH M7（R1）潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理」ガイドラインに従って設定した。さらに、ICH Q3A（R2）新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」に従い、原薬中に特定された不純物のうち、安全性確認の必要な閾値を超える規格値を設定したもの（不純物1* 、 不純物2* 、 不純物3* 、 不純物5* 及び 不純物4* ）について、安全性評価を行った。これらの不純物を合成し、GLP 準拠の in vitro 遺伝毒性試験である Ames 試験及び染色体異常試験を実施した。また、不純物 不純物4* については、Ames 試験、in vitro 小核試験及びラットを用いたin vivo コメット試験を実施した。さらに、規格値がICH Q3A の安全性確認の閾値を超えた不純物の安全性は、ラットの 4 週間反復経口投与毒性試験の無毒性量（no-observed-adverse-effect-level; NOAEL）として安全に投与された各不純物の量により裏付けられている。

テポチニブの光毒性の評価として、紫外-可視光吸収帯及びモル吸光係数の測定、in vitro 試験（マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取り込み試験）、最後に有色ラットを用いた in vivo 単回投与光毒性試験を実施した。

ラットの反復経口投与毒性試験及びウサギにおける胚・胎児毒性試験に用いた投与液の濃度及び均一性を確認するため、投与液の分析法、均一性試験及び安定性試験も実施した。

1.1 GLP 適用の有無

効力を裏づける薬力学的試験は、GLP 基準への適合が求められているものではなく、社内の品質管理基準及び研究基準に従って実施した。

In vitro 安全性薬理試験（hERG チャネル試験）及び心血管系、呼吸器系及び中枢神経系の in vivo コアバッテリー試験は GLP 基準に従って実施した。

テポチニブの吸収、分布、代謝及び排泄特性、並びにテポチニブ又は MSC2571109A の薬物相互作用の可能性を明らかにするために実施した in vitro 及び in vivo 試験は、非 GLP 基準下で実施したが、社内の品質管理基準及び研究基準に従って実施した。ラット、ウサギ、イヌの血漿中のテポチニブの定量、並びにラット及びイヌ血漿中のテポチニブ、MSC2571107A 及び MSC2571109A の同時定量のための生物学的分析法についても、社内の品質管理基準及び研究基準に従ってバリデーションを実施した。

ほとんどの in vivo 及び in vitro 毒性試験、特に重要な試験は全て、GLP 基準に従って実施した。重要な毒性試験の全ての試験報告書には、試験責任者が署名した GLP 遵守に関する陳述が含まれている。一部の試験では少数の逸脱も認められたが、試験の妥当性、品質或いは完全性に影響すると考えられるものはなかった。非 GLP 試験及び非 GLP 試験部分は、品質及びデータの完全性を保証するための品質管理基準に従って実施した。

1.2 非臨床試験に使用した被験物質

テポチニブ（開発記号: MSC2156119J、EMD1214063）の化学名（IUPAC）は、3-(1-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-ylmethoxy)-pyrimidin-2-yl)-benzyl)-6-oxo-1,6-dihydro-pyridazin-3-yl)-benzonitrile hydrochloride hydrate である。

テポチニブ遊離塩基（開発記号: MSC2156119A 又は EMD1160879）は、開発初期に実施された効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験の一部で使用された。

ラットを用いた安全性薬理試験、ラットの反復経口投与毒性試験、及びウサギにおける胚・胎児発生に関する試験では、テポチニブを 0.25%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液に懸濁して経口投与した。一方、イヌを用いた経口投与による安全性薬理試験及びイヌの反復経口投与毒性試験では、テポチニブを添加剤を含まない原薬として硬ゼラチンカプセルに充填して投与した。

非臨床試験の中で、異なるバッチのテポチニブを使用した。[redacted]原薬を用いたイヌの 14 日間経口投与予備試験及びイヌの 39 週間反復投与毒性試験、ラットの 4 週間反復投与毒性試験、ラットの単回投与光毒性試験及びウサギにおける胚・胎児毒性試験を除き、すべての毒性試験は[redacted]原薬を用いて実施した。市販用製剤は、[redacted]原薬を含有する錠剤である。非臨床毒性試験で使用したすべてのテポチニブ原薬バッチの概要を CTD2.6.7、4 項に示す（CTD2.6.7、4 項参照）。

2. 薬理試験

MET は、胎生期に筋肉や肝臓、胎盤などの複数の器官で浸潤的な成長や形態形成を調節している、胚発生に不可欠な受容体型チロシンキナーゼである。さらに、MET は創傷治癒及び損傷臓器の再生、特に肝臓の再生にも関与している（Bladt 1995、Chmielowiec 2007 及び Taub 2004）。

生理的な条件下では、MET はそのリガンドで、細胞分散因子としても知られている HGF の結合により活性化される。HGF が MET に結合すると、受容体が二量体化し、キナーゼドメイン及び多機能結合部位のチロシン残基に自己リン酸化が生じる。MET リン酸化は、増殖因子受容体結合タンパク質 2（growth factor receptor-bound protein 2; Grb2）や、Grb2 結合タンパク質 1（Grb2 bindingprotein 1; Gab1）などの数種のエフェクター蛋白質及びアダプター蛋白質の動員を可能にし、結果として Ras/細胞外シグナル調節キナーゼ（extracellular signal-regulated kinase; ERK）経路及び PI3 キナーゼ（phosphoinositide 3-kinases; PI3K）/Akt 経路などの細胞内シグナル伝達カスケードを活性化させる（Comoglio 2018）。

MET/HGF 系は発癌及び腫瘍の進行において主要な役割を担っている。腫瘍で異常に活性化された MET シグナル伝達は、癌細胞の増殖と生存、上皮間葉転換、遊走と浸潤を促進し、腫瘍血管新生を刺激し、他の癌治療への抵抗性をもたらす（Comoglio 2018、Wu 2017 及び Pennacchietti 2003）。

テポチニブは MET の低分子阻害剤である。MET 依存性の程度が様々に異なる腫瘍モデルを用いて、テポチニブの作用機序及び抗腫瘍効果を in vitro 及び in vivo で検討した。

効力を裏付ける試験から、テポチニブは腫瘍細胞における HGF 誘導性及び恒常的な MET シグナル伝達に対する強力な阻害剤であることが明らかになった。In vitro 試験では、テポチニブによる MET シグナル伝達の阻害により、腫瘍細胞の増殖、遊走、及び足場非依存性腫瘍細胞増殖が阻害された。MET シグナル伝達の阻害と共に、細胞周期停止、腫瘍細胞増殖及び腫瘍血管新生の阻害を示す薬力学的バイオマーカーの変化も、担癌マウスを用いた in vivo 試験で観察された。

テポチニブが持つ 2 つの秀でた特性は、第一に、in vivo 試験だけでなく in vitro 試験でも示された高い腫瘍組織保持率と、その結果としての MET の持続的阻害能であり、次に、400 種以上の MET 非関連キナーゼを使用したキナーゼスクリーンで示された、MET に対する高い選択性である。

テポチニブの効果と選択性の高さは、その増殖と生存を MET に強く依存する腫瘍（すなわち、MET への発癌依存性を有する腫瘍）に対して、テポチニブが活性を示すことを示唆した。この概念を裏付

けるように、テポチニブは *MET* 遺伝子の高度な増幅を有する腫瘍細胞の in vitro 増殖を強力に阻害することができたが、MET が活性化していない細胞では弱い活性しか示さなかった。担癌マウスにおけるテポチニブの抗腫瘍効果は、*MET*ex14 スキッピング変異、*MET* 遺伝子の高度な増幅、*MET* 遺伝子融合による活性化など、*MET* 遺伝子の発癌性変異を有する腫瘍で特に顕著であった。このような *MET* の発癌性変異がある状況下では、テポチニブの投与により顕著な腫瘍縮小、及び完全な腫瘍退縮さえもが認められた。

これらの試験成績は、臨床でテポチニブ投与を受ける患者を選択するための予測バイオマーカーとして、発癌性 *MET* 遺伝子変異を使用する根拠となった。

担癌マウスを用いた PK/PD 試験では、MET をほぼ完全に（>95%）かつ持続的に阻害することが、最大の抗腫瘍活性を得るために重要であることが示された。これらの試験成績から、用量-曝露量-PD-有効性の関係を推定することができ、PK/PD モデリングに使用して、臨床試験での有効用量の特定及び用法の選択に活用した。

同様の PK/PD 試験を、テポチニブの主要なヒト循環血中代謝物である MSC2571109A についても実施したところ、テポチニブの有効性への本代謝物の寄与はごくわずかであることが示された。

前述の通り、MET は創傷治癒及び損傷臓器の再生に関与する。しかし、マウスを用いた in vivo 副次的薬理試験では、テポチニブを 50 mg/kg/日までの用量で 3 日間又は 10 日間連日経口投与しても、創傷治癒に対する影響は認められなかった。

テポチニブ又はその遊離塩基を用いた広範な安全性薬理試験を実施し、オフターゲット作用並びに心血管系、呼吸器系及び CNS の機能に対する in vitro 及び in vivo での影響を評価した。毒性試験と同様に、テポチニブの代謝プロファイルがヒトと同様であることから、ラット及びイヌが安全性薬理試験に適切な動物種であると判断した。ほとんどの in vivo 安全性薬理試験は、臨床適用経路である経口投与で実施した。

また、主要なヒト循環血中代謝物 MSC2571109A の in vitro 安全性薬理試験を実施し、オフターゲット作用及び心血管作用を評価した。

In vitro 及び in vivo 安全性薬理試験において、テポチニブ又はその遊離塩基のオフターゲット作用、心血管系、呼吸系及び CNS への影響は認められず、その際の試験濃度又は曝露量（C_{max}）は、治療用量 500 mg/日を投与した患者の定常状態での遊離分画の平均 C_{max} と同等又はそれ以上であった。

さらに、代謝物 MSC2571109A の in vitro 安全性薬理試験では、テポチニブの臨床用量である 500 mg を投与した際の MSC2571109A によるオフターゲット作用及び心血管系への作用（QT 延長）のリスクはないと考えられた。

2.1 効力を裏付ける in vitro 試験

X 線結晶構造解析により、テポチニブは MET 蛋白質のキナーゼドメインにある ATP 結合部位に U 字型で結合することが示され、テポチニブは I 型の ATP 競合的な可逆的 MET 阻害剤であることが示された（CTD2.6.2、2.1.1 項参照）。組換え MET キナーゼドメインを用いた生化学的試験では、テポチニブは濃度依存的に MET キナーゼ活性を阻害し、1 桁ナノモル（nM）の範囲の 50%阻害濃度（half maximal inhibitory concentration; IC_{50}）値を示した（CTD2.6.2、2.1.2 項参照）。

テポチニブの選択性は、4 つの独立したキナーゼスクリーン試験で確認された。これらの試験全体で、400 種を超えるキナーゼ及びキナーゼ変異体を試験した。テポチニブ濃度の 1 μM は、処方 TF1

の錠剤を使用して 500 mg/日を 14 日間投与した患者の定常状態における平均遊離テポチニブ濃度の約 19 倍に相当する（CTD2.7.2、2.1 項、表 3 参照）が、活性が 75%以上阻害された MET とは無関係のキナーゼは IRAK4 及び TrkC のみであった（報告書番号 20150521 EMD RC KP-38）。しかし、この結果は、テポチニブ濃度 1 μM で試験したキナーゼスクリーン試験の 1 つでのみ認められ、同濃度で試験した別の試験では、IRAK4 及び TrkC を試験項目に含めていたが、再現しなかった（報告書番号 SER1071）。一つの試験では、0.1 μM の濃度でも試験したが、この濃度のテポチニブは、このスクリーン試験で評価した MET と無関係の 298 種類のキナーゼをいずれも阻害しなかった（報告書番号 SER1071）。これらのキナーゼスクリーン試験では、1 及び 0.1 μM の濃度のテポチニブにより、野生型 MET はほぼ完全に（99%以上）阻害された。T992I、Y1092I、T1173I、M1250T など MET のキナーゼドメイン内又は膜近傍領域に点突然変異を起こした幾つかの MET 変異体も、テポチニブは効果的に（80%超）阻害した（CTD2.6.2、2.1.3 項参照）。

テポチニブの MET に対する高い選択性は、テポチニブに認められた薬理学的作用が MET 阻害に特異的に起因することを示唆している。この高い選択性を示すデータは、臨床試験でのテポチニブの良好な忍容性プロファイルとも符号する（CTD2.7.4、7 項参照）。また、テポチニブの MET に対するこの高い選択性は、テポチニブで治療する患者を、腫瘍の MET への依存性を予測する *MET*ex14 スキッピング変異などのバイオマーカーに基づいて特異的に選択する機会を提供するものである。

テポチニブによる強力な MET キナーゼの阻害作用を、腫瘍細胞を用いて、MET リン酸化レベルを測定する酵素結合免疫吸着測定法を使用した生化学的試験で確認した。テポチニブは、肺癌細胞株 A549 で HGF 誘導性の MET リン酸化を阻害し、その IC_{50} 値は 5.4 nM であった。A549 細胞での同様に強力な MET 阻害作用（IC_{50} 値 5.3 nM）が、テポチニブ投与と HGF 刺激との時間差を 14 時間としても認められたことから、テポチニブの細胞内滞留及び MET 阻害活性の持続性が示された。試験培地中のマウス血清又はヒト血清（10%（v/v））の存在は、A549 細胞における HGF 誘導 MET リン酸化に対するテポチニブの阻害作用にある程度影響を及ぼし、その結果、平均 IC_{50} 値はそれぞれ、21.0 nM 及び 23.0 nM となった（CTD2.6.2、2.1.4 項参照、報告書番号 PSR-ONC-EMD1214063-001）。

*MET*ex14 スキッピング変異及び *MET* 遺伝子の高度な増幅を有する胃癌細胞株 Hs746T において、テポチニブは恒常的な MET リン酸化を完全に阻害し、その IC_{50} 値は 2.5 nM であった。同様に、胃癌細胞株 GTL-16 及び肺癌細胞株 EBC-1（いずれも *MET* 遺伝子の高度増幅を有する）において、恒常的に活性化した MET に対するテポチニブの阻害作用の IC_{50} 値は、それぞれ 2.9 nM 及び 1.1 nM であった（CTD2.6.2、2.1.4 項参照、報告書番号 PSR-ONC-EMD1214063-001）。

Hs746T、GTL-16、及び EBC-1 細胞株を用いて、テポチニブによる下流シグナル伝達に対する濃度依存的な影響をウエスタンブロット法により評価した。MET の Y1234/35、Gab1 の Y627、Akt の S473、及び ERK1/2 の T202/Y204 のリン酸化の効率的な阻害が検出され、IC_{50} 値は 1 桁 nM 又はそれ以下の濃度範囲であった。これらの結果から、テポチニブによる MET の強力な阻害は、腫瘍細胞の増殖と生存に関わる MET 依存性シグナル伝達経路を効果的に阻害することが示された（CTD2.6.2、2.1.5 項参照、報告書番号 PSR-ONC-EMD1214063-001）。

これらの結果に一致して、細胞にテポチニブを添加して 48 時間培養し、その増殖率を調べる試験系において、胃癌細胞株 MKN-45 の増殖は、テポチニブ濃度依存的に強力に阻害され、その IC_{50} 値は 6.2 nM であった。MKN-45 細胞は、*MET* 遺伝子の高度増幅によって癌化しており、MET 過剰発現及び恒常的 MET 活性化を示す。一方、MET の活性化を示さない胃癌細胞株 SNU-16 の増殖は、テポ

チニブによる MET 阻害への感受性が低く、増殖阻害の IC_{50} 値は 2.8 μM であった（CTD2.6.2、2.1.6 項参照、報告書番号 PSR-ONC-EMD1214063-002）。

足場非依存的に 3 次元的な増殖を示し、細胞外マトリックスとの接触なしに懸濁液中で生存する能力が癌細胞の顕著な特徴である。マウス NIH3T3 線維芽細胞にヒト *HGF* 及びヒト *MET* 遺伝子を導入することにより形質転換してできた S114 細胞は、軟寒天中で増殖し、マウスに注入すると腫瘍を形成する。テポチニブで 5 日間処理すると、三次元軟寒天基質中での S114 細胞の定着コロニーの増殖が強力に阻害された（IC_{50} 値 1.8 nM、CTD2.6.2、2.1.6 項参照、報告書番号 PSR-ONC-EMD1214063-002）。

