目次

略号一覧表 3
2.4 非臨床試験の概括評価 7
2.4.1 非臨床試験計画概略 7
2.4.1.1 序文 7
2.4.1.2 ALK 陽性 NSCLC 患者の治療薬として brigatinib を使用する根拠 8
2.4.1.3 非臨床開発プログラム 8
2.4.2 薬理試験 9
2.4.2.1 Brigatinib の全般的なキナーゼ阻害プロファイル 9
2.4.2.2 Brigatinib の ALK 阻害活性 10
2.4.2.3 ROS1、EGFR 及びその他の標的に対する brigatinib の阻害活性 11
2.4.2.4 Brigatinib の in vitro 効力の患者における全身曝露量との比較 12
2.4.2.5 安全性薬理試験 17
2.4.3 薬物動態試験 18
2.4.3.1 分析法 18
2.4.3.2 吸収 18
2.4.3.2.1 In vitro での brigatinib の透過性 18
2.4.3.2.2 各動物種を用いた brigatinib の単回投与薬物動態試験 18
2.4.3.3 分布 21
2.4.3.3.1 血漿蛋白結合 21
2.4.3.3.2 血球移行 21
2.4.3.3.3 組織分布 21
2.4.3.4 代謝 21
2.4.3.4.1 In vitro 代謝 21
2.4.3.4.2 CYP 分子種同定 22
2.4.3.4.3 In vivo 代謝 22
2.4.3.5 排泄 22
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 23
2.4.3.6.1 In vitro での CYP 阻害 23
2.4.3.6.2 In vitro での CYP 誘導 23
2.4.3.6.3 In vitro での薬物トランスポーターとの相互作用 23
2.4.4 毒性試験 23
2.4.4.1 毒性試験に用いる動物種の選択 24
2.4.4.2 単回投与毒性試験 24
2.4.4.3 反復投与毒性試験 24
2.4.4.3.1 投与に関連する死亡／状態悪化 25
2.4.4.3.2 肺に対する作用 25
2.4.4.3.3 免疫系関連器官に対する作用 25
2.4.4.3.4 消化管系に対する作用 25

2.4.4.3.5 造血系に対する作用 25
2.4.4.3.6 肝臓に対する作用 26
2.4.4.3.7 腎臓に対する作用 26
2.4.4.3.8 骨に対する作用 26
2.4.4.3.9 精巣／精巣上体に対する作用 26
2.4.4.3.10 心臓に対する作用 26
2.4.4.3.11 膵臓に対する作用 26
2.4.4.3.12 眼球に対する作用 27
2.4.4.4 遺伝毒性試験 27
2.4.4.5 がん原性試験 27
2.4.4.6 生殖発生毒性試験 27
2.4.4.7 その他の試験 27
2.4.5 総括及び結論 28
2.4.6 参考文献一覧 32

表

表 2.4.2.2-1 ALK 陽性及び ALK 陰性細胞株の増殖に対する brigatinib 及びクリゾチニブの影響 10
表 2.4.2.4-1 Brigatinib：in vitro キナーゼ及び細胞内阻害活性の総合要約 13
表 2.4.2.4-2 Brigatinib とクリゾチニブの臨床曝露量の要約 15
表 2.4.3.2-1 Brigatinib をマウス、ラット及びサルに単回経口投与後の brigatinib 及び AP26123（代謝物）の薬物動態パラメータ 20

図

図 2.4.1.2-1 Brigatinib の構造 8
図 2.4.2.4-1 IC_{90} 値と血漿中 TKI 濃度の「有効」Cmax 値（蛋白結合の機能的影響について補正）の関係 14

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明	
ADME	absorption, distribution, metabolism, excretion	吸収、分布、代謝、排泄
ALCL	Anaplastic large-cell lymphoma	未分化大細胞リンパ腫
ALK	Anaplastic Lymphoma Kinase	未分化リンパ腫キナーゼ
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AMP	adenosine 5'-monophosphate	アデノシン 5'-一リン酸
ASP	4-(4-dimethylaminostyryl)-N-methylpyridinium	4-(4-ジメチルアミノスチリル)-N-メチルピリジニウム
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
A-to-B	apical-to-basolateral	頂端膜側から基底膜側
ATP	adenosine 5'-triphosphate	アデノシン 5'-三リン酸
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-24}	area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours postdose	投与後 0 時間から 24 時間までの AUC
$AUC_{0-\infty}$	area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity	0 時間から無限大時間までの AUC
$AUC_{0-\tau}$	area under the plasma concentration-time curve over the dosing interval	投与間隔時間における AUC
AUC_{all}	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the last measurable time point or to the last time point that is below the limit of quantitation and assumed as zero for calculations	0 時間から最終測定可能時点又は定量下限未満を下回り計算上 0 と仮定される最終時点までの AUC
AUC_{last}	area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last measurable concentration above the lower limit of quantitation	0 時間から定量下限を上回る最終測定可能時点までの AUC
BA	Bioavailability	バイオアベイラビリティ
BCRP	breast cancer resistance protein	-
BDC	bile duct-cannulated	胆管ろう形成
BSEP	bile salt export pump	-
B-to-A	basolateral-to-apical	基底膜側から頂端膜側
C2BBe1	human colon carcinoma cell line	ヒト結腸癌細胞株
Cave	average plasma concentration	平均血漿中濃度
CD74	Cluster of differentiation 74	分化抗原群 74
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use	-
CL	clearance	クリアランス
CL_h	hepatic clearance	肝クリアランス
CL_{int}	intrinsic clearance	固有クリアランス
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CsA	cyclosporine A	シクロスポリン A
CSR	clinical study report	治験総括報告書
CYP	cytochromes P450	チトクローム P450
DFG	Asp-Phe-Gly	-
DMPO	Dimethylphosphine oxide	ジメチルホスフィンオキシド

略号	略していない表現又は説明	
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor	上皮成長因子受容体
EGFR-Del	EGFR (delE746_A750)	-
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
EML4	echinoderm microtubule-associated protein-like 4	棘皮動物微小管結合蛋白質様 4
EPAR	European Public Assessment Report	欧州公開医薬品審査報告書
ERK	Extracellular Signal-Regulated Kinase	細胞外シグナル調節キナーゼ
EU	European Union	欧州連合
FDA	Food and Drug Administration	（米国）食品医薬品局
FIG	Fused In Glioblastoma	膠芽細胞腫における融合
FLT3	Fms-like tyrosine kinase 3	-
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissue	消化管関連リンパ系組織
GeoMean	Geometric mean	幾何平均
GGT	Gamma glutamyltransferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GI_{50}	growth inhibition 50%	細胞増殖を 50%阻害する濃度
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
GSH	glutathione	グルタチオン
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎
HER2	human epidermal growth factor receptor type 2	ヒト上皮細胞増殖因子受容体 2
hERG	human ether-a-go-go Related Gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャンネル遺伝子
HNSTD	Highest-non-severely-toxic-dose level (in nonrodents)	（非げっ歯類において）重篤な毒性が発現しない最大投与量
HPLC	high pressure liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	Inhibitory concentration 50%	50%阻害濃度
IC_{90}	Inhibitory concentration 90%	90%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonization	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IGF-1	insulin-like growth factor 1	インスリン様成長因子 1
IGF-1R	Insulin-like growth factor 1 receptor	インスリン様成長因子 1 受容体
IL-3	Interleukin-3	インターロイキン 3
INSR	Insulin receptor	インスリン受容体
IV	intravenous	静脈内
KB/P	blood to plasma ratio	血液－血漿比
Km	Michaelis-Menten constant	ミカエリス・メンテン定数
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
LD_{50}	Lethal dose eliciting 50% mortality	50%致死量
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数
MATE	multidrug and toxic compound extrusion	-
MDCK	Madin-Darby canine kidney	Madin-Darby イヌ腎
MDR1	multi-drug resistance 1	多剤耐性遺伝子
MET	Hepatocyte growth factor receptor	肝細胞増殖因子の受容体チロシンキナーゼ

略号	略していない表現又は説明	
MPP+	methylphenylpyridinium	メチルフェニルピリジニウム
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
MTD	Maximum Tolerated Dose	最大耐量
NA	Not applicable	該当せず
NADPH	reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NDA	New Drug Application	新薬承認申請
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No-observed-effect level	無影響量
NPM	nucleophosmin	ヌクレオフォスミン
NSCLC	Non-small cell lung cancer	非小細胞肺癌
NTCP	sodium taurocholate cotransporting polypeptide	-
OAT	organic anion transporter	-
OATP	organic anion-transporting polypeptide	-
OCT	organic cation transporter	-
ORR	objective response rate	客観的奏効率
P-	Phosphorylated-	リン酸化-
P_{app}	apparent permeability coefficient	見かけの透過係数
PD	Pharmacodynamic	薬力学
PFS	progression-free survival	無増悪生存期間
P-gp	permeability-glycoprotein	P-糖蛋白質
PK	pharmacokinetic	薬物動態
PO	oral	経口
QD	once daily	1日1回
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RBC	red blood cell	赤血球
RET	rearranged during transfection	-
rhCYP	recombinant human Cytochromes P450	遺伝子組換えヒトチトクローム P450
ROS	c-ros oncogene 1	c-ros がん遺伝子-1
SCID	Severe combined immunodeficient	重症複合免疫不全
SD	Standard deviation	標準偏差
SDC4	Syndecan 4	シンデカン 4
SDH	Sorbitol dehydrogenase	ソルビトール脱水素酵素
SEM	Standard error of the mean	平均の標準誤差
STAT3	signal transducer and activator of transcription 3	シグナル伝達兼転写活性化因子 3
STD10	Severely toxic dose eliciting ≥10% lethality (in rodents)	（げっ歯類において）供試動物の 10%以上に重篤な毒性が発現する用量
$t_{1/2}$	half-life	半減期
TDI	time-dependent inhibition	時間依存的阻害
TKI	Tyrosine kinase inhibitor	チロシンキナーゼ阻害剤
Tmax	time of maximum concentration	最高濃度到達時間
TPM3	tropomyosin 3	トロポミオシン 3
TRA	total radioactivity	総放射能
Tyr	tyrosine	チロシン

略号	略していない表現又は説明	
USPI	United States prescribing information	米国添付文書
Vd	volume of distribution	分布容積
Vmax	Maximum velocity	最大速度

2.4 非臨床試験の概括評価

Brigatinib の非臨床試験は、S7「安全性薬理試験」、S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価」及び M3「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の実施」を含む、医薬品規制調和国際会議（ICH）によって定められたガイドラインに従って実施され、安全性薬理試験を含む主要な安全性試験については医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に関する省令を遵守し実施された。

2.4.1 非臨床試験計画概略

2.4.1.1 序文

未分化大細胞リンパ腫（ALCL）患者において最初に同定された未分化リンパ腫キナーゼ（ALK）の活性化型遺伝子再構成が、非小細胞肺癌患者（NSCLC；2～7%）における発がんドライバーであることが明らかになっている[1][2]。ALK（及び ROS1 と MET）を標的とするチロシンキナーゼ阻害剤（TKI）「クリゾチニブ」は、ALK 陽性 NSCLC 患者において有効であり、患者の 65～74%に奏効することが明らかになっている[3]。しかし、大部分の患者には 1 年以内に進行が認められ（無増悪生存期間［PFS］中央値が 8～11 ヵ月であり[4][5]）、複数の耐性機構が特定されている。

患者の約 30%で認められる ALK 依存性の耐性機構には、クリゾチニブの結合を妨げる ALK の二次変異の獲得、及び／又は ALK 融合遺伝子の増幅がある[6]。10 を超える ALK の二次変異が、患者のクリゾチニブ耐性と関連することが確認されており、最もよくみられるものが L1196M 及び G1269A である[6][7]。患者の約 50%では中枢神経系（CNS）が最初の進行部位であり[8][9]、このことは、これらの患者では脳内へのクリゾチニブの移行が不十分（薬理作用不足）であることが、耐性の主要な原因であることを示唆している。さらに ALK とは独立した機構、例えば上皮増殖因子受容体（EGFR）、インスリン様成長因子 1 受容体（IGF-1R）、又は KIT を介したシグナル伝達経路も、クリゾチニブ耐性に寄与することが明らかになっている[6]。

近年、その他の 2 つの ALK 阻害剤であるセリチニブ及びアレクチニブについて、米国にて、クリゾチニブ治療歴のある ALK 陽性 NSCLC 患者の治療薬としての迅速承認が行われた。欧州では、セリチニブは、クリゾチニブ治療歴のある ALK 陽性 NSCLC 患者の治療薬として承認を受けている。2016 年 12 月、CHMP は、クリゾチニブ治療歴のある ALK 陽性 NSCLC 患者に対するアレクチニブの条件付き販売承認の付与を認める、肯定的な意見書を採択した。非臨床試験において、セリチニブ及びアレクチニブはクリゾチニブと比較して ALK を強力に阻害すること、またクリゾチニブ耐性に関連する多くの二次変異に対して活性を維持していることが明らかになっている[10][11]。臨床的には、セリチニブ及びアレクチニブは、クリゾチニブ治療歴のある患者（ALK 二次変異の有無を問わず）のそれぞれ 44～55%及び 44～48%に奏効をもたらした[12][13]。しかしながら、大部分の患者には 1 年以内に増悪が認められ（PFS 中央値：6.9～8.9 ヵ月）[14][15]、臨床的耐性を伴う ALK 二次変異が確認された。これらにはセリチニブに対する L1152R 及び F1174C/V、アレクチニブに対する I1171N/T/S、及び両剤に対する G1202R が含まれた[6][10][16][17][18][19]。

