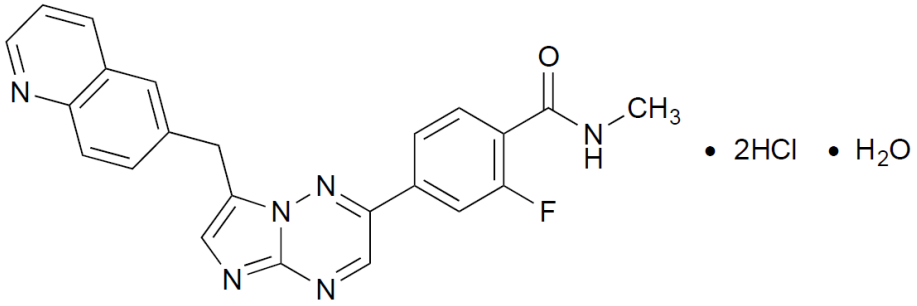
## 2.6.1 緒言

# 1 緒言

カプマチニブ（INC280，INCB28060）は，アデノシン三リン酸（ATP）競合的かつ可逆的な間葉上皮転換因子（MET 又は c-Met）の阻害剤である。本薬の構造式を以下に示す（Figure 1-1）。

**Figure 1-1 カプマチニブの構造式**




カプマチニブの一般的名称はカプマチニブ塩酸塩水和物であり，化学名は 2-Fluoro-*N*-methyl-4-{7-[(quinolin-6-yl)methyl]imidazo[1,2-*b*][1,2,4]triazin-2-yl}benzamide dihydrochloride monohydrate（分子式 $C_{23}H_{17}FN_6O \cdot 2HCl \cdot H_2O$，分子量 503.36）である。カプマチニブの予定市販製剤はフィルムコーティング錠 150mg 及び 200mg であり，今回は MET 遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌を適応症として申請するものである。

カプマチニブの予定する効能又は効果並びに用法及び用量を以下に示す。

【効能又は効果】
*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異陽性の切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌
【用法及び用量】
通常，成人にはカプマチニブとして 1 回 400mg を 1 日 2 回経口投与する。なお，患者の状態により適宜減量する。

カプマチニブの非臨床薬理試験，薬物動態試験，及び毒性試験の結果から，カプマチニブの非臨床における有効性及び安全性を評価した。カプマチニブの非臨床試験（薬理試験，薬物動態試験，及び毒性試験）は，ノバルティス社，Incyte 社又は受託研究機関の試験施設で実施した。主要な安全性薬理試験及び毒性試験は，ICH ガイドラインに従い，主要な試験は GLP に準拠して実施した。

# 2.6.2 薬理試験の概要文

# 目　次

目　次 ..... 2
表 一 覧 ..... 3
図 一 覧 ..... 3
略号一覧 ..... 4
1 薬理試験の概要文 ..... 6
1.1 緒言 ..... 6
1.2 カプマチニブの薬理作用 ..... 7
2 効力を裏付ける試験 ..... 8
2.1 標的分子に対する阻害作用及び選択性（*in vitro*） ..... 8
2.1.1 カプマチニブの MET に対する阻害作用 ..... 8
2.1.2 カプマチニブのキナーゼ選択性 ..... 9
2.2 細胞に対する作用（*in vitro*） ..... 10
2.2.1 MET リン酸化及び MET 下流シグナル因子に対するカプマチニブの作用 ..... 10
2.2.2 細胞増殖及び生存等に対するカプマチニブの作用 ..... 10
2.2.3 大規模がん細胞パネルにおけるカプマチニブの評価 ..... 11
2.2.4 カプマチニブ代謝物の MET 阻害作用及び細胞増殖阻害作用 ..... 12
2.3 *In vivo* 薬理試験 ..... 13
2.3.1 MET 制御異常の肺がんモデルマウスに対するカプマチニブの抗腫瘍効果 ..... 13
2.3.2 他のがん腫モデルに対するカプマチニブの抗腫瘍効果 ..... 15
2.4 その他の薬理試験 ..... 15
2.4.1 カプマチニブの PK（薬物動態学）／PD（薬力学）相関 ..... 15
2.4.2 他剤との併用効果 ..... 16
2.5 *In vivo* 試験における忍容性 ..... 16
3 副次的薬理試験 ..... 17
3.1 *In vitro* 薬理試験 ..... 17
3.1.1 標的外分子におけるカプマチニブの *in vitro* 選択性 ..... 17
3.1.2 キナーゼパネルにおけるカプマチニブの *in vitro* 選択性 ..... 17
3.1.3 ヒト主代謝物 CMN288 の *in vitro* プロファイル ..... 18
4 安全性薬理試験 ..... 18
4.1 *In vitro* 試験 ..... 18
4.1.1 *In vitro* hERG スクリーニングアッセイ ..... 18
4.1.2 *In vitro* hERG アッセイ ..... 19
4.2 *In vivo* 試験 ..... 19
4.2.1 カニクイザルを用いた心血管系に関する試験 ..... 19

4.2.2 ラット用いた中枢神経系及び呼吸系に関する試験 19
5 薬力学的薬物相互作用試験 20
6 考察及び結論 20
7 参考文献 22

## 表一覧

Table 2-1 ヒト野生型及び変異型 MET に対するカプマチニブの阻害作用 9
Table 2-2 組換え蛋白質キナーゼパネル試験（442 種類）において見出された 9 種類のキナーゼに対するカプマチニブの解離定数（$K_D$） 9
Table 2-3 種々の細胞株に対するカプマチニブの作用 11
Table 2-4 カプマチニブ及び代謝物の MET に対する阻害作用及び細胞増殖阻害作用 13

## 図一覧

Figure 2-1 MET 遺伝子増幅又は MET 遺伝子高発現を示す肺がんの PDX モデルマウスに対するカプマチニブの抗腫瘍効果 14
Figure 2-2 MET 遺伝子増幅陰性かつ MET エクソン 14 スキッピング変異陽性 NSCLC 患者由来 PDX モデルマウスに対するカプマチニブの抗腫瘍効果 15

# 略号一覧

| 略号 | 省略していない表現（英） | 省略していない表現（日） |
|---|---|---|
| ABL1 | Abelson protein | Abelson 蛋白質 |
| Akt | protein kinase B | プロテインキナーゼ B |
| $AT_1$ | angiotensin II type 1 | アンジオテンシン II タイプ 1 |
| ATP | adenosine triphosphate | アデノシン三リン酸 |
| CCLE | Cancer Cell Line Encyclopedia | - |
| CDK11 | cyclin-dependent kinase 11 | サイクリン依存性キナーゼ 11 |
| Cmax | maximum drug plasma (serum/blood) concentration | 最高血漿（血清／血液）中薬物濃度 |
| CNS | central nervous system | 中枢神経系 |
| DMSO | dimethyl sulfoxide | ジメチルスルホキシド |
| EGFR | epidermal growth factor receptor | 上皮増殖因子受容体 |
| ERK | extracellular signal-regulated kinase | 細胞外シグナル制御キナーゼ |
| FAK | focal adhension kinase | 接着斑キナーゼ |
| FOB | functional observational battery | 機能観察総合評価法 |
| GAB1 | growth factor receptor bound 2 (Grb2)-associated binder-1 | 増殖因子受容体結合蛋白質 2（GRB2）関連結合蛋白質 1 |
| 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 |
| GPCR | G protein-coupled receptor | G 蛋白質共役受容体 |
| GRB2 | growth factor receptor bound 2 | 増殖因子受容体結合蛋白質 2 |
| HEK | human embryonic kidney | ヒト胎児由来腎臓 |
| hERG | human ether-à-go-go-related gene | ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子 |
| HGF | hepatocyte growth factor | 肝細胞増殖因子 |
| HTRF | homogeneous time-resolved fluorescence | 均一系時間分解蛍光 |
| IC50 | 50% inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| IC90 | 90% inhibitory concentration | 90%阻害濃度 |
| ICH | International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for human use | 医薬品規制調和国際会議 |
| IRAK1 | interleukin-1 receptor-associated kinase 1 | インターロイキン 1 受容体関連キナーゼ 1 |
| $K_D$ | dissociation constant | 解離定数 |
| MEK | mitogen-activated ERK kinase | マイトジェン活性化 ERK キナーゼ |
| MET | mesenchymal-epithelial transition factor | 間葉上皮転換因子 |
| mRNA | messenger ribonucleic acid | メッセンジャーRNA |
| NOD | non-obese diabetes | 非肥満性糖尿病 |
| NSCLC | non-small cell lung cancer | 非小細胞肺がん |
| PD | pharmacodynamics | 薬力学 |
| PDE | phosphodiesterase | ホスホジエステラーゼ |
| PDX | patient-derived xenograft | 患者由来腫瘍移植 |
| PI3K | phosphatidylinositol 3-kinase | ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ |
| PIP5K2C | phosphatidylinositol-5-phosphate 4-kinase, type II, gamma | - |

| 略号 | 省略していない表現（英） | 省略していない表現（日） |
|---|---|---|
| PK | pharmacokinetics | 薬物動態（学） |
| PR | PR interval | PR 間隔 |
| QA | Interval between Q wave and onset of the aortic blood pressure pulse | Q 波及び動脈血圧起点の間隔 |
| QRS | QRS interval | QRS 間隔 |
| QT | QT interval | QT 間隔 |
| QTc | QT interval corrected for heart rate | 心拍数補正 QT 間隔 |
| Rac | RAS-related C3 botulinum toxin substrate | - |
| Raf | serine threonine-protein kinase activating downstream effectors involved in tumorigenesis | - |
| Ras | protein activating signaling cascades（promoting cell proliferation, neoplastic transformation and oncogenesis） | - |
| RNA | ribonucleic acid | リボ核酸 |
| RNAi | RNA interference | RNA 干渉 |
| RR | RR interval | RR 間隔 |
| SCID | severe combined immunodeficiency | 重度複合免疫不全 |
| STAT3/5 | signal transducer and activator of transcription 3/5 | - |
| VMAT2 | vesicular monoamine transporter2 | 小胞モノアミントランスポーター2 |
| YSK4 | yeast Sps1/Ste20-related kinase 4 | - |