生理的条件下及び癌における MET シグナル伝達の別の顕著な作用として、細胞運動性、遊走及び浸潤の促進がある。この作用は MET の名称「間葉上皮転換因子、mesenchymal-epithelial transition factor」及びそのリガンド HGF の別名「細胞分散因子、scatter factor」にも反映されている。細胞遊走を評価する「スクラッチ試験」において、テポチニブは HGF により誘導される H441 肺癌細胞の遊走を効果的に阻害する作用を示した（CTD2.6.2、2.1.7 項参照、報告書番号 PSR-ONC-EMD1214063-002）。

テポチニブの作用機序を、*MET*ex14 スキッピング変異陽性及び *MET* 遺伝子増幅を有する胃癌細胞株 Hs746T の異種移植担癌マウスを用いた in vivo PK/PD 試験でも検討した（CTD2.6.2、2.3.1 項参照）。このマウスにテポチニブを 10 mg/kg 以上の用量で単回投与すると、MET のリン酸化が 24 時間以上効果的に（90%以上）阻害された。これは、腫瘍組織へのテポチニブの顕著な滞留によるものであった。MET リン酸化の持続的阻害は、腫瘍由来の血管新生促進性因子 IL-8 の血漿中濃度低下を伴った（報告書番号 PSR-ONC-EMD1214063-003）。また、テポチニブで処理した Hs746T 腫瘍の免疫組織化学的解析から、ヒストン H3 リン酸化及びサイクリン D1 発現の減少、サイクリン依存性キナーゼ阻害因子 p27 の増加、及び開裂カスパーゼ 3 の増加傾向が明らかになった（報告書番号 PSR-ONC-EMD1214063-005）。このように、in vivo PK/PD 試験では、腫瘍細胞におけるテポチニブの滞留、その結果として MET 活性の持続的阻害、さらに腫瘍細胞増殖の阻害やアポトーシス誘導をもたらす下流作用への影響が確認された。注目すべき点として、テポチニブの反復投与により Hs746T 腫瘍の完全な腫瘍縮小が認められた（表 1）。（CTD2.6.2、2.2.1.2 項参照、報告書番号 PSR-ONC-EMD1214063-004）。

要約すると、in vitro の効力を裏付ける試験の成績から、テポチニブは MET に対して高い選択性を有する強力な ATP 競合的阻害剤であることが示された。テポチニブは HGF を介した MET 活性化及び恒常的（HGF 非依存性）MET 活性化を阻害し、その IC_{50} 値は 1 桁 nM の範囲にあった。テポチニブによる MET 阻害作用は持続的であった。発癌性 MET 活性化細胞株における Akt 及び ERK リン酸化の解析から、下流シグナル伝達は MET それ自体と同様に、テポチニブによって効果的かつ強力に阻害されることが示された。Akt 及び ERK は、細胞増殖、生存、遊走などの多様な作用を仲介する中核シグナル伝達経路の中でも不可欠な要素である。テポチニブが腫瘍細胞又は腫瘍に形質転換した細胞株の増殖、足場非依存性の増殖及び遊走を抑制したことから、MET シグナル伝達の阻害と腫瘍細胞に必須な機能の阻害との間の関連性が示された。持続的な MET 阻害とその腫瘍細胞の増殖及び生存への影響が、Hs746T 腫瘍担癌マウスを用いた in vivo PK/PD 試験で確認された。

2.2 効力を裏付ける in vivo 試験

上述したように、テポチニブの高い選択性は、腫瘍の MET への依存性（癌遺伝子依存性、oncogenic addiction）を予測するバイオマーカーに基づく、テポチニブ治療への特異的な患者選択の機会を提供

している。これに一致して、テポチニブは正常な *MET* 遺伝子コピー数（gene copy number; GCN）を有し、MET が活性化していない SNU-16 細胞株の in vitro 増殖に対して弱い影響しか及ぼさず、高度の *MET* 遺伝子増幅を有し、恒常的に MET が活性化している MKN-45 細胞の増殖は強力に阻害した。特に、この試験で認められたテポチニブの MKN-45 細胞増殖阻害作用の IC_{50} 値（6.2 nM）は、他の *MET* 遺伝子の高度増幅及び恒常的 MET 活性化を有する細胞株（Hs746T、EBC-1 及び GTL-16）におけるテポチニブの MET 活性化及び MET シグナル伝達の阻害作用の IC_{50} 値と同程度であった（2.1 項）。

In vivo 薬理試験の重要な目的の一つは、MET 活性化の機序の中のどれがテポチニブの抗腫瘍効果と関連しており、テポチニブを投与する患者選択の予測バイオマーカーとして使用できるかを検討することであった。

腫瘍における MET の過剰な活性化には複数の機序が知られている。

1. *MET* 遺伝子の発癌性変異、例えば、*MET*ex14 スキッピング変異、*MET* 遺伝子増幅、又は *MET* 遺伝子融合
2. 発癌性遺伝子変異を伴わない MET の過剰発現、及び
3. 自己分泌又は傍分泌による HGF 発現の増加（Wu 2017）。

特に *MET* 遺伝子の発癌性変異は、多くの癌種で腫瘍性形質転換を開始し維持することが報告されている。その結果、腫瘍の増殖及び生存が MET に強く依存し、恒常的な MET キナーゼの活性化を有し、MET キナーゼ阻害剤に対する感受性を示す「癌遺伝子依存性」の状態をもたらす結果となる（Comoglio 2018）。

テポチニブの in vivo での抗腫瘍作用は、NSCLC、肝細胞癌（hepatocellular carcinoma; HCC）、胃癌などの様々な癌種由来のヒト腫瘍をマウスに異種移植して試験した。すべての試験において、テポチニブ単剤投与（最大 200 mg/kg qd）による投与に関連した体重減少は認められず、テポチニブの忍容性が良好であることが示された。MET 活性化の機序が異なる多くのモデルにおいて、テポチニブは用量依存的な抗腫瘍効果を示した。しかし、特に発癌性 *MET* 遺伝子変異の存在は、テポチニブ単剤療法に対する強い反応、しばしば完全な腫瘍退縮をもたらした。*MET*ex14 スキッピング変異を有する 2 種類の腫瘍モデル、発癌性の遺伝子組換え転座プロモーター領域（translocated promoter region; *Tpr*）-Met 融合タンパク質を発現している 1 種類の腫瘍モデル、*MET* 遺伝子の高度な増幅を有する数種類の腫瘍モデルにおいて、テポチニブの in vivo での顕著な有効性が認められた（表 1、CTD2.6.2、2.2 項参照）。なお、本項及び CTD2.6.2 を通して、「*MET* 遺伝子の高度な増幅」とは *MET* 遺伝子の GCN が 10 を超える場合と定義する。

表 1 発癌性 *MET* 遺伝子変異を有する腫瘍におけるテポチニブの in vivo 抗腫瘍活性の概要

Tumor model	MET activation	In vivo efficacy (monotherapy)	Study Report
Hs746T gastric cancer (sc)	*MET*ex14 skipping alteration High level* *MET* gene amplification	Complete tumor regression in 10/10 mice at 6 mg/kg qd	Study Report PSR-ONC-EMD1214063-004
H596 NSCLC (sc)	*MET*ex14 skipping alteration	Tumor growth inhibition T/C: 30% at 100 mg/kg qd	Study Report ONC207-1-83MFH
EBC-1 NSCLC (sc)	High level* *MET* gene amplification	Complete tumor regression in 10/10 mice at 25 mg/kg qd	Study Report PSR-ONC-EMD1214063-004
MKN-45 gastric cancer (sc)	High level* *MET* gene amplification	Partial tumor regression in 4/8 mice at 25 mg/kg qd; T/C: -46%	Study Report DOV-325-1-42-MFH
MHCC97H HCC (sc)	High level* *MET* gene amplification	Complete tumor regression in 9/10 mice at 100 mg/kg qd	Study Report CrownBioMKG-CP-S002-subcutanZW
MHCC97H HCC (orthotope)	High level* *MET* gene amplification	Tumor regression in 9/9 mice at 100 mg/kg qd; 2/9 complete regressions	Study Report CrownBioMKGCP-S002-orthotopZW
LU5406 NSCLC brain met (sc)	High level* *MET* gene amplification	Complete tumor regression in 5/5 mice at 100 mg/kg qd	Study Report Crown Bioscience_E0177-U1708
LU5406 NSCLC brain met (sc)	High level* *MET* gene amplification	Complete tumor regression in 5/5 mice at 100 mg/kg qd	Study Report Crown Bioscience_E0177-U1708
NIH 3T3 Tpr-Met (sc)	*MET* gene fusion	Complete tumor regression in 4/8 mice at 25 mg/kg qd	Study Report PSR-ONC-EMD1214063-004

For details, refer to Section CTD2.6.2、2.2. HCC: Hepatocellular carcinoma, MET: Mesenchymal-epithelial transition factor, met: metastasis, NSCLC: Non-small cell lung cancer, sc: subcutaneous, T/C: treated to control value (tumor volumes)
*: Defined as >10 MET gene copy numbers.

MET 遺伝子増幅は MET の過剰発現を導き、主要な発癌ドライバーであると以前から認識されてきた（Comoglio 2018 及び Drilon 2017）。特に、より局所的な遺伝子増幅であることが多い *MET* 遺伝子のコピー数が多い高度な増幅は、NSCLC では MET への発癌依存性の指標であると考えられている。この高度な *MET* 遺伝子増幅と他の発癌ドライバー遺伝子との重複はないか、ごくわずかであり（Drilon 2017）、*MET* 遺伝子が高度に増幅した腫瘍を有する NSCLC 患者は、MET 阻害剤に反応性を示す（Caparica 2016 及び Drilon 2017）。発癌ドライバー遺伝子としての *MET* 遺伝子の高度な増幅の保有率は、癌種全体を通じて、低いものと考えられる。本項で *MET* 遺伝子の高度な増幅の定義とした GCN のカットオフ値（GCN>10）を用いると、NSCLC 患者における *MET* 遺伝子の高度な増幅の保有率は 1%~5%の範囲である（Drilon 2017）。

*MET*ex14 スキッピング変異は、*MET* 遺伝子の ex14 のスプライス供与部位又はスプライス受容部位に影響する多様な点突然変異及び挿入/欠失変異を含んでいる。これらの変異は、異なる部位でのスプライシング、或いは mRNA 又はタンパク質段階での ex14 コード配列全体の欠失につながる。これにより、MET の細胞内の膜近傍ドメインにある、MET キナーゼ活性を制御するプロテインキナーゼ C 部位のセリン 985（S985）と、MET のユビキチン化と分解を制御する E3 ユビキチンリガーゼの結合部位であるチロシン 1003（Y1003）を含む負の調節因子の領域が消失する。その結果、*MET*ex14 ス

キッピング変異は、安定性が向上し、シグナル伝達の強さと持続性が増強した短躯型の受容体を発現させ、MET の発癌性活性化をもたらす（Cortot 2017）。*MET*ex14 スキッピング変異は NSCLC の約 3%で発現し、他のいくつかの癌種においても発現率は低い。*MET*ex14 スキッピング変異は NSCLC では *EGFR*、*KRAS*、*ALK* 又は *ROS1* などの他の確立された発癌ドライバー変異とは相互排他的であると考えられる。*MET*ex14 スキッピング変異は MET 阻害薬に対する感受性に関係していることも示されている（Frampton 2015 及び Awad 2016）。

MET 遺伝子の融合は、NSCLC を含む様々な癌種の患者において報告されており、MET の発癌性活性化を起こし、MET 阻害薬による治療に感受性を示すことが報告されている（Bender 2016、Davies 2017 及び Gow 2018）。様々な融合相手が報告されている。報告されている MET 融合蛋白質の大部分では、融合相手は N 末端側に挿入されているようであり、多くの場合、それは MET のキナーゼドメインである ex15 から始まる領域に直接融合し、ex14 をスキップする形となっている（Stransky 2014、Bender 2016、Davies 2017、Gow 2018 及び Soman 1991）。転座プロモーター領域 Tpr-Met 融合タンパク質は、古くから知られており、そうした MET 融合タンパク質のプロトタイプとみなされている（Soman 1991）。非臨床研究では、ex14 にコードされる配列を Tpr-Met 融合タンパク質に再導入した結果、その形質転換能が阻害されることが明らかにされ（Lu 2017）、MET の発癌性活性化における ex14 欠失の役割についてのさらなる証拠となっている。このように、*MET*ex14 スキッピング変異と MET 融合蛋白質は、発癌性形質転換を起こす上で共通の機序を持っている。

MET 遺伝子増幅や *MET* 遺伝子融合と比較して、*MET*ex14 スキッピング変異は、相対的に同定が遅く、発癌ドライバー因子として認識されてからの日が浅いため、*MET*ex14 スキッピング変異を有する非臨床腫瘍モデルは概して限られている。しかし、高度な *MET* 遺伝子の増幅及び *MET* 遺伝子融合を有する腫瘍から得られた試験成績は、*MET*ex14 スキッピング変異を有する腫瘍に対するテポチニブの有効性を理解する上で助けとなる。それは、これらの変異が、発癌性形質転換をもたらす基本的な機序が類似しており、発癌ドライバーとして MET と MET シグナル伝達を強力に活性化し、他の発癌ドライバー因子に対してほぼ相互排他的に存在するなどの共通の性質を有するからである。

テポチニブは、MET の過剰発現又は HGF/MET の自己分泌循環を有する腫瘍においても in vivo で抗腫瘍活性を示したが、その程度は小さく、一貫性も低かった（表 2、CTD2.6.2、2.2.3 項参照）。完全退縮は認められず、腫瘍の部分退縮には 200 mg/kg 等の高用量のテポチニブが必要であった。EGFR キナーゼ領域の変異を有する 3 種の NSCLC 腫瘍モデルでは、MET の発現レベルが高いにもかかわらず、テポチニブ単剤療法は効果を示さなかった。

表 2 発癌性 *MET* 遺伝子変異を伴わずに MET 又は HGF を高発現する腫瘍におけるテポチニブの in vivo 抗腫瘍活性の概要

Tumor model	MET activation	In vivo efficacy (monotherapy)	Study Report
H441 NSCLC (sc)	MET overexpression	Tumor growth inhibition; T/C: 11% and -17% at 25 and 200 mg/kg qd	Study Report DOV-190-1-66-MFH
U-87 MG glioblastoma (sc)	High HGF/MET expression level	Tumor growth inhibition; T/C: 13%, 1% and -30% at 50, 100 and 200 mg/kg qd	Study Report DOV-190-1-51-MFH
KP-4 pancreatic cancer (sc)	High HGF/MET expression level	Tumor growth inhibition; T/C: 19%, 3% and -60% at 25, 50 and 200 mg/kg qd	Study Report DOV-315-1-9-MFH
KP-4 pancreatic cancer (sc)	High HGF/MET expression level	Tumor growth inhibition; T/C: 24%, 15% and -22% at 15, 25 and 200 mg/kg qd	Study Report ONC207-1-35MFH
HCC827 NSCLC (sc)	MET overexpression EGFR mutation	No tumor growth inhibition at 100 mg/kg/5d+/2d-	Study Report ONC373-1-39MFH
PC-9 NSCLC (sc)	MET overexpression EGFR mutation	No tumor growth inhibition at 100 mg/kg/5d+/2d-	Study Report ONC373-1-38MFH
H1975 NSCLC (sc)	MET overexpression EGFR mutation	No tumor growth inhibition at 100 mg/kg/5d+/2d-	Study Report DOV-347-1-12-MFH

For details, refer to Section CTD2.6.2、2.2. EGFR: Epidermal growth factor receptor, MET: Mesenchymal-epithelial transition factor, NSCLC: Non-small cell lung cancer, sc: subcutaneous, T/C: treated to control value (tumor volumes)

発癌性遺伝子変異又は HGF の発現亢進がない腫瘍での MET の過剰発現は、転写の増加によって生じる可能性がある。この MET の過剰発現は、多くの場合、低酸素や炎症などの腫瘍環境の変化に対する適応的反応として起きている。転写の増加による MET 又は HGF の増加は、腫瘍の増殖及び生存にとって重要なドライバー因子ではなく、腫瘍の進行にとって重要であると考えられている（Comoglio 2018）。このことは、*MET* 遺伝子に明らかな発癌性変異が認められる腫瘍と比較して、これらの腫瘍モデルではテポチニブの抗腫瘍活性が顕著ではないことを説明していると考えられる。