2.4.1.2 ALK 陽性 NSCLC 患者の治療薬として brigatinib を使用する根拠

Brigatinib（AP26113）は、ARIAD 社の化学構造を基にした薬物設計プラットフォームを用いて、ALK キナーゼドメインの点突然変異を含むクリゾチニブ耐性に関与する機序を克服できる、強力かつ選択的な ALK 阻害剤となるよう設計された。また brigatinib は c-ros がん遺伝子-1（ROS1）も強力に阻害し、IGF-1R に対する活性も示す。Brigatinib の化学構造式を以下（図 2.4.1.2-1）に示す。

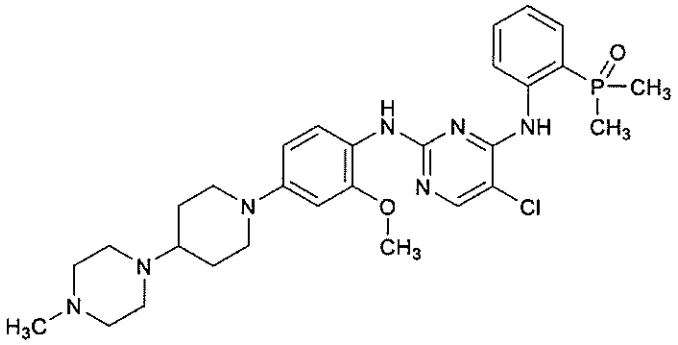


図 2.4.1.2-1　Brigatinib の構造

本稿に示す非臨床薬理試験において、brigatinib はクリゾチニブ耐性に関連する機構（ALK キナーゼドメインの点突然変異を含む）を克服すること、同所性脳腫瘍モデルにおいて高い活性をもつこと、及びクリゾチニブに比べて薬理学的耐性発現の可能性が低いと予測されることが明らかにされた。

2.4.1.3 非臨床開発プログラム

Brigatinib の主要な薬力学的活性を評価するため、4 セットの試験を実施した。第一に、brigatinib のキナーゼ選択性プロファイルを調べるため、広範な in vitro スクリーニングを実施し、また、ALK と複合体を形成した brigatinib の結晶構造を解析した。次に、brigatinib の抗 ALK 及び抗 ROS1 活性を、一連の in vitro 及び in vivo 試験を通じて評価した。これらの試験には、brigatinib によるキナーゼ標的の阻害の機構、効力及び特異性の評価を含めた。使用した細胞株には、NSCLC 由来及び ALCL 由来、並びに遺伝子操作した細胞株を含めた。Brigatinib は変異型 EGFR も阻害することから、抗 EGFR 活性を分析するための試験も実施した。これらの試験の多くでは、対照薬としてその他の既知の ALK、ROS1 及び EGFR 阻害剤も含めた。また、患者において brigatinib の濃度の 10%未満で存在する主要代謝物の AP26123（5.3.5.2-3）の活性も、複数の試験において評価した。さらに、類縁性の高いキナーゼである IGF-1R 及びインスリン受容体(INSR)に対する細胞アッセイにおける効力評価を含めた、副次的薬力学的活性評価試験も実施した。細胞アッセイにおいて評価した、ALK 及びその他の全ての標的を阻害する brigatinib 濃度を、患者において達成される brigatinib の曝露レベルと比較した。これには、血漿蛋白結合率が brigatinib の効力に及ぼす機能的作用を考慮したモデルを用いた。最後に、心肺、CNS 及び腎システムに及ぼす brigatinib の作用を検討するた

め、一連の非臨床安全性薬理試験を実施した。薬理試験の要約を下の 2.4.2 に、詳細な叙述を 2.6.2 に示す。

Brigatinib の吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）に関する評価を、非臨床安全性試験に使用される動物種であるラット及びサルを用いて行った。血漿蛋白結合率をマウス、ラット、サル及びヒト血漿を用いて in vitro で評価した。また、全血を用いて血液血漿分配係数を求めた。放射能標識した brigatinib を用い、マウス、ラット、サル及びヒトから採取した肝ミクロソーム並びに肝細胞、さらに遺伝子組換えヒトチトクローム P450（rhCYP）における in vitro 試験により、brigatinib の代謝の種間比較を行った。またラット及びサルを用いて ADME 試験を行い、brigatinib の in vivo 代謝及び消失経路を明らかにした。薬物相互作用の可能性を評価するため、brigatinib 及びその主代謝物である AP26123 のヒトチトクロム P450（CYP）に対する阻害能を in vitro で評価した。さらに、brigatinib による CYP 誘導作用も評価した。また brigatinib が、各種トランスポーターの基質又は阻害剤である可能性についても評価した。

マウス及びラットを用いた単回投与毒性試験を実施した。反復投与毒性試験／トキシコキネティクス試験として、ラット及びカニクイザルを用いた 14 日間、28 日間及び 6 ヵ月間試験を行った。胚・胎児発生及び光毒性試験を、ラットを用いて実施した。Brigatinib の遺伝毒性を判断するための in vitro 及び in vivo 試験も実施した。全ての主要な試験は、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）」に従い、また、医薬品規制調和国際会議ガイドラインに合致して行い、それらは、試験内のトキシコキネティクス評価により裏付けられた。これらの試験の結果を、下の 2.4.4 に簡単に要約し、詳細には 2.6.6 に記述する。これらの試験のデータの詳細な説明は、2.6.7 に示す。さらに、安全性薬理試験に関する情報を 2.6.2 及び 2.6.3 に示す。

進行癌患者の治療を意図している治療薬の臨床試験又は販売承認には、通常、がん原性試験による支持は不要である（ICH S1A, S9）。したがって、予定適応症である進行性肺癌を支持するための、brigatinib のがん原性試験は実施していない。Brigatinib は成人患者における肺癌の治療を意図しているため、幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。したがって本申請にモジュール 4.2.3.4 及びモジュール 4.2.3.5.4 は該当しない。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 Brigatinib の全般的なキナーゼ阻害プロファイル

In vitro キナーゼアッセイにおいて brigatinib は非常に強力で選択的な ALK 阻害剤であることが示された。300 種類以上のキナーゼを広くスクリーニングしたところ、ALK（IC_{50} 0.6 nmol/L）が IC_{50}<1 nmol/L で阻害される唯一のキナーゼであった。Brigatinib は、ALK キナーゼドメインの二次変異（L1196M、G1202R など）を含め、検討した 12 種類全ての変異型も強力に阻害した（IC_{50}<5 nmol/L）。変異型 ALK を除けば、10 種類のキナーゼ（分析したキナーゼの 3%）のみが ALK の 10 倍以内の IC_{50}（6 nmol/L 未満）で阻害された。この中には ROS1、EGFR-L858R、FLT3（IC_{50} 1.5～2.1 nmol/L）が含まれた。ALK と密接な相同性を示す 2 つのキナーゼ IGF-1R と INSR の阻害作用は低かった（IC_{50} はそれぞれ、73 nmol/L、160 nmol/L）。クリゾチニブの主な標的の 1 つである MET を含め、検討したキナーゼの大部分は IC_{50}>1,000 nmol/L で阻害された。

Brigatinib の循環血中に存在する代謝物である AP26123 は、検討を行ったキナーゼ 8 種全て（ALK、IGF-1R、INSR、EGFR、EGFR(L858R)、ErbB4/HER4、EGFR(L858R, T790M)、ErbB2/HER2）を阻害し、IC_{50} 値は brigatinib と同程度か、わずかに低かった（5 倍以下）。

X 線結晶構造解析により、brigatinib はヒト ALK の ATP 結合部位に結合し、複数の分子間相互作用を生むことが示されており、それが ALK 阻害剤としての高い効力を説明すると思われる。

2.4.2.2 Brigatinib の ALK 阻害活性

細胞モデルでは、brigatinib は ALK 自己リン酸化、ALK の下流シグナル伝達（STAT3 を含む）、ALK を介した細胞増殖を非常に強力に阻害する。検討したモデルの全てで、brigatinib の ALK 阻害活性はクリゾチニブよりもかなり強力であることが示された。8 種類の ALK 陽性 NSCLC、ALCL、遺伝子操作した細胞株のパネルにおいて、brigatinib はクリゾチニブよりも約 10 倍低い GI_{50} 又は IC_{50} で ALK を阻害した（表 2.4.2.2-1）。用いた細胞株には、NSCLC 及び ALCL で検出される最も一般的な ALK 融合変異型（それぞれ、EML4-ALK、NPM-ALK）が含まれた。

AP26123 も検討した 5 種類の ALK 陽性細胞株全ての増殖を阻害したが、brigatinib と比較して、その GI_{50}（21～41 nmol/L）は平均で約 2.5 倍高かった。

表 2.4.2.2-1　ALK 陽性及び ALK 陰性細胞株の増殖に対する brigatinib 及びクリゾチニブの影響

モデル	細胞株	ALK 融合状態	Brigatinib		クリゾチニブ	
			細胞増殖 GI_{50} ± SD* (nmol/L)	p-ALK IC_{50} ± SD (nmol/L)	細胞増殖 GI_{50} ± SD* (nmol/L)	p-ALK IC_{50} ± SD (nmol/L)
ALCL	KARPAS-299	NPM-ALK	10 ± 2	3.2 ± 2.8	119 ±22	33 ± 15
	SU-DHL-1	NPM-ALK	9 ± 2	1.5 ± 1.3	99 ± 21	23 ± 13
	DEL	NPM-ALK	31 ± 19	6.6 ± 3.2	309 ± 122	ND
	L-82	NPM-ALK	10 ± 3	2.1 ± 0.5	140 ± 49	ND
	SUP-M2	NPM-ALK	15 ± 5	12 ± 12	139 ± 4	ND
	U937	ALK 陰性	2387 ± 400	ND	928 ± 155	ND
NSCLC	H3122	EML4-ALK v1	4 ± 1	3.7 ± 1.6	62 ± 18	43 ± 37
	H2228	EML4-ALK v3a/3b	10 ± 7	4.5 ± 2.2	121 ± 61	55 ± 4
	H23	ALK 陰性	1337 ± 875	ND	1773 ± 743	ND
	H838	ALK 陰性	503 ± 400	ND	1307 ± 270	ND
遺伝子操作	Ba/F3	EML4-ALK v1	14 ± 1	ND	107 ± 11	ND

*遺伝子操作した Ba/F3 細胞で示される細胞生存の IC_{50}、ND：測定せず、v：バリアント

マウス異種移植モデルにおいて、brigatinib 経口投与は ALK を介したシグナル伝達を阻害し、EML4-ALK 又は NPM-ALK を発現する腫瘍の縮小を誘導した。持続的な腫瘍の退縮及び ALK シグナル伝達の阻害は、マウスに十分な忍容性を示す brigatinib の用量レベル（NSCLC モデルにおける 10 mg/kg QD、より急速に増殖する Ba/F3 遺伝子操作モデルにおける 50 mg/kg QD など）で達成された。クリゾチニブが brigatinib と同程度の有効性及び ALK 阻害を達成するには、brigatinib よりも高い用量及び血漿中濃度が必要であり、これは brigatinib の in vitro での効力がクリゾチニブよりも大きいことと一致した。マウス ALK 陽性同所性脳腫瘍モデルにおいて、brigatinib はクリゾチニブをしのぐ有効性を示した。

Brigatinib が汎 ALK 阻害活性（耐性を与えうる全ての変異型 ALK を阻害する能力）を有する可能性を慎重に評価した。Ba/F3 細胞株に、EML4-ALK 融合蛋白、又はクリゾチニブ、セリチニブ及び／又はアレクチニブに対する臨床的又は非臨床的耐性に関連する、ALK キナーゼドメインに二次変異を有する 17 種類の付加変異型 EML4-ALK 融合蛋白を発現させ、細胞株の生存がそれらの各種 ALK に依存するように遺伝子操作して、評価に用いた。Brigatinib は強力（IC_{50}<200 nmol/L）かつ選択的（ALK 陰性細胞の>15 倍の選択性）に 17 種類の変異型 ALK 全ての生存を阻害することが判明した。これにはクリゾチニブに対する臨床的耐性との関連性が最も高い変異（L1196M 及び G1269A ; [6]）や、3 つ全ての承認済み ALK 阻害剤に対する臨床的耐性と関連することが知られている唯一の変異（G1202R ; [7]）が含まれる。さらに、in vitro 変異誘発スクリーニングにおいて、500 nmol/L（臨床的に達成可能な濃度）の brigatinib に対する耐性を与えうる ALK 変異は特定されなかった（2.4.2.4 を参照）。In vivo 解析において、brigatinib は ALK を介したシグナル伝達を阻害し、腫瘍増殖を有意に阻害するか、又は他の ALK 阻害剤への耐性に関連する変異（L1196M 及び G1202R など）を有する腫瘍の退縮を誘発した。したがって、brigatinib は汎 ALK 阻害剤のプロファイルを示すと考えられた。