# 1 薬理試験の概要文

## 1.1 緒言

間葉上皮転換因子（MET 又は c-Met）は，肝細胞増殖因子（HGF）をリガンドとする受容体型チロシンキナーゼである。HGF が MET に結合すると，MET の二量体化又は多量体化が引き起こされ，その下流にある多くのシグナル伝達経路が活性化される。通常，MET は胚形成，器官形成，及び組織損傷修復に関与している（Birchmeier et al. 2003，Christensen et al. 2005，Liu et al. 2008）。マウスにおいて HGF 及び MET はいずれも正常な個体発生に必要とされており（Birchmeier et al. 2003，Christensen et al. 2005），成熟マウスでは肝臓や皮膚等の組織修復や創傷治癒を担っている（Borowiak et al. 2004，Chmielowiec et al. 2007）。

肺がんを含むさまざまな悪性腫瘍において，MET シグナル伝達経路の制御異常が起こっていることが示唆されている（Christensen et al. 2005，Liu et al. 2008，Comoglio et al. 2018）。MET 制御異常を有するがん細胞では，MET によって増殖因子受容体結合蛋白質 2（GRB2）及び GRB2 関連結合蛋白質 1（GAB1）といった基質がリン酸化を受け，さらに下流シグナルの複数のエフェクター経路（Ras/Raf/MEK/ERK，PI3K/Akt，STAT3/5，及び Rac/Rho 等）が活性化されることで，細胞増殖，生存，遊走，及び浸潤が促進される。

MET 制御異常の中でも特に重要なものとして MET エクソン 14 スキッピング変異がある。この遺伝子変異によって MET 膜近傍ドメインの欠損が引き起こされ，細胞膜上での MET 蛋白質発現の安定化及びがん遺伝子の活性化が誘発される（Kong-Beltran et al. 2006，Togashi et al. 2015，Lu et al. 2017）。マウス MET 遺伝子を過剰発現させた遺伝子改変マウスでは肺がんが引き起こされたことから，MET エクソン 14 スキッピング変異は発がんのドライバー因子であることが示唆されている（Lu et al. 2017）。また，次世代シークエンサーを用いて数千もの腫瘍検体について網羅的遺伝子解析を行ったところ，MET エクソン 14 スキッピングを生じるゲノム変異が多数同定されている。これらの変異は主に肺がんで認められており，その発現頻度は 2～3%である。最近の知見から，このような変異はカプマチニブや他の MET 阻害剤に対する効果予測因子であることが示されている（Frampton et al. 2015，Paik et al. 2015，Drilon et al. 2016，Schrock et al. 2016，Schuler et al. 2016，Awad et al. 2017）。

さらに MET 遺伝子増幅もヒトの悪性腫瘍で認められており，発がんのドライバー因子と考えられている。MET 遺伝子増幅は，mRNA 及び蛋白質レベルで MET の過剰な発現を引き起こすことが示唆されており，MET 遺伝子増幅はリガンド非依存的な MET キナーゼの異常な活性化を引き起こし，がん細胞の増殖，生存，及び浸潤に関与する複数のシグナル伝達経路を促進すると考えられている（Lutterbach et al. 2007，Liu et al. 2011）。当初より，MET 遺伝子増幅が肺がんや胃がん細胞株で報告されており，MET 遺伝子の増幅レベルは MET 阻害剤の反応と強く関係することが示唆されていた（Smolen et al. 2006，Lutterbach et al. 2007，McDermott et al. 2007）。このよ

うな非臨床試験の結果と一致して，臨床においてもカプマチニブといった MET を標的とした薬剤は MET 遺伝子増幅を有する肺がん又はその他の腫瘍患者に対して奏効を示している（Ou et al. 2011，Bang et al. 2014，Camidge et al. 2014，Kwak et al. 2015，Vassal et al. 2015，Schuler et al. 2016）。また，最近では MET 融合蛋白質を生じるような染色体転座が肺がんで見つかっており，このような肺がんに対しても MET 阻害剤の奏効が認められている（Plenker et al. 2018）。

がんゲノミクス研究において，MET エクソン 14 スキッピング変異及び MET 遺伝子増幅は，他のドライバー遺伝子との相互排他性の観点から発がんドライバー因子であることが報告されている（TCGA 2014，Awad et al. 2016，Campbell et al. 2016）。また，肺がん患者 100 例から採取した腫瘍サンプルを用いた大規模多地域全エクソーム解析試験によって，MET エクソン 14 スキッピング変異や MET 遺伝子増幅によるがん発生及び進展は，他のがん発生要因の影響を受けずに生じることが示されている（Jamal-Hanjani et al. 2017）。さらに，MET 阻害剤を用いた肺がん治療によって，MET に対する耐性獲得変異が生じることが明らかとなっている（Heist et al. 2016，Li et al. 2017，Ou et al. 2017）。以上より，MET エクソン 14 スキッピング変異及び MET 遺伝子増幅は発がんのドライバー因子と考えられる。

MET 遺伝子増幅は，上皮増殖因子受容体（EGFR）遺伝子変異陽性非小細胞肺がん（NSCLC）患者の EGFR 阻害剤への耐性獲得にも関与しており，EGFR 阻害剤の治療を受けた NSCLC 患者の 15～20%に再発が認められる（Bean et al. 2007，Engelman et al. 2007，Papadimitrakopoulou et al. 2018，Ramalingam et al. 2018，Wang et al. 2018）。このような EGFR 阻害剤の耐性を獲得した患者に対して MET 及び EGFR の両方を阻害することが治療上有効であるということが，これまでの非臨床及び臨床試験成績で示唆されている（McCoach et al. 2015，Jia et al. 2016，Wu et al. 2016，Baltschukat et al. 2019）。

以上より，さまざまな知見を基に MET あるいは HGF を標的とする多数の薬物が創出されており，がん治療薬として各社で精力的に開発が進められている（Comoglio et al. 2018，Parikh and Ghate 2018）。

## 1.2 カプマチニブの薬理作用

カプマチニブ（INC280，INCB28060）は，アデノシン三リン酸（ATP）競合的かつ可逆的な低分子の MET 受容体チロシンキナーゼ阻害剤である。本薬の MET に対する阻害作用を生化学的キナーゼアッセイにより評価したところ，その 50%阻害濃度（IC50）は 0.13 nM であった。また，MET リン酸化，MET 下流シグナル伝達経路にある蛋白質のリン酸化，細胞増殖・生存，細胞遊走活性を指標とした評価系においても強い MET 阻害作用が認められた（IC50：0.3～12.4 nM）。400 種以上のキナーゼパネル（変異型 MET を含む）を用いた試験において，カプマチニブはいずれのキナーゼに対しても 1000 倍以上の選択性を示しており，MET に対する非常に高いキナーゼ選択性が認められた。さらに，カプマチニブの細胞増殖阻害作用について，500 種類以上のヒトがん由来細胞株からなるパネルを用いて *in vitro* で検討した。結果として，MET 遺伝子の高い

増幅レベル及び MET の高発現を示す細胞株では非常に強力な細胞増殖阻害作用が認められた。一方で，MET 及び HGF の高発現細胞株では HGF のオートクリン作用により MET シグナル伝達経路が恒常的に活性化されていると考えられるが，カプマチニブの顕著な細胞増殖阻害作用は認められなかった。

MET 遺伝子増幅，MET エクソン 14 スキッピング変異，遺伝子増幅を伴わない MET 過剰発現，又は MET/HGF 共発現といったさまざまな MET 制御異常を示す肺がん並びに他のがん腫の異種移植モデルマウスを用いてカプマチニブの *in vivo* 抗腫瘍効果を検討したところ，多くのモデルでカプマチニブによる腫瘍退縮が認められた。

*In vitro* 電気生理学的試験において，ヒト胎児由来腎臓（HEK）293 細胞に発現させたヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネル電流の阻害作用に関する IC50 は 18.7 μM と算出された。ラットを用いた *in vivo* 安全性薬理試験において，カプマチニブ投与による中枢神経系（CNS）及び呼吸系の影響は認められなかった。サルを用いたテレメトリー試験では，カプマチニブ投与による心血管系の影響は認められなかった。

以上の *in vitro* 及び *in vivo* 薬理試験で得られた成績により，カプマチニブは MET 遺伝子変異陽性の NSCLC 患者に対し強力な抗腫瘍効果を示すと考えられた。

# 2 効力を裏付ける試験

MET 阻害剤であるカプマチニブの薬理作用を明らかにするために，*in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を実施した。以下に，本薬の効力を裏付ける試験の詳細を示す。

## 2.1 標的分子に対する阻害作用及び選択性（*in vitro*）

### 2.1.1 カプマチニブの MET に対する阻害作用

カプマチニブのヒト野生型 MET 及び変異型 MET に対する阻害作用について，組換え MET 及びビオチン標識した基質を用いた酵素アッセイにより評価した（Liu et al. 2011，[nonclinical-summary-IND-103729]）。

カプマチニブは野生型 MET に対して強い阻害作用を示し，その IC50 は 0.13 nM であった。また，変異型 MET について検討したところ，H1094Y 及び Y1235D に対する阻害作用が認められており，それぞれの IC50 は 0.3 及び 14 nM であった。しかしながら，幾つかの変異型 MET（L1195V 及び Y1230C）に対する阻害作用は弱く，それらの IC50 は 700 nM を上回っていた（Table 2-1）。

これらと同様の結果が細胞活性を指標とした評価系においても確認されている（Baltschukat et al. 2019）。また，Y1230 変異（及び本試験では未検討の D1228 変異についても同様）が，MET 阻害剤に対する耐性獲得により生じることが明らかとなっている（Heist et al. 2016，Li et al. 2017，Ou et al. 2017）。

**Table 2-1 ヒト野生型及び変異型 MET に対するカプマチニブの阻害作用**

| キナーゼ | 変異型 | IC50（nM） | n |
|---|---|---|---|
| 野生型 MET | - | 0.13 ± 0.05 | 17 |
| 変異型 MET | H1094Y | 0.3 | 2 |
| | L1195V | 736 | 2 |
| | Y1230C | 1077 | 2 |
| | Y1235D | 14 | 2 |

野生型 MET の IC50 については平均値 ± 標準偏差を示し，それ以外は 2 回の実験の平均値を示す。

Source：Liu et al. 2011，nonclinical-summary-IND-103729

### 2.1.2 カプマチニブのキナーゼ選択性

カプマチニブのキナーゼ選択性を検討するため，多様な構造からなる 57 種類のヒトキナーゼパネルに対する本薬の阻害作用を均一系時間分解蛍光（HTRF）法により評価した [Table 2.6.3.1-T07-07-08]。その結果，カプマチニブは，MET に対して強力な阻害作用を示したものの，その他のキナーゼに対してはいずれも 2 μM の濃度（野生型 MET に対する IC50 の 10000 倍超）で 30%を上回る阻害活性を示さなかった。