この見解と一致する試験成績が、患者の脳転移した腫瘍から作製した異種移植モデルを用いた試験で得られた。無作為に選択した 63 例の脳転移腫瘍を免疫不全マウスの側腹部に皮下移植し、テポチニブの抗腫瘍効果を検討した。63 例中 61 例から腫瘍の分子プロファイルが得られた。これらのうち、*MET* 遺伝子の高度な増幅が認められ、同時に *MET* mRNA の高発現が認められたのは、テポチニブへの反応性が最も高かった 2 種の腫瘍のみであった。*MET* 遺伝子変異を伴わず、*MET* mRNA の高発現のみを示した腫瘍も数種類観察された。しかし、これらの腫瘍の多くはテポチニブ投与に反応せず、*MET* mRNA の高発現自体は有効性とは関連していなかった（CTD2.6.2、2.2.4 項参照、報告書番号 ONC20190605LC 及び ONC20190302CR）。

薬効を裏付ける in vivo 試験の成績は、MET 発現量ではなく、*MET*ex14 スキッピング変異、高度な *MET* 遺伝子の増幅及び *MET* 遺伝子融合などの *MET* 遺伝子の発癌性変異こそが、テポチニブに対する感受性を予測するものであることを示しており、テポチニブを投与すべき患者の選択に適したバイオマーカーであると考えられる。

2.3 PK/PD 試験

2.3.1 テポチニブ

テポチニブの作用機序及び PK/PD 関係について、最初に、*MET*ex14 スキッピング変異及び高度 *MET* 遺伝子増幅を併せ持ち、テポチニブに高感受性を示す Hs746T 胃癌細胞モデルを用いた単回投与試験で検討した。この試験では、テポチニブの単回投与により、強力かつ持続的な（24 時間以上）MET 阻害が認められ、血管新生を促進するヒト IL-8 の血漿中濃度の減少、腫瘍組織におけるリン酸化ヒストン H3 及びサイクリン D1 濃度の減少並びに p27 の発現増加を伴っていた。測定したすべての時点（投与後 3、6、12、24、48、72 及び 96 時間）で、腫瘍組織中のテポチニブ濃度は血漿中濃度より大幅に高かった。したがって、本試験で得られた PK/PD データから、in vitro で認められた腫瘍細胞でのテポチニブの滞留、その MET の強力な阻害、及びその作用機序、すなわち、腫瘍細胞の増殖の阻害、腫瘍の増殖、生存、及び細胞周期停止の誘導が確認された（2.1 項、CTD2.6.2、2.3.1 項参照）。

臨床試験における有効用量及び用法の選択を助けるため、KP-4 膵癌モデルを用いた単回及び反復投与試験を実施した。HGF/MET 自己分泌循環を有する KP-4 モデルは、テポチニブ投与に中等度に腫瘍縮小を示す感受性を有することから選択したが、Hs746T などの発癌性遺伝子変異を有するテポチニブに高感受性の腫瘍と比較して、最大反応を達成するにはより高用量のテポチニブが必要であった。このため、KP-4 腫瘍モデルを使用することで、より保守的なテポチニブの用量-有効性関係の推定が可能であった。

KP-4 モデルでの反復投与有効性試験では、最高用量 200 mg/kg qd で、中等度の腫瘍縮小が認められた（報告書番号 ONC207-1-35MFH）。単回投与試験では、テポチニブはこの用量で、MET のリン酸化を 24 時間以上 95%超阻害した（報告書番号 ONC367-1-65MFH）。この薬理データに基づいた PK/PD モデリングにより、KP-4 腫瘍で達成された最大腫瘍増殖抑制と同じ 95%の腫瘍抑制を達成するために必要なテポチニブの血漿中濃度は 454 ng/mL と予測された。マウスとヒトの血漿蛋白結合率の差を考慮すると、この値は、ヒト血漿中テポチニブ濃度の 823 ng/mL に相当する（CTD2.6.2、2.3.4 項参照、報告書番号 RF6770）。

また、この非臨床 PK/PD モデリングから、腫瘍縮小を達成するには 95%を超える持続的な MET 阻害が必要であることも確認された。その後、このモデルに臨床第 I 相試験（報告書番号 EMR200095-001）で得られた PK 及び PD データを統合し、ヒトにおける母集団 PK/PD モデルに基づく母集団シミュレーションを実施したところ、500 mg の用量であれば、90%以上の患者で 95%以上の MET 阻害を達成することが示された。この結果から、推奨臨床用量を 500 mg と定めた（CTD2.7.2、3.5.1 項参照）。

2.3.2 ヒト主要代謝物（MSC2571109）

ヒトの主要循環血中代謝物である MSC2571109A は、キラル代謝物 M506（MSC2569775）の R-鏡像異性体であるが、最初にヒトマスバランス試験で同定された。MSC2571109A について実施した薬理試験により、MSC2571109A は in vitro で HGF により誘導される MET のリン酸化を、テポチニブよりもやや弱い効力で効果的に阻害することが明らかとなった（報告書番号 ONCIRA00346CK）。しかし、in vivo においては、200 mg/kg qd の用量でテポチニブを投与した場合とは対照的に、MSC2571109A は 50 mg/kg qd までの用量を投与しても、KP-4 腫瘍の増殖を阻害しなかった（報告書

番号 ONC402-3-12MFH）。MSC2571109A を 50 mg/kg の用量で投与したときの MSC2571109A の曝露量は、テポチニブを 200 mg/kg の用量で投与したときの MSC2571109A の曝露量と同程度であり、C_{max} はより高い値にまで到達した（CTD2.6.2、2.4.3 項参照、報告書番号 ONC401-1-12MFH）。注目すべきことに、MSC2571109A を 50 mg/kg の用量で投与したマウスにおける MSC2571109A の曝露量は、臨床第 I 相試験（報告書番号 EMR200095-001）においてテポチニブを 1,400 mg/日の用量で投与した患者における MSC2571109A の曝露量と同程度であると推定された（CTD2.7.2、3.2.1.3.1 項参照）。テポチニブとは対照的に、腫瘍組織中の MSC2571109A 濃度は血漿中濃度より低く、MSC2571109A は速やかに消失した。従って、テポチニブの抗腫瘍効果に対する MSC2571109A の寄与はごくわずかであると考えられる（CTD2.6.2、2.4 項参照）。

2.4 副次的薬理試験

副次的薬理試験であるマウスを用いた in vivo 試験では、50 mg/kg までの用量のテポチニブを 3 日間又は 10 日間連日経口投与した結果、溶媒投与群と比較して、創傷治癒（創傷幅、視覚的重症度スコア、創傷面積、再上皮化率及び肉芽組織の成熟度）に影響は認められなかった（CTD2.6.2、3 項参照、報告書番号 08/237b）。

2.5 安全性薬理試験

テポチニブのオフターゲット作用、並びに心血管系、呼吸器系及び CNS）の機能に及ぼす影響を評価するため、in vitro 及び in vivo の安全性薬理試験を実施した。また、主要なヒト循環血中代謝物である MSC2571109A について in vitro 安全性薬理試験を実施し、オフターゲット作用及び心血管系機能への影響を評価した（CTD2.6.2、4.1 項参照）。これらの試験結果について、臨床予定用量である 500 mg/日を連日反復経口投与したときの定常状態で測定されたテポチニブ及び代謝物 MSC2571109A の最大濃度（C_{max}）を考慮して以下に考察する（表 3）。

表 3 500 mg/日のテポチニブを投与したヒトの定常状態におけるテポチニブと代謝物 MSC2571109A の最高血漿中濃度（C_{max}）

Test item	tepotinib dose (mg)	Mean C_{max} total (ng/mL)	Mean C_{max} free[a] (ng/mL)	Mean C_{max} total (μM[b])	Mean C_{max} free[a] (μM[b])
tepotinib	500	1291[c]	25.8	2.62	0.05
MSC2571109A	500	313[d]	3.7	0.62	0.007

C_{max}: maximum concentration.
a: Fraction unbound in human plasma of 2% for tepotinib and 1.2% for MSC2571109A.
b: Calculations were based on the molecular weight of tepotinib of 492.57 g/mol and of MSC2571109A of 506.56 g/mol.
c: Geometric mean measured on Day 14 in study EMR200095-001
d: Geometric mean measured on Day 8 in study MS200095-032

広範な種類の薬理活性を有する細胞受容体、イオンチャネル、トランスポーター、及び酵素に対するテポチニブのオフターゲット作用を in vitro で評価した（CTD2.6.2、4.1.1 項参照）。オフターゲット結合の IC_{50} 値と MET キナーゼ結合の IC_{50} 値の比が 50 未満となった受容体は 2 種類［メラトニン受容体 melatonin binding site 3; MT3（旧名 ML2）及びイミダゾリン受容体 imidazoline receptor 1; I1］

のみであった。このうち、MT3 の特性はほとんど明らかになっておらず、その調節の下流への影響は不明である。I1 は血圧調節に関与することが知られている受容体であるが、以下に述べるように、ラット及びイヌを用いた心血管系への影響に関する試験並びにイヌを用いた反復投与毒性試験における心血管系の検討で、明らかな影響が認められず、オフターゲット作用の可能性は否定された。

機能試験又は細胞への取り込み試験の結果、アドレナリン α2c 受容体及びムスカリン（M1~M3）受容体、並びにノルエピネフリン及びドパミントランスポーターに対するテポチニブの拮抗作用が認められた。それぞれの IC_{50} 値は、ヒトで測定された定常状態の遊離型 C_{max}（0.05 μM/L）の 11 倍以上に相当した。さらに、以下に示す in vivo 安全性薬理試験において、心血管系、呼吸器系又は CNS に関連する影響は認められなかった。これらの試験成績から、テポチニブと上記のオフターゲット分子間の相互作用の臨床的意義は低いと考えられる。

心血管系に関する in vitro 安全性薬理試験で、テポチニブは hERG チャネル電流を阻害し、その IC_{50} 値は 1.2 μM であった（CTD2.6.2、4.1.2 項参照）。この濃度はヒトでの定常状態の平均遊離型 C_{max}（0.05 μM）の 24 倍に相当するため、臨床での使用では問題とならないと考えられた。また、テポチニブは検討した 10 μM の濃度で心筋イオンチャネル hNav1.5 を最大 26%阻害した（CTD2.6.2、4.1.4 項参照）。さらに、モルモット乳頭筋の不応期は、テポチニブ濃度 10 及び 30 μM で最大 11%と軽度に延長した（CTD2.6.2、4.1.5 項参照）。しかし、こうした作用は、定常状態の患者での平均遊離型 C_{max}（0.05 μM/L）の 100 倍を超える濃度で認められたものであり、ラット及びイヌを用いた心血管系の in vivo 試験では、これらに関係した影響は認められなかった。

テポチニブを経口投与したラットの心血管系機能への影響を、テレメトリーを用いて検討した試験では、50 mg/kg/日までの用量で 8 日間連日経口投与したとき、心拍数及び動脈血圧への影響は認められなかった。総 C_{max} 値及び遊離型 C_{max} 値はそれぞれ 325 ng/mL 及び 13 ng/mL であり、後者の濃度は、患者の定常状態の平均遊離型 C_{max}（25.8 ng/mL）の約半分であった。イヌにテポチニブを 70 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、心拍数、動脈圧、及び心電図（ECG）パラメータに対する影響はみられなかった（CTD2.6.2、4.2.1.2 項参照）。また、イヌに 70 mg/kg の用量で単回十二指腸内投与したとき、局所及び全身の血行動態を特徴づける種々のパラメータに意義のある影響はみられなかった。わずかに認められた陽性変力作用に関連づけられる、心血管系の意義のある所見は認められなかった（CTD2.6.2、4.2.1.3 項参照）。これらの最後の 2 試験におけるテポチニブの曝露量は比較的低く、イヌの経口投与試験での総 C_{max} 及び遊離型 C_{max} はそれぞれ 67 ng/mL 及び 4 ng/mL、イヌの十二指腸内投与試験では 115 ng/mL 及び 7.4 ng/mL であった。

さらに、イヌを用いた種々の反復経口投与毒性試験（最長 39 週間投与）で測定した動脈血圧及び ECG パラメータに影響はみられなかった（CTD2.6.2、4.2.1.4 項参照）。特に 39 週間反復経口投与毒性試験では、最高用量の 30 mg/kg/日まで心血管系への影響はみられなかった。この 30 mg/kg/日の用量での C_{max} の平均値は雄で 254 ng/mL、雌で 554 ng/mL であり、遊離型 C_{max} 値はそれぞれ 15.2 ng/mL 及び 33.2 ng/mL であった。これらの濃度は、ヒトにおける遊離型 C_{max} 平均値 25.8 ng/mL と同程度の値である。以上の in vitro 及び in vivo 試験の結果から、QT 延長リスクはないと考えられた。

雄性ラットにテポチニブを 200 mg/kg までの用量で単回経口投与した呼吸器系機能への影響を検討する試験で、明らかな影響はみられなかった。この試験では TK 測定を行っていないが、ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験（報告書番号 T16157）から得られた平均曝露量データを用いて、TK の用量比例性を仮定して推定すると、総 C_{max} は約 560 ng/mL と算出できる（同様の試験条件下で 90 mg/kg/日を投与した雄の投与初日の C_{max} は 251.84 ng/mL であった）。算出された総 C_{max} 値

（560 ng/mL）から導かれる遊離型 C_{max} 値 22.4 ng/mL は、ヒトでの平均遊離型 C_{max} 値（25.8 ng/mL）に近い値であった。また、イヌ 4 週間及び 13 週間反復経口投与毒性試験でも呼吸数への影響は認められなかった。この 4 週間試験では、投与期間終了時の雄の平均総 C_{max} 値が 382 ng/mL、平均遊離型 C_{max} 値が 24.4 ng/mL と、ヒトでの平均遊離型 C_{max} 値 25.8 ng/mL と同程度であった（報告書番号 T8421 及び T8427）。

ラットにテポチニブを 200 mg/kg までの用量で単回経口投与した機能観察総合評価試験では、中枢神経系への影響は認められなかった（CTD2.6.2、4.2.3.1 項参照）。この試験では TK 測定を行っていないが、同様の試験条件下で実施したラットの 4 週間反復経口投与毒性試験から得られた平均曝露量データを用いて、TK の用量比例性を仮定して推定すると、C_{max} は、雄で約 560 ng/mL、雌で約 936 ng/mL と算出できる（報告書番号 T16157）。このラット 4 週間反復経口投与毒性試験の 90 mg/kg/日群の投与初日の C_{max} は、雄で 251.84 ng/mL、雌で 421.03 ng/mL であった。算出された雌の総 C_{max} 値の 936 ng/mL から導かれる遊離型 C_{max} 値 38.4 ng/mL はヒトの平均遊離型 C_{max} 値 25.8 ng/mL の 1.5 倍である。さらに、イヌを用いた 4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験（CTD2.6.2、4.2.3.2 項参照）で評価した 40 mg/kg/日までの用量で、テポチニブは自律神経系反射（瞳孔対光、眼瞼、膝蓋骨及び肛門反射）に影響を及ぼさなかった。この 2 試験の平均 C_{max} 値の中で高い値を示した 4 週間投与試験の投与期間終了時の雄で測定された総 C_{max} 値 382 ng/mL から算出される遊離型 C_{max} 値 24.4 ng/mL は、ヒトでの平均遊離型 C_{max} 値 25.8 ng/mL と同程度であった。

ヒトの主要循環血中代謝物である MSC2571109A は、in vitro オフターゲット作用のプロファイリング試験において、10 μM の濃度で 4 種のオフターゲット分子（A3h、M1h、M2h 及び PDE6）の結合又は酵素活性を 50%超阻害した（報告書番号 100021444）。しかし、臨床用量である 500 mg/日のテポチニブを反復投与後の定常状態の患者での MSC2571109A の血漿中遊離型 C_{max}（0.007 μM）は、本試験で検討した濃度 10 μM の 1400 分の 1 の低さであることを考慮すると、臨床ではこれらのオフターゲットの標的の阻害作用は心配されない。

hERG 試験では、2.7 μM の濃度まで MSC2571109A の影響は認められなかった（報告書番号 RC10）。この濃度は、臨床用量である 500 mg/日のテポチニブを投与した定常状態での MSC2571109A の血漿中遊離型 C_{max} である 0.007 μM よりも約 385 倍高く、臨床では MSC2571109A による hERG チャネル阻害のリスクがないことが示された。In vitro 心筋イオンチャネルプロファイリング試験では、MSC2571109A は 30 μM の濃度まで明らかな作用を示さなかった（報告書番号 MRS031115-1）。