2.4.2.3 ROS1、EGFR 及びその他の標的に対する brigatinib の阻害活性

細胞及び in vivo アッセイにおいて、brigatinib は ROS1 を阻害し、その効力は ALK に対する効力と同程度であった。Brigatinib は、NSCLC 患者に認められる ROS1 融合蛋白を発現する Ba/F3 細胞の生存を阻害し、IC_{50} 値は 16～31 nmol/L であった。CD74-ROS1 融合蛋白発現 Ba/F3 細胞株を用いたマウス腫瘍モデルにおいて、brigatinib 50 mg/kg 1 日 1 回経口投与により、腫瘍退縮が誘導された。

細胞及び in vivo アッセイにおいて、brigatinib は各種変異型 EGFR に対して様々なレベルの活性を示した。Brigatinib に対する感受性が最も高かった変異型は、NSCLC 患者に最も多くみられる 2 つの活性化変異型 EGFR のうちの 1 つである、エクソン 19 に欠失を有する EGFR-Del であった。Brigatinib は、EGFR-Del を発現する Ba/F3 細胞の生存を IC_{50} 値 95 nmol/L で阻害し、EGFR-Del を発現する NSCLC 細胞株を移植したマウスでは、brigatinib 25 mg/kg 1 日 1 回経口投与により腫瘍退縮が誘導された。一方、細胞アッセイにおいて、brigatinib は EGFR-L858R（2 番目に多い活性化変異）と、活性化変異及び T790M 耐性変異を両方有する変異型 EGFR を阻害したが、効力は低かった（IC_{50} 272～489 nmol/L）。T790M 耐性変異を有する変異型に対する阻害の IC_{90} 値（2,461～2,968 nmol/L）は、活性化変異のみを有する変異型、特に EGFR-Del（IC_{90} 314 nmol/L）に対する IC_{90} 値と比べて大幅に大きかった。これと一致して、マウスに brigatinib 50 mg/kg 1 日 1 回経口投与を行っても、EGFR-L858R/T790M を有する患者由来腫瘍の増殖は有意に抑制されなかった。また、brigatinib は細胞アッセイにおいて、野生型 EGFR の活性を阻害しなかった（IC_{50}>3,000 nmol/L）。これらのキナーゼ及びその他のキナーゼに対する brigatinib の活性の詳細については、2.4.2.4 に記載した。

Brigatinib は、一連の副次的薬効標的に対して、わずかなオフターゲット活性を示したのみであったことから、非特異的な薬効エフェクターに結合する交差反応性は生じないことが示唆された。10 μmol/L の brigatinib 存在下で、50%以上阻害された標的は 62 個中 2 個（3%）のみであった（σ 受容体［非選択的］、ナトリウムイオンチャネル［site 2］）。対照的に、

10 μmol/L のクリゾチニブ存在下では、11 個（18%）の標的が 50%以上阻害された（σ 受容体とナトリウムイオンチャネルを含む）。σ 受容体は、心血管系や神経系の調節などの、様々な生理的過程に関与している[20]。ナトリウムイオンチャネルは、ナトリウムイオンの流動を制御することによって、ナトリウムの血行動態恒常性を調節する[21]。Brigatinib を用いた安全性薬理試験（2.4.2.5）では、サルにおける心拍数、血圧、呼吸数の変化を含む、限定的な心血管系に対する作用と、ラットにおける腎臓に対する作用が明らかになっている。ラット神経機能試験では、影響は認められなかった。

2.4.2.4 Brigatinib の in vitro 効力の患者における全身曝露量との比較

これらの非臨床試験結果がもたらしうる臨床的意味をさらに評価するために、brigatinib の ALK 及びその他の標的に対する阻害効力を、brigatinib 投与患者において認められる全身曝露量と関連付けて検討した。

In vitro キナーゼアッセイ及び細胞アッセイにより評価した、ALK 及びその他のキナーゼに対する brigatinib の阻害活性を、表 2.4.2.4-1 にまとめる。キナーゼデータは全て、同一のアッセイ条件（ATP 10 μmol/L など）を用いて取得し、細胞内効力データは全て、特定の変異型キナーゼに形質転換された Ba/F3 細胞を用いて取得した（野生型 EGFR、IGF-1R 及び INSR を除く）。細胞データには IC_{50} 値と IC_{90} 値の両方が含まれるが、表 2.4.2.4-1 に示しているのは、キナーゼ及び細胞データの両方が取得された EML4-ALK と付加変異型 EML4-ALK 7 種（細胞アッセイで brigatinib に対する最高度の耐性を引き起こした変異型[G1202R]を含む）のデータである。ROS1、EGFR、FLT3、RET 及びそれらの変異型に関するデータと、ALK と高度の相同性を示すキナーゼである IGF-1R 及び INSR に関するデータも示した。

表 2.4.2.4-1　Brigatinib：in vitro キナーゼ及び細胞内阻害活性の総合要約

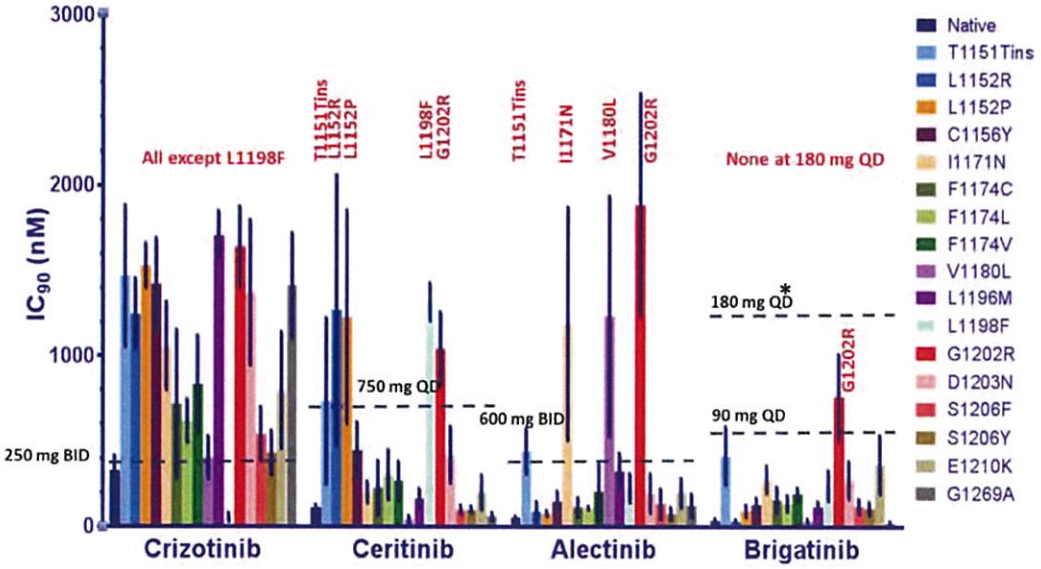
キナーゼ	キナーゼアッセイ	細胞アッセイ*		
	IC_{50} (nmol/L)	IC_{50} (nmol/L)	IC_{90} (nmol/L)	細胞アッセイで評価した変異型キナーゼ
ALK	0.6	14	38	EML4-ALK
ALK (G1269A)	2.9	9	22	EML4-ALK (G1269A)
ALK (L1152R)	1.7	11	34	EML4-ALK (L1152R)
ALK (L1196M)	2.5	41	118	EML4-ALK (L1196M)
ALK (C1156Y)	2.1	45	129	EML4-ALK (C1156Y)
ALK (F1174L)	2.1	55	137	EML4-ALK (F1174L)
ALK (T1151Tins)	1.5	114	416	EML4-ALK (T1151Tins)
ALK (G1202R)	4.9	184	762	EML4-ALK (G1202R)
ROS1	1.9	18	71	CD74-ROS1
ROS1 (L2026M)	ND	17	34	CD74-ROS1 (L2026M)
ROS1 (G2032R)	ND	1100	>1100	CD74-ROS1 (G2032R)
EGFR	67	>3000	>3000	p-EGFR^
EGFR (Del)	ND	95	314	EGFR (746-750 Del)
EGFR (L858R)	1.5	397	1201	EGFR (L858R)
EGFR (Del/T790M)	ND	272	2461	EGFR (746-750 Del/T790M)
EGFR (L858R/T790M)	29	489	2968	EGFR (L858R/T790M)
FLT3	2.1	158	465	FLT3-ITD
FLT3 (F691I)	ND	1155	2392	FLT3-ITD (F691I)
FLT3 (F691L)	ND	263	576	FLT3-ITD (F691L)
FLT3 (D835Y)	1.5	211	638	FLT3-ITD (D835Y)
RET	65	1412	5477	KIF5B-RET
RET (V804L)	27	681	1556	KIF5B-RET-V804L
RET (V804M)	22	975	3125	KIF5B-RET-V804M
IGF-1R	73	148	ND	p-IGF-1R^
INSR	160	9331	ND	p-INSR^

*特に明記されていない限り、指定の融合蛋白質の活性に依存して生存する Ba/F3 細胞を用い、細胞生存能アッセイによって評価した効力を表示している。
^野生型 EGFR、IGF-1R 及び INSR の阻害は、それぞれリガンド刺激下の H358、Hep G2 及び H-4-II-E 細胞におけるリン酸化（p-）阻害の測定により評価した。
ND：測定せず
出典：4.2.1.1-1（キナーゼ）；4.2.1.1-14（ALK）、4.2.1.1-19（ROS1）、4.2.1.1-22（野生型 EGFR）、4.2.1.1-21（変異型 EGFR）、4.2.1.2-2（FLT3 及び RET）、4.2.1.2-1（IGF-1R 及び INSR）。

第 1 に、in vitro キナーゼアッセイと細胞アッセイにおける、多くのキナーゼに対する brigatinib の効力に、密接な関連が認められないことが注目に値するが（表 2.4.2.4-1）、これは、キナーゼアッセイで用いられる ATP 濃度が低く、そのために見かけ上の IC_{50} が低値となることにある程度起因すると考えられる。例えば、ALK の二次変異型 7 個のうち、in vitro キナーゼアッセイで IC_{50} 値が最も低かった変異型（T1151Tins；IC_{50} 1.5 nmol/L）の、細胞アッセイにおける IC_{50} 値は、高いほうから 2 番目であった（IC_{50} 114 nmol/L；他の変異型と比較して最大 13 倍大きい）。さらに、検討を行ったキナーゼパネル全体で、10 個が強力に阻害され、IC_{50} 値は 2 倍の狭い範囲内に収まった（IC_{50} 1.5～2.9 nmol/L）。一方、細胞アッセイでは、これらのキナーゼに対する IC_{50} 値が 40 倍を超える範囲にわたって変動した（IC_{50} 9 nmol/L［ALK-G1269A］～397 nmol/L［EGFR-L858R］）。以下で論じるように、細胞アッセイの結果は、患者において得られる TKI 濃度を踏まえて検討すれば、臨床データと合理的に関連付けることが可能である。一方、患者における brigatinib 全身曝露量は、患者において強力に阻害される可能性が低い変異型キナーゼの阻害の IC_{50} 値をはるかに上回る（EGFR-L858R/T790M など；5.3.5.2-3）。したがって、広範囲の in vitro キナーゼスクリーニ

ングの結果は、主に、細胞及び in vivo アッセイでさらに検討するキナーゼの優先順位の決定に用い、患者において特定のキナーゼを阻害するのに必要な brigatinib 曝露量に関する直接的な結論の導出には用いなかった。