また，442 種類のキナーゼからなるパネルを用いて競合結合法によりスクリーニングを実施した（[Table 2.6.3.1-RD-2017-00516]，[Table 2.6.3.1-RD-2018-00093]，Baltschukat et al. 2019）。その結果，カプマチニブ濃度 10 μM で 65%以上の結合阻害率を示したキナーゼは 9 種類であった（Table 2-2）。これら 9 種のキナーゼに対する本薬の解離定数（$K_D$）を測定したところ，野生型 MET 及び変異型 MET（M1250T 及び Y1235D）に対する $K_D$ は 1 nM 以下であり，一方，その他のキナーゼに対する $K_D$ は 500 nM 以上（野生型 MET に対する $K_D$ の約 1000 倍以上）であった。

**Table 2-2 組換え蛋白質キナーゼパネル試験（442 種類）において見出された 9 種類のキナーゼに対するカプマチニブの解離定数（$K_D$）**

| キナーゼ | カプマチニブ 10 μM におけるリガンド結合率（%）[a)] | $K_D$（nM）[b)] |
|---|---|---|
| ABL1(H396P 変異)非リン酸化型 | 13 | 3200 |
| AXL | 12 | 1100 |
| CDK11 | 23 | 5700 |
| IRAK1 | 1.6 | 500 |
| MET | 3.6 | 0.31 |
| MET(M1250T) | 1.2 | 0.69 |
| MET(Y1235D) | 2.4 | 0.53 |
| PIP5K2C | 24 | > 10000 |
| YSK4 | 17 | 2100 |

カプマチニブの濃度を 10 μM として，442 種類のキナーゼとリガンドを用いた競合結合法によりスクリーニングを実施し，65%以上のリガンド結合阻害率（35%未満のリガンド結合率）が認められた 9 種類のキナーゼについて $K_D$ を算出した。

a）溶媒対照（ジメチルスルホキシド，DMSO）及び陽性対照化合物を添加し反応させたときのキナーゼに対するリガンド結合率（%）をそれぞれ 100 及び 0 としたときの，カプマチニブ濃度 10 μM における各キナーゼに対するリガンドの結合率（%）を示す（n = 1）。

b）カプマチニブの段階希釈 11 濃度（0.17～10000 nM）におけるリガンド結合量を測定し，得られた濃度-反応曲線から $K_D$ を算出した（n = 2）。

Source：Table 2.6.3.1-RD-2017-00516，Table 2.6.3.1-RD-2018-00093，Baltschukat et al. 2019

## 2.2 細胞に対する作用（*in vitro*）

カプマチニブのがん細胞に対する薬理作用を明らかにするため，MET リン酸化，細胞増殖，コロニー形成，細胞遊走活性，アポトーシス等を指標に種々の細胞株を用いて検討した。

### 2.2.1 MET リン酸化及び MET 下流シグナル因子に対するカプマチニブの作用

カプマチニブは MET 遺伝子増幅を有する細胞株 SNU-5 の恒常的な MET リン酸化を強力に阻害し，その IC50 は約 1 nM であった。同様に，MET 及び HGF を遺伝子導入により共発現させたマウス由来細胞株やヒト由来がん細胞株を HGF で刺激した場合においても，カプマチニブは MET リン酸化を強力に阻害した。さらに，カプマチニブは野生型 MET，MET エクソン 14 スキッピング変異，又は MET の膜近傍領域に変異を有する細胞株の MET リン酸化についても強力に阻害した。

MET 遺伝子増幅を有する細胞株では，MET 下流にある多数のシグナル伝達経路が活性化されていることが報告されている（Smolen et al. 2006，Lutterbach et al. 2007）。そこで，MET 遺伝子増幅を有する SNU-5 を用いて MET を介したシグナル伝達に対するカプマチニブの作用を検討したところ，本薬は MET の下流シグナル因子（ERK1/2，Akt，FAK，GAB1，STAT3/5）のリン酸化を強力に阻害した（Liu et al. 2011）。

### 2.2.2 細胞増殖及び生存等に対するカプマチニブの作用

MET 遺伝子増幅及び MET 遺伝子変異に起因する MET 制御異常は，がん細胞の増殖，生存，浸潤，及び転移を促進すると考えられている（Christensen et al. 2005）。そこで，これらに対するカプマチニブの作用を種々の細胞株を用いて評価した（Liu et al. 2011）。

カプマチニブは，MET 遺伝子増幅を有するヒト胃がん由来細胞株 SNU-5 の MET リン酸化及び細胞増殖を強く阻害し，それぞれの IC50 は 1.1 及び 1.2 nM であった。また，カプマチニブは HGF 及び MET の安定的高発現細胞株である S114 の MET リン酸化に対しても強力な阻害作用（IC50：0.9 nM）を示したが，細胞増殖阻害作用は比較的弱かった（IC50：12.4 nM）。この理由として，S114 細胞における MET 及び HGF 発現レベルが非常に高いため，MET 阻害に対して耐性を示したものと考えられた。

HGF 刺激による MET リン酸化に対するカプマチニブの強力な阻害作用は，種々の細胞株で認められた。ヒト肺がん由来細胞株 A549（MET 過剰発現），ヒト腎細胞がん由来細胞株 786-O（MET 過剰発現），及びヒト肺がん由来細胞株である NCI-H441（MET 過剰発現），NCI-H596（MET エクソン 14 スキッピング変異）並びに NCI-H1437（MET 変異 R988C）における IC50 は 0.3～1 nM の範囲であった。一方で，MET 制御異常を示さないヒト胃がん由来細胞株 SNU-1 及び

ヒト腎由来細胞株 HEK293 に対するカプマチニブの細胞増殖阻害作用は認められず，それぞれの IC50 は 10000 又は 20000 nM を上回っていた。

軟寒天コロニー形成試験では，NCI-H441 及び U-87 MG に対するカプマチニブの強力なコロニー形成阻害作用が認められており，それぞれの IC50 はおよそ 0.5 及び 2 nM であった。また，カプマチニブは NCI-H441 の遊走活性に対しても強い阻害作用を示し，その IC50 はおよそ 2 nM であった。さらに，カプマチニブは SNU-5 のアポトーシス（DNA 断片化）を誘発し，その作用はおよそ 1 nM で検出された（Table 2-3）。

**Table 2-3　　種々の細胞株に対するカプマチニブの作用**

| アッセイの種類 | 細胞株（由来） | IC50 (nM)[a] | n |
|---|---|---|---|
| 細胞 MET リン酸化 | | | |
| 恒常的 MET 活性 | SNU-5（胃） | 1.1 ± 0.4 | 28 |
| | S114（遺伝子導入マウス線維芽細胞）[b] | 0.9 | 2 |
| HGF 刺激 | A549（肺） | 0.7 | 2 |
| | 786-O（腎臓） | 0.6 | 2 |
| | NCI-H441（肺） | 0.7 | 2 |
| | NCI-H596（肺）[c] | 0.4 | 2 |
| | NCI-H1437（肺）[c] | 0.3 | 2 |
| 細胞増殖 | SNU-5（胃） | 1.2 ± 0.4 | 28 |
| | S114（遺伝子導入マウス線維芽細胞） | 12.4 | 2 |
| | SNU-1（胃） | > 10000 | 2 |
| | HEK293（腎臓） | > 20000 | 2 |
| 軟寒天コロニー形成 | NCI-H441（肺） | 約 0.5 | 2 |
| | U-87 MG（神経膠芽細胞腫） | 約 2 | 2 |
| 遊走／創傷治癒 | NCI-H441（肺） | 約 2 | 2 |
| アポトーシス／DNA 断片化 | SNU-5（胃） | 1 nM で検出可能 | 3 |

[a] n > 2 の場合は平均値 ± 標準偏差で示し，n = 2 の場合は算術平均値又は推定値で示す。
[b] MET 及び HGF の両方を過剰発現する組換えマウス線維芽細胞株（Rong et al. 1992）
[c] NCI-H596 及び NCI-H1437 は，それぞれ MET エクソン 14 スキッピング変異及び R988C 変異を有している。いずれの変異も受容体の膜近傍ドメインに位置する。

Source：Liu et al. 2011

近年の報告（Fujino et al. 2019）から，マウス Pro-B 細胞株 Ba/F3 に MET エクソン 14 スキッピング変異（遺伝子欠損又は点突然変異）を遺伝子導入したところ，これらの細胞株の異常な増殖が認められたことから，MET エクソン 14 スキッピング変異は発がんを引き起こすドライバー因子であることが示唆された。また，これらの変異株に対してカプマチニブの作用は減弱することなく，細胞増殖はカプマチニブによって強く阻害された（IC50：3 nM 以下）。

### 2.2.3　　大規模がん細胞パネルにおけるカプマチニブの評価

MET 阻害剤に対するがん細胞の感受性を網羅的に検出するため，Cancer Cell Line Encyclopedia（CCLE）プロジェクトにおいて 500 種以上のヒトがん細胞パネルを用いて *in vitro* スクリーニン

グを実施し，カプマチニブ及びその他の選択的 MET 阻害剤の細胞増殖阻害作用を評価した（Barretina et al. 2012，Baltschukat et al. 2019，[Table 2.6.3.1-RD-2012-50278]）。

結果として，カプマチニブ等の MET 阻害剤に感受性を示す細胞株には 2 パターンが示されており，細胞増殖が完全に阻害される細胞株と部分的に阻害される細胞株が存在した。前者は MET 遺伝子増幅による MET 過剰発現を示す細胞株であり，これらの細胞株に対してカプマチニブは顕著な反応性を示した。このような結果は，RNAi を用いた大規模スクリーニングにおいても裏付けられており，MET 依存性と MET 遺伝子増幅の間に強い関連性があることが示唆されている（McDonald et al. 2017）。後者は，HGF のオートクリン作用による MET 活性の高い細胞株（MET 及び HGF は中～高発現レベル）であり，これらの細胞株に対するカプマチニブの反応性は高いものではなかった。MET 遺伝子増幅を有する細胞株は食道及び肺由来であり，HGF のオートクリン作用の強い細胞株には脳，肝臓，肺及び胃等の組織由来のものが含まれていた。CCLE のがん細胞パネルの中には，MET エクソン 14 スキッピング変異を有する唯一の細胞株として NCI-H596 が含まれている。先の *in vitro* 試験（Table 2-3）でカプマチニブは NCI-H596 の MET リン酸化に対する阻害作用（外因性 HGF 刺激有り）を示したが，CCLE プロジェクトでは外因性 HGF 刺激無しの条件であり NCI-H596 に対するカプマチニブの阻害作用は認められなかった。NCI-H596 を用いた *in vivo* モデルでは，外因性 HGF の存在下で細胞増殖が促進されることが報告されており（Zhang et al. 2010），NCI-H596 における MET シグナル伝達経路の活性化は実験条件である HGF 刺激の有無に依存するものと考えられた。