結論として、テポチニブ又はその遊離塩基を用いた in vitro 及び in vivo 安全性薬理試験の結果、臨床用量である 500 mg/日を投与した患者における定常状態での平均血漿中遊離型 C_{max} と同等以上の濃度又は曝露量（C_{max}）まで、オフターゲット作用、心血管系作用、呼吸系作用及び CNS 作用は認められなかった。

さらに、代謝物 MSC2571109A の in vitro 安全性薬理試験の結果、臨床用量である 500 mg/日のテポチニブを投与した際のオフターゲット作用及び心血管系作用（QT 延長）のリスクは想定されなかった。

3. 薬物動態試験

これまでに実施された非臨床薬物動態試験の概要を CTD2.6.4、表 1 に示す。

3.1 分析方法

テポチニブの定量に用いた LC-MS/MS は安全性/毒性試験を支持するため、ラット、ウサギ及びイヌ血漿を用いてバリデーションした。また、1 つの分析法はテポチニブ及びキラル代謝物である M506 の 2 つの鏡像異性体、すなわち、ラット血漿中の MSC2571107A 及び MSC2571109A のためにバリデーションした。マウス、ラット、イヌ及びサルの初期 PK 試験におけるテポチニブの決定並びにイヌにおける MSC2571107A 及び MSC2571109A の探索的分析はバリデーションされた分析法が適用され、この分析方法により、M506 の両エナンチオマーを検出した。テポチニブはラット及びイヌ血漿において、-20°C 及び-80°C で最大 6 ヶ月間、ウサギ血漿において、-80°C で最大 3 ヶ月間、-20°C で最大 6 ヶ月間、調製及び分析サンプルともに安定であった（CTD2.6.5、2 項、表 2-B 及び表 2-D 参照）。

3.2 吸収

in vitro 試験において、テポチニブの透過速度は 160 nm/sec の透過速度であったことから、生物薬剤学分類システム（biopharmaceutics classification system; BCS）のクラス IV に分類された（CTD3.2.P、2.1 項参照）。

in vivo 試験（例：イヌ TK 試験）及びヒト臨床試験において、テポチニブの吸収及びそれに伴う経口バイオアベイラビリティ（F）は摂食条件下及び[redacted]製剤を投与することで増加することが確認された。非臨床試験に用いた動物種の最高血漿中濃度はマウスで投与後 1 時間までに、雌ザルで投与後最大 12 時間（最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）の平均値）に到達した。吸収データから、テポチニブは一般的に緩やかに吸収されることが示唆された。F は雄ラット、イヌ及び雌ザルでわずか 20%以上、雌ラットで約 55%であった（CTD2.6.5、4 項、表 4-A 参照）。しかしながら、すべての動物種における経口投与時の全曝露量に対する吸収及び初回通過効果の実際の寄与は不明である。

3.3 分布

すべての動物種において、テポチニブの in vitro 血漿蛋白結合は中程度～高値であり、その非結合分率（f_u）は 3（マウス）～6（イヌ）%及びヒトでは 1.6～3.4%であった。ヒト（及びサル）血漿において、非結合型画分の増加にわずかな用量依存性が認められた（CTD2.6.5、7 項、表 7-A 参照、報告書番号 DMPK144-[redacted]）。ヒト血清アルブミン（human serum albumin; HSA）及び α_1-酸性糖蛋白（alpha 1 acid glycoprotein; AAG）はヒト血漿における主結合蛋白として同定された。

ヒト血漿中における循環主代謝物（MSC2571109A）の平均 f_u（1.2%）はテポチニブに比べて低値であり、評価した動物種（マウス、ラット及びイヌ）における範囲は 1.0～2.5%であった（CTD2.6.5、7 項、表 7-D 参照、報告書番号[redacted]-GR031-P0）。すべての動物種において、濃度非依存性が認められたことから、結合の飽和はないと予想された。MSC2571109A は大部分が HSA と結合した（f_u : 2.6%）。また、AAG は全血漿蛋白結合に対する関与はより少なかった（CTD2.6.5、7 項、表 7-D 参照、報告書番号[redacted]-GR031-P0）。

テポチニブはラット脳組織への結合率が高値であり、濃度依存的であった。平衡状態における脳組織の非結合分率（fraction unbound to brain tissue homogenateF; $f_{u, br}$）は 0.35%（ラット血漿における f_u が 4%であるため、11 倍低値）であった（CTD2.6.5、7 項、表 7-D、及び CTD2.6.5、9 項、表 9-B 参

照、報告書番号 DMPK144-[redacted] 及び[redacted]MERCDP1）。in vitro 血球移行試験の結果から、テポチニブは動物において、血球細胞に分布（distribution coefficient blood cells to plasma; $K_{BC/plasma}$：1.9～2.6）することが示唆された。一方、ヒトでは血球細胞及び血漿に同程度分布（$K_{BC/plasma}$：1 μM で 1.0）した（CTD2.6.5、9 項、表 9-A 参照、報告書番号 DMPK133-[redacted]）。このことから、テポチニブの血漿中濃度が血中濃度に類似していること及び血漿クリアランス並びに血中クリアランスが同等であることが示唆された。MSC2571109A のヒト血球への分布は血漿中画分が約 80%であったこと及び血漿に対する血中濃度比が平均 0.77 であったことから、テポチニブと顕著な差がないことが示唆された（CTD2.6.5、9 項、表 9-D 参照、報告書番号 WBD[redacted]-001）。

テポチニブはヒト肝細胞に能動的に取り込まれるが、有機カチオントランスポーター（OCT）及び有機アニオントランスポーターペプチド（OATP）の基質ではなかった（CTD2.6.5、16 項、表 16-O 参照、報告書番号 DMPK121-[redacted]）。このことから、肝への取り込みは受動輸送ではなく肝血流量によって制限されると予想されるので、この取り込み過程は臨床関連性のある薬物間相互作用を示すとは考えにくい（CTD2.6.5、9 項、表 9-C 参照、報告書番号 DMPK171-[redacted]）。

非臨床試験で用いた動物種において、テポチニブの定常状態における分布容積（volume of distribution at steady state; V_{ss}）は一般的に高値であり、その値は 8.18～25.8 L/kg であった。男性健康被験者にテポチニブを静脈内投与したときの分布容積（volume of distribution; V_z）も高値（574 L）であったことから、テポチニブは組織、すなわち血管外に分布することが明確に示唆された（CTD2.6.5、4 項、表 4 参照、報告書番号 DMPK74-[redacted]、75-[redacted]、72-[redacted]、73-[redacted] 及び EMR200095-007）。

ラットにテポチニブを経口投与した組織内分布試験（全身オートラジオグラフィー及び解剖法）において、総放射活性は主に胃腸管に分布することが示唆された。他の組織で高濃度の放射活性が検出されたのは肝臓、肺、脾臓、腎臓及び投与 24 時間後のリンパ節であった。有色ラットの眼及び皮膚は評価した 96 時間における放射活性濃度が中程度であったことから、テポチニブ及びその代謝物はメラニン含有組織に結合する可能性があることが示唆された。テポチニブのラット脳内移行性を評価した結果、定常状態（24 時間点滴静注後）における血漿中濃度に対する脳内濃度比の平均値は 2.87 であった。しかしながら、血漿蛋白結合よりも脳組織への結合が遙かに高値であったため、脳／血漿間非結合型薬物濃度比（unbound brain-to-plasma partition ratio; $K_{Pu,u}$）はわずか 0.25 であった（CTD2.6.4、4.2 項参照）。このことから、テポチニブは自由に拡散しないが、少なくとも脳への移行性が認められることが示唆された。（CTD2.6.5、6 項、表 6-D、CTD2.6.5、7 項、表 7-A、及び CTD2.6.5、9 項、表 9-B 参照、報告書番号 DMPK128-[redacted]、DMPK144-[redacted] 及び[redacted]MERCDP1）。

3.4 代謝

in vitro CYP フェノタイピング試験において、CYP3A4 及び 2C8 がテポチニブの代謝に寄与することが示唆された（CTD2.6.5、11 項、表 11-C 参照、報告書番号 DMPK49-[redacted]）。しかしながら、これら補酵素の特異的阻害薬存在下又は非存在下でヒト肝細胞と共インキュベーションしたとき、CYP3A4 及び 2C8 は全体的な酸化的肝代謝に主要な役割を果たしていないことが示唆された（CTD2.6.5、11 項、表 11-D 参照、報告書番号 DMPK65-[redacted]）。

in vitro 肝代謝の動物種間の比較から、テポチニブはむしろ単純な代謝経路によって変換されることが示唆された。ヒトにおいて、ジアステレオ N-オキシド及び直接グルクロン酸抱合（おそらくヒト特異的）のみが関与している可能性が示唆された。ラット肝細胞において、N-オキシドもサンプル

中の放射活性の大部分を占めた。N-オキシド代謝物以外に、脱メチル代謝物のみが同定された。同様の代謝パターンはイヌにおいても認められた。肝細胞を用いた試験の結論として、ラット及びイヌは代謝に関して、非臨床安全性試験の適切な動物種であることが示唆された。

in vivo における血漿クリアランスは中程度～高値であり、ラット（4.68～9.04 L/h/kg）及びイヌ（3.31 L/h/kg）は肝血流量を上回った。少なくともこれらの動物種において、肝外排泄過程は全身クリアランス（total clearance; CL）に大きく貢献する可能性が示唆された。サルの CL は顕著に低値であり、肝血流量のわずか 30%以下に過ぎなかった（0.734 L/h/kg）。血漿における消失半減期（$t_{1/2}$）はげっ歯類では短く（2.1～3.2 時間）、非げっ歯類では中程度（イヌで 7.6 時間、サルで 10.2 時間）であった。ヒト肝細胞において、固有クリアランスが低値であったことと一致し、男性健康被験者におけるテポチニブの血漿クリアランスは許容範囲であり（12.8 L/h）、$t_{1/2}$ も約 31 時間と長かった（CTD2.6.5、4 項、表 4-A 参照、報告書番号 DMPK74-[redacted]、75-[redacted]、72-[redacted]、73-[redacted] 及び EMR200095-007）。

ヒトマスバランス試験（報告書番号 EMR200095-007）において、テポチニブは中程度代謝され、血漿中、尿中及び糞中から 10 種類の第 I 相及び第 II 相代謝物が同定された（CTD2.7.2、2.7 項参照）。キラル代謝物 M506 は唯一の血漿主代謝物及び酸化代謝物として同定され、後に MSC2571109A 及び MSC2571107A の混合物として同定された。全標識体及びテポチニブに対する M506 の AUC 幾何平均値の比はそれぞれ 40.4%、74.9%であった。LC-MS/MS 法を利用し、MSC2571109A 及び MSC2571107A の曝露量はテポチニブの曝露量のそれぞれ 64.6%、4.5%であった。ヒトマスバランス試験データはテポチニブ全体の排泄の 25%が関与する単一の代謝経路を解明することが出来なかった。

キラル代謝物 M506 はラットに最大 50 mg/kg のテポチニブを投与した初期の in vivo 試験では検出されなかったが、最大 2000 mg/kg のテポチニブを投与した毒性試験では検出された。血漿中濃度及び曝露量の比較から、ラットにおける循環主成分は MSC2156119J（テポチニブ）、MSC2571109A（テポチニブの投与間隔ごとの血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC_τ）の平均 11～37%）及び MSC2571107A（テポチニブの平均 AUC_τ の 8～26%）であった（CTD2.6.6、3.3 項参照、報告書番号 [redacted]-DA0061-0）。

キラル代謝物 M506 はイヌ TK サンプル（イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験）において低濃度検出されたことから、M506 は不均衡代謝物（毒性試験に使用した動物種よりもヒトで高い濃度を示す）であるものの、ヒトに特異的な代謝物ではないことが示唆された。イヌ血漿中において、エナンチオマーである MSC2571109A 及び MSC2571107A の両代謝物が曝露され、その曝露量は MSC2571109A に比べて MSC2571107A の方が約 2～4 倍高値であった。両エナンチオマー代謝物の曝露量はテポチニブの用量にわずかに比例し、反復投与後顕著な蓄積を伴った（CTD2.6.6、3.9 項参照、報告書番号 [redacted]-GR108-V0 及び [redacted]-GR019-P0）。M506 両エナンチオマーの曝露量の観点から、イヌにテポチニブを経口投与したとき、血漿中における MSC2571107A の曝露量は MSC2571109A に比べて 6.6 倍高値であったイヌ AME（吸収、代謝、排泄）試験と同様の結果が得られた。（CTD2.6.5、10 項、表 10 参照、報告書番号 G-A-VIV-[redacted]-023）。全代謝物パターンから、ラット及びイヌは非臨床安全性試験の適切な動物種であることが示唆された。

3.5 排泄

試験に用いた全動物種において、主排泄経路は糞中であり、テポチニブの主排泄物は未変化体であった。

ラットに ^{14}C-テポチニブを静脈内投与したとき、投与後 120 時間におけるテポチニブ関連放射活性の糞中排泄率は雄で 86.1%、雌で 91.1%であった。一方、尿中排泄率は雄で 10.8%、雌で 16.9%であった。投与後 24 時間以内に総放射能の 72.9%（雄）が胆汁中から排泄されたことから、テポチニブは胆汁排泄が主排泄経路であることが示唆された（CTD 2.6.5、14 項、表 14-A 参照、報告書番号 DMPK155-[redacted]）。

雌イヌに 10 mg/kg の ^{14}C-テポチニブを経口投与したとき、投与後 192 時間で 91.4%の薬剤関連放射活性が糞中から、0.497%が尿中から排泄された（CTD 2.6.5、10 項、表 10-B 参照、報告書番号 G-A-VIV[redacted]-023 [[redacted]-DA0487-0]）。

男性健康被験者において、91.9%（幾何平均値）の標識体が排泄物から回収された。全放射活性は主に糞中（77.9%）から回収された。わずか 13.6%の放射活性が尿中から回収されたことから、尿中排泄は主排泄経路でないことが示唆された。未変化体のテポチニブの糞中及び尿中排泄率はそれぞれ 45%、7%であった。キラル代謝物 M506 の糞中排泄率はわずか約 3%であった。このことから、M506 は血漿曝露量がテポチニブに比べて高値であり主代謝物であったにもかかわらず、主代謝経路ではないと考えられた（CTD2.7.2、2.7 項参照、報告書番号 EMR200095-007）。

3.6 テポチニブが引き起こす薬物間相互作用

テポチニブは CYP1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1 及び 3A4/5 に対して、臨床に影響を与える程度の直接又は時間依存的阻害を示さなかった。CYP1A2、2B6 及び 3A4/5 補酵素に対する（酵素活性レベルでの）誘導は認められなかった。しかしながら、CYP3A4 mRNA の誘導は認められた（CTD2.6.5、13 項、表 13-D 参照、報告書番号[redacted]-QPD045-P0）。静的薬物速度論モデルから、テポチニブ（臨床予定用量 : 500 mg）を併用投与したとき、プローブ基質の AUC の変化が認められた。このことから、テポチニブは CYP3A4 の誘導に基づく DDI の可能性を否定できない（CTD2.6.5、16 項、表 16-Q 参照、報告書番号[redacted]-DA0624-0）。テポチニブはヒト肝ミクロソームにおいて、UGT1A9 及び 2B17 活性を IC_{50}=3.8 μM、6.1 μM でそれぞれ直接阻害した。これに反して、その他の UGT 酵素、UGT1A1、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6、UGT2B7 及び UGT2B15 は試験で用いた最高濃度 15 μM において、それぞれ 27%、22%、23%、0%、4.8%、23%の阻害率であったことから、直接阻害率は 50%以下であった（CTD2.6.5、13 項、表 13-G 参照、報告書番号 XT[redacted]5024）。ヒトに 500 mg のテポチニブを投与したとき、定常状態における遊離型の最高血漿中テポチニブ濃度は 0.05 μM であった（CTD2.6.2、表 4 参照）。in vitro 試験における 8 種類の UGT の IC_{50} 値及び標準モデルに基づいて、UGT1A9 及び 2B17 の AUC 比（R_{AUC}）はそれぞれ 1.08、1.05、その他の UGT 補酵素は 1.02 未満であったことから、テポチニブによる UGT 阻害の臨床リスクは UGT1A9 及び 2B17 において可能性は低く、その他の 6 種類はその可能性を否定できることが示唆された（CTD2.6.5、16 項、表 16-Q 参照、報告書番号[redacted]-DA0624-0）。