第 2 に、4.2.1.1-14（及び 2.6.2.2.2.12）で詳細に述べたように、臨床的有効性の予測を可能にするような形で、臨床薬物動態パラメータを、TKI の細胞内効力に関連付ける方法を見出すために、探索的解析を実施した。この解析では、ALK 阻害剤のクリゾチニブ、セリチニブ及びアレクチニブを用いて取得された細胞内 IC_{50} 値及び IC_{90} 値データと、臨床試験において承認用量で報告された全身曝露量（4.2.1.1-14 の表 4）を用いた。血漿蛋白結合が TKI の効力に及ぼす機能的影響を適切に説明することに、特に重点を置いた。系統的解析（Cave 値［AUC/投与間隔］の評価も含む）により、患者における「有効」Cmax 値（蛋白結合の機能的影響について補正した Cmax 値）を IC_{90} 値と比較した場合に、細胞内効力データが臨床的有効性と最もよく関連することが示された。4.2.1.1-14 に記載したように、細胞アッセイに生理的濃度のヒト血漿蛋白を加えると、クリゾチニブ、セリチニブ及びアレクチニブの ALK 阻害の IC_{50} 値はそれぞれ 2.7 倍、2.7 倍及び 4 倍増加する。したがって、クリゾチニブ、セリチニブ及びアレクチニブの有効 Cmax 値は、患者において測定された Cmax 値のそれぞれ 37%（1/2.7）、37%及び 25%と計算される。この解析によれば、クリゾチニブ、セリチニブ及びアレクチニブの有効 Cmax 値は、EML4-ALK に対する阻害の IC_{90} 値を上回り、この結果は、ALK 陽性 NSCLC 患者において認められる臨床的有効性と一致した。逆に、検討を行った変異型 ALK 18 個のうち、クリゾチニブ、セリチニブ又はアレクチニブに対する臨床的耐性に関連している 16 個については、有効 Cmax 値が IC_{90} 値を下回った。これらのデータをグラフ表示したものを図 2.4.2.4-1 に示す。



注：水平な線は患者での「有効」Cmax 濃度を示す。「有効」Cmax 濃度は、細胞アッセイにおける蛋白結合率の機能的影響で補正した、第 2 相臨床試験で承認または推奨された用量での定常状態における Cmax 幾何平均値に基づいている。細胞アッセイにおける IC_{90} が有効 Cmax より高い ALK 変異型は赤字で棒グラフの上に記載した。
*Brigatinib については G1202R の IC_{90} は 90 mg の有効 Cmax よりも高いが、180 mg の有効 Cmax よりは低かった。

図 2.4.2.4-1　IC_{90} 値と血漿中 TKI 濃度の「有効」Cmax 値（蛋白結合の機能的影響について補正）の関係

Brigatinib の主要な第 2 相試験（5.3.5.2-2）では、90 mg 1 日 1 回投与を行う 7 日間の導入期間を設け、90 mg 1 日 1 回と 180 mg 1 日 1 回の 2 種類の投与法を検討した。第 1/2 相試験で 90 mg 1 日 1 回投与及び 180 mg 1 日 1 回投与を受けた患者における brigatinib の定常状態の Cmax 及び Cave 幾何平均値を、表 2.4.2.4-2 に要約する。有効 Cmax 値は、90 mg 1 日 1 回投与時に 473 nmol/L、180 mg 1 日 1 回投与時に 1,243 nmol/L である。4.2.1.1-14 に記されているように、これらの濃度は患者において測定される Cmax 値の 50%であり、生理的濃度のヒト血漿蛋白によって細胞アッセイにおける brigatinib の IC_{50} 値が 2 倍に上昇することを反映している。重要な点として、brigatinib 180 mg 1 日 1 回投与時の有効 Cmax 値は、EML4-ALK 及び耐性付加変異型 EML4-ALK 17 種全てに対する IC_{90} 値を上回っている（4.2.1.1-14 の表 2）。これらの結果は、図 2.4.2.4-1 にグラフで示されている。Brigatinib 90 mg 1 日 1 回投与時の有効 Cmax 値は、EML4-ALK 及び耐性付加変異型 EML4-ALK17 種中 16 種（G1202R を除く）に対する IC_{90} 値を上回っており、brigatinib 180 mg 1 日 1 回投与は、90 mg 1 日 1 回投与と比べて、広範な変異型 ALK に対する活性を示す可能性が高いことが示唆される。

表 2.4.2.4-2　Brigatinib とクリゾチニブの臨床曝露量の要約

TKI	用量	Cmax (nmol/L)			Cave (nmol/L)		
		総	「遊離」	「有効」	総	「遊離」	「有効」
Brigatinib	90 mg 1 日 1 回	945	324	473	582	200	291
	180 mg 1 日 1 回	2485	852	1243	1446	496	723
クリゾチニブ	250 mg 1 日 2 回	913	85	338	718	67	266

血漿中 Cmax 及び Cave（AUC/投与間隔）値の算出に用いた情報源を下記に示す。血漿中 Cmax 及び Cave 幾何平均値は定常状態の値である（Brigatinib は Day 29）。血漿蛋白結合率（Brigatinib 65.7%、クリゾチニブ 90.7%）を用いて、「遊離」薬物濃度を算出した。「有効」薬物濃度は、Cmax 及び Cave 値を brigatinib については 2.0、クリゾチニブについては 2.7 で除して算出した。これらの除数は、細胞アッセイにおいてヒト血漿蛋白の存在により ALK 阻害の IC_{50} 値が上昇する程度を反映する（4.2.2.3-1）。

Brigatinib（分子量 584.10）

・添付資料番号：4.2.2.3-1、5.3.5.2-3 及び 5.3.5.2-1

・90 mg 1 日 1 回：Cmax 552 ng/mL；Cave 340 ng/mL（$AUC_{0\text{-}24}$ 8,165 ng·hr/mL）

・180 mg 1 日 1 回：Cmax 1,452 ng/mL；Cave 845 ng/mL（$AUC_{0\text{-}24}$ 20,276 ng·hr/mL）

・参考：Brigatinib-2001 試験において日本人の 180 mg 1 日 1 回連投時の Cmax 2,119 ng/mL、Cave 1,297 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ 31,130 ng·hr/mL であった（5.3.5.2-1）。

クリゾチニブ（分子量 450.3）

・米国食品医薬品局医薬品評価研究センター；2011 年。報告書番号：202570[22]

・Cmax 411 ng/mL；Cave 323 ng/mL（$AUC_{0\text{-}12}$ 3,880 ng·hr/mL）

さらに、臨床曝露量が EML4-ALK の阻害に必要な濃度を上回る程度から、患者における「薬理作用不足」、すなわち、標的の不十分な阻害に主に起因する耐性又は有効性欠如の可能性について考察を行った。表 2.4.2.4-2 に示すように、90 mg 1 日 1 回投与を受けた患者の brigatinib 曝露量は、クリゾチニブ投与を受けた患者の曝露量と総じて同程度であり（又は上回っており）、180 mg 1 日 1 回投与を受けた患者の brigatinib 曝露量は、総じてクリゾチニブ投与患者の曝露量を 2 倍以上上回り、その倍率は比較されている薬物動態パラメータによって異なる。「薬理作用不足」から、クリゾチニブ投与患者における CNS における高い増悪発生率が説明される可能性が高く（すなわち、クリゾチニブの脳への浸透が不十分であること）、クリゾチニブ投与中に ALK に基づく耐性機構（ALK キナーゼドメインの変異など）の所見なく進行する患者が、より強力な ALK 阻害剤に反応を示す場合が多い理由も説明されると考えられる[23][14]。この点に関して、クリゾチニブの有効 Cmax 値（338 nmol/L）は、

EML4-ALK 阻害の IC_{90} 値（331 nmol/L）をわずかに上回るのみであることが注目される。対照的に、brigatinib 90 mg 1 日 1 回投与時及び 180 mg 1 日 1 回投与時の有効 Cmax 値は、EML4-ALK に対する IC_{90} 値を、それぞれ 12.4 倍及び 32.7 倍上回る。このことから、brigatinib はクリゾチニブよりも、薬理作用不足がはるかに生じにくいのではないかという可能性が高まる。この仮説は、脳転移を有する患者において、brigatinib による高い頭蓋内奏効率が認められること、さらに、ALK の二次変異の有無を問わず、患者に奏効が認められることと一致すると考えられる（2.7.3）。

ALK 以外の標的に関しては、同様の解析によって、brigatinib 180 mg 1 日 1 回投与で得られる有効 Cmax 値（1,243 nmol/L）が、ROS1（及び ROS1-L2026M）阻害の IC_{90} 値を大幅に上回ることが示されている（17.5～36.6 倍、表 2.4.2.4-1）。有効 Cmax 値は、EGFR-Del、EGFR-L858R、FLT3、FLT3-F691L 及び FLT3-D835Y に対する IC_{90} 値も上回るが、これらの変異を有する患者において brigatinib が他の TKI と比べて臨床的に有用である可能性についてはまだ検討していない。

同様に、brigatinib 180 mg 1 日 1 回投与で得られる有効 Cmax 値は、IGF-1R に対する IC_{50} 値（IC_{90} 値は算出されなかった）を上回り、IGF-1R は、臨床で予想される曝露量で阻害される可能性が示唆される。Brigatinib によって IGF-1R が阻害されると、インスリン様成長因子 1（IGF-1）を介するグルコース恒常性に影響が生じる可能性がある。

一方、brigatinib 180 mg 1 日 1 回投与で得られる有効 Cmax 値（1,243 nmol/L）は、T790M 耐性変異を有する変異型 EGFR に対する IC_{90} 値を超えず、これは、患者に認められる比較的弱い臨床反応と一致する（5.3.5.2-3）。加えて、180 mg 1 日 1 回投与時の有効 Cmax 値は、RET、RET-V804L/M、野生型 EGFR、FLT3-F691I、ROS1-G2032R、及び INSR に対する IC_{90} 値も超えない（最後の 2 つは IC_{50} 値に基づく）。

この解析は探索的ではあるものの、上述のとおり、臨床データが入手可能である場合には、患者における有効 Cmax 値と、細胞アッセイにおける IC_{90} 値との関連性が、活性化及び耐性変異を有する NSCLC 患者で認められるクリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ及び brigatinib の有効性レベルの高い予測因子となる。しかし、この解析方法は極めて有益な情報をもたらすと考えられる一方で、brigatinib がもたらしうる有効性について同様の結論は、従来の解析方法に基づいて導き出すことができる。例えば、表 2.4.2.4-2 に示されている、患者における brigatinib の「総」及び「遊離」Cmax 及び Cave 値は、総じて、細胞アッセイにおいて ALK 及び変異型 ALK の活性を大幅に阻害するのに必要な濃度を上回る（表 2.4.2.4-1）。例として、brigatinib の 90 mg 1 日 1 回投与又は 180 mg 1 日 1 回投与を受けた患者において、総 Cmax、遊離 Cmax、総 Cave 及び遊離 Cave 値は全て、EML4-ALK と検討を行った臨床的に重要な耐性付加変異型 EML4-ALK 17 種全てに対する IC_{50} 値を上回る。Brigatinib 180 mg 1 日 1 回投与を受けた患者では、総 Cmax、遊離 Cmax 及び総 Cave 値が、汎 ALK 阻害の IC_{90} 値も上回る。

要約すると、患者における曝露量を、細胞アッセイにおいて必要とされる阻害濃度と関連付ける様々な評価によって、brigatinib 180 mg 1 日 1 回投与は、EML4-ALK 及び全ての耐性付加変異型 EML4-ALK の活性を阻害するのに十分な曝露量をもたらすと予測され、これは、汎変異型 ALK 阻害剤としての brigatinib のプロファイルと一致する。

2.4.2.5 安全性薬理試験

Brigatinib を用いて実施した非臨床安全性薬理試験の概要を以下に述べる。Brigatinib の血漿中濃度については、brigatinib 180 mg 1 日 1 回投与時のヒトの定常状態における Cmax 幾何平均値 1,452 ng/mL（2,485 nmol/L）（以下「ヒト Cmax」）に対する倍数を報告する。

In vitro hERG 試験（4.2.1.3-1）では、brigatinib の IC_{50} 値は 10 μmol/L を超え（検討を行った brigatinib の濃度範囲を超えたため、実際の IC_{50} 値は測定されなかった）、ヒトにおける QT 延長のリスクは最小限であることがわかった。さらに、サルを用いた単回投与心血管系安全性評価試験（4.2.1.3-3）と、サルを用いた 28 日（4.2.3.2-5）及び 6 ヵ月（4.2.3.2-6）の一般毒性試験において実施した心電図解析によって、QT 延長の所見は認められなかった。

雄サルに brigatinib 10、20 又は 30 mg/kg の単回経口投与を行う、GLP 準拠の複合心血管系／呼吸器系安全性薬理試験において、brigatinib が心血管系及び肺機能に及ぼしうる作用を評価した。これによって、観察された血行動態に対する作用は、同時溶媒対照群と比較した変化率（%）として報告する。Brigatinib 投与 1～6 時間後に生じた急性作用は、全ての用量レベルで認められた心拍数のわずかな低下（8～10%）と、20 及び 30 mg/kg 投与時に認められた脈圧のわずかな低下（8～9%）であった。Brigatinib に関連した遅発性作用（概して投与 32～42 時間後に発現）として、心拍数の増加（11.4～23.0% ; 20 及び 30 mg/kg 投与時）、収縮期血圧の上昇（5.3～15.0% ; 10、20 及び 30 mg/kg 投与時）、拡張期血圧の上昇（13.8% ; 30 mg/kg 投与時）、平均動脈圧の上昇（7.4% ; 30 mg/kg 投与時）、体温の上昇（対照と比較して最大 0.6°C ; 30 mg/kg 投与時）も認められた。Brigatinib 投与によって、心電図波形の形態分析、心電図間隔（PR、QRS、QT 又は QTcB）、あるいは分時換気量に変化は生じなかった。この試験において、最低用量である 10 mg/kg 投与時の Cmax 値は 670 ng/mL（ヒト Cmax の約 0.3 倍）であった。したがって、サルにおける心血管系に対する作用は、臨床で予想される曝露量で発現していた。Brigatinib 投与を受けた肺癌患者において、徐脈や高血圧などの心血管系有害事象が認められている。