### 2.2.4 カプマチニブ代謝物の MET 阻害作用及び細胞増殖阻害作用

カプマチニブの主要代謝物として M8（CMN290），M16（CMN288），及び M18（CNJ294）の 3 種が同定されている [2.6.4-5.2 項]。これら代謝物の MET に対する *in vitro* 阻害作用を酵素アッセイ及び細胞増殖阻害アッセイで評価し，カプマチニブの阻害活性と比較した [Table 2.6.3.1-RD-2014-00427]。

酵素アッセイにおいて，カプマチニブは MET を強く阻害し，その IC50 は 1.7 nM であった。また，3 種類の代謝物のうち M18 が最も強い阻害作用を示し，その IC50 は 13 nM（カプマチニブとの比 8）であった。次いで M8 の阻害作用も認められており，その IC50 は 36.5 nM（カプマチニブとの比 22）であった。一方で，M16 の MET に対する阻害作用は 10 µM まで認められなかった。

MET 遺伝子増幅レベルが高い胃がん細胞株 MKN-45（Smolen et al. 2006）を用いて各代謝物の細胞増殖阻害作用を検討したところ，M18 が最も強い阻害作用を示し，その IC50 は 8.6 nM（カプマチニブとの比 2.5）であった。M8 についてはエナンチオマーの混合物であるが，その IC50 は 181 nM（カプマチニブとの比 52）であった。M16 は 10 µM まで作用を示さなかった（Table 2-4）。さらに，これら代謝物の MET 以外のキナーゼパネル 29 種に対する酵素阻害作用を検討したところ，10 µM まで作用を示さなかった。

**Table 2-4 カプマチニブ及び代謝物の MET に対する阻害作用及び細胞増殖阻害作用**

| | 酵素アッセイ | | 細胞増殖阻害アッセイ | |
|---|---|---|---|---|
| 化合物 | IC50（nM） | カプマチニブとの比 | IC50（nM） | カプマチニブとの比 |
| カプマチニブ（INC280） | 1.7 | 1 | 3.5 | 1 |
| M8（CMN290） | 36.5 | 22 | 181 | 52 |
| M16（CMN288） | > 10000 | NA | > 10000 | NA |
| M18（CNJ294） | 13 | 8 | 8.6 | 2.5 |

データは 2 回の実験の平均値を示す。

NA：該当せず

Source：Table 2.6.3.1-RD-2014-00427

## 2.3 *In vivo* 薬理試験

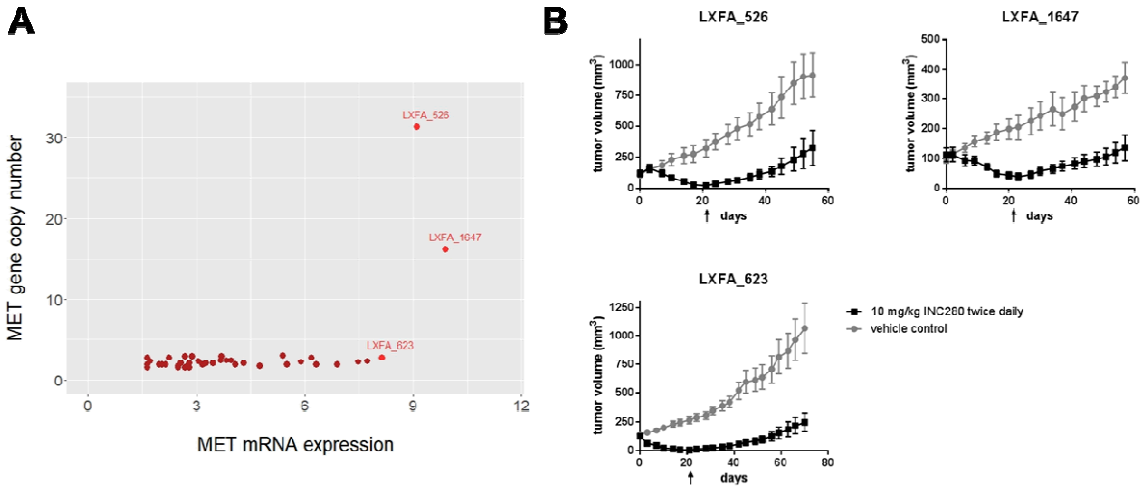
### 2.3.1 MET 制御異常の肺がんモデルマウスに対するカプマチニブの抗腫瘍効果

MET 遺伝子増幅及び MET エクソン 14 スキッピング変異といった MET 制御異常は，MET 阻害剤の肺がんに対する効果（反応性）予測因子であると考えられている（Smolen et al. 2006，Lutterbach et al. 2007，McDermott et al. 2007）。そこで，肺がん患者由来腫瘍組織をマウスに異種移植した PDX モデルを用い，カプマチニブの肺がんに対する抗腫瘍効果を検討した（[Table 2.6.3.1-RD-2013-00315]，Baltschukat et al. 2019）。

マイクロアレイ解析により遺伝子コピー数並びに遺伝子発現レベルが確認されている肺がん患者由来腫瘍検体 39 例より，MET の mRNA 発現が比較的高い 3 検体（LXFA_526，LXFA_1647，LXFA_623）を選び，3 種類の PDX モデルマウスを作製した。本モデルマウスにカプマチニブを 10 mg/kg の用量で 1 日 2 回，3 週間反復経口投与したところ，すべての PDX モデルで顕著な腫瘍退縮が認められており，投与を中止すると腫瘍は再び増大した（Figure 2-1）。

3 種類の PDX モデルのうち LXFA_526 及び LXFA_1647 については明らかな MET 遺伝子増幅（遺伝子コピー数：31 及び 16）が認められたことから，肺がんにおいて MET 遺伝子増幅レベルは MET 阻害剤の反応性と関連するものと思われた。一方，比較的 MET 遺伝子増幅レベルの低い LXFA_623（遺伝子コピー数 2.8）においても腫瘍退縮が認められたことから，MET 遺伝子増幅を伴わない場合においても MET 遺伝子が高発現していれば MET 阻害剤に反応を示す可能性が示唆された。

**Figure 2-1　MET 遺伝子増幅又は MET 遺伝子高発現を示す肺がんの PDX モデルマウスに対するカプマチニブの抗腫瘍効果**



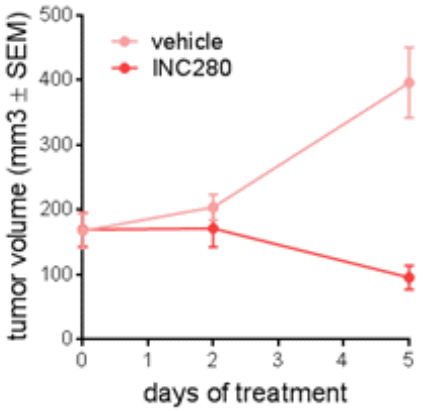

A：肺がん患者由来腫瘍検体 39 例における MET 遺伝子の mRNA 発現レベル及び MET 遺伝子コピー数。各腫瘍検体における MET 遺伝子発現レベルを Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array を用いて測定し，MET 遺伝子コピー数を Affymetrix SNP 6.0 Array を用いて測定した。横軸に MET の mRNA 発現レベルを log2 スケールで示し，縦軸に MET 遺伝子コピー数を示す。

B：ヒト肺がんの PDX モデルにおけるカプマチニブの抗腫瘍効果。腫瘍切片（LXFA_526，LXFA_623，LXFA_1647）を雌性 NMRI nu/nu マウス（5~7 週齢）の皮下に移植し，腫瘍サイズが一定の大きさ（平均腫瘍体積；LXFA_526 溶媒群 73.8 $mm^3$，カプマチニブ投与群 88.8 $mm^3$，LXFA_623 溶媒群 130.1 $mm^3$，カプマチニブ投与群 110.7 $mm^3$，LXFA_1647 溶媒群 99.9 $mm^3$，カプマチニブ投与群 100 $mm^3$）に達した時点で本モデルマウスを溶媒群又はカプマチニブ投与群へランダムに割り付けた。溶媒（0.25% methylcellulose / 0.05% Tween 80）又はカプマチニブ 10 mg/kg を 1 日 2 回，3 週間投与し，腫瘍体積を測定した。横軸は投与日，縦軸は腫瘍体積（$mm^3$）を平均値 ± 標準誤差（n = 6~10）で示す。矢印は最終投与日を示す。

Source：Table 2.6.3.1-RD-2013-00315，Baltschukat et al. 2019

上記の腫瘍検体 39 例中に MET エクソン 14 スキッピング変異を有するものがなかったため，別ソースから MET 遺伝子増幅陰性かつ MET エクソン 14 スキッピング変異陽性の NSCLC 患者由来腫瘍 LU5381 を見い出し，LU5381 腫瘍をマウスの皮下に移植した PDX モデルマウスに対するカプマチニブの抗腫瘍効果を検討した [Table 2.6.3.1-RD-2018-00057]。結果として，本モデルマウスにカプマチニブを投与すると腫瘍退縮が認められた（Figure 2-2）。

**Figure 2-2　MET 遺伝子増幅陰性かつ MET エクソン 14 スキッピング変異陽性 NSCLC 患者由来 PDX モデルマウスに対するカプマチニブの抗腫瘍効果**




MET 遺伝子増幅陰性かつ MET エクソン 14 スキッピング変異陽性の NSCLC 患者由来 PDX モデルマウスに対するカプマチニブの抗腫瘍効果。NSCLC 患者由来腫瘍（LU5381）の細胞懸濁液 8.3 x $10^4$ cells を雌性の重度複合免疫不全 NOD-SCID マウス（7 週齢）の皮下に移植し，腫瘍サイズが一定の大きさ（平均腫瘍体積：溶媒群 167.79 $mm^3$，カプマチニブ投与群 169.56 $mm^3$）に達したマウスを溶媒群又はカプマチニブ投与群へランダムに割り付けた。溶媒（0.25% methylcellulose / 0.05% Tween 80）又はカプマチニブ 20 mg/kg を 1 日 2 回，6 日間（Day 0～5）投与し，腫瘍体積を測定した。横軸は投与日，縦軸は腫瘍体積（$mm^3$）を平均値 ± 標準誤差（各 n = 5）で示す。