薬剤排出トランスポーターBSEP 及び OAT3 はテポチニブの最高濃度 12.8 μM 及び 300 μM において阻害されなかった（CTD2.6.5、16 項、表 16-E 及び表 16-N 参照、報告書番号 DMPK 32-[redacted] 及び PCT-114-[redacted] [redacted]-DA-273-0]）。また、OCT2（IC_{50}=67 μM）、OATP1B1（IC_{50}=177 μM）、OATP1B3（IC_{50}=35 μM）及び OAT1（IC_{50}=271 μM）への阻害作用は弱く、臨床に関連する DDI リスクをもたらす可能性はないと予想された（CTD2.6.5、16 項、表 16-H 及び表 16-N 参照、報告書番号 PCT-063-[redacted] 及び PCT-114-[redacted]）。しかしながら、テポチニブは P-gp、BCRP、OCT1、MATE1 及び MATE2K を阻害し、見かけの

IC_{50} がそれぞれ 0.41、1.9、2.3、3.6、1.1 μM であったことから、テポチニブは腸管及び全身に対して DDI を引き起こす可能性が示唆された（CTD2.6.5、16 項、表 16-A、表 16-B、表 16-G 及び表 16-K 参照、報告書番号 DMPK57-[redacted]、DMPK55-[redacted]、DMPK24-[redacted] 及び PCT064-[redacted]）。

500 mg のテポチニブを経口投与したとき、MSC2571109A の血漿曝露量はテポチニブ AUC の 25%以上であったことから、CYP 及び薬剤排出トランスポーターに関連した DDI の可能性について評価した。MSC2571109A は CYP1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1 及び 3A4/5 を臨床関連性のある程度で阻害しなかった（IC_{50}=8.8～15 μM 超）。しかしながら、CYP3A4/5 の mechanism-based inhibition が認められた。また、MSC2571109A は CYP3A4 mRNA 及び 2B6 mRNA の増加を誘導した。in vitro 試験における静的薬物速度論モデルに基づいて、テポチニブ及びその代謝物 MSC2571109A は臨床予定用量（500 mg）で CYP 代謝酵素である CYP3A4 を誘導する可能性がある。一方、MSC2571109A は臨床予定用量において、CYP によって代謝される薬物の CL を減少させる可能性も示唆された。このことから、テポチニブの CYP3A4 誘導又は阻害に対する相対的効果を DDI 試験によって評価した。テポチニブは CYP3A の基質であるミダゾラムとの DDI を示さず、テポチニブを反復投与したとき、ミダゾラム及びその主活性代謝物である 1-ヒドロキシミダゾラムの PK プロファイルに影響を与えなかったし（CTD2.7.2、2.10 項参照、報告書番号 MS200095-0030）。

ヒト循環主代謝物（MSC2571109A）はヒト肝ミクロソームにおいて、UGT1A1、1A3、1A4、1A9、2B15 及び UGT2B17 活性を IC_{50}=1.1、5.8、6.2、3.6、9.6、2.2 μM でそれぞれ直接阻害した。対照的に、UGT1A6 及び 2B7 は試験で用いた最高濃度 15 μM において、それぞれ 0%、16%であったことから、直接阻害率は 50%以下であった（CTD2.6.5、13 項、表 13-G 参照、報告書番号 XT[redacted]5024）。テポチニブ同様、UGT1A9 及び 2B17 の RAUC はそれぞれ 1.04、1.02、その他の UGT 補酵素は 1.02 未満であったことから、の UGT1A9 及び 2B17 において、MSC2571109A の UGT 阻害の臨床リスク可能性は低いことが示唆された（CTD 2.6.5、16 項、表 16-Q 参照、報告書番号[redacted]-DA0624-0）。

一方、患者における MSC2571109A の予備的最高血漿中濃度を考慮した計算は OATP1B3、OAT1、OAT3 及び MATE1 の in vitro 阻害並びに in vivo において、関連性を示さなかった（IC_{50}=3.3 μM 以上）。in vitro において、OATP1B1、OCT1、OCT2 及び MATE2K の基質と併用した場合の DDI リスクは MSC2571109A が IC_{50}=0.8 μM 未満で阻害したため、その可能性を否定することは出来なかった。詳細は CTD 2.6.4、7.1.3 項に記載した（CTD 2.6.5、16 項、表 16-Q 参照、報告書番号[redacted]-DA0624-0）。

ヒト DDI 試験において、テポチニブの P-gp 阻害能を評価した結果、テポチニブはダビガトランの PK パラメータに対する影響は軽度であると証明された（CTD 2.7.2、2.11 項参照）。

3.7 テポチニブが受ける薬物間相互作用

テポチニブが受ける DDI として、CYP3A4 及び 2C8 のいずれかを阻害又は誘導する併用薬物がテポチニブの酸化的代謝に関与する可能性は低く、臨床関連性はないと考えられた。ヒトマスバランス試験データ（報告書番号 EMR200095-007）はテポチニブ全体の排泄の 25%が関与する単一の代謝経路を解明することが出来なかった（CTD 2.4.3、4 項参照、報告書番号 EMR200095-007）。テポチニブは肝トランスポーターの基質であるが、これらの肝取り込みは肝血流量によって制限されるため、臨床関連性のある DDI を引き起こす可能性はないと考えられる。また、テポチニブ及び MSC2571109A は肝又は腎トランスポーターである OATP、OCT 及び MATE の基質ではない（CTD 2.6.5、16 項、表 16-O 及び表 16-P 参照、報告書番号 PCT-121-[redacted] 及び PCT-122-[redacted]）。テポチニブは P-gp の基質として

同定されたが（CTD 2.6.5、3 項、表 3-A 及び表 3-B 参照、報告書番号 DMPK 52-[redacted] 及び DMPK 140-[redacted]）、BCRP、MRP2 及び MATE1 の基質である可能性は低い又はなかった（CTD 2.6.5、16 項、表 16-F、表 16-J 及び表 16-I 参照、報告書番号 TNO 9518、9626-02 及び PCT-065-[redacted]）。P-gp を阻害又は誘導する薬物と併用投与した場合、臨床関連性のある DDI の可能性を否定することはできない。一方、曝露量の変化から、BCRP、MRP2、OATP、OCT 及び MATE を阻害又は誘導する薬物と DDI を引き起こす可能性はないと考えられる。

ICH S9 ガイドラインに準拠して、MSC2571109A が標的となる in vitro 試験は実施していない。IC_{50} を標準化し、未変化体の曝露量を考慮した予備的推定において、ヒトにおけるテポチニブの全体的な薬理活性に対するこの循環主代謝物の寄与は低く、最大で 16%であることが示唆された（CTD 2.6.5、16 項、表 16-Q 参照、報告書番号[redacted]-DA0624-0）。

3.8 有効用量予測

臨床推奨用量はトランスレーショナルモデリングアプローチによって定義された。KP-4 担癌マウスを用いたモデルにおける有効性及び PD プロファイルから、テポチニブが腫瘍縮小を達成するためには、MET キナーゼ活性のほぼ完全な阻害（MET リン酸化を 95%以上減少）が必要であることが示唆された。この PD 閾値を達成するため、テポチニブは固形癌患者に対して 1 日 1 回 500 mg 投与することで、有効性が得られると提案された。この投与量は患者集団の 90%で MET を 95%以上持続的に抑制すると予測されている（2.3.1 項、CTD 2.6.2、2.3 項及び CTD 2.6.5、17 項、表 17-B 参照、報告書番号 RF6770）。

4. 毒性試験

テポチニブの毒性試験は、1 項に示した非臨床試験計画に従って実施した。毒性試験の詳細は毒性試験の概要文（CTD2.6.6）及び概要表（CTD2.6.7）に示す。テポチニブの毒性プロファイルを、マウス、ラット、ウサギ、及びイヌを用いて、in vitro 及び in vivo の試験系で検討した。ヒト及び複数の動物種から得た in vitro 代謝プロファイリングの結果に基づき、非臨床安全性評価に適切な動物種としてラット及びイヌを選択した（CTD2.6.4、5 項参照）。選択された動物種の妥当性は、その後の in vivo 代謝試験及び反復投与毒性試験における代謝物の測定によっても確認された。特に、ヒトで生成される主要な循環血中代謝物である MSC2571109A は、ラット及びイヌにも存在することが示された。

4.1 単回投与毒性試験

ラット及びマウスを用いた単回投与毒性試験では、2000 mg/kg の用量で毒性は認められなかった。イヌの急性毒性に関する情報は、13 日間経口投与用量漸増試験（報告書番号 T8420）から得られ、45 mg/kg までの忍容性は臨床的に良好であったが、より高用量の 90 及び 180 mg/kg では摂餌量減少及び体重減少が認められた。

4.2 反復投与毒性試験

投与期間の異なる重要な反復投与毒性試験として、亜急性毒性試験（ラット及びイヌで 4 週間投与）、亜慢性毒性試験（イヌで 13 週間投与）及び慢性毒性試験（ラットで 26 週間、イヌで 39 週間投与）が、臨床の用法に合わせた 1 日 1 回の経口投与で実施されている。

270 mg/kg/日までの用量を用いた初期のラットの反復投与毒性試験において、NOAEL は、2 つの 4 週間投与毒性試験では 90 mg/kg/日、26 週間投与試験では 45 mg/kg/日と判断されたが、MTD は特定されなかった（CTD2.6.6、3 項参照、報告書番号 T16157、T16193 及び T16179）。病理組織学的検査により、軽度の肝細胞肥大、甲状腺濾胞上皮の軽度な活性化、及び腸間膜リンパ節でのマクロファージ集簇が、4 週間投与試験では 270 mg/kg/日で、26 週間投与試験では 135 mg/kg/日で認められた。さらに、4 週間投与試験の高用量である 90 及び 270 mg/kg/日、及び 26 週間投与試験の高用量である 45 及び 135 mg/kg/日で、テポチニブ投与に関連した肺胞でのマクロファージの集簇（泡沫細胞）が、一部の雌に認められた。この肺及びリンパ節でのマクロファージの集簇には回復性があり、炎症反応を伴っていなかった。したがって、これらの変化は毒性ではなく、反応性の変化であると考えられた。また、すべての試験において、血清肝酵素値の軽度ながら用量依存的な上昇が認められた。雌における甲状腺濾胞上皮の活性化を除き、観察されたすべての変化は可逆的であるか、回復傾向を示した。甲状腺濾胞上皮の活性化は、生体異物による肝細胞での代謝亢進に関連した二次的な代償性変化として知られている（Hall 2012）。

MTD を確認するため、ラット4 週間反復経口投与毒性試験の追加試験（CTD2.6.6、3.3 項参照、報告書番号[redacted]-DA0061-0）を実施した。さらに、この試験では、4 種類の原薬不純物 不純物1*（遊離塩基を使用）、 不純物2* 、 不純物6* 、 不純物3* 及び 不純物4* の安全性確認と、ヒトでの主要代謝物であるMSC2571109A がこの動物種で生成するかどうかの確認を目的とした。各原薬不純物を被験物質に添加して、 不純物1* 、 不純物2* 、 不純物3* 及び 不純物4* の被験物質中の終濃度をそれぞれ0.34%、0.26%、0.28%及び0.25%とした。2000 mg/kg/日では忍容性が認められなかったため、約1 週間の投与後、早期に動物を安楽死させた。この群の剖検では、胃の極端な膨満と、内容が粘液のみの腸が観察された。

次に高い用量である 450 mg/kg/日をこの試験の MTD と判断したが、明らかな毒性症状はみられなかった。しかし、450 及び 2000 mg/kg/日の両用量では、投与に関連した病理組織学的所見が多くの臓器で認められた。これらのうち、肺の炎症を伴う泡沫細胞（マクロファージ集簇）、肝臓での肝細胞壊死及び単核球浸潤、並びに大腸上皮又は粘膜固有層での顆粒球浸潤を伴う単細胞壊死が毒性と判断された。これまでのラットの試験でも認められていた肺での泡沫細胞集簇は、この試験では同じ領域に軽微な混合型の細胞浸潤を伴った炎症反応と考えられ、毒性と判断された。しかしながら、この変化は、比較的高用量（450 mg/kg/日）の被験物質投与による代謝的過負荷の続発症として生じた可能性が高いと考えられた。なお、ラットを用いたいずれの反復投与毒性試験においても、被験物質に関連した呼吸異常の症状は認められなかった。大腸で認められた炎症性変化を伴う単細胞壊死は、比較的高用量の被験物質投与後の消化管輸送障害に続発したものであって、大腸における直接的な毒性作用ではないと考えられる。90 mg/kg/日では、過去の試験で認められたものと同様な、毒性とは考えられない軽微な病変のみが認められたことから、この用量がこの試験の NOAEL であると判断した。4 種類の不純物を添加したことに起因すると考えられる新たな又は付加的な毒性は、これまでの試験で同じ用量のテポチニブを投与した動物と比較して認められなかった。

イヌの反復経口投与毒性試験での NOAEL は、4 週間投与及び 39 週間投与試験では 10 mg/kg/日、13 週間投与試験では 30 mg/kg/日であった（CTD2.6.6、3 項参照、報告書番号 T8421、T8427 及び[redacted]-DA009-N0）。10 mg/kg/日の用量は、4 週間投与試験の次の用量である 40 mg/kg/日が、個別の動物の摂餌量と体重の有意な減少によって忍容性がないと判断されたことから、慎重を期して MTD と判断した。13 週間及び 39 週間投与試験では、検討した最高用量である 30 mg/kg/日で臨床的な忍容性が認められ、MTD は特定されなかった。消化器症状は、4 週間反復経口投与毒性試験では 2.5 mg/kg/日以上の群で、13 週間及び 39 週間投与試験では 3 mg/kg/日以上の群で発現した。その内訳は、用量依存的な発現頻度及び重症度の嘔吐並びに軟便、血液が混入した粘液便、又は下痢であり、体重減少及び摂餌量減少を伴っていた。イヌのすべての反復投与試験において、肝胆道系が主要な毒性の標的器官であることが確認された。肝胆道系パラメータであるグルタミン酸脱水素酵素、アラニントランスアミナーゼ、アスパラギン酸トランスアミナーゼ、アルカリホスファターゼ、ビリルビン（直接、総及び間接）の血清中濃度の増加が、イヌのすべての反復投与毒性試験でみられ、イヌの 4 週間及び 39 週間投与試験では顕著な胆管炎及び胆管周囲炎、並びに肝臓での炎症性細胞浸潤もみられた。これらの変化は、いずれも可逆的であるか、回復傾向を示した。

反復投与毒性試験の TK 評価では、投与期間を通してすべての動物がテポチニブに曝露されていたことが示され、雌の曝露量が雄よりも高い傾向（最大約 3 倍）が観察された。反復投与毒性試験全体として、曝露量はテポチニブの用量と供に増加したが、用量比例性は下回った。反復投与後のテポチニブの蓄積はごくわずかであった。

要約すると、反復投与毒性試験で特定された毒性の標的器官は、肝胆道系（ラット及びイヌ）であった。さらに、イヌでは嘔吐及び下痢などの消化器症状が認められたが、関連する病理組織学的所見は認められなかった。

4.3 遺伝毒性試験

細菌及び哺乳類細胞を用いた 2 種の in vitro 試験、及びラットを用いた in vivo 小核試験で、テポチニブに遺伝毒性は認められなかった（CTD2.6.6、4 項参照、報告書番号 T17192、T17188 及び T17266）。

4.4 生殖発生毒性試験

ウサギにおける胚・胎児発生に関する 2 回の予備試験において、50 mg/kg/日以上の用量で母体毒性がみられ、5 mg/kg/日以上で用量依存的な胎児の骨格異常（肩胛骨の奇形或いは鎖骨・踵骨・距骨の位置異常を伴った前肢又は後肢の奇形）の頻度増加がみられた。また、この用量での AUC の平均値は、投与期間終了時で 56.7 ng· h/mL であった（CTD2.6.6、6 項参照、報告書番号 RF0480 及び RF5400）。以上の結果から、テポチニブに催奇形性があるとの結論には十分であると考えられ、ICH S9 ガイドラインに従い、それ以上の胚・胎児発生に関する試験は実施しなかった。50 及び 150 mg/kg/日群の腎臓では、対照群又は背景データに比べて、腎実質の石灰化、好塩基性尿細管、及び尿細管の拡張の頻度と程度（軽微~中等度）の増加が認められた（報告書番号 RF0480）。これらの所見は、母体の一般状態の変化に関連したものであると考えられた。なお、ラット及びイヌを用いた慢性期の投与期間を含む反復経口投与毒性試験では、腎毒性の徴候は認められず、腎臓の変化とテポチニブとの間に直接的な関連性はないものと考えられる。

ウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する試験において、胎児骨格異常の増加が認められた最低用量である 5 mg/kg/日、及び胚・胎児への影響に関する NOAEL である 0.5 mg/kg/日におけるウサギの曝露量と、臨床用量 500 mg/日でのヒトの曝露量との比較を表 4 に示す。

表 4　ウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する試験とヒト 500 mg/日投与時のテポチニブ曝露量の比較

Species	Type of study	Route	Dose	Mean Total C_{max} (ng/mL)	Mean Total AUC (ng·h/mL)	C_{max} Total ratio (A/H)%	AUC Total ratio (A/H)%
Rabbit	Embryo-fetal Toxicity	Oral	5 mg/kg/day	4.62[a]	56.7[a]	0.36	0.21
	Embryo-fetal Toxicity	Oral	0.5 mg/kg/day	0.27[a]	3.1[a]	$2.1x10^{-2}$	$1.1x10^{-2}$
Human	NA	Oral	500 mg/day	1291[b]	27438[b]	-	-

Source Study Reports: Nonclinical Study Report RF5400 and Clinical Study Report EMR200095-001
A: Animal; AUC: area under the concentration vs time curve, C_{max}: maximum plasma concentration, H: Human; NOAEL: No observed adverse effect level
a: Mean values on Gestation Day 18 (refer to study RF5400).
b: Geometric mean measured on Day 14 in Clinical Study Report EMR200095-001 (refer to Section 2.7.2).