この試験で認められた肺の変化には、20 及び 30 mg/kg 投与時に呼吸数の増加（対照と比較して 6.3～32.8%増加）から明らかになった、呼吸器に対する遅発性作用（投与 19～42 時間後に発現）が含まれた。肺機能に認められる変化は、サルを用いた一般毒性評価において、空胞化肺胞マクロファージと顕微鏡的に相関している可能性がある。サルで認められる呼吸数の増加が、brigatinib 投与を受けた肺癌患者に認められる、呼吸困難や低酸素症などの肺有害事象に関連しているかどうかは不明である。

ラットを用いた単回投与試験において、神経機能に対する安全性薬理作用は認められなかった。

ラット腎安全性薬理試験では、腎機能低下が認められた。主要な血清生化学値の変化は、尿素窒素の上昇（対照の 1.1～1.7 倍）及びクレアチニンの上昇（対照の 1.1～1.6 倍）として発現した。血清尿素窒素及びクレアチニンの上昇と、尿細管変性の顕微鏡所見は、ラット及びサルを用いた一般毒性試験においても認められた。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

マウス、ラット及びサルを用いた薬物動態試験並びにラット及びサルを用いた探索的トキシコキネティクス試験で得られた血漿試料中の brigatinib とその N-脱メチル化代謝物 AP26123 を、バリデートされていない液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS/MS）法を用いて定量した。ラット及びサルを用いた GLP トキシコキネティクス試験については、brigatinib 及び AP26123 の血漿中濃度を測定するため、バリデートされた LC-MS/MS 法を開発した。定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）、液体シンチレーションカウンタ（LSC）などの放射能測定法によって、[^{14}C]brigatinib をラットに経口投与後の組織中の放射能濃度を測定した。ラット及びサルを用いたマスバランス及び排泄試験においては、LSC（胆汁、尿、血漿）又は燃焼後の LSC（糞）を用いて各試料中の総放射能を測定した。血漿、尿及び糞の有機溶媒抽出物を LC-MS/MS で分析し、同時にカラム溶出液のフラクションコレクションを行った。試料中の放射能を LSC により測定し、放射能データ及びクロマトグラフィー保持時間を用いて、ラジオクロマトグラムを作成した。ラジオクロマトグラム中の代謝物ピークをマニュアルで特定し、各代謝物ピーク中の放射能を定量した。精密質量及び質量フラグメンテーションデータを含む高解像度質量分析法を用いて代謝物の構造を推定した。

2.4.3.2 吸収

2.4.3.2.1 In vitro での brigatinib の透過性

[^{14}C]brigatinib 濃度 0.1、1、4 及び 10 μmol/L で、C2BBe1、MDR1-MDCK 及び MDCK 細胞株を用いて P-gp の基質評価を、C2BBe1、BCRP-MDCK 及び MDCK 細胞株を用いて BCRP 基質評価を実施した。C2BBe1 細胞における[^{14}C]brigatinib の見かけの透過係数（P_{app}）は、3.27×10^{-6} cm/s～5.16×10^{-6} cm/s の範囲で、ヒトにおいて中等度から良好な経口吸収を示す薬剤と同等であった[24]。

2.4.3.2.2 各動物種を用いた brigatinib の単回投与薬物動態試験

薬理試験用動物種であるマウス及び毒性試験用動物種であるラット及びサルを対象に brigatinib の静脈内又は経口単回投与後の薬物動態を評価した。

マウスへ brigatinib を経口投与後の最高血漿中濃度到達時間（Tmax）は 0.5～1.0 時間であった。最高血漿中濃度（Cmax）及び血漿中濃度-時間曲線下面積（AUC）は 10～50 mg/kg の範囲でほぼ用量依存的に増加した。マウスにおける brigatinib の消失半減期は 3.3～3.5 時間であった。ラットへの静脈内投与後の brigatinib のクリアランスは低く、分布容積が中等度で、消失半減期が中等度であった。ラットへ brigatinib を経口投与後の Tmax は 3.3 時間であった。ラット血漿中 N-脱メチル化代謝物（AP26123）濃度は全ての時点で、brigatinib 濃度の 2%未満であった。ラットにおける経口バイオアベイラビリティは 40.7%と、中等度であった。サルへ brigatinib を静脈内与後のクリアランスが低く、分布容積が中等度で、消失半減期が長かった。サルへ brigatinib を経口投与後の Tmax は 3～4 時間であった。溶液製剤とカプセル剤の経口投与後の PK プロファイルは同様であった。AP26123/brigatinib の AUC 比は静脈内投与後が 0.049、溶液製剤の経口投与後が 0.136、カプセル剤の経口投与後が 0.134 であり、初回通過効果の影響により、経口投与したときの方が AP26123 の生成量が多かったと推察され

る。Brigatinib の溶液製剤とカプセル剤の経口バイオアベイラビリティは中等度で、それぞれ 52.9%及び 46.4%であった。サルにおける brigatinib の溶液製剤に対するカプセル剤の相対的バイオアベイラビリティは 87.7%であった。

マウス、ラット及びサルにおける brigatinib の薬物動態パラメータの概要を表 2.4.3.2-1 に示す。

表 2.4.3.2-1　Brigatinib をマウス、ラット及びサルに単回経口投与後の brigatinib 及び AP26123（代謝物）の薬物動態パラメータ

パラメータ	マウス		ラット		サル					
	Brigatinib		Brigatinib		Brigatinib			AP26123（代謝物）		
	PO	PO	IV	PO	IV	PO	PO カプセル	IV	PO	PO カプセル
用量 (mg/kg)	10[a]	50[a]	2[a]	10[a]	5a	15[a]	15[b]	--	--	--
Cmax (ng/mL)	768	3530	--	977 ± 92	--	1757 ± 524	1453 ± 172	--	264 ± 28	224 ± 19
Tmax (hr)	1.00	1.00	--	3.3 ± 1.2	--	4.0 ± 0.0	3.0 ± 1.0	--	3.0 ± 1.0	3.0 ± 1.0
AUC_{last} (ng·hr/mL)	5533	32482	4329 ± 302	8757 ± 833	11137 ± 1551	17535 ± 1729	15193 ± 615	513 ± 42	2351 ± 179	2034 ± 168
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	5579	32624	4400 ± 296	8936 ± 833	11203 ± 1550	17706 ± 1779	15343 ± 645	542 ± 55	2384 ± 179	2065 ± 171
$AUC_{0-\infty}$比 [c]	--	--	--	--	--	--	--	0.049 ± 0.012	0.136 ± 0.021	0.134 ± 0.006
CL (mL/hr/kg)	--	--	460 ± 31	--	452 ± 63	--	--	--	--	--
Vd (mL/kg)	--	--	2925 ± 465	--	3257 ± 994	--	--	--	--	--
$t_{1/2}$ (hr)	3.5	3.3	4.4 ± 0.4	4.0 ± 0.6	7.70 ± 0.5	6.95 ± 0.415	7.24 ± 0.12	6.28 ± 1.32	7.63 ± 1.04	8.52 ± 0.79
BA (%)[d]	--	--	--	40.7	--	52.9 ± 3.3	46.4 ± 8.3	--	--	--

略語：-- = 該当なし；AUC_{last} =0 時間から定量下限を上回る最終測定可能時点までの血漿中濃度-時間曲線下面積、$AUC_{0-\infty}$ = 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積、CL = クリアランス、Cmax = 最高血漿中濃度、Tmax = Cmax 到達時間、$t_{1/2}$ = 半減期、Vd= 分布容積、

[a]：25 mmol/L クエン酸緩衝液中溶液（pH 4.0）

[b]：カプセル剤

[c]：$AUC_{0-\infty}$比は $AUC_{0-\infty}$, AP26123/$AUC_{0-\infty}$, brigatinib として算出

[d]：(静脈内投与用量/経口投与用量)*($AUC_{0-\infty, po}$/$AUC_{0-\infty, iv}$)として算出

注：表中の値は 3 例の動物の平均値又は平均値±SD を示す

2.4.3.3 分布

2.4.3.3.1 血漿蛋白結合

Brigatinib（濃度範囲：0.2～5 μmol/L）のマウス、ラット、サル及びヒト血漿蛋白結合は中等度で，明らかな濃度依存性は認められなかった。マウス、ラット、サル及びヒト血漿における brigatinib の平均血漿蛋白結合率はマウスが 64.1%、ラットが 73.0%、サルが 70.8%、ヒトが 65.7%であった。

2.4.3.3.2 血球移行

Brigatinib（濃度範囲：0.1～3 μmol/L）は、マウス、ラット、サル及びヒト血液中で血漿よりも赤血球中に濃縮的に分布することはなかった。Brigatinib の平均血液－血漿濃度比（KB/P）はマウスが 1.01、ラットが 0.80、サルが 1.18、ヒトが 0.69 であった。

2.4.3.3.3 組織分布

[^{14}C]brigatinib を 30 mg/kg の用量で単回経口投与した白色ラット及び有色ラットの組織において放射能は広く分布していた。白色ラットでは大部分の組織（40 組織中 33 組織）で、4 時間までに Tmax に達し、有色ラットでは全ての組織中の Tmax が 24 時間以内であった。白色ラットでの血中 Cmax（4.068 μg-equiv/g）到達時間は 0.5 時間で、投与 72 時間後までに定量限界下限未満となった。有色ラットでの血中 Cmax（3.573 μg-equiv/g）到達時間は 2 時間で、投与後 168 時間までに定量限界下限未満となった。

白色ラット及び有色ラットで放射能が高かった（範囲：51.942～253.475 μg-equiv/g）組織は、小腸（白色ラット）、甲状腺、肝臓、胃、ハーダー腺、下垂体、腎皮質、脾臓、副腎髄質及び有色ラットの眼のぶどう膜であった。

白色ラットでは、甲状腺（1.516 μg-equiv/g）及び肝臓（1.481 μg-equiv/g）を除くほとんどの組織で、168 時間後の残留放射能濃度は 1.0 μg-equiv/g 未満であった。有色ラットでは、眼のぶどう膜（107.855 μg-equiv/g）を除くほとんどの組織で、672 時間後の残留放射能濃度は 1.0 μg-equiv/g 未満であった。有色ラットの眼のぶどう膜中の Cmax（24 時間後に 177.806 μg-equiv/g）は、アルビノラットで認められた値（0.5 時間後に 7.545 μg-equiv/g）より顕著に高かったが、有色ラットの眼のぶどう膜中の放射能濃度は投与 24 時間後から 672 時間後まで緩徐な減少を示した。

2.4.3.4 代謝

2.4.3.4.1 In vitro 代謝

In vitro でラット、サル及びヒト肝ミクロソームにおいて、brigatinib の肝抽出率は低く、予測肝クリアランス（CL_h）はそれぞれ 6.4、7.8 及び 3.8 mL/min/kg であった。In vitro でラット、サル及びヒト肝ミクロソーム及び肝細胞により生成される brigatinib の代謝物は質的に同様であり、ヒト特異的代謝物は認められなかった。検討した全ての動物種の肝ミクロソーム中で brigatinib の主代謝経路は N-脱メチル化による AP26123（M36）の生成であった。マウス、ラット、サル及びヒト肝細胞における brigatinib の主代謝経路は、GSH 抱合及び N-脱メチル化による M21 及び AP26123 の生成であった。ラット及びサル肝細胞中では微量代謝物として、M4（不飽和化+GSH 抱合体）及び M21a（GSH 抱合体）、M5（水酸化+GSH 抱合体）、

M22（N-酸化体、AP32831）、M25（N-酸化体、AP32830）及びM13（一水酸化+グルクロン酸抱合体）が認められた。

2.4.3.4.2 CYP 分子種同定

ヒト肝ミクロソーム、CYP 選択的阻害剤及び抗体並びに組換えヒト CYP（rhCYP）を用いて評価した結果、brigatinib の AP26123 への代謝は主に CYP2C8 及び CYP3A4 が関与し、軽微ではあるが CYP3A5 によっても代謝されることが示唆された。rhCYP2C8 及び rhCYP3A4 とのインキュベーションによって得られた in vitro での酵素動態データから、CYP2C8 及び CYP3A4 はそれぞれ、brigatinib の AP26123 への代謝の 72.3%及び 27.7%を占めていることが示された。このため、brigatinib は CYP2C8 及び CYP3A4 阻害剤及び誘導剤は brigatinib の薬物動態に影響を及ぼす可能性がある。