Source：Table 2.6.3.1-RD-2018-00057

### 2.3.2　他のがん腫モデルに対するカプマチニブの抗腫瘍効果

MET 遺伝子増幅と MET 阻害剤の反応性との関連は，肺がん以外の他のがん腫でも認められている。たとえば，胃がん由来の MET 遺伝子増幅陽性細胞株についても MET 阻害剤に反応することが報告されている（Smolen et al. 2006）。これを裏付けるものとして，MET 遺伝子増幅陽性を有するヒト胃がん由来細胞株 GTL-16luc2 を皮下に異種移植したマウスにカプマチニブ（3，10，及び 30 mg/kg）を 1 日 1 回，14 日間反復経口投与したところ，カプマチニブの強力かつ顕著な抗腫瘍効果が認められた [Table 2.6.3.1-RD-2010-00650]。また，MET 及び HGF の高発現細胞株 S114 の異種移植モデルマウスにカプマチニブを投与すると腫瘍増殖が抑制された（Liu et al. 2011）。

## 2.4　その他の薬理試験

### 2.4.1　カプマチニブの PK（薬物動態学）／PD（薬力学）相関

カプマチニブの PK/PD 相関を *in vivo* で検討するため，S114 異種移植モデルマウスにカプマチニブ（0.03～10 mg/kg）を単回経口投与し，本薬の血漿中薬物濃度及び腫瘍中 MET リン酸化阻害活性を経時的に測定した（Liu et al. 2011）。その結果，カプマチニブの用量依存的な MET リン酸化に対する阻害作用が認められた。また，カプマチニブの用量 3 mg/kg における投与 7 時間後の MET リン酸化阻害率は 90%超であり，そのときの曝露量は細胞株を用いた *in vitro* 試験におけるカプマチニブの 90%阻害濃度（IC90）である 71 nM（蛋白質結合率による補正値）を上回っていた。

次いで，MET 遺伝子増幅陽性の胃がん由来細胞株 GTL-16luc2 を皮下に異種移植したマウスを用いて PK/PD 相関を検討した [Table 2.6.3.1-RD-2010-00650]。本モデルマウスに溶媒又はカプマチニブ（1 及び 5 mg/kg）を単回経口投与し，本薬の血漿中及び腫瘍中薬物濃度，並びに腫瘍中 MET リン酸化阻害活性を経時的に測定した。その結果，カプマチニブのいずれの用量（1 及び 5 mg/kg）においても投与 8 時間後まで 90%以上の完全な MET リン酸化阻害活性が認められた。カプマチニブ投与 16 時間後（1 mg/kg）及び投与 24 時間後（5 mg/kg）では，MET リン酸化阻害率が約 50%程度まで回復した。S114 異種移植モデルマウスの結果と異なり，GTL-16luc2 異種移植モデルマウスではカプマチニブの血漿中濃度が 71 nM を大幅に下回った場合においても 90%以上の MET リン酸化阻害率が認められた。GTL-16luc2 異種移植モデルマウスの血漿中及び腫瘍中薬物濃度の経時的推移から，本薬の腫瘍からの消失速度が明らかに遅いことが示されており，このことから本薬の持続的な MET リン酸化阻害が認められたものと思われる。

### 2.4.2 他剤との併用効果

MET 下流のシグナル伝達経路は，他のキナーゼの活性化経路と交差していることが報告されている。その一例として，MET と EGFR シグナル伝達経路の重なり及びクロストークが挙げられる。MET と EGFR の両キナーゼが活性化されたがんモデル動物では，カプマチニブ又は他の MET 阻害剤の蛋白質のリン酸化レベルに対する作用が EGFR 阻害剤によって影響を受けており，薬力学的薬物相互作用が認められている（Engelman et al. 2007，[Table 2.6.3.1-RD-2011-00358]，[Table 2.6.3.1-RD-2014-00336]）。

MET 及び EGFR の両キナーゼが活性化された肺がんモデル動物では，MET 阻害剤と EGFR 阻害剤の併用投与による十分な抗腫瘍効果が確認されており，このようなモデルでは細胞内の下流シグナル活性化が通常よりも増強されていると考えられる。MET シグナル伝達経路との同様の交差が他のキナーゼ（BRAF 等）においても示唆されており，このことからカプマチニブと他のキナーゼ阻害剤との併用による薬力学的薬物相互作用が生じることは十分考えられる（Harbinski et al. 2012，Straussman et al. 2012，Wilson et al. 2012，Baltschukat et al. 2019）。

## 2.5 *In vivo* 試験における忍容性

2.3 項及び 2.4 項で示した *in vivo* 試験ではすべて体重測定を実施している。検討した用量及び投与スケジュールにおいて，カプマチニブの単独又は他剤との併用投与における忍容性は良好であった。一部の試験で中等度の体重減少が認められたのみである。詳細は各試験報告書に記載している（[Table 2.6.3.1-RD-2013-00315]，[Table 2.6.3.1-RD-2018-00057]，[Table 2.6.3.1-RD-2010-00650]，[Table 2.6.3.1-RD-2011-00358]，[Table 2.6.3.1-RD-2014-00336]，Liu et al. 2011）。

# 3 副次的薬理試験

## 3.1 *In vitro* 薬理試験

### 3.1.1 標的外分子におけるカプマチニブの *in vitro* 選択性

カプマチニブの選択性を評価するため，GPCR，トランスポーター，イオンチャネル，核内受容体，及び酵素といった標的外分子パネルに対するカプマチニブの *in vitro* 活性を検討した。

54 種類の標的外分子パネル（GPCR 46 種，トランスポーター3 種，及びイオンチャネル 5 種）における 2 濃度（0.1 及び 10 μM）での結合阻害活性を評価したところ，カプマチニブはどの分子種に対しても 50%以上の阻害活性を示さず，明らかなオフターゲット作用は認められなかった [Table 2.6.3.1-T07-07-07]。

さらに，156 種類の標的外分子パネル（GPCR 103 種，トランスポーター6 種，イオンチャネル 27 種，核内受容体 6 種，サイトカイン受容体 1 種，シグマ受容体 1 種，及び酵素 12 種）における結合阻害活性を評価したところ，10 μM 以下の IC50 が認められた分子種は，ラット VMAT2 モノアミントランスポーター（IC50：2.0 μM），アンジオテンシン $AT_1$ 受容体（IC50：4.4 μM），ホスホジエステラーゼ（PDE）3（IC50：4.7 μM）及び PDE4（IC50：5.1 μM），並びにアセチルコリンエステラーゼ（IC50：5.7 μM）であった [Table 2.6.3.1-RD-2016-00046]。

カプマチニブの治療用量（400 mg，1 日 2 回）で推定されるヒト遊離型最高血漿中薬物濃度（Cmax）は 0.464 μM である [2.7.2-Table 5-3]。この値に基づき外挿したヒト脳内遊離型 Cmax は 0.0464 μM（ラット 1170512 試験から脳内移行率を 10%と推定）であることから，カプマチニブは治療用量で CNS に関連する分子種（VMAT2，PDE4，及びアセチルコリンエステラーゼ）に対して明らかなオフターゲット作用を示さず，また CNS 外に分布する分子種（$AT_1$，PDE3，PDE4，又はアセチルコリンエステラーゼ）に対するオフターゲット作用も示さないと考えられる。

### 3.1.2 キナーゼパネルにおけるカプマチニブの *in vitro* 選択性

既知の多様な構造からなる 57 種類のヒトキナーゼパネルに対するカプマチニブの阻害活性を評価した（2.1.2 項）。その結果，カプマチニブは，MET に対しては完全な阻害活性を示したものの，それ以外のいずれのキナーゼに対しても 2 μM の濃度（野生型 MET に対する IC50 の 10000 倍超）で 30%を上回る阻害活性を示さなかった [Table 2.6.3.1-T07-07-08]。また，442 種類のキナーゼからなるパネルを用いて競合結合法によりスクリーニングを実施した（Table 2-2，[Table 2.6.3.1-RD-2017-00516]，[Table 2.6.3.1-RD-2018-00093]）。その結果，カプマチニブ濃度 10 μM で 65%以上の結合阻害率を示したのは野生型 MET 及び変異型 MET（M1250T 及び Y1235D）を含む 9 種類のキナーゼであったが，このうち MET 以外の 6 種のキナーゼに対する $K_D$ は 500 nM 以上であり，野生型 MET に対する $K_D$ の 1000 倍以上であった。

以上より，カプマチニブの MET に対する高いキナーゼ選択性が示された。

### 3.1.3 ヒト主代謝物 CMN288 の *in vitro* プロファイル

CMN288（M16）は，ヒトにおけるカプマチニブの主な循環血中代謝物である。そこで，CMN288 の副次的薬理プロファイルとして，GPCR，トランスポーター，イオンチャネル，核内受容体，及び酵素からなる計 127 種類の標的外分子パネルに対する作用を *in vitro* で検討した [Table 2.6.3.1-RD-2016-00063]。

カプマチニブはいくつかの標的外分子種において 10 µM の濃度で 50%を超える阻害活性又は活性化作用を示しており，ドーパミントランスポーター（96%，IC50：0.25 µM），胆汁酸トランスポーターBSEP（70%，IC50：1.5 µM），ベンゾジアゼピン受容体（66%，IC50：5.7 µM），ホスホジエステラーゼ PDE3A（65%，IC50：4.6 µM），小胞モノアミントランスポーターVMAT2（65%，IC50：6.8 µM）及びセロトニントランスポーター（54%，IC50：7.5 µM）で認められた。また，ホスホジエステラーゼ PDE4D（40%，IC50：10 µM）及びアセチルコリンエステラーゼ（44%，IC50：14 µM）に対しても作用が認められた。

カプマチニブの治療用量における CMN288 の推定ヒト血漿中遊離型 Cmax は 0.028 µM である [2.7.2-Table 5-3]。この値に基づき外挿したヒト脳内遊離型 Cmax は 0.0028～0.028 µM（CMN288 の脳内分布に排出トランスポーターが関与することを考慮し，脳内移行率を 10～100%と仮定）であり，CMN288 は治療条件下で明らかなオフターゲット作用を示さないと考えられた。

## 4 安全性薬理試験

カプマチニブの安全性薬理試験として，*in vitro* 電気生理学的試験，サルを用いた心血管系に関するテレメトリー試験，並びにラットを用いた呼吸系及び中枢神経系に関する試験を実施した。主要な安全性薬理試験は医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S7A 及び S7B に従い，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。