ウサギの胚・胎児発生への影響が認められた最低用量での曝露量は、臨床用量 500 mg/日でのヒト曝露量より数桁低い（総 AUC はヒトの値の 0.21%）。ウサギの胚・胎児発生への影響に関する NOAEL での曝露量は、ヒト曝露量に対してさらに桁数が低い値（総 AUC はヒトの値の 0.011%）となる。

テポチニブの適応が進行癌であることから、ICH S9 ガイドラインに従い、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、及び出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験は実施しなかった。テポチニブの一般毒性試験における生殖器の病理組織学的検査では、影響は何も認められなかった。ラット 26 週間反復経口投与毒性試験の投与期間終了時に実施した精子検査（精子の形態及び運動性を確認）では、投与の影響は認められなかった。以上の試験成績から、テポチニブが受胎能に影響を及ぼすリスクはないと考えられた。

テポチニブは小児患者での使用を意図していないため、幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。この点に関しては、テポチニブの投与対象である NSCLC は成人集団のみで発現する、という根拠に基づき、小児集団の全ての区分について開発の適用除外を受けることについて、EMA 小児委員会（Paediatric Committee; PDCO）の同意を 20[redacted] 年に得ている（EMEA-002345-PIP01-[redacted] 参照）。

4.5　局所刺激性

本薬は経口投与される錠剤として開発されており、局所刺激性試験は実施していない。胃及び腸管の病理組織学的検査が反復経口投与毒性試験に含まれており、局所刺激性として毒性学的意義のある所見は認められなかった（CTD2.6.6、3 項参照）。

4.6 その他の毒性試験

4.6.1 免疫毒性

ラット及びイヌの反復投与毒性試験で得られた血液学的検査、血液生化学的検査、リンパ器官（胸腺、脾臓、リンパ節など）の絶対及び相対臓器重量、並びに病理組織学的検査の結果は、テポチニブの免疫毒性を示唆するものではなかった。さらに、ラット反復投与毒性試験で実施した血中免疫細胞のフローサイトメトリー（総 B 細胞数、総 T 細胞数、ヘルパーT 細胞数、細胞傷害性 T 細胞数、及びナチュラルキラー細胞数、並びにそれらの割合）では、毒性学的に意味のある所見は認められなかった。

4.6.2 代謝物の毒性試験

ヒトでの主要な循環代謝物の一つである MSC2571109A、すなわちキラル代謝物 M506（MSC2569775）の R-鏡像異性体は、ヒトマスバランス試験の終了後に初めて同定された。ラット及びイヌの反復投与毒性試験の追加解析から、この代謝物は両動物種で生成されることが示され、この点からも、ラット及びイヌはヒトの安全性評価に適切な毒性動物種であることが確認された。さらに、MSC2571109A の遺伝毒性試験を実施し、この代謝物に遺伝毒性はないことが示された（CTD2.6.6、8.2 項参照、報告書番号 [redacted]-DA172-N0 及び [redacted]-DA192-N0）。

4.6.3 不純物の毒性試験

原薬中に存在する可能性がある不純物については、in silico SAR 評価により変異原性を評価し、規格値（許容上限値）は ICH M7（R1）ガイドラインの勧告に従って設定した。

7 種類の有機不純物、すなわち 不純物1* （旧記号: 不純物6* ）、 不純物2*、不純物3* 、 不純物5* 、 不純物4* 、 不純物7* （旧記号: 不純物8* ）及びトリフェニルホスフィンオキシド（triphenylphosphine oxide; TPPO）を同定し、規格値を設定した。これらの不純物は、TPPO を除き、いずれもテポチニブと構造的に類似している。

不純物 不純物7* 及びTPPO の許容上限値は、臨床推奨用量である500 mg/日を ICH Q3A ガイドラインに照らして、安全性確認の必要な閾値である0.15%に設定した。不純物 不純物1* 及び不純物5* の許容上限値は 0.25%、不純物 不純物2* 、 不純物3* 及び 不純物4* の許容上限値は 0.20%であり、ICH Q3A ガイドラインの安全性確認の必要な閾値を上回っている（CTD3.2.S、4.5 項参照）。

臨床試験でヒト代謝物としても同定された不純物 不純物7* （報告書番号 [redacted]-GR004-C0）は、ICH Q3A ガイドラインに基づいて安全性が確認されたものと考えることができる。この安全性が確認された量は、臨床用原薬ロットでのこの不純物に予定されている許容上限値である0.15%よりも約 15 倍高い。

公表されている遺伝毒性試験の成績、及び最近の SAR 評価で変異原性に対する警告構造が認められなかったことから、TPPO に変異原性はない。さらに、ラット及びイヌを用いた亜慢性毒性試験（これらの試験の中で、最も低い NOAEL は、イヌの 13 週間反復経口投与毒性試験における 2 mg/kg/日

であった）で安全性が確認された量は、TPPO について予定されている許容上限値 0.15%を支持するものである。

その他の特定された不純物についての規格値で、ICH Q3A ガイドラインに示されている安全性確認のための閾値を超えた値のものについては、各不純物について実施した遺伝毒性試験で得られた陰性の結果、及びラットの 4 週間反復経口投与毒性試験の NOAEL において、投与された各不純物の量に基づいて安全性が確認されている（CTD2.6.6、8.3 項参照）。

4.6.4 光毒性試験

テポチニブの紫外-可視光吸収帯及び吸光係数の測定結果、及び in vitro 光毒性試験の結果は、テポチニブが光毒性を有する可能性を示唆したが、その後のラットを用いた in vivo 光毒性試験では、光毒性が認められなかった（報告書番号 AN170002、70/484 及び 20017987）。したがって、テポチニブに光毒性はないと考えられる（CTD2.6.6、8.4 項参照）。

5. 毒性試験所見と臨床有害事象の関連

本項では、本薬の治験で観察された臨床有害事象（adverse event; AE）に関連すると考えられる、主な非臨床毒性所見について述べる。また、最も高頻度に認められた AE 又は特定されたリスクと相関する可能性がある非臨床毒性所見の有無を評価するため、テポチニブの毒性試験成績についての遡及的解析を実施した。

動物を用いた反復投与毒性試験で特定された主な毒性標的器官は、肝胆道系（ラット及びイヌ）であった。さらに、イヌでは嘔吐や下痢などの消化器症状が認められたが、関連する病理組織学的所見は認められなかった。また、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、テポチニブ投与により骨格異常が誘発される可能性が示された。

テポチニブの臨床安全性プロファイルは、1 日 1 回、500 mg の用量のテポチニブの単剤投与を受けた種々の固形癌の患者でのテポチニブ曝露の影響を反映したものである。この患者には、主たる臨床試験（VISION 試験）に登録された METext14 スキッピング変異を有する進行 NSCLC 患者 130 例が含まれる。主たる臨床試験である VISION 試験において、テポチニブを 1 日 1 回 500 mg 単剤投与したところ、NSCLC 患者における安全性プロファイルは許容可能かつ管理可能であった。全体として、認められた AE は原疾患の NSCLC に典型的なもの、又はテポチニブの作用機序に関連するものであった。間質性肺疾患（interstitial lung disease; ILD）、浮腫、血中クレアチニン増加、低アルブミン血症、アミラーゼ及びリパーゼ増加、アラニンアミノ基転移酵素（alanine aminotransferase; ALT）及びアスパルギン酸アミノ基転移酵素（aspartate transaminase; AST）増加、並びに下痢は、テポチニブの特定されたリスク及び副作用であると考えられた（CTD2.7.4、2.1.5.1 項参照）。

5.1 肝胆道系

動物での反復投与毒性試験で特定された主な毒性の標的器官は、肝胆道系（ラット及びイヌ）である。ラットの反復投与毒性試験では、肝酵素［アルカリフォスファターゼ（alkaline phosphatase; AP）、ALT、AST］の用量依存的なわずかな上昇が認められた。26 週間反復投与毒性試験で 135 mg/kg/日を投与した雌ラットでは、軽度の肝細胞肥大（有害ではない、適応性の変化と考えられる）が認められ

た。さらに、最後に実施した 4 週間反復投与毒性試験では、450 及び 2000 mg/kg/日の用量で肝細胞壊死及び単核球浸潤が認められた。イヌでは、すべての反復投与毒性試験において、肝胆道系パラメータ［グルタミン酸デヒドロゲナーゼ、ALT、AST、AP、ビリルビン（直接、総及び間接）］の増加が認められた。イヌを用いた 4 週間及び 39 週間反復投与毒性試験では、肝胆道系パラメータの増加に関連して、病理組織学的検査で顕著な胆管炎、胆管周囲炎及び肝臓の炎症性細胞浸潤が認められた。いずれの動物種でも、これらの変化はすべて可逆的であるか、回復傾向を示した。

ALT 或いは AST 増加は、テポチニブ投与を受けた NSCLC 患者で高頻度に認められた。これらの AE は主にグレードが低く（グレード 1 又は 2）、無症候性であった。これまでのところ、胆汁うっ滞性肝障害を示唆するビリルビンの増加は認められていない。トランスアミナーゼ上昇は特定されたリスクと考えられる（CTD2.7.4、2.1.5.1.6 及び 2.1.5.3.1 項参照）。患者から得られた安全性データでは、薬物性肝障害の徴候は認められず、肝機能及び臨床検査パラメータに関連した試験治療下で発現した有害事象（TEAE）の包括的解析では、テポチニブを投与された患者における肝毒性のリスクは示されなかった（CTD2.7.4、2.1.5.3.1 及び 3.2.1.2 項参照）。

5.2 胃腸障害

イヌの反復投与毒性試験では、検討したすべての投与量（2.5 mg/kg/日以上）で嘔吐及び下痢などの胃腸障害が高頻度に認められた。また、ラットの 4 週間反復投与毒性試験でも、2000 mg/kg/日の用量で軟便が認められた。

下痢、悪心などの胃腸障害もテポチニブ投与患者で多く認められた AE として報告されている（CTD2.7.4、2.1.5.1.7 及び 2.1.5.2 項参照）。

5.3 胚・胎児への影響

ウサギにおける胚・胎児発生に関する 2 つの試験では、母体毒性（50 mg/kg/日以上の用量で発現）及び骨格異常の用量依存的な増加（催奇形性）が、5 mg/kg/日以上の用量で認められた。ウサギで認められた骨格異常の増加は、MET が胚発生で重要な役割を果たしていることから、本薬の作用機序に関連するものと考えられる。

妊婦へのテポチニブ投与に関する臨床データはない。本薬の作用機序及び動物での所見から、テポチニブは妊婦に投与すると胎児に悪影響を及ぼす可能性がある。

5.4 間質性肺疾患

ILD は、肺胞壁及び肺胞周囲組織における種々の病態を含んだ疾患群である。ILD はテポチニブの重要な特定されたリスクと定義されている。複数の MET 阻害薬を含む幾つかのチロシンキナーゼ阻害薬で ILD の事象が報告されており、それらの作用機序と関連している可能性がある（CTD2.7.4、2.1.5.1.1 項参照）。

テポチニブ投与患者で使用された ILD に合致する可能性がある AE を示す基本語には、急性呼吸不全、間質性肺疾患、肺臓炎、及び異型肺炎が含まれていた。

ラットでは、最初に実施した 4 週間反復投与毒性試験の 90 及び 270 mg/kg/日群及び 26 週間反復投与毒性試験の 45 及び 135 mg/kg/日群の一部の雌で、肺に炎症反応を伴わない肺胞マクロファージの

集簇（泡沫細胞）が認められた。また、最後に実施したラットの 4 週間反復投与毒性試験では、軽微な混合型細胞浸潤を伴う肺胞マクロファージの集簇が、450 mg/kg/日群で認められ、これは高用量を投与した後の代謝的な過負荷の続発症と考えられた。ラット及びイヌを用いたいずれの反復投与毒性試験においても、被験物質に関連した呼吸困難及びその他の肺の変化は認められなかった。ラットのみで認められた肺の所見（肺胞マクロファージの集簇）と、患者において特定されたリスクである ILD との関連は不明である。

5.5 末梢性浮腫

末梢性浮腫は、テポチニブ投与後に最も多く報告された因果関係を否定できない AE であった。

テポチニブの投与を受けた患者で浮腫が発現する機序は明らかでない。入手可能な安全性データは、浮腫が報告された低アルブミン血症と部分的にしか関連していないことを示している（5.6 項）。複数の適応症にわたって複数の MET 阻害薬で浮腫が報告されており、MET の情報伝達経路を阻害する薬剤のクラスエフェクトである可能性がある（CTD2.7.4、2.1.5.1.2 項参照）。テポチニブの in vivo 非臨床毒性試験では、末梢性浮腫の徴候は認められなかった。

5.6 血液生化学的検査値の変化（血中クレアチニン、アミラーゼ/リパーゼ、アルブミン）

テポチニブ投与を受けた患者では、血中クレアチニンの増加が多く報告された。血中クレアチニン増加の AE はすべて軽度であり、非重篤であった（CTD2.7.4、2.1.5.1.3 及び 3.2.2 項参照）。薬物動態試験で、テポチニブは、クレアチニンを基質とする OCT2 及び MATE1 トランスポーター蛋白質の阻害剤であることが示され、いくつかの薬剤は OCT2 及び MATE1 トランスポーターの阻害により血清クレアチニン濃度を上昇させることが示されている。

ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験では、クレアチニン値に意味のある変動は認められなかった。ラットの 4 週間反復投与毒性試験の 270 mg/kg/日群でわずかな増加が認められたが、試験施設の正常値の範囲内の値であった。

NSCLC 患者を対象とした臨床試験では、無症候性の膵酵素（リパーゼ及びアミラーゼ）増加が報告されている。全体として、アミラーゼ増加及びリパーゼ増加は非重篤であり、投与中止には至らなかった（CTD2.7.4、2.1.5.1.5 及び 3.2.3 項参照）。これらの検査項目を測定した 2 つの反復投与毒性試験（ラットでは 2000 mg/kg/日までを投与した 4 週間反復投与試験、及びイヌでは 30 mg/kg/日までを投与した 39 週間反復投与毒性試験）において、ラット及びイヌのアミラーゼ及びリパーゼに変化は認められなかった。

低アルブミン血症は NSCLC 患者で多く報告され、主に非重篤、軽度又は中等度であった。テポチニブ投与に伴う低アルブミン血症に至る機序は不明である。低アルブミン血症は複数の MET 阻害剤で報告されている（CTD2.7.4、2.1.5.1.4 及び 3.2.4 項参照）。

