

## 目次

2.4	非臨床試験の概括評価.....	5
2.4.1	緒言 .....	5
2.4.2	非臨床試験計画概略 .....	6
2.4.2.1	非臨床試験計画.....	6
2.4.2.2	サロゲート ADC の使用根拠 .....	7
2.4.2.3	薬理試験.....	7
2.4.2.4	薬物動態試験.....	7
2.4.2.5	毒性試験.....	9
2.4.2.6	投与経路（投与レジメン）及び用量の選択.....	10
2.4.2.7	GLP 及びガイドライン .....	10
2.4.2.8	毒性試験で用いた被験物質.....	10
2.4.3	薬理試験 .....	11
2.4.3.1	ポラツズマブ ベドチンの構造.....	11
2.4.3.2	<i>In vitro</i> 薬理試験.....	11
2.4.3.3	<i>In vivo</i> 薬理試験.....	13
2.4.3.4	副次的薬理試験.....	14
2.4.3.5	安全性薬理試験.....	14
2.4.3.6	薬理試験の総括及び結論.....	14
2.4.4	薬物動態 .....	15
2.4.4.1	吸収及び薬物動態.....	15
2.4.4.2	分布.....	16
2.4.4.3	代謝.....	17
2.4.4.4	排泄.....	18
2.4.4.5	PK 薬物相互作用.....	18
2.4.4.6	免疫原性.....	19
2.4.4.7	結論.....	19
2.4.5	毒性試験 .....	20
2.4.5.1	急性毒性.....	20
2.4.5.2	反復投与毒性.....	20
2.4.5.3	遺伝毒性及びがん原性.....	21
2.4.5.4	生殖発生毒性試験.....	21
2.4.5.5	新生児を用いた試験.....	21
2.4.5.6	局所刺激性.....	21
2.4.5.7	その他の毒性試験.....	22
2.4.5.8	動物からヒトへの外挿（曝露量，臨床との関連） .....	22
2.4.6	総括及び結論 .....	24

2.4.7	参考文献一覧 .....	26
-------	--------------	----

### 表一覧

表 2.4.3.2-1	ポラツズマブ ベドチンのヒト CD79b に対する結合親和性 ( $K_d$ ) 及び細胞増殖抑制活性 ( $IC_{50}$ ) .....	13
表 2.4.5.8-1	反復投与毒性試験における曝露量と臨床推奨用量における曝露量との比較 ..	23
表 2.4.5.8-2	MMAE のラット小核試験及び胚・胎児発生に関する試験における曝露量とポラツズマブ ベドチンの臨床推奨用量における MMAE 曝露量との比較 .....	24

### 図一覧

図 2.4.1-1	ポラツズマブ ベドチンの作用機序 (推定) .....	6
図 2.4.3.1-1	ポラツズマブ ベドチンの構造 .....	11

## 略語一覧

略語	英名	和名
acMMAE	antibody-conjugated MMAE	抗体結合型 MMAE
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADC	antibody-drug conjugate	抗体薬物複合体
ADCC	antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収, 分布, 代謝, 排泄
AUC	area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
AUC <sub>last</sub>	area under the concentration-time curve from Time 0 to time of the last measurable concentration	投与後定量可能な最終測定時点までの濃度-時間曲線下面積
B/P	blood-to-plasma	全血中濃度/血漿中濃度比
BCR	B-cell receptor	B 細胞受容体
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
CDC	complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害
CHOP	cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone	シクロホスファミド, ドキソルビシン, ビンクリスチン, プレドニゾン併用療法
CHP	cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone	シクロホスファミド, ドキソルビシン, プレドニゾン併用療法
C <sub>max</sub>	maximum observed concentration	最高血清中(血漿中)濃度
CR	complete response	完全奏効
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用
DLBCL	diffuse large B-cell lymphoma	びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
FcγR	Fc gamma receptor	Fcγ受容体
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
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
hERG	human ether-à-go-go related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャンネル遺伝子
HNSTD	highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
IC <sub>50</sub>	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
Ig	immunoglobulin	免疫グロブリン
IV	intravenous	静脈内
K <sub>d</sub>	equilibrium dissociation constant	平衡解離定数
K <sub>I</sub>	concentration of an inactivator that supports half the maximal rate of enzyme inactivation	最大不活性化速度の50%の速度をもたらす阻害薬の濃度
LC-MS/MS	liquid chromatography tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
MATE	multidrug and toxin extrusion protein	—
MMAE	monomethyl auristatin E	モノメチルアウリスタチン E
mc-vc-PAB	maleimidocaproyl-valine-citrulline- <i>p</i> -aminobenzyloxycarbonyl	maleimidocaproyl-valine-citrulline- <i>p</i> -aminobenzyloxycarbonyl
MCL	mantle cell lymphoma	マントル細胞リンパ腫
MDR1	multidrug resistance protein 1	多剤耐性蛋白質1