## 4.1 *In vitro* 試験

### 4.1.1 *In vitro* hERG スクリーニングアッセイ

*In vitro* 電気生理学的試験として，HEK293 細胞に発現させた hERG チャネル電流に及ぼすカプマチニブの影響を GLP 非適用で検討した [Table 2.6.3.4-T07-10-11]。カプマチニブの適用濃度は 3，10 及び 30 µM とし，パッチクランプ法により hERG 電流を測定した。

カプマチニブの hERG 電流の阻害率は，3 µM：19.9%，10 µM：47.4%，30 µM：77.8%であり，hERG 阻害作用に関する IC50 は 8.5 µM と算出された。なお，陽性対照薬（cisapride，90 nM）の hERG 電流阻害率は 80.3%であった。

### 4.1.2 *In vitro* hERG アッセイ

*In vitro* 電気生理学的試験として，HEK293 細胞に発現させた hERG チャネル電流に及ぼすカプマチニブの影響を GLP 適用で検討した [Table 2.6.3.4-T08-02-06]。カプマチニブの適用濃度は 3，10 及び 30 μM とし，パッチクランプ法により hERG 電流を測定した。

カプマチニブの hERG 電流の阻害率は，3 μM：13.7%，10 μM：36.7%，30 μM：60.6%であり，hERG 阻害作用に関する IC50 は 18.7 μM と算出された。なお，陽性対照薬（terfenadine，60 nM）の hERG 電流阻害率は 85.9%であった。

## 4.2 *In vivo* 試験

### 4.2.1 カニクイザルを用いた心血管系に関する試験

サルを用いた心血管系に関するテレメトリー試験 [Table 2.6.3.4-1070420] により，カプマチニブの血行動態及び心電図パラメータに対する影響を GLP 適用で検討した。本試験では，雄 3 例のカニクイザルに，0.5% methylcellulose 水溶液に懸濁したカプマチニブを，0，30，75 及び 150 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与はクロスオーバーデザインで行い，各用量間に 7 日間の休薬期間を設けた。投与前，並びに投与の約 30 分，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10，12 及び 24 時間後に検査を行い，一般状態，動脈血圧（平均動脈圧，収縮期及び拡張期血圧，脈圧），心拍数及び心電図間隔（PR，RR，QRS，QT，QTc 及び QA 間隔），並びに心電図の定性的波形について評価した。

本試験では，投薬に関連した死亡及び一般状態の変化は認められなかった。いずれの群においても，血圧，心拍数，心電図間隔及び心電図波形に対するカプマチニブ投与の影響は認められなかった。

### 4.2.2 ラット用いた中枢神経系及び呼吸系に関する試験

ラットを用いた中枢神経系及び呼吸系に関する試験 [Table 2.6.3.4-1070421] により，カプマチニブの中枢神経系及び呼吸系に対する影響を GLP 適用で検討した。本試験では，まず，1 群 10 例の Wistar 系雄ラットに，0.5% methylcellulose 水溶液に懸濁したカプマチニブを，0 及び 120 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前，投与 15 分後及び 24 時間後に，機能観察総合評価法（FOB）による検査を実施した。次に，6 日間の休薬後，対照群のラット 10 例を二分し，1 群 5 例のラットに，カプマチニブを 0 及び 120 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与前 30 分間，投与直後から投与 4 時間後まで，並びに投与 7 及び 24 時間後に約 30 分間，ヘッドアウト型プレチスモグラフィーチャンバーを用いて呼吸パラメータ（1 回換気量，呼吸数及び分時換気量）を測定した。

本試験では，死亡，一般状態及び体重の変化はみられず，FOB パラメータ及び呼吸系への影響も認められなかった。

# 5 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし。

# 6 考察及び結論

*In vitro* 酵素アッセイにおいて，カプマチニブの野生型 MET に対する IC50 は 0.13 nM であり，カプマチニブは一部の変異型 MET に対しても同程度の強い阻害作用を示した（2.1.1 項）。また，GPCR，トランスポーター，イオンチャネル，核内受容体，及び酵素からなる 156 種類の分子種，及び MET 以外の 400 種以上のキナーゼパネルを用いてカプマチニブの選択性を検討したところ，カプマチニブはこれらに対して明らかな作用を示さず，MET に対する選択性は 1000 倍以上であった（2.1.2 項，3.1.1 項，及び 3.1.2 項）。このことから，カプマチニブは強力かつ選択的な MET 阻害剤であることが示された。

細胞に対する作用を検討した試験において，カプマチニブは野生型 MET，MET エクソン 14 スキッピング変異，又は MET の膜近傍領域に変異を有する細胞株の MET リン酸化を強力に阻害した。また，MET 遺伝子増幅を有する細胞株において，MET 下流シグナル因子（ERK1/2，Akt，FAK，GAB1，STAT3/5）のリン酸化を強力に阻害した（2.2.1 項）。さらに，カプマチニブは，細胞増殖，コロニー形成，遊走活性，アポトーシスを指標とした評価系においても nM オーダーの強い活性を示した（2.2.2 項）。特に，カプマチニブは種々の細胞株で MET リン酸化阻害作用を示しており，ヒト肺がん由来細胞株 A549（MET 過剰発現），NCI-H441（MET 過剰発現），NCI-H596（MET エクソン 14 スキッピング変異）及び NCI-H1437（MET 変異 R988C），又はヒト腎細胞がん由来細胞株 786-O（MET 過剰発現）に対する MET リン酸化の IC50 は 0.3～1 nM であった。一方で，MET 制御異常を示さない SNU-1（ヒト胃がん由来）及び HEK293（ヒト腎由来）の細胞増殖に対してカプマチニブの作用は認められず，それぞれの IC50 は 10000 nM 及び 20000 nM を上回っていた。カプマチニブの細胞増殖阻害作用について，500 種類以上のヒトがん由来細胞株からなる大規模がん細胞パネルを用いて *in vitro* で検討したところ，MET 遺伝子高増幅及び MET 高発現を示す細胞株では非常に強い増殖阻害作用が認められた（2.2.3 項）。近年の報告（Fujino et al. 2019）では，MET エクソン 14 スキッピング変異（遺伝子欠損又は点突然変異）を遺伝子導入したマウス Pro-B 細胞株 Ba/F3 に対する細胞増殖は，カプマチニブによって強く阻害されることが示されている。このことから，カプマチニブのがん細胞に対する増殖阻害作用は，MET 活性依存的なものであると考えられた。

カプマチニブの主要代謝物（M8，M16，及び M18）の MET に対する酵素阻害作用について *in vitro* で検討したところ（2.2.4 項），M18 が最も強い阻害作用を示し，その IC50 は 13 nM であった。M8 及び M16 は，カプマチニブと比較して 22 倍以上低い活性を示した。また，MET 遺伝子増幅陽性細胞株 MKN-45 を用いてカプマチニブ代謝物の細胞増殖阻害作用について検討したところ，M18 はカプマチニブ（IC50：3.5 nM）とほぼ同程度の細胞増殖阻害作用を示し，その IC50 は 8.6 nM であった。一方で M8 及び M16 の細胞増殖阻害作用は弱く，それぞれの IC50 は

181 nM 及び 10000 nM 超であった。また，29 種のキナーゼパネルでの検討において，これらの代謝物は 10 μM まで明らかな作用を示さなかった。さらに，主要な循環血中代謝物である M16 について 127 種類の標的外分子に対する作用を検討したところ，10 μM で 50%以上の阻害作用を示した分子種がいくつか認められたものの，カプマチニブの治療用量（400 mg，1 日 2 回）における推定曝露量は，これらの標的外分子に対する IC50 よりもはるかに低いことから，M16 は MET 以外の分子種に対して作用を示さないものと考えられた（3.1.3 項）。

*In vivo* において，カプマチニブは，MET 制御異常を示す肺がんモデルマウスに対して強い抗腫瘍効果を示した（2.3.1 項）。MET 遺伝子増幅又は MET 高発現を示す肺がん患者由来組織を異種移植した 3 種類の PDX モデルマウスにカプマチニブを 3 週間反復投与すると顕著な腫瘍退縮が認められた。このことから，カプマチニブの抗腫瘍効果は MET 遺伝子増幅レベル又は MET 遺伝子の発現レベルが関連していると考えられた。また，MET エクソン 14 スキッピング変異の NSCLC 患者から採取した腫瘍組織を異種移植した PDX モデルマウスにおいてもカプマチニブは抗腫瘍効果を示した（2.3.1 項）。カプマチニブは NSCLC 以外のがん腫に対しても抗腫瘍効果を示しており，MET 遺伝子増幅陽性のヒト胃がん由来細胞株を異種移植したマウスにおいても顕著な抗腫瘍効果が認められた（2.3.2 項）。このことから，カプマチニブは NSCLC 以外の腫瘍に対しても効果を発揮する可能性が示唆された。さらに，カプマチニブの PK/PD 相関について MET 制御異常を示す細胞株の異種移植モデルマウスを用いて検討したところ，持続的な MET リン酸化阻害作用が認められた（2.4.1 項）。また，MET 下流のシグナル伝達経路は，他のキナーゼ活性化経路と交差することが報告されており，MET 及び EGFR の両キナーゼが活性化されたがんモデル動物では，カプマチニブ等の MET 阻害剤と EGFR 阻害剤との併用効果が認められている（2.4.2 項）。上記のカプマチニブを用いて実施した *in vivo* 薬理試験における忍容性は良好であった（2.5 項）。以上より，カプマチニブの MET 制御異常を有する NSCLC に対する効力が裏付けられた。

*In vitro* 電気生理学的試験において，臨床用量の血漿中薬物濃度の数倍を上回る高濃度で阻害作用（IC50：18.7 μM）が認められた（4.1 項）。また，*in vivo* 安全性薬理試験において，カプマチニブ投与による中枢神経系，心血管系及び呼吸系の影響は認められなかった（4.2 項）。

以上より，カプマチニブは強力かつ選択的な MET 阻害作用を示し，MET 遺伝子変異及び遺伝子増幅を有する NSCLC 患者由来の細胞株及びその異種移植モデルにおいて顕著な抗腫瘍効果を示した。したがって，カプマチニブは添付文書（案）に従った投与により MET 遺伝子変異陽性の NSCLC に対して治療効果を発揮することが期待される。

# 7 参考文献

[Awad MM, Oxnard GR, Jackman DM, et al. (2016)] 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; 34(7):721-30.

[Awad MM, Leonardi GC, Kravets S, et al. (2017)] Impact of MET inhibitors on survival among patients (pts) with MET exon 14 mutant (METdel14) non-small cell lung cancer (NSCLC). J Clin Oncol; 35(15 suppl):8511.