2.4.3.4.3 In vivo 代謝

[^{14}C]brigatinib をラット及びサルに経口投与したときの brigatinib の血漿中代謝物は、質的に同様であり、AP26123 の生成に至る脱メチル化反応が主代謝経路であった。ラット及びサルでは、brigatinib 未変化体が主成分で、血漿中総放射能（TRA）の 75%～84%を占め、AP26123 は 10%未満であった。

ラットに[^{14}C]brigatinib を経口投与後の尿中の主成分は brigatinib 未変化体、AP26123 及び M25 であり、それぞれ尿中 TRA の 73.46%、7.61%及び 3.15%を占めていた。3 種類の微量代謝物も検出されたが、尿中 TRA の 1%未満であった。ラット糞中の主成分は、brigatinib、AP26123 及び M28（システイン抱合体）であり、それぞれ糞中 TRA の 63.60%、8.75%及び 3.98%であった。残りの 4 種類の代謝物は、糞中 TRA の 2%未満であった。胆管ろう形成（BDC）ラットに[^{14}C]brigatinib を経口投与後の胆汁中には 26 種類の代謝物が検出され、brigatinib 及び M21、AP26123 及び M25 は、胆汁中 TRA のそれぞれ 9.11%、21.98%、21.26%及び 7.65%であった。残りの 23 種類の微量代謝物は胆汁中 TRA の 2%～5%以下であった。

サルに[^{14}C]brigatinib を経口投与後の尿中の主成分は brigatinib 及び AP26123 であり、それぞれ尿中 TRA の 52.4%及び 15.52%を占めていた。また、14 種類の微量代謝物も認められ、尿中 TRA の 0.64%～4.19%であった。サル糞中の主成分は brigatinib、AP26123 及び M28 で、それぞれ糞中 TRA の 21.93%、13.91%及び 20.39%を占めていた。残りの 7 種類の微量代謝物は、糞中 TRA の 0.99%～6.66%であった。Brigatinib はサルにおいて、広範な代謝を受け、サル糞中には多くの識別不能な構造が未知の微量代謝物が認められた。

2.4.3.5 排泄

ラット及びサルに[^{14}C]brigatinib を経口投与後の主排泄経路は糞排泄であった（ラット：87.64%、サル：66.48%）。ラット及びサル糞中の未変化体は投与放射能量のそれぞれ 55.74%及び 14.58%であった。ラット及びサル尿中の未変化体は投与放射能量のそれぞれ 5.18%及び 5.02%で、ラット胆汁中では放射能投与量の 2.89%であった。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

2.4.3.6.1 In vitro での CYP 阻害

ヒト肝ミクロソームを用いて brigatinib 及び AP26123 の可逆的 CYP 阻害作用を評価した結果、brigatinib 及び AP26123 は CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2D6 を阻害しなかった（IC_{50} 値>100 μmol/L）。Brigatinib 及び AP26123 は CYP3A4/5 によるミダゾラム 1'-水酸化を弱いながら阻害したが、IC_{50} 値は 72.9 μmol/L（Brigatinib）及び 63.8 μmol/L（AP26123）であった。Brigatinib は、in vitro で CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 又は CYP3A4/5 に対する時間依存的阻害作用は認められなかった。

2.4.3.6.2 In vitro での CYP 誘導

培養ヒト肝細胞を用いて brigatinib（濃度範囲：0.25～20 μmol/L）の CYP 誘導作用を評価した結果、brigatinib で処理すると、CYP1A2 及び CYP2B6 活性及び CYP1A2 mRNA 量が濃度依存的に低下し、CYP2B6 mRNA 量及び CYP3A4/5 活性について、ベルシェイプ型曲線が認められた。Brigatinib は 2.5 μmol/L 以下の濃度で CYP2B6 の弱い誘導剤であった。また、brigatinib により CYP3A4 mRNA 量が濃度依存的に増加し、ロット [redacted] 及び [redacted] では 1 μmol/L まで、ロット [redacted] では 2.5 μmol/L で最大誘導倍率、これより高用量では、誘導倍率が低下し、ベルシェイプ型曲線となった。

2.4.3.6.3 In vitro での薬物トランスポーターとの相互作用

[^{14}C]brigatinib（0.1、1、4 及び 10 μmol/L）を用いて各種トランスポーターの基質性を評価した結果、brigatinib は P 糖蛋白質（P-gp）、breast cancer resistance protein（BCRP）及び organic anion transporting polypeptide（OATP）1A2 の基質であるが、OATP1B1、OATP1B3、OATP2B1、organic anion transporter（OAT）1、OAT3、organic cation transporter（OCT）1、OCT2、Multidrug and toxin extrusions（MATE）1、MATE2K、bile salt export pump（BSEP）又は sodium-taurocholate cotransporting polypeptide（NTCP）の基質ではないと考えられた。Brigatinib は in vitro で高い溶解度と膜透過性を示すことから、P-gp、BCRP 及び OATP1A2 の阻害が brigatinib の体内動態を変化させる可能性は低いと考えられる。また、brigatinib は in vitro で OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2 又は BSEP の輸送活性を有意に阻害しなかったことから、これらのトランスポーターの基質と臨床相互作用を示す可能性は低いことが示唆された。一方で brigatinib は P-gp、BCRP、MATE1、MATE2K 及び OCT1 に対する阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 1.76、10.1、0.832、5.19 及び 6.49 μmol/L であった。

2.4.4 毒性試験

Brigatinib の毒性プロファイルを明らかにするため、進行癌に対する低分子治療薬の非臨床安全性評価に関する ICH S9 ガイドラインに基づき、一連の非臨床毒性試験を実施した。ラット及びサルを用いた最長 6 ヵ月までの反復経口投与毒性試験を行い brigatinib の評価を行った。

In vivo 試験において brigatinib は 25 mmol/L クエン酸ナトリウム緩衝液（pH 4.0）の溶液として経口投与した。マウス及びラットを用いた単回投与毒性試験を実施した。主要な反復投与毒性試験／トキシコキネティクス試験として、ラット及びカニクイザルを用いた 28 日間及び 6 ヵ月間試験を行った。ラットを用いた胚・胎児発生及び光毒性試験を実施した。Brigatinib

の遺伝毒性を判断するための in vitro 及び in vivo 試験も実施した。全ての主要な試験は「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、また、医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに従って実施した。全ての主要な試験では、brigatinib のトキシコキネティクスを測定し、さらに、代謝物である AP26123 のトキシコキネティクスについても、ラット及びサルを用いた一部の試験で測定した。いずれの動物種においても brigatinib 曝露量に性差はなかったことから、トキシコキネティクスパラメータは雌雄合算の平均値を記載している。

進行癌患者の治療に意図されている薬物については、ICH S9 ガイドラインではがん原性試験は不要としているため、brigatinib についてがん原性試験は実施していない。Brigatinib は成人患者における肺癌の治療を意図しているため、幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。

Brigatinib を用いて実施した非臨床安全性試験の要約を以下に示す。曝露量の倍数は、第 2 相試験において肺癌患者に最高用量である 1 日 1 回 180 mg を投与したときの、定常状態における AUC 幾何平均値（31,130 ng·hr/mL）（以下、「ヒト AUC」と記載する）との比較として報告している。

2.4.4.1 毒性試験に用いる動物種の選択

忍容性及び非臨床試験の動物種とヒトにおける in vitro の代謝物プロファイルの比較に基づき、毒性試験に供するげっ歯類及び非げっ歯類として、それぞれラット及びサルを選択した。

2.4.4.2 単回投与毒性試験

マウス及びラットを用いた単回経口投与毒性試験において、体重減少、自発運動の低下、痙攣及び死亡といった毒性作用が確認された。マウス及びラットを用いた単回経口投与毒性試験における最大非致死量は、それぞれ 75 及び 125 mg/kg であった。マウス及びラットを用いた単回経口投与毒性試験における概略 LD_{50} 値は、それぞれ 149 及び 174 mg/kg であった。

2.4.4.3 反復投与毒性試験

Brigatinib の強制経口反復投与の毒性が、ラット及びサルを用いた最長 6 ヵ月間の試験において評価されている。

ラットを用いた 6 ヵ月間毒性試験では、全ての用量で brigatinib に関連した器官毒性が認められたことから、NOAEL を特定できなかった。「供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する用量（STD10）」は 7.5 mg/kg/日であった。同用量の試験 182 日の AUC 及び Cmax の（雌雄合算）平均値は、それぞれ 18,600 ng·hr/mL 及び 1,150 ng/mL であった。ラットの 6 カ月投与試験における STD10 での AUC は、ヒト AUC の 0.6 倍であった。

サルを用いた 6 ヵ月間経口投与毒性試験では、全ての用量で各種器官に病理組織学的変化が認められたことから、NOAEL を特定できなかった。雌雄における、重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は 10 mg/kg/日であった。同用量の試験 181 日の AUC 及び Cmax の（雌雄合算）平均値は、それぞれ 6,175 ng·hr/mL 及び 484 ng/mL であった。サルの 6 カ月投与試験における HNSTD での AUC は、ヒト AUC の 0.2 倍であった。

Brigatinib に関連した死亡に加え、ラット及び／又はサルを用いた一般毒性試験において特定された主要な標的器官は、肺、免疫系、消化器系、造血系、肝臓、腎臓、骨、精巣／精巣上体、心臓、膵臓及び眼であった。これらの標的器官でみられた毒性は、ラットの眼及び精巣／精巣上体で認められた変化を除き、おおむね回復性であった。これらの所見は、以下に詳述する。

2.4.4.3.1 投与に関連する死亡／状態悪化

高用量の brigatinib による忍容性は不良であったため、ラット及びサルのいずれにおいても瀕死及び死亡が生じた。多くの場合死因は特定されなかったが、おおむね、腎臓、心臓及び消化器系など複数器官における毒性によるものと判断された。

2.4.4.3.2 肺に対する作用

サルでは、剖検時に回復性のある空胞化（「泡沫状」）肺胞マクロファージからなる病理組織学的変化が認められたが、これらはラットでは認められなかった。この肺の病理組織学的所見は、サルを用いた心血管系／呼吸器系の安全性薬理試験で認められた呼吸数増加と関連すると考えられる（2.6.2.4.3 参照）。サルで認められた呼吸数増加が、brigatinib を投与された肺癌患者で認められる呼吸困難や低酸素症などの肺関連の有害事象と関係しているか否かは不明である。

2.4.4.3.3 免疫系関連器官に対する作用

脾臓、GALT、胸腺及びリンパ節など免疫系関連器官の細胞密度の低下が、ラット及びサルにおいて認められた。ラット及びサルにおけるこれらの作用は、brigatinib の直接的な作用に起因したものと考えられたが、これらの作用と臨床試験での有害事象との関連性は不明である。

2.4.4.3.4 消化管系に対する作用

サルでは、軟便及び嘔吐などの消化管に関連した一般状態の変化が認められた。ラット及びサルの両方で腹部膨満が認められた。ラット及びサルでは、消化管にびらん、萎縮及び／又は壊死など、の病理組織学的所見が認められた。ラット及びサルにおけるこれらの作用は、両動物種における死因の 1 つと判断された。嘔吐、便秘及び下痢などの消化管への影響は、brigatinib を投与された肺癌患者においても認められた。

2.4.4.3.5 造血系に対する作用

臨床病理検査値の変化（白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットの低下など）を伴う骨髄の細胞充実性の低下が認められた。貧血及び好中球減少症などの造血系への影響は、brigatinib を投与された肺癌患者においても認められた。

2.4.4.3.6 肝臓に対する作用

血清肝トランスアミナーゼの増加が、ラット及びサルにおいて認められた。ラットでは、病理組織学的に肝細胞壊死が認められた。Brigatinib を投与された肺癌患者において血清肝トランスアミナーゼの増加が認められている。

2.4.4.3.7 腎臓に対する作用

病理組織学的所見として尿細管変性を伴う、血清中尿素窒素及びクレアチニンの増加などの臨床病理検査値の変化が、ラット及びサルにおいて認められた。腎毒性が、高用量投与群の瀕死ラットにおける死因の 1 つであった。蛋白尿、血尿及び腎機能障害などの腎臓への影響が、brigatinib を投与された肺癌患者においても認められた。

2.4.4.3.8 骨に対する作用

骨に対する作用を示す病理組織学的所見として、ラットで、骨芽細胞の壊死、骨端軟骨（長管骨末端部の軟骨板）の肥厚が認められた。非臨床試験で認められた骨に対する作用は、明確な臨床所見を伴っていなかった。幼若及び成長期の動物（ラット及びヒトを含む）の長管骨に存在する軟骨板は、成熟動物には存在しないことに注意する[25]。

2.4.4.3.9 精巣／精巣上体に対する作用

ラット及びサル共に、肉眼的に、精巣及び精巣上体の大きさと重量の減少が認められた。ラットでは、病理組織学的に精巣に精細管変性が認められた。ラット及びサル共に、精巣精細管の内腔及び精巣上体における精子の減少が認められた。このような精巣及び精巣上体への影響は、サルでは回復性が認められたが、ラットでは認められなかった。