血清アルブミン値の減少は、様々な投与期間の反復投与毒性試験を通して、ラット及びイヌの両方で一貫して認められた。この減少は概ね軽度であり、休薬期間後には回復した。この所見は軽度であることから、毒性学的意義はないと判断された。

6. ヒト及び動物のテポチニブ曝露量の比較

本項では、主要な反復投与毒性試験における MTD 又は最高用量での曝露量について考察する。さらに、慢性毒性試験の NOAEL における曝露量についても同様に考察する。いずれの場合にも、臨床推奨用量である 500 mg/日を患者に投与したときの曝露量との比較も示している。

ラット、イヌ及びヒトにおけるテポチニブの総曝露量を比較したところ、ヒトに治療用量の 500 mg/日を投与したときの定常状態における C_{max} 及び AUC は、毒性試験の動物での測定値よりも概して高かった。非臨床試験では臨床試験と異なるバッチのテポチニブ原薬が使用されている（CTD2.6.7、4 項参照）。重要な反復投与毒性試験は、最後に実施したラットの 4 週間反復経口投与毒性試験（報告書番号[redacted]-DA0061-0）及びイヌの 39 週間反復経口投与毒性試験（報告書番号[redacted]-DA009-N0）を除き、いずれも[redacted]原薬を用いている。臨床試験及び非臨床 in vivo 試験全体から、テポチニブを[redacted]原薬として投与したとき、経口曝露量が増加することが示されている（3.2 項）。

ラット及びイヌの投与期間が異なる主要な反復投与毒性試験において、MTD 又は試験した最高用量（MTD が特定できなかった場合）で投与期間終了時に測定した平均曝露量（C_{max} 及び AUC）をヒトの曝露量と比較した概要を表 5 に示す。

表 5　反復投与毒性試験の MTD 又は最高用量とヒト 500 mg/日投与時のテポチニブ曝露量の比較

Species	Dose	Drug substance batch	Duration	Total (Free[a]) C_{max} (ng/mL)	Total (Free[a]) AUC (ng·h/mL)	Animal/Human ratio%	
						C_{max} Total (Free[a])	AUC Total (Free[a])
Rat	450 mg/kg/day	EE18000982 (micronized)	4 weeks[b]	1070[c] (42.8)	19950[c] (798)	83 (166)	73 (145)
	135 mg/kg/day[d]	EE102104 (non-micronized)	26 weeks	152[c] (6.1)	2216[c] (89)	12 (24)	8 (16)
Dog	10 mg/kg/day[e]	5 (non-micronized: small particle size)	4 weeks	72[c] (2.9)	692[c] (45)	6 (11)	3 (8)
	30 mg/kg/day[d]	EE102104 (non-micronized)	13 weeks	49[c] (3.2)	705[c] (46)	4 (12)	3 (8)
	30 mg/kg/day[d]	EE13001582 (micronized)	39 weeks	404[c] (26.3)	4900[c] (319)	31 (102)	18 (58)
Human	500 mg/day	EE12000324, EE12000924 (micronized)	14 days	1291[f] (25.8)	27438[f] (549)	-	-

Source Study Reports: [redacted]-DA0061-0, T16179, T 8421, T 8427, [redacted]-DA009-N0, DMPK 144-[redacted]; EMR200095-001
AUC: Area under the concentration vs time curve, C_{max}: Maximum plasma concentration; MTD: Maximum tolerated dose, NOAEL: No-observed-adverse effect-level.
a: Calculated by the author based on fraction unbound f_u(%) in rat, dog and human of 4, 6.5 and 2 respectively measured at a concentration of 1 µM

b: Data refer to the last 4-week study conducted in rat at doses up to 2000 mg/kg using micronized drug substance (refer to Study Report [redacted]-DA-0061-0). The dose of 450 mg/kg was determined as the MTD in this study.
c: Values represent the arithmetic mean of male and female animals on last week of dosing.
d: Highest tested dose.
e: This dose was determined as the NOAEL; it is also conservatively considered the MTD in this study.
f: Geometric mean values from study EMR200095-001 using Tablet Formulation 1 in late-stage cancer subjects, Regimen 3, n = 18 on Day 14.

[redacted]原薬を用いた場合、毒性試験に使用した動物の MTD（又は最高試験用量）での総 C_{max} 及び総 AUC は、それぞれ対応する患者での値の 4～12%及び 3～8%であった。[redacted]原薬を用いたときには、曝露量は、ラット及びイヌでそれぞれ総 C_{max} で 31～83%、総 AUC で 18～73%に増加した。蛋白結合率の差を考慮すると、[redacted]原薬を用いたときの MTD でのラット及びイヌの曝露量は、ヒトの治療用量での曝露量と比較して同程度又はわずかに高かった。

幾つかの反復投与毒性試験間で曝露量に差があったにもかかわらず、ラット及びイヌにおけるテポチニブの毒性プロファイルは、毒性の主な標的器官が肝臓及び肝胆道系であるという点で全体的に一致していた。

治療現場でのテポチニブの慢性期での使用を考慮して、慢性毒性試験（ラットの 26 週間投与試験及びイヌの 39 週間投与試験）の NOAEL での曝露量とヒト臨床用量での曝露量の比較を表 6 に示す。

表 6　　慢性毒性試験の NOAEL とヒト 500 mg/日投与時のテポチニブ曝露量の比較

Species	Route	Dose	Duration (weeks)	Total (Free)[a] C_{max} (ng/mL)	Total (Free)[a] AUC (ng·h/mL)	Animal / Human ratio %	
						C_{max} Total (Free)[a]	AUC Total (Free)[a]
Rat	Oral	45 mg/kg/day	26 weeks	113[b] (4.63)	1061[b] (42.4)	9 (18)	4 (8)
Dog	Oral	10 mg/kg/day	39 weeks	91[b] (5.82)	1134[b] (73.7)	7 (23)	4 (13)
Human	Oral	500 mg/day	14 days	1291[c] (25.8)	27438[c] (549)	-	-

Source Study Reports: T16179, [redacted]-DA009-N0, DMPK 144-[redacted] and Clinical Study Report EMR200095-001
A: Animal, AUC: area under the concentration vs time curve, C_{max}: maximum plasma concentration; H: Human, NOAEL: No observed- adverse effect level.
a: Calculated by the author based on fraction unbound fu (%) in rat, dog and human of 4, 6.5 and 2 respectively measured at a concentration of 1 μM
b: Values represent the arithmetic mean of male and female animals on last week of dosing.
c: Geometric mean values from Clinical Study Report EMR200095-001, Tablet Formulation 1 late-stage cancer subjects, Regimen 3, n = 18 on Day 14.

長期反復投与毒性試験の NOAEL における総 AUC は、臨床推奨用量の 500 mg/日を投与した患者で得られた曝露量に対して、ラット、イヌ共に約 4%であった。蛋白結合率の差を考慮すると、遊離型 AUC は患者での曝露量に対して、ラットで約 8%、イヌで約 13%であった。したがって、毒性試験で使用した動物の NOAEL での曝露量は、ヒト臨床用量での曝露量よりもかなり低かった。

7. 総括及び結論

In vitro 及び in vivo での効力を裏付ける試験において、テポチニブは受容体型チロシンキナーゼ MET に対する選択的な I 型の ATP 競合的阻害剤であることが示された。生化学的試験及び細胞学的試験において、テポチニブは HGF 依存的及び恒常的な MET 活性化を阻害し、その IC_{50} 値は一貫して 1 桁 nM の範囲であった。テポチニブは、MET 依存性の腫瘍細胞において、MET を介したシグナル伝達、腫瘍細胞増殖、及び足場非依存性増殖を同様の作用強度で阻害した。

合計 400 種類以上の異なるキナーゼを用いた複数のスクリーニング試験において、MET に対するテポチニブの高い選択性が示された。MET に対する選択性は、非臨床試験で認められたテポチニブの良好な忍容性の主な要因であると考えられる。マウスを用いた in vivo 薬理試験では、テポチニブを 200 mg/kg まで連日投与した結果、投与に関連する体重減少は認められなかった。

テポチニブの高い選択性のもう一つの結果として、腫瘍がテポチニブ投与に感受性を示すには、腫瘍の増殖及び生存が MET に依存している必要がある。In vitro 薬理試験で、テポチニブは、高度な *MET* 遺伝子の増幅を有し、それに伴った MET の過剰発現及び恒常的活性化を示す胃癌細胞の増殖を強力に阻害し、その IC_{50} 値は 6.2 nM であった。これは MET リン酸化阻害作用の IC_{50} 値と同程度の値であった。一方、*MET* 遺伝子の GCN が正常で、MET の活性化を示さない SNU-16 細胞では、テポチニブによる増殖抑制の IC_{50} 値は、450 倍高い値である 2.8 µM であった。

In vivo 薬理試験では、テポチニブは、*MET*ex14 スキッピング変異、*MET* 遺伝子の高度な増幅、*MET* 融合遺伝子等の *MET* 遺伝子の発癌性変異を有する腫瘍に対して、特に高い抗腫瘍活性を示した。これらの遺伝子変異は、腫瘍の増殖及び生存が MET へ依存していることを示し、テポチニブの抗腫瘍効果を強く予測するものであると考えられた。こうした腫瘍に対するテポチニブの単剤投与では、概して顕著な腫瘍の縮小が認められ、しばしば腫瘍の完全な退縮も認められた。発癌性遺伝子変異が認められたモデルのほとんどが、*MET* 遺伝子の高度な増幅（*MET* GCN>10）を有していた。このカットオフ値は、腫瘍の増殖及び生存に MET が不可欠である腫瘍を特定して選択するために重要であると思われる。多くの腫瘍では *MET* GCN の増加は低度から中等度（10>GCN>2）であるが、こうした腫瘍では *MET* が主な発癌ドライバーではないことが多い。NSCLC では、*MET* GCN の増加が低度から中程度である腫瘍の割合が高い（約 50%）が、これらは *EGFR* キナーゼドメイン変異、*ALK* 又は *ROS1* 融合、*KRAS/NRAS* 変異などの別の発癌ドライバー因子を有している。*MET* 遺伝子の高度な増幅は、より局所的な遺伝子増幅であることが多く、これが NSCLC 腫瘍の *MET* 依存性のひとつの指標であると考えられている。この高度な *MET* 遺伝子の増幅は、他の発癌ドライバー因子と全く重複しないか、まれにしか重複せず（Drilon 2017）、高度な *MET* 遺伝子増幅を示す腫瘍を持つ NSCLC 患者は、MET 阻害剤に反応性を示す（Caparica 2016 及び Drilon 2017）。

*MET*ex14 スキッピング変異を有する非臨床モデルは概して限られている。しかし、*MET*ex14 欠失により引き起こされる発癌性形質転換の機序は、多くの *MET* 融合蛋白質にも反映されている。*MET*ex14 には MET の発現及びキナーゼ活性を制御する負の調節要素が幾つか含まれており（MET キナーゼ活性を制御する S985 のプロテインキナーゼ C 部位、並びに MET のユビキチン化及び分解を制御する Y1003 の E3 ユビキチンリガーゼ結合部位が含まれる）、ex14 にコードされる全配列が mRNA や蛋白質から欠失すると、発癌ドライバーとして働く短躯型の MET 受容体となる（Cortot 2017）。同様に、報告されているほとんどの MET 融合蛋白では、融合相手は、ex15 のコード領域から始まるキナーゼドメインの配列に直接融合し、それによって ex14 を欠失させている（Stransky 2014、

Bender 2016、Davies 2017、Gow 2018 及び Soman 1991)。Ex14 にコードされる配列をこのような融合タンパク質に再導入すると、形質転換能力が失われることが示された（Lu 2017)。従って、*MET*ex14 スキッピング変異と、試験した非臨床モデルに含まれる Tpr-Met のような融合蛋白とは、共通の発癌性形質転換を引き起こす機序を有すると考えられる。

一般的に、*MET* 遺伝子の発癌性変異を有する腫瘍モデルは、*MET*ex14 スキッピング変異を有する腫瘍におけるテポチニブの抗腫瘍効果を非臨床で評価することに応用可能である。これらのモデルは、共通の特徴として、*MET* 遺伝子に影響を及ぼす明確な変異があること、MET 及び MET のシグナル伝達を強力に活性化すること、他の発癌性ドライバー因子とほとんど相互排他的に存在することが挙げられる。そして、これらの発癌性変異自体が、テポチニブ投与に対する感受性を予測させる発癌ドライバー因子である。

テポチニブは、明らかな *MET* 遺伝子の発癌性変異を持たない、MET の過剰発現又は HGF/MET 自己分泌循環を特徴とする腫瘍においても抗腫瘍活性を示した。しかし、こうしたモデルにおけるテポチニブの活性は、全般にかなり弱かった。完全な腫瘍退縮は認められず、一部の腫瘍、特に別の発癌ドライバー因子である *EGFR* のキナーゼ領域に変異を有する 3 つの腫瘍では、テポチニブ単剤療法の効果は全く認められなかった。こうした非臨床試験の結果は、臨床試験の結果と一致していた。MET 発現に基づき患者を選択した他の MET 阻害剤の臨床試験では、ornatuzumab の第 III 相試験失敗（Garber 2014)、capmatinib の第 I 相試験で、MET 発現量が最も高い（免疫組織化学的スコア 3+）患者群において奏効率がわずかに 24%であった（Schuler 2016）等、結果は良くなかった。発癌性遺伝子変異を伴わない MET の過剰発現や HGF の発現増加は、転写の増加によって引き起こされることが多い。これらは、発癌ドライバー因子としては作用しないようであるが、腫瘍環境の変化に対応するための腫瘍の重要な適応反応であり、腫瘍の進行に中心的な役割を果たしていると考察されている（Comoglio 2018)。従って、このような状況下の腫瘍では、テポチニブ単剤療法の効果は概して中程度と考えられ、これらの腫瘍はむしろテポチニブを含めた併用療法で効果が得られる可能性がある。

要約すると、薬効を裏付ける非臨床試験の成績は、*MET* の発癌性変異（*MET*ex14 スキッピング変異など）が、選択性が高い MET 阻害剤であるテポチニブによる治療を受ける患者を選択するための有望な予測バイオマーカーであることを示している。

テポチニブの PK/PD 試験では、テポチニブの最大抗腫瘍効果は、MET の強力かつ持続的な（95%超）阻害と関連していることが示され、テポチニブの曝露データと併せて、試験結果を PK/PD モデリングに使用して、95%の最大腫瘍増殖阻害を達成するために必要なテポチニブの血漿中濃度を予測した。

その後、このモデルに臨床第 I 相試験（報告書番号 EMR200095-001）で得られた PK 及び PD データを統合し、ヒトにおける母集団 PK/PD モデルに基づく母集団シミュレーションを実施したところ、500 mg の用量で 90%以上の被験者が 95%以上の標的阻害を達成することが示された。以上より、本剤の臨床用量を 500 mg と設定した。

MET に対する高い選択性に加えて、高い細胞保持性もテポチニブのもう一つの注目すべき特性である。これは in vitro のウォッシュアウト試験及び in vivo の PK/PD 試験で認められ、テポチニブ濃度は常に腫瘍組織の方が血漿中よりも高かった。忍容性が良好であることと併せて、テポチニブのこの特徴は、最大の抗腫瘍活性を達成するために、腫瘍において持続的で強力な MET 阻害が必要であることを考慮すると、非常に好ましいものとみなすことができる。

ヒトの主要循環血中代謝物 MSC2571109A についても薬理試験を実施し、テポチニブの in vivo での総体的な活性への寄与はごくわずかであることが示された。

効力を裏付ける試験で認められた MET に対するテポチニブの高い選択性と一致して、in vitro 及び in vivo 安全性薬理試験では、臨床用量である 500 mg/日を投与した患者での定常状態での平均遊離型 C_{max} と同等以上の濃度又は曝露量（C_{max}）まで、オフターゲット作用、心血管系、呼吸器系及び CNS への影響は認められなかった。さらに、代謝物 MSC2571109A の in vitro 安全性薬理試験では、テポチニブの臨床用量である 500 mg/日を投与したときのオフターゲットの薬理作用又は心血管系作用（QT 延長）のリスクは想定されなかった。

非臨床薬物動態試験に基づいて、テポチニブは BCS のクラス IV（低溶解性、低透過性）であると考えられた。ラット及びイヌにおいて、原薬の[redacted]が吸収に影響を与えることが示唆された。動物の F は 21～55%の範囲であった。健康被験者に摂食条件下でテポチニブの[redacted]製剤（500 mg 錠）を投与したとき、テポチニブの吸収は増加し、F は 72%であることが確認された。各動物種（ヒトを含む）における吸収速度は比較的緩やかだった。