[Baltschukat S, Engstler BS, Huang A, et al. (2019)] Capmatinib (INC280) is active against models of non-small cell lung cancer and other cancer types with defined mechanisms of MET activation. Clin Cancer Res; 25(10):3164-75.

[Bang YJ, Su WC, Nam DH, et al. (2014)] Phase I study of the safety and efficacy of INC280 in patients with advanced MET-dependent solid tumors. J Clin Oncol; 32(15 suppl):2520.

[Barretina J, Caponigro G, Stransky N, et al. (2012)] The cancer cell line encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. Nature; 483(7391):603-7.

[Bean J, Brennan C, Shih JY, et al. (2007)] MET amplification occurs with or without T790M mutations in EGFR mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib or erlotinib. Proc Natl Acad Sci U S A; 104(52):20932-7.

[Birchmeier C, Birchmeier W, Gherardi E, et al. (2003)] Met, metastasis, motility and more. Nat Rev Mol Cell Biol; 4(12):915-25.

[Borowiak M, Garratt AN, Wüstefeld T, et al. (2004)] Met provides essential signals for liver regeneration. Proc Natl Acad Sci U S A; 101(29):10608-13.

[Camidge DR, Ou SI, Shapiro G, et al. (2014)] Efficacy and safety of crizotinib in patients with advanced c-MET-amplified non-small cell lung cancer (NSCLC). J Clin Oncol; 32(15 suppl):8001.

[Campbell JD, Alexandrov A, Kim J et al. (2016)] Distinct patterns of somatic genome alterations in lung adenocarcinomas and squamous cell carcinomas. Nat Genet; 48(6):607-16.

[Chmielowiec J, Borowiak M, Morkel M, et al (2007)] c-MET is essential for wound healing in the skin. J Cell Biol; 177(1):151-62.

[Christensen JG, Burrows J, and Salgia R (2005)] c-MET as a target for human cancer and characterization of inhibitors for therapeutic intervention. Cancer Lett; 225(1):1-26.

[Comoglio PM, Trusolino L, Boccaccio C (2018)] Known and novel roles of the MET oncogene in cancer: a coherent approach to targeted therapy. Nat Rev Cancer; 18(6):341-58.

[Drilon A, Ou S, Clark J, et al. (2016)] Antitumor activity and safety of crizotinib in patients with MET exon 14-altered advanced non-small cell lung cancer. J Thoracic Oncol; 12(1S):S438-9 (abstract MA16.09).

[Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. (2007)] MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. Science; 316(5827):1039-43.

[Frampton GM, Ali SM, Rosenzweig M, et al. (2015)] Activation of MET via diverse exon 14 splicing alterations occurs in multiple tumor types and confers clinical sensitivity to MET inhibitors. Cancer Discov; 5(8):850-9.

[Fujino T, Kobayashi Y, Suda K, et al. (2019)] Sensitivity and resistance of MET exon 14 mutations in lung cancer to eight MET tyrosine kinase inhibitors in vitro. J Thorac Oncol; 14(10):1753-65.

[Harbinski F, Craig VJ, Sanghavi S, et al. (2012)] Rescue screens with secreted proteins reveal compensatory potential of receptor tyrosine kinases in driving cancer growth. Cancer Discov; 2(10):948-59.

[Heist RS, Sequist LV, Borger D, et al. (2016)] Acquired resistance to crizotinib in NSCLC with MET exon 14 skipping. J Thorac Oncol; 11(8):1242-5.

[Jamal-Hanjani M, Wilson GA, McGranahan N, et al. (2017)] Tracking the evolution of non- small-cell lung cancer. N Engl J Med; 376(22):2109-21.

[Jia Y, Juarez J, Li J, et al. (2016)] EGF816 exerts anticancer effects in non-small cell lung cancer by irreversibly and selectively targeting primary and acquired activating mutations in the EGF receptor. Cancer Res; 76(6):1591-602.

[Kong-Beltran M, Seshagiri S, Zha J, et al. (2006)] Somatic mutations lead to an oncogenic deletion of met in lung cancer. Cancer Res; 66(1):283-9.

[Kwak EL, Ahronian LG, Siravegna G, et al. (2015)] Molecular heterogeneity and receptor coamplification drive resistance to targeted therapy in MET-amplified esophagogastric cancer. Cancer Discov; 5(12):1271-81.

[Li A, Yang JJ, Zhang XC, et al. (2017)] Acquired MET Y1248H and D1246N mutations mediate resistance to MET inhibitors in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res; 23(16):4929-37.

[Liu X, Yao W, Newton RC, et al. (2008)] Targeting the c-MET signaling pathway for cancer therapy. Expert Opin Investig Drugs; 17(7)**:**997-1011.

[Liu X, Wang Q, Yang G, et al. (2011)] A novel kinase inhibitor, INCB28060, blocks c-MET-dependent signaling, neoplastic activities, and cross-talk with EGFR and HER-3. Clin Cancer Res; 17(22):7127-38.

[Lu X, Peled N, Greer J, et al. (2017)] MET exon 14 mutation encodes an actionable therapeutic target in lung adenocarcinoma. Cancer Res; 77(16):4498-505.

[Lutterbach B, Zeng Q, Davis LJ, et al. (2007)] Lung cancer cell lines harboring MET gene amplification are dependent on Met for growth and survival. Cancer Res; 67(5)2081-8.

[McCoach CE, Yu A, Gandara D, et al. (2015)] Phase I study of INC280 plus erlotinib in patients with MET expressing adenocarcinoma of the lung. J Clin Oncol; 33(15 suppl):2587.

[McDermott U, Sharma SV, Dowell L, et al. (2007)] Identification of genotype-correlated sensitivity to selective kinase inhibitors by using high-throughput tumor cell line profiling. Proc Natl Acad Sci U S A; 104(50):19936-41.

[McDonald ER 3rd, de Weck A, Schlabach MR, et al. (2017)] Project DRIVE: A compendium of cancer dependencies and synthetic lethal relationships uncovered by large-scale, deep RNAi screening. Cell; 170(3):577-92.

[Ou SH, Kwak EL, Siwak-Tapp C, et al. (2011)] Activity of crizotinib (PF02341066), a dual mesenchymal-epithelial transition (MET) and anaplastic lymphoma kinase (ALK) inhibitor, in a non-small cell lung cancer patient with de novo MET amplification. J Thorac Oncol; 6(5):942-6.

[Ou SI, Young L, Schrock AB, et al. (2017)] Emergence of preexisting MET Y1230C mutation as a resistance mechanism to crizotinib in NSCLC with MET exon 14 skipping. J Thorac Oncol; 12(1):137-40.

[Paik PK, Drilon A, Fan PD, et al. (2015)] Response to MET inhibitors in patients with stage IV lung adenocarcinomas harboring MET mutations causing exon 14 skipping. Cancer Discov; 5(8):842-9.

[Papadimitrakopoulou VA, Wu YL, Han JY, et al (2018)] Analysis of resistance mechanisms to osimertinib in patients with EGFR T790M advanced NSCLC from the AURA3 study. Ann Oncol; 29(S8):mdy424.

[Parikh PK and Ghate MD (2018)] Recent advances in the discovery of small molecule c-Met kinase inhibitors. Eur J Med Chem; 143:1103-38.

[Plenker D, Bertrand M, de Langen AJ, et al. (2018)] Structural alterations of MET trigger response to MET kinase inhibition in lung adenocarcinoma patients. Clin Cancer Res; 24(6):1337-43.

[Ramalingam SS, Cheng Y, Zhou C, et al (2018)] Mechanisms of acquired resistance to first-line osimertinib: preliminary data from the phase III FLAURA study. ESMO 2018 Congress; 29(8):1.

[Rong S, Bodescot M, Blair D, et al. (1992)] Tumorigenicity of the met proto-oncogene and the gene for hepatocyte growth factor. Mol Cell Biol; 12(11):5152-8.

[Schrock AB, Frampton G, Suh J, et al. (2016)] Characterization of 298 patients with lung cancer harboring MET exon 14 skipping alterations. J Thoracic Oncol; 11(9):1493-502.

[Schuler MH, Berardi R. Lim WT, et al. (2016)] 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). J Clin Oncol; 34(15 suppl):9067.

[Smolen GA, Sordella R, Muir B, et al. (2006)] Amplification of MET may identify a subset of cancers with extreme sensitivity to the selective tyrosine kinase inhibitor PHA-665752. Proc Natl Acad Sci U S A; 103(7):2316-21.

[Straussman R, Morikawa T, Shee K, et al. (2012)] Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion. Nature; 487(7408):500-4.

[The Cancer Genome Atlas Research Network (2014)] Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. Nature; 511(7511):543-50.

[Togashi Y, Mizuuchi H, Tomida S, et al. (2015)] MET gene exon 14 deletion created using the CRISPR/Cas9 system enhances cellular growth and sensitivity to a MET inhibitor. Lung Cancer; 90(3):590-7.

[Vassal G, Ledeley M, Tournigand C, et al. (2015)] Activity of crizotinib in relapsed MET amplified malignancies: Results of the French AcSé Program. J Clin Oncol; 33(15 suppl):2595.

[Wang Y, Li L, Han R, et al. (2018)] Clinical analysis by next-generation sequencing for NSCLC patients with MET amplification resistant to osimertinib. Lung Cancer; 118:105-10.

[Wilson TR, Fridlyand J, Yan Y, et al. (2012)] Widespread potential for growth-factor-driven resistance to anticancer kinase inhibitors. Nature; 487(7408):505-9.

[Wu YL, Kim D-W, Felip E, et al. (2016)] Phase (Ph) II safety and efficacy results of a single-arm ph ib/II study of capmatinib (INC280) + gefitinib in patients with EGFR-mutated (mut), cMET-positive (cMET+) non-small cell lung cancer. J Clin Oncol; 34(15 suppl):9020.

[Zhang YW, Staal B, Essenburg C, et al. (2010)] MET kinase inhibitor SGX523 synergizes with epidermal growth factor receptor inhibitor erlotinib in a hepatocyte growth factor dependent fashion to suppress carcinoma growth. Cancer Res; 70(17):6880-90.