2.4.4.3.10 心臓に対する作用

ラットの病理組織学的検査において、様々な量の急性出血を伴う、心筋線維の横紋消失／硝子化を特徴とする心筋細胞の変性が用量依存性に認められ、一部の動物における早期死亡の原因の 1 つと判断された。変化は、左室自由壁、心室中隔及び乳頭筋において最も重度であったが、心臓の他の領域でも認められた。また、その重症度及び急性出血の存在によって対照ラットで認められた自然発生性の変性（早期心筋症）とは異なる変化であった。ラットにおける心筋の変性が、サルを用いた単回投与の心血管系安全性薬理試験において認められた心拍数及び血圧の変化と関連しているか否かは不明である。サルを用いた 28 日間及び 6 ヵ月間一般毒性試験において、brigatinib に関連した心血管機能パラメータの変化は認められなかった。ラットで認められた心筋の変性と、brigatinib を投与された肺癌患者においても認められた徐脈及び高血圧との関連は不明である。

2.4.4.3.11 膵臓に対する作用

ラットにおいて、膵臓の病理組織学的変化として、腺房萎縮及び膵島の線維化が認められた。膵臓への影響は、brigatinib を投与された肺癌患者においてもリパーゼ及び／又はアミラーゼの増加として認められている。

2.4.4.3.12 眼球に対する作用

ラットにおいて、投与期間の眼科学的検査により白内障及び網膜変性が認められた。これらの影響は、回復期間において回復しなかった。サルでは眼球への作用は認められなかった。Brigatinib を投与された肺癌患者においても、眼球に関連する有害事象が認められている。

2.4.4.4 遺伝毒性試験

Brigatinib の遺伝毒性を、標準的な一連の遺伝毒性試験において評価した。In vitro の細菌を用いる変異原性試験及び哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験において遺伝毒性作用は認められていない。一方、in vitro の染色体異常試験では、倍数体／核内倍加／セントロメア分裂の発生率増加が認められた。倍数体の増加は一般に毒性の増加に伴って生じ、遺伝毒性を示すものではない。ただし、倍数体細胞数の増加は、brigatinib が有糸分裂プロセスを阻害し染色体異常を誘発する可能性を示していると考えられる。核内倍加した染色体をもつ細胞数の増加は、brigatinib が細胞周期の進行を阻害する可能性を示すと考えられる。

ラット小核試験における小核形成のエビデンスに基づくと、brigatinib は染色体異常の可能性がある。MTD（125 mg/kg/日）では、統計学的に有意な小核頻度の上昇が認められ、溶媒対照の 2 倍を上回った。

2.4.4.5 がん原性試験

動物を用いたがん原性試験は、進行癌に対する低分子治療薬の非臨床的安全性評価に関する ICH S9 ガイドラインに従い、実施しなかった。

2.4.4.6 生殖発生毒性試験

ラットを用いた主要な胚・胎児発生試験において以下の変化が認められたことから、brigatinib が胚・胎児毒性をもつことが示された〔同腹児の平均胎児体重の減少、外表、内臓及び骨格異常（全身性浮腫、無眼球、前肢の過屈曲、四肢の小型化／短縮／湾曲、多発性肋骨癒合、肩甲骨湾曲、臍帯ヘルニア、及び腹壁裂）〕。胚・胎児毒性に関する NOAEL での、母動物における最終的な全身 AUC は、ヒト AUC の約 0.1 倍であった。母動物において、ヒト AUC と同程度の曝露量で胎児毒性が認められた。このことは、臨床使用での曝露濃度において胚・胎児毒性が生じる潜在的リスクを示している。

2.4.4.7 その他の試験

有色 Long-Evans ラットを用いた光毒性試験において、単回経口投与後の brigatinib による皮膚光毒性又は眼毒性は認められなかった。

患者集団は成人であることから、幼若動物試験は実施しなかった。

進行癌患者治療薬に関する ICH S9 ガイドラインに従うと、セグメント III（出生時及び出生後の発生）試験は不要と考えられるので、これらの試験は実施しなかった。

Brigatinib が乳汁中に排泄される可能性について、非臨床データは得られていない。Brigatinib 又はその代謝物がヒト乳汁中に排泄されるか否か不明である。

2.4.5 総括及び結論

クリゾチニブはALK陽性NSCLCにおいて有効であり、患者の65～74%に奏効をもたらす[3]が、大部分の患者には1年以内に増悪が認められる[4][5]。クリゾチニブの効果不良は一般に、クリゾチニブとの結合を妨げるALKの二次変異の獲得、又はCNSにおける進行（このことは脳内へのクリゾチニブの移行が不十分であることを示唆する）と関連する[6][8][9]。

Brigatinibは理論的にALKの強力かつ選択的阻害剤として設計された。In vitro及びin vivoアッセイにおいてbrigatinibは、ALKの自己リン酸化、及びALKを介した下流のシグナル伝達蛋白質のリン酸化を阻害する。また、ALK融合蛋白質を発現している細胞株のin vitroにおける増殖を阻害し、マウスにおけるALK陽性腫瘍の増殖を用量依存性に阻害することが示されている。ALK誘発性腫瘍を頭蓋内に移植されたマウスでは、brigatinib投与により抗腫瘍活性が示され、生存期間が延長した。

Brigatinibはクリゾチニブに比べて著明に強力なALK阻害剤である。8種のALK陽性NSCLC、ALCL及び遺伝子操作した細胞株において、brigatinibはクリゾチニブの約10倍の効力（GI_{50}又はIC_{50}）でALKを阻害した。In vivoモデルでは、brigatinibと同程度の有効性及びALK阻害を達成するためには、より高い用量及び血漿中濃度のクリゾチニブが必要であった。ALK陽性の同所性脳腫瘍マウスモデルにおいて、brigatinibはクリゾチニブに比べて高い有効性を示した。

Brigatinib（180 mg 1日1回）は汎ALK阻害剤のプロファイルをもち、臨床的に達成可能な濃度（第1/2相試験登録患者で達成された定常状態の幾何平均濃度）で、耐性に寄与すると考えられる全てのALK変異を阻害することができる。Brigatinib 180 mg 1日1回投与した患者における、定常状態のCmax幾何平均値（2,485 nmol/L）、遊離Cmax幾何平均値（852 nmol/L）、及び蛋白結合率の機能的作用で補正したCmax幾何平均値（有効Cmax値；1,243 nmol/L）は全て、EML4-ALKのIC_{90}値（38 nmol/L）を超え、検討を行った臨床的に重要な全17種のALK耐性変異株（L1196M及びG1202Rを含む）のIC_{90}値（22～762 nmol/L）も超えていた。Brigatinib（90 mg 1日1回）のプロファイルは汎ALK阻害剤に近いものであり、耐性に寄与すると考えられる全てのALK変異（G1202Rを除く）を、臨床的に達成可能な濃度で阻害することができる。

Brigatinibはクリゾチニブに比べ、薬理作用不足となる可能性が著明に低いと予想される。Brigatinib 180 mg 1日1回の投与により達成される曝露量は、クリゾチニブ投与による曝露量の約2倍であり、また、in vitroアッセイにおけるbrigatinibの効力はクリゾチニブの約10倍である。

このような非臨床試験の結果と同様に、クリゾチニブ治療歴のあるALK陽性NSCLC患者を対象とした第1/2相及び第2相の両方のALTA試験において、brigatinib 180 mg 1日1回の投与は全身的にも頭蓋内でも臨床的に意義のある効果を示した（5.3.5.2-2及び5.3.5.2-3）。さらに両試験においてbrigatinibは、患者のALKの二次変異の有無にかかわらず、堅牢かつ長期にわたる活性を示した。これまでにこれら両試験を合わせた32例の患者について、ベースライン（Brigatinib投与前で、クリゾチニブの治療不成功の後）にALK変異の状態を確認している。ALKの二次変異は32例中9例で検出された。ALK変異を有していた9例における確定客観的奏効率（ORR）は78%（7/9例）で、残りの患者における確定ORRは70%（16/23例）であった（5.3.5.2-2及び5.3.5.2-3）。F1174L変異患者の3例中3例、L1196M変異患者

の 2 例中 1 例、G1202R、S1206F 及び G1269A 変異患者の各 1 例中 1 例において奏効が確定された。

臨床データが入手可能であったクリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブについて、各種血中濃度パラメーターと細胞生存阻害活性値とを比較検討したところ、患者における有効 Cmax 値と、細胞アッセイにおける IC_{90} 値との関連性が、活性化及び耐性変異 ALK を有する NSCLC 患者で認められる ALK 阻害剤の有効性レベルの高度な予測因子となることが示唆された。Brigatinib 180 mg 投与を受けた患者では、有効 Cmax 値が、調べた全ての変異型 ALK に対する阻害の IC_{90} 値も上回った。つまり、患者における曝露量を、細胞アッセイにおいて必要とされる阻害濃度と関連付ける様々な評価によって、brigatinib 180 mg 投与は、EML4-ALK 及び全ての耐性付加変異型 EML4-ALK の活性を阻害するのに十分な曝露量をもたらすと予測される。

Brigatinib は ALK の高度に選択的な阻害剤でもあり、in vitro キナーゼアッセイにおいて ALK の 10 倍以内の IC_{50} で阻害されたキナーゼは、10 種類（アッセイしたキナーゼの 3%）に過ぎなかった。これらのキナーゼの 1 つは ROS1 である。これについては、in vitro 及び in vivo アッセイにおいて ALK と同程度の効力で、また臨床的に達成可能な濃度で阻害された。

また、brigatinib は in vitro 試験において IGF-1R も、ALK の阻害よりも低い効力で、ただし臨床的に達成可能な濃度で阻害した。Brigatinib は、最も一般的な活性化変異（エクソン 19 欠失及び L858R）を有する変異型 EGFR を臨床的に達成可能な濃度で阻害するが、T790M 耐性変異も含む変異型は阻害しない。この後者の結果は、第 1/2 相試験において T790M 耐性変異型 EGFR を有する患者では臨床的有効性が低レベルであったことと合致している（5.3.5.2-3）。

Brigatinib の主要だが微量な代謝物である AP26123 は、検討を行ったキナーゼ 8 種全て（ALK、IGF-1R、INSR、EGFR、EGFR(L858R)、ErbB4/HER4、EGFR(L858R,T790M)、ErbB2/HER2）を阻害し、IC_{50} 値は brigatinib と同程度か、わずかに低かった（5 倍以下）。

2018 年にロルラチニブが新たな ALK 阻害薬として承認された。ロルラチニブと brigatinib との相違については、非臨床実験モデルにおいてロルラチニブに耐性を示す L1256F 変異型、I1171N+L1256F あるいは G1202R+G1269A などの二重変異型 ALK に対して brigatinib は阻害活性をもつことが今年報告された[26]。この変異型 ALK に対する阻害活性の有無が臨床効果に反映される可能性がある。

Brigatinib は P-gp や BCRP などの排出トランスポーター基質であるにもかかわらず、消化管からの吸収性は高かった。Brigatinib はラット及びサルにおいて、低クリアランスを示し、分布容積は中等度、消失半減期は中等度又は長かった。ラット及びサルにおける BA は中等度（約 40%～53%）であった。In vitro での brigatinib のマウス、ラット、サル及びヒト血漿蛋白結合率は中等度（64.1%～73.0%）で、赤血球への濃縮的な分配も認められなかった。

In vitro 代謝試験の結果、CYP2C8 及び CYP3A4 が brigatinib の代謝に関与する主な CYP 分子種で、CYP3A5 の寄与は軽微であると考えられた。このため、CYP2C8 及び CYP3A4/5 誘導剤及び阻害剤は、brigatinib の薬物動態に影響を及ぼす可能性がある。

[^{14}C]brigatinib をラット及びサルに経口投与したときの brigatinib の代謝物プロファイルは、質的に同様であった。N-脱メチル化による AP26123（M36）の生成が brigatinib の主代謝経路

であった。Brigatinib の未変化体が血漿中主成分で TRA の 75%～84.1%であり、AP26123 は 10%未満であった。

ラット及びサルにおける[^{14}C]brigatinib の主排泄経路は糞排泄であった（ラット：87.64%、サル:66.48%)。ラット及びサル糞中の未変化体は投与放射能量のそれぞれ 55.74%及び 14.58%であった。ラット及びサル尿中の未変化体は投与放射能量のそれぞれ 5.18%及び 5.02%で、ラット胆汁中では放射能投与量の 2.89%であった。

Brigatinib は CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 又は CYP3A4/5 阻害による併用薬との薬物相互作用は生じないと推定される。ヒト肝細胞を 0.25～20 μmol/L の濃度で brigatinib を処理すると、CYP1A2 及び CYP2B6 活性及び CYP1A2 の mRNA 量が濃度依存的に低下し、CYP2B6 mRNA 量及び CYP3A4/5 活性について、ベルシェイプ型曲線が認められた。Brigatinib は 2.5 μmol/L 以下の濃度で CYP2B6 の弱い誘導剤であった。Brigatinib により CYP3A4 の mRNA 量は濃度依存的に増加し、最大誘導作用は 1 μmol/L 又は 2.5 μmol/L で認められ、これより高用量では、誘導倍率が低下し、ベルシェイプ型曲線となった。