テポチニブの蛋白結合率は高値（ヒトでは 96.6～98.4%）であり、主に HSA 及び AAG に結合し、ヒト全血中において、血球及び血漿にほぼ均等に分布した。このことから、血漿 CL 及び血中 CL は同等であると考えられた。動物種（V_{ss}：8.2～25.8 L/kg）及びヒト（V_z：574 L）における分布容積が高値であったことから、テポチニブは組織に広範囲に分布することが示唆された。ラットにおいて、薬剤関連放射活性は胃腸管で高濃度、肝臓、肺、腎臓及びリンパ節で中程度、脳及び脊髄で低濃度検出された。テポチニブ及びその代謝物はメラニンに結合した。

テポチニブは肝臓に積極的に取り込まれるが、OATP 又は OCT の基質ではなかった。肝への受動輸送が能動輸送に比べて 2 桁以上高値であった。そのため、テポチニブは DDI によって肝臓に取り込まれるのを阻害される可能性は低い。

マウス、ラット及びイヌにおいて、テポチニブの CL は中程度～高値（一部肝血流量より高値）であったが、サル及びヒトの CL は比較的低値（12.8 L/h）であった。テポチニブは肝細胞で代謝的に安定であり、動物種間から同定された代謝物が少なかったことから、代謝経路は複雑でないことが示唆された。直接（おそらく N-）グルクロン酸抱合体 M668 を除いて、in vitro 代謝及び推定代謝経路はラット、イヌ及びヒトで一致した。ヒトマスバランス試験である EMR200095-007 試験において、血漿中、尿中及び糞中より 10 種類の代謝物が同定された。キラル代謝物 M506 は以前ラット肝細胞を用いた in vitro 試験及び in vivo 試験で検出されなかった循環主代謝物（AUC_{TR} の 41%）であった。さらなる探索的評価において、M506 の S 体（MSC2571107A）はテポチニブ曝露量のわずか 4.5%（$AUC_{0\text{-}240h}$）であったのに対し、R 体（MSC2571109A）は 64.6%（$AUC_{0\text{-}240h}$）であったことから、ヒト（健康被験者）関連代謝物であることが示唆された。MSC2571109A（及び対応する鏡像異性体）はげっ歯類（ラット）及び非げっ歯類（イヌ）で同定されたが、不均衡代謝物であった。ヒト血漿中において、グルクロン酸抱合体 M668 は AUC_{TR} の 4%であった（微量代謝物）。M668 はヒト特異的であると考えられるが、第Ⅱ相代謝物（アシルグルクロニドを除いて）は通常安全上の問題を引き起こさないので、さらなる安全性評価は現在実施していない。テポチニブは CYP3A4 及び 2C8 の基質であるが、ヒトマスバランス試験データで確認されたように、全体的な代謝及び排泄への関連はわずかであった。単一の代謝経路がテポチニブ全体の排泄の 25%以上に関与することはなかった。このことから、テポチニブの代謝が DDI によって阻害される可能性は低いと考えられた。

ラットにおいて、胆汁排泄がテポチニブの主排泄経路であり、薬剤関連放射活性の 86.1～91.1%が糞中より回収され、尿中からは微量（11～17%）回収された。同様に、健康被験者において、総放射活性の 77.9%は糞中より回収されたが、尿中からは 13.6%のみ回収された。^{14}C-テポチニブを経口投与したとき、尿中及び糞中主成分は未変化体であり、それぞれ 7%、45%回収された。排泄物中から同定された主代謝物は脱メチル体 M478（糞中の 9%）及び直接グルクロン酸抱合体 M668（糞中の 6%）であった。M506 は血漿中での曝露量が高値であったものの、排泄物中における総放射活性はわずか 3%とむしろ低値であり、テポチニブの排泄全体に対する寄与はかなり低いことが示唆された。

500 mg のテポチニブを単回経口投与したとき、循環主代謝物である MSC2571109A の曝露量はテポチニブ曝露量の 64.6%（肝代謝経路の 25%以上に寄与する可能性は少ない）であったことから、蛋白結合率は高値（98.8%。主結合蛋白は HSA 及び AAG）であり、血漿に対する血中濃度比はテポチニブよりも低値（0.77）であった。

in vitro 試験の静的薬物速度論モデルに基づいて、臨床予定用量（500 mg）におけるテポチニブ及びその代謝物 MSC2571109A は主薬物代謝酵素である CYP3A4 を誘導する可能性がある。一方、MSC2571109A はテポチニブを 500 mg 投与したとき、CYP3A4/5 によって代謝される薬物の CL を減少させる可能性がある。しかしながら、ヒト DDI 試験において、テポチニブを反復投与したとき、CYP3A4 の感受性基質であるミダゾラム及び主活性代謝物である 1-ヒドロキシミダゾラムの PK プロファイルに影響を及ぼさなかった（CTD2.7.2、2.10 項参照）。

テポチニブ及び代謝物 MSC2571109A は数種の UGT 補酵素を阻害する可能性を有するが、臨床曝露量を考慮すると、UGT1A1/9 及び 2B17 に対する DDI リスクの可能性を否定できない。一方、その他の UGT 補酵素に対する DDI リスクの可能性はないと考えられた。

in vitro 試験において、テポチニブは P-gp の基質及び P-gp、BCRP、OCT1、MATE1 並びに MATE2K の阻害薬として同定された。一方、代謝物 MSC2571109A は OATP1B1、OCT1、OCT2 及び MATE2K の強力な阻害薬として同定された。患者に臨床予定用量（500 mg）のテポチニブを投与したとき、テポチニブ及び MSC2571109A の曝露量（最高血漿中濃度）の観点から、トランスポーターレベルでの臨床 DDI（腸管及び全身）の可能性を否定することができない。DDI 試験において、テポチニブの P-gp 阻害能を評価し、テポチニブは P-gp の感受性基質であるダビドカランに対する影響は軽度であると証明された。（CTD2.7.2、2.11 項参照）

テポチニブのラット及びマウスにおける急性毒性は低く、2000 mg/kg の単回経口投与では、一般状態の変化や毒性作用は認められなかった。イヌの急性毒性に関する情報は、ICH M3（R2）に従って、短期漸増投与試験で得られ、45 mg/kg では臨床的に良好な忍容性が示されたが、より高用量の 90 及び 180 mg/kg では摂餌量減少及び体重減少が認められた。

テポチニブの反復投与毒性試験として、亜急性毒性試験（4 週間投与）、亜慢性毒性試験（13 週間投与）及び慢性毒性試験（ラットで 26 週間投与、イヌで 39 週間投与）を実施し、TK 及び回復性を含めた評価を実施した。毒性試験における動物の全身曝露量は、ヒトで測定された全身曝露量よりも比較的低かったが、動物試験では毒性の標的器官（ラット及びイヌ共に肝胆道系）を特定できた。イヌでは、2.5 mg/kg/日以上で嘔吐や下痢などの消化器症状が認められたが、関連する病理組織学的所見は認められなかった。投与期間の延長に伴う毒性プロファイルの変化はみられず（すなわち、慢性毒性試験では新たな毒性標的器官は特定されなかった）、主要な変化は可逆的であることが確認されたか、可逆性を示唆するものであった。

慢性毒性試験の NOAEL は、ラットでは 45 mg/kg/日（26 週間投与）、イヌでは 10 mg/kg/日（39 週間投与）であった。

テポチニブは、in vitro 及び in vivo 試験で遺伝毒性を示さなかった。進行癌を対象とした現在の開発状況に基づき、ICH S9 ガイドラインに従って、癌原性試験は計画していない。

ウサギにおける胚・胎児発生に関する予備試験を 2 試験実施した結果、50 mg/kg/日以上で母体毒性がみられ、5 mg/kg/日以上で用量依存的な骨格異常の増加（催奇形性）がみられた。

テポチニブの一般毒性試験における生殖器の病理組織学的検査では、毒性変化は認められなかった。また、ラットの 26 週間反復経口投与毒性試験の投与期間終了時に実施した精子検査（形態及び運動性）でも、投薬に関連した変化は認められなかった。以上の結果から、テポチニブが受胎能に障害を及ぼすリスクはないと考えられた。

本薬は錠剤として開発されており、経口投与での局所刺激性試験は実施されていない。反復経口投与毒性試験では、胃及び腸管の病理組織学的評価で毒性学的に意義のある所見は認められなかった。

光毒性に関する非臨床 in vitro 試験及び in vivo 試験を総合すると、光毒性のリスクはないと考えられた。

ラット及びイヌの反復投与毒性試験で得られた血液学的検査、血液生化学的検査、リンパ器官（胸腺、脾臓、リンパ節など）の絶対及び相対重量、並びに病理組織学的検査の結果は、テポチニブの免疫毒性を示唆するものではなかった。さらに、ラットの反復投与毒性試験で実施した血中免疫細胞（総 B 細胞数、総 T 細胞数、ヘルパーT 細胞数、細胞傷害性 T 細胞数及びナチュラルキラー細胞数及びそれらの割合）についてのフローサイトメトリーでも、毒性学的に意味のある所見は認められなかった。

ヒトにおけるマスバランス試験では、キラル代謝物 M506 が最初に同定された。追加分析試験において、鏡像異性体である MSC2571107A（S 体）及び MSC2571109A（R 体）を定量したところ、後者がヒトにおける主要な循環血中代謝物であり、その曝露量は未変化体の曝露量の 65.0%に相当することが示された。このため、ラット及びイヌを用いて定量的に評価したところ、いずれの動物種にもこの代謝物が存在することが示された。MSC2571109A の in vitro 安全性薬理試験では、潜在的なオフターゲット作用及び心血管系（QT 延長）作用は予測されなかった。さらに、2 つの in vitro 遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ試験）を実施した結果、MSC2571109A に変異原性は認められなかった。

原薬中に混在する可能性がある不純物、及び原薬中に特定された不純物の許容上限値は、ICH M7 ガイドライン及び ICH Q3A ガイドラインに従って設定した。また、許容上限値が ICH Q3A ガイドラインの安全性確認が必要な閾値を超える、すべての原薬中に特定された不純物について、個別に実施した遺伝毒性試験及び公表されたデータから、遺伝毒性のリスクないと考えられた。さらに、これらの不純物の規格値の妥当性は、ラットの 4 週間反復経口投与毒性試験の NOAEL において安全に投与された各不純物の濃度によっても裏付けられている。製剤中に認められた分解生成物は、いずれも原薬中に認められた不純物であった。製剤中に含まれる構造既知の分解生成物として、　不純物5*　及び　不純物7*　（旧記号:　不純物8*　）のみが特定されている。それぞれに予定された規格値（許容上限値）の妥当性は、毒性試験又は臨床試験の結果によって裏付けられている。結論として、不純物プロファイル並びに原薬及び製剤中に特定された不純物について予定された許容上限値について、毒性学的観点から安全性の懸念はない。また、製剤に使用されるすべての添加剤は公定書（日本薬局方又は医薬品添加物規格）に収載された品質のものである。

1 日 1 回 500 mg の用量で単剤投与されたテポチニブの安全性プロファイルは、NSCLC 患者において許容可能かつ管理可能なものであった。全体として、認められた AE は原疾患の NSCLC に典型的なもの、又はテポチニブの作用機序に関連するものであった。ILD、浮腫、血中クレアチニンの増加、低アルブミン血症、アミラーゼとリパーゼの増加、ALT と AST の増加、下痢はテポチニブの特定されたリスク及び副作用とみなされた（CTD2.7.4、2.1.5.1 項参照）。消化器系及び肝胆道系の AE は、毒性試験に用いた動物種（ラット及びイヌ）でも観察された。

動物で催奇形性が認められていることから、妊娠可能な女性及び妊娠可能な女性をパートナーに持つ男性患者には、胎児に対するリスクについて知らせる必要がある。テポチニブの投与を受ける男性及び女性患者は適切な避妊法を行うべきである。

結論として、非臨床薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の成績から、テポチニブが、*MET* 遺伝子の活性化変異又は高度な *MET* 遺伝子増幅を有する非小細胞肺癌患者の治療に、十分適した特性を有することが示された。

非臨床試験で同定され、テポチニブ投与を受けた被験者で認められた AE と関係すると考えられた毒性所見はすべて、適切なリスク軽減手段が取られれば、臨床的に監視可能かつ管理可能なものであると考えられた。

8. 参考文献

Awad MM, Oxnard GR, Jackman DM, et al. MET Exon 14 Mutations in Non-Small-Cell Lung Cancer Are Associated With Advanced Age and Stage-Dependent MET Genomic Amplification and c-Met Overexpression. J Clin Oncol. 2016 34:721-30.

Bender S, Gronych J, Warnatz HJ, et al. Recurrent MET fusion genes represent a drug target in pediatric glioblastoma. Nat Med. 2016 22:1314-20.

Bladt F, Riethmacher D, Isenmann S, et al. Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. Nature. 1995 376:768-71.

Bringezu F. Evaluation of impurities in tepotinib (MSC2156119J) for mutagenicity / DNA reactivity. 2019 June 18. Merck Healthcare KGaA, Germany.

Caparica R, Yen CT, Coudry R, et al. Responses to Crizotinib Can Occur in High-Level MET-Amplified Non-Small Cell Lung Cancer Independent of MET Exon 14 Alterations. J Thorac Oncol. 2016 12:141-4.

Chmielowiec J, Borowiak M, Morkel M, et al. c-Met is essential for wound healing in the skin. J Cell Biol. 2007 177:151-62.

Comoglio PM, Trusolino L, Boccaccio C. Known and novel roles of the MET oncogene in cancer: a coherent approach to targeted therapy. Nat Rev Cancer. 2018 18:341-58.

Cortot AB, Kherrouche Z, Descarpentries C, et al. Exon 14 Deleted MET Receptor as a New Biomarker and Target in Cancers. J Natl Cancer Inst. 2017 109(5):1-12.

Davies KD, Ng TL, Estrada-Bernal A, et al. Dramatic Response to Crizotinib in a Patient with Lung Cancer Positive for an HLA-DRB1-MET Gene Fusion. JCO. Precis Oncol 2017 (1):1-9.

Drilon A, Cappuzzo F, Ou SI et al. Targeting MET in Lung Cancer: Will Expectations Finally Be MET? J Thorac Oncol. 2017 12:15-26.

Frampton GM, Ali SM, Rosenzweig M, et al. Activation of MET via diverse exon 14 splicing alterations occurs in multiple tumor types and confers clinical sensitivity to MET inhibitors. Cancer Discov. 2015 5:850-9.

Garber K. MET inhibitors start on road to recovery. Nat Rev Drug Discov. 2014 Aug 13:563-5.

Gow CH, Liu YN, Li HY, et al. Oncogenic Function of a KIF5B-MET Fusion Variant in non-Small Cell Lung Cancer. Neoplasia. 2018 20:838-47.

Hall AP, Elcombe CR, Foster JR, et al. Liver hypertrophy: a review of adaptive (adverse and non-adverse) changes--conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop. Toxicol Pathol. 2012; 40:971–94.

Lu X; Peled N, Greer J, et al. MET Exon 14 Mutation Encodes an Actionable Therapeutic Target in Lung Adenocarcinoma. Cancer Res. 2017 77(16) 4498-505.

Pennacchietti S, Michieli P, Galluzzo M, et al. Hypoxia promotes invasive growth by transcriptional activation of the met protooncogene. Cancer Cell. 2003 3:347-61.

Schuler MH, Berardi R, Lim WT, et al. Phase (Ph) I study of the safety and efficacy of the cMET inhibitor capmatinib (INC280) in patients (pts) with advanced cMET+ non-small cell lung cancer (NSCLC). ASCO 2016 Abstract 9067.

Soman NR, Correa P, Ruiz BA, et al. The TPR-MET oncogenic rearrangement is present and expressed in human gastric carcinoma and precursor lesions. Proc Natl Acad Sci. 1991 88:4892 6.

Stransky N; Cerami E; Schalm S, et al. The landscape of kinase fusions in cancer. Nat Commun. 2014 5: 4846 1-10.

Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. Nat Rev Mol Cell Biol. 2004 5:836-47.

Wu YL, Soo RA, Locatelli G, et al. Does c-Met remain a rational target for therapy in patients with EGFR TKI-resistant non-small cell lung cancer? Cancer Treat Rev. 2017 61:70-81.