## 2.6.3 薬理試験概要表

# 目　次

目　次 ..... 2
略号一覧 ..... 3
2.6.3.1　薬理試験一覧表 ..... 4
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 ..... 8
2.6.3.3　副次的薬理試験 ..... 8
2.6.3.4　安全性薬理試験 ..... 9

# 略号一覧

| 略号 | 省略していない表現（英） | 省略していない表現（日） |
|---|---|---|
| ATP | adenosine triphosphate | アデノシン三リン酸 |
| CNS | central nervous system | 中枢神経系 |
| EGFR | epidermal growth factor receptor | 上皮増殖因子受容体 |
| FGFR | fibroblast growth factor receptor | 線維芽細胞増殖因子受容体 |
| 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 |
| GPCR | G protein-coupled receptor | G 蛋白質共役受容体 |
| HEK | human embryonic kidney | ヒト胎児由来腎臓 |
| hERG | human ether-à-go-go-related gene | ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子 |
| IC50 | 50% inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| $K_D$ | dissociation constant | 解離定数 |
| MC | methylcellulose | メチルセルロース |
| MET (c-MET) | mesenchymal-epithelial transition factor | 間葉上皮転換因子 |
| PD | pharmacodynamics | 薬力学 |
| PDX | patient-derived xenograft | 患者由来腫瘍移植 |
| PK | pharmacokinetics | 薬物動態（学） |

## 2.6.3.1 薬理試験一覧表

| Type of study | Test system or protocol | Method of administration | Testing facility | Report number | Location in CTD |
|---|---|---|---|---|---|
| **Primary pharmacodynamics** | | | | | |
| >*In vitro* pharmacology | | | | | |
| *In vitro* activity of INCB028060 against human wild-type and selected mutant c-MET enzymes | The biochemical potency of INCB028060 for the inhibition of human c-MET kinase activity was determined using an *in vitro* kinase assay with recombinant human c-MET enzyme and a biotin-labeled tyrosine-containing peptide as substrate. | *In vitro* (biochemical assays) | INCYTE | [nonclinical-summary-IND-103729] | 4.2.1.1-1 |
| Single agent activity of the c-MET inhibitor INC280 in a broad cancer cell line panel | Effect of capmatinib on cellular growth and viability measured in more than 500 cell lines derived from patients with multiple cancer types in a high-throughput format using a Cell Titer-Glo (ATP-based) readout | *In vitro* (cellular assays) | Novartis Pharma AG | [RD-2012-50278] | 4.2.1.1-2 |
| Biochemical and cellular activity of INC280 metabolites against c-MET | Determination of biochemical and cellular potency of three capmatinib metabolites in a head-to-head comparison with capmatinib itself; cellular potency measured by proliferation assays in a MET-amplified cell line | *In vitro* (biochemical and cellular assays) | Novartis Pharma AG | [RD-2014-00427] | 4.2.1.1-3 |
| >*In vivo* pharmacology | | | | | |
| *In vivo* efficacy of c-MET-directed therapy in four patient non-small cell lung cancer explants passaged as subcutaneous xenografts in nude mice | The *in vivo* anti-tumor efficacy of capmatinib was measured in three lung cancer patient-derived xenograft (PDX) models implanted into immunodeficient mice. The PDX models displayed genomic evidence of MET activation (MET overexpression with or without gene amplification). The fourth model mentioned in the report showed relevance for concomitant MET and FGFR activation and is not relevant to this submission. | *In vivo* (oral) | Novartis Pharma AG | [RD-2013-00315] | 4.2.1.1-4 |

| Type of study | Test system or protocol | Method of administration | Testing facility | Report number | Location in CTD |
|---|---|---|---|---|---|
| *In vivo* efficacy study of MET inhibitor in LU5381 Patient Derived Xenograft Model | The *in vivo* anti-tumor efficacy of capmatinib was measured in one lung cancer patient-derived xenograft (PDX) model implanted into immunodeficient mice. In this PDX model, MET was not amplified, but bearing a exon 14 skipping mutation. | *In vivo* (oral) | Novartis Pharma AG | [RD-2018-00057] | 4.2.1.1-5 |
| Antitumor activity and PK/PD relationship of NVP-INC280 in GTL-16luc2 subcutaneous xenografts | Xenografts of the human MET-amplified gastric cancer cell line GTL-16 were used to investigate the relationship of (a) capmatinib pharmacokinetics and pharmacodynamics as measured by MET phosphorylation and (b) the relationship between pharmacokinetics or pharmacodynamics and anti-tumor efficacy. | *In vivo* (oral) | Novartis Pharma AG | [RD-2010-00650] | 4.2.1.1-6 |
| *In vivo* combination of the MET inhibitor NVP-INC280-AA and the EGFR inhibitor gefitinib in a lung cancer model of acquired gefitinib resistance | A lung cancer cell line with EGFR activating mutation and concomitant MET amplification was implanted into immunodeficient mice, and xenograft tumors were treated with capmatinib, gefitinib, or a combination of both, demonstrating superiority of the combination in this model of acquired EGFR inhibitor resistance in lung cancer. | *In vivo* (oral) | Novartis Pharma AG | [RD-2011-00358] | 4.2.1.1-7 |
| *In vivo* combination study using NVP-LLN816 and NVP-INC280 in human NSCLC Erlotinib and LLN816 resistant HCC827 xenograft model harboring the activating EGFR Ex19Del mutation | A lung cancer cell line with EGFR activating mutation was implanted into immunodeficient mice and exposed to nazartinib for prolonged periods, generating resistant derivatives with evidence for MET activation. When re-implanted into mice, resistant tumors could be successfully treated with a combination of capmatinib and nazartinib, while single agents were suboptimal. | *In vivo* (oral) | Novartis Pharma AG | [RD-2014-00336] | 4.2.1.1-8 |

| Type of study | Test system or protocol | Method of administration | Testing facility | Report number | Location in CTD |
|---|---|---|---|---|---|
| **Secondary pharmacodynamics** | | | | | |
| >*In vitro* pharmacology | | | | | |
| Cerep receptors panel | *In vitro* binding assays in a panel of 54 receptors, tested capmatinib concentration range: 0.1 to 10 µM (lot 004), revealing no significant cross reactivity | *In vitro* | [redacted] | [T07-07-07] | 4.2.1.2-1 |
| Secondary pharmacology profile of capmatinib (off-target activities) | GPCRs, transporters, ion channels, nuclear receptors, enzymes;<br>capmatinib tested at up to 30 µM;<br>activities of > 50% inhibition or activation at 10 µM were found in the rat VMAT2 monoamine transporter uptake assay (IC50 = 2.0 µM), the angiotensin receptor $AT_1$ binding assay (IC50 = 4.4 µM), the phosphodiesterases PDE3 (IC50 = 4.7 µM) and PDE4 (IC50 = 5.1 µM), and the acetylcholinesterase assay (IC50 = 5.7 µM), rabbit platelet VMAT2 monoamine transporter binding assay (IC50 =0.97 µM) | *In vitro* | Novartis Pharma AG | [RD-2016-00046] | 4.2.1.2-2 |
| Cerep kinase panel | Panel of 57 kinase assays, capmatinib tested at 2 µM (lot 004), revealing complete inhibition of MET and no significant cross reactivity with other kinases | *In vitro* | [redacted] | [T07-07-08] | 4.2.1.2-3 |
| KINOMEscan Primary Screen Report | Screen of capmatinib at 10 µM across a panel of 442 kinase binding assays, producing 9 hits | *In vitro* | Novartis Pharma AG | [RD-2017-00516] | 4.2.1.2-4 |
| Determination of binding constant ($K_D$) for INC280 hits in KinomeScan primary screen | Follow-up study on: determination of binding constants of capmatinib for the 9 hits in the KinomeScan primary screen using dose-response curves, demonstrating a factor of 1000 or more of selectivity for MET (or two mutant MET variants) over all other hits | *In vitro* | Novartis Pharma AG | [RD-2018-00093] | 4.2.1.2-5 |

| Type of study | Test system or protocol | Method of administration | Testing facility | Report number | Location in CTD |
|---|---|---|---|---|---|
| Secondary pharmacology profile for CMN288<br>(off-target activities) | GPCRs, transporters, ion channels, nuclear receptors, enzymes;<br>CMN288 tested at up to 30 µM;<br>activities of >50% inhibition or activation at 10 µM were found on the dopamine transporter (96%, IC50 = 0.25 µM), bile salt export pump (BSEP, 70%; IC50 = 1.5 µM), benzodiazepine receptor (66%, IC50 = 5.7 µM), phosphodiesterase PDE3A (65%, IC50 = 4.6 µM), vesicular monoamine transporter (VMAT2, 65%, IC50 = 6.8 µM) and the serotonin transporter (SERT, 54%, IC50 = 7.5 µM). Activities were also found on phosphodiesterase PDE4D (40%, IC50 = 10 µM) and acetylcholinesterase (44%, IC50 = 14 µM). | *In vitro* | Novartis Pharma AG | [RD-2016-00063] | 4.2.1.2-6 |

## 2.6.3.2　効力を裏付ける試験

2.6.3.1 に記載

## 2.6.3.3　副次的薬理試験

2.6.3.1 に記載

## 2.6.3.4 安全性薬理試験

| Organ systems evaluated | Species / strain | Method of admin. | Doses (mg/kg) (Batch no.) | Gender and no. per group | Significant findings | GLP | Report number | Location in CTD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ***In vitro*** | | | | | | | | |
| hERG potassium channel | HEK293 cells | *In vitro* | 3, 10, 30 µM (lot 4392-90) | NA | hERG inhibition: 3 µM (19.9%), 10 µM (47.4%), 30 µM (77.8%) IC50 = 8.5 µM | No | [T07-10-11] | 4.2.1.3-1 |
| hERG potassium channel | HEK293 cells | *In vitro* | 3, 10, 30 µM (lot 16) | NA | hERG inhibition: 3 µM (13.7%), 10 µM (36.7%), 30 µM (60.6%) IC50 = 18.7 µM | Yes | [T08-02-06] | 4.2.1.3-2 |
| ***In vivo*** | | | | | | | | |
| CNS, respiratory | Rats/ Wistar Hannover | Oral gavage Vehicle: 0.4% MC | 0, 120 (dihydrochloride salt, Batch: 1051001) | 10 M (CNS) 5 M (respiratory) | No effects on CNS or respiratory systems. | Yes | [1070421] | 4.2.1.3-3 |
| Cardio-vascular (telemetry) | Cynomolgus monkeys | Oral gavage Vehicle: 0.5% MC | 0, 30, 75, 150 (dihydrochloride salt, Batch: 1051001) | 4 M (cross over design) | No effects on hemodynamic or ECG parameters. (no QTc prolongations) | Yes | [1070420] | 4.2.1.3-4 |

MC = methylcellulose