Brigatinib は P-gp、BCRP 及び OATP1A2 の基質であるが、OATP1B1、OATP1B3、OATP2B1、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2K、BSEP 又は NTCP の基質ではなかった。Brigatinib は in vitro で高い溶解度と膜透過性を示すことから、P-gp、BCRP 及び OATP1A2 の阻害が brigatinib の体内動態を変化させる可能性は低いと考えられる。Brigatinib は、in vitro で OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2 又は BSEP の輸送活性に対する阻害作用は弱く、薬物相互作用を起こす可能性は低いと考えられる。一方で brigatinib は P-gp、BCRP、MATE1、MATE2K 及び OCT1 に対する阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 1.76、10.1、0.832、5.19 及び 6.49 μmol/L であった。Brigatinib は P-gp、BCRP、OCT1、MATE1 及び MATE2K 基質と薬物動態学的薬物相互作用を示す可能性がある。

Brigatinib の安全性薬理試験から、brigatinib が QT 延長又は中枢神経機能に作用する可能性は示されていないが、肺への作用（呼吸数の変化：ヒト Cmax の 0.8 倍で）、心血管への作用（心拍数及び血圧の変化：ヒト Cmax の 0.3 倍で）、腎臓への作用（腎機能の低下：ヒト Cmax の 0.9 倍で）の可能性が確認されている。Brigatinib を投与された肺癌患者において、QT 延長又は中枢神経機能への作用を示す顕著な所見は得られていない。Brigatinib を投与された肺癌患者において蛋白尿、血尿及び腎機能障害などの腎臓への作用がみられており、このことは、非臨床安全性薬理試験でみられた腎臓の所見と関連している可能性を示唆している。Brigatinib を投与された肺癌患者において肺への作用（呼吸困難、低酸素症）及び心血管系への作用（徐脈）がみられており、このことは、非臨床安全性薬理試験でみられた心血管及び呼吸器系の所見と関連している可能性を示唆している。

Brigatinib の経口反復投与の毒性が、ラット及びサルを用いた最長 6 ヵ月間の主要試験において評価されている。両動物種において brigatinib に関連した瀕死及び死亡が、高用量において認められた。また、毒性学的変化が、消化管、眼、腎臓、肺、肝臓、心臓、膵臓、精巣/精巣上体、骨、造血系及び免疫系関連器官など多臓器においてみられている。これらの器官毒性は、眼及び精巣／精巣上体で認められた変化を除き、おおむね回復性が認められた。非臨床試験でみられた主要な用量制限毒性は消化管、心臓及び腎臓への作用であった。

ラットを用いた 6 ヵ月間毒性試験では、全ての用量で brigatinib に関連した器官毒性が認められたことから、NOAEL を特定できなかった。STD10 は 7.5 mg/kg/日と判断された。この用

量は、182 日目の平均 AUC として 18,600 ng·hr/mL（ヒト AUC の 0.6 倍）に相当した。サルを用いた 6 ヵ月間経口投与毒性試験では、全ての用量で各種器官に病理組織学的変化が認められたことに基づき、NOAEL を特定できなかった。HNSTD は 10 mg/kg/日と判断された。この用量は、試験 181 日目の平均 AUC として 6,175 ng·hr/mL（ヒト AUC の 0.2 倍）に相当した。

有色 Long-Evans ラットに単回経口投与した後、brigatinib による皮膚又は眼における光毒性は認められなかった。

In vitro の細菌を用いた変異原性試験及びほ乳類細胞を用いた染色体異常試験において brigatinib は変異原性を示さなかったが、in vivo 試験では異数性誘発能と関連した染色体異常を誘発する可能性が示唆された。

ラット胚・胎児発生試験において、母動物の brigatinib 曝露量がヒト AUC の 0.2～0.5 倍のとき胚・胎児毒性が認められた。

またラット及びサルの一般毒性試験及びラット胚-胎児試験において、主要な毒性がみられたときの全身曝露量はおおむねヒト AUC 以下であった。

非臨床毒性プロファイルとラット組織分布データを比較したとき（4.2.2.3-2）、消化管系、眼、脾臓及び腎臓など影響器官の一部において brigatinib の最高濃度も認められた。したがって、これらの器官で認められた毒性は、一部、brigatinib の高い組織内濃度に関連している可能性がある。

患者集団は成人であることから、幼若動物試験は実施しなかった。動物を用いたがん原性試験は、進行癌に対する低分子治療薬の非臨床的安全性評価に関する ICH S9 ガイドラインに従い、実施しなかった。

brigatinib の臨床試験に基づき、非臨床で毒性作用が確認された器官の中で、臨床試験において有害事象が認められたのは、消化器系、心血管系、肺、肝臓、眼、膵臓、腎臓及び造血系が含まれる。非臨床試験で毒性がみられたが、臨床的には現在までに明確な関連所見がみられていない器官には、雄生殖器官、骨及び免疫系関連器官が含まれる。

Brigatinib と、その他の既承認の ALK 阻害剤の非臨床安全性プロファイル[3][12][13][27][28]の比較により、肝胆道、心血管、造血、消化管及び肺において器官毒性が多く認められ、胎児毒性の可能性もあることが示唆された。各種 ALK 阻害剤の一般的な臨床での副作用は、肺炎、徐脈及び肝毒性であり、brigatinib 及びその他の ALK 阻害剤でみられる臨床での副作用はおおむね、非臨床試験と関連した所見と考えられる。

Brigatinib の代謝物である AP26123 について、主要な一般毒性試験において安全性を確認した。

要約すると、brigatinib は強力かつ選択的な ALK 阻害剤として特別に設計された低分子のチロシンキナーゼ阻害剤であり、患者にみられる ALK 阻害剤投与に伴う複数の耐性機序を非臨床試験において説明することができる。1 日 1 回 brigatinib 180 mg を投与された患者で達成される曝露量は、二次耐性と関連する ALK 中のあらゆる単一変異（L1196M 及び G1202R など）を阻害するために必要な濃度を上回る。これら非臨床薬理試験の結果は、各種 ALK 阻害剤治療歴のある患者を含む ALK 陽性 NSCLC 患者に対する brigatinib の投与を裏付けている。また、brigatinib の非臨床的薬物動態及び安全性プロファイルも十分に評価されている。以上のように、確認されている非臨床プロファイルは、各種 ALK 阻害剤治療歴のある ALK 陽性 NSCLC 患者の治療薬としての、brigatinib の特性を十分に裏付けている。

2.4.6 参考文献一覧

[1] Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al. Anaplastic Lymphoma Kinase Inhibition in Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2010;363(18):1693-703.

[2] Wong DW, Leung EL, So KK, Tam IY, Sihoe AD, Cheng LC, et al. The EML4-ALK Fusion Gene Is Involved in Various Histologic Types of Lung Cancers From Nonsmokers With Wild-type EGFR and KRAS. Cancer. 2009;115(8):1723-33.

[3] XALKORI® US Prescribing Information. Initial U.S. Approval: 2011 (Revised:1/2019).

[4] Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, Seto T, Crino L, Ahn MJ, et al. Crizotinib versus Chemotherapy in Advanced ALK-Positive Lung Cancer. N Engl J Med. 2013;368(25):2385-94.

[5] Solomon BJ , Mok T, Kim DW, Wu YL, Nakagawa K, Mekhail T, et al. First-Line Crizotinib versus Chemotherapy in ALK-Positive Lung Cancer. N Engl J Med. 2014;371(23):2167-77.

[6] Katayama R, Lovly CM, Shaw AT. Therapeutic Targeting of Anaplastic Lymphoma Kinase in Lung Cancer: A Paradigm for Precision Cancer Medicine. Clin Cancer Res. 2015;21(10):2227-35.

[7] Toyokawa G, Seto T. Updated Evidence on the Mechanisms of Resistance to ALK Inhibitors and Strategies to Overcome Such Resistance: Clinical and Preclinical Data. Oncol Res Treat. 2015;38(6):291-8.

[8] Weickhardt AJ, ScheierB, Burke JM, Gan G, Lu X, Bunn PA Jr, et al. Local Ablative Therapy of Oligoprogressive Disease Prolongs Disease Control by Tyrosine Kinase Inhibitors in Oncogene-Addicted Non-Small-Cell Lung Cancer. J Thorac Oncol. 2012;7(12):1807-1814.

[9] Costa DB, Shaw AT, Ou SH, Solomon BJ, Riely GJ, Ahn MJ, et al. Clinical Experience With Crizotinib in Patients With Advanced ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer and Brain Metastases. J Clin Oncol. 2015;33(17):1881-8.

[10] Friboulet L, Li N, Katayama R, Lee CC, Gainor JF, Crystal AS, et al. The ALK Inhibitor Ceritinib Overcomes Crizotinib Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer. Cancer Discov. 2014;4(6):662-673.

[11] Sakamoto H, Tsukaguchi T, Hiroshima S, Kodama T, Kobayashi T, Fukami TA, et al. CH5424802, a Selective ALK Inhibitor Capable of Blocking the Resistant Gatekeeper Mutant. Cancer Cell. 2011;19(5):679-90.

[12] ZYKADIA® US Prescribing Information. Initial U.S. Approval: 2014 (Revised:12/2017).

[13] ALECENSA® US Prescribing Information. Initial U.S. Approval: 2015 (Revised:6/2018).

[14] Shaw AT, Kim DW, Mehra R, Tan DS, Felip E, Chow LQ, et al. Ceritinib in ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2014;370(13):1189-97.

[15] Ou SH, Ahn JS, De Petris L, Govindan R, Yang JC, Hughes B, et al. Alectinib in Crizotinib-Refractory ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer: A Phase II Global Study. J Clin Oncol. 2016;34(7):661-8.

[16] Ou SH, Greenbowe J, Khan ZU, Azada MC, Ross JS, Stevens PJ, et al. I1171 missense mutation (particularly I1171N) is a common resistance mutation in ALK-positive NSCLC

patients who have progressive disease while on alectinib and is sensitive to ceritinib. Lung Cancer. 2015;88(2):231-4.

[17] Ou SH, Klempner SJ, Greenbowe JR, Azada M, Schrock AB, Ali SM, et al. Identification of a Novel HIP1-ALK Fusion Variant in Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC) and Discovery of ALK I1171 (I1171N/S) Mutations in Two ALK-Rearranged NSCLC Patients with Resistance to Alectinib. J Thorac Oncol. 2014;9(12):1821-5.

[18] Ou SH, Milliken JC, Azada MC, Miller VA, Ali SM , Klempner SJ. ALK F1174V mutation confers sensitivity while ALK I1171 mutation confers resistance to alectinib. The importance of serial biopsy post progression. Lung Cancer. 2016;91:70-2.

[19] Tchekmedyian N, Ali SM, Miller VA, Haura EB. Acquired ALK L1152R Mutation Confers Resistance to Ceritinib and Predicts Response to Alectinib. J Thorac Oncol. 2016;11(7):e87-8.

[20] Hayashi T, Su T. The Sigma Receptor: Evolution of the Concept in Neuropsychopharmacology. Curr Neuropharmacol. 2005;3(4):267-80.

[21] Marban E, Yamagishi T , Tomaselli GF. Structure and function of voltage-gated sodium channels. J Physiol. 1998;508(Pt 3):647-57.

[22] Crizotinib: Clinical pharmacology review. Xalkori, Crizotinib. Center for Drug Evaluation and Research: U.S. Food and Drug Administration; 201. US NDA No.: 202570.

[23] Gadgeel SM, Gandhi L, Riely GJ, Chiappori AA, West HL, Azada MC, et al. Safety and activity of alectinib against systemic disease and brain metastases in patients with crizotinib-resistant ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (AF-002JG): results from the dose-finding portion of a phase 1/2 study. Lancet Oncol. 2014;15(10):1119-28.

[24] Artursson P, Karlsson J. CORRELATION BETWEEN ORAL DRUG ABSORPTION in HUMANS and APPARENT DRUG PERMEABILITY COEFFICIENTS in HUMAN INTESTINAL EPITHELIAL (Caco-2) CELLS. Biochem Biophys Res Commun. 1991;175(3):880-5.

[25] Greaves P. Chapter 5 Musculoskeletal System: GROWTH PLATE. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. Elsevier; 2012. p. 159.

[26] Okada K, Araki M, Sakashita T, Ma B, Kanada R, Yanagitani N, et al. Prediction of ALK mutations mediating ALK-TKIs resistance and drug re-purposing to overcome the resistance. EBioMedicine. 2019;41:105-119.

[27] EPAR Crizotinib. 19 July 2012. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) Assessment Report EMA/CHMP/497137/2012.

[28] EPAR Ceritinib. 26 February 2015. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) Assessment Report EMA/170114/2015.