略語	英名	和名
MOA	mechanism of action	作用機序
MRP	multidrug resistance-associated protein	多剤耐性関連蛋白質
NHL	non-Hodgkin's lymphoma	非ホジキンリンパ腫
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PBMC	peripheral blood mononuclear cells	末梢血単核細胞
P-gp	permeability glycoprotein	P-糖蛋白質
PD	pharmacodynamic	薬力学
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
R/R	relapsed/refractory	再発又は難治性
RBC	red blood cell	赤血球
STD <sub>10</sub>	severely toxic dose in 10% of the animals	供試動物の10%に重篤な毒性が発現する投与量
t <sub>1/2</sub>	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
vcMMAE	mc-vc-PAB-MMAE	mc-vc-PAB-MMAE

## 2.4 非臨床試験の概括評価

### 2.4.1 緒言

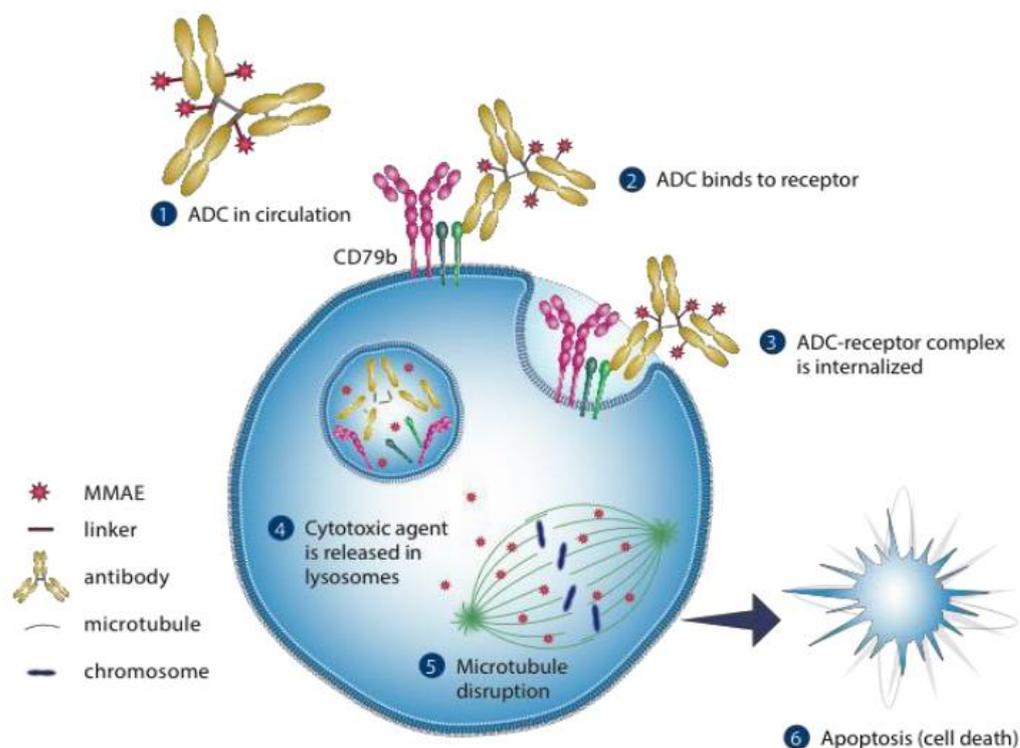
ポラツズマブ ベドチン（遺伝子組換え）（以下、ポラツズマブ ベドチン、別名：DCDS4501A 及び DCDS4501S）は、抗 CD79b ヒト化免疫グロブリン (Ig) G1モノクローナル抗体と強力な有糸分裂阻害剤であるモノメチルアウリスタチン E (MMAE) を、プロテアーゼ切断性リンカー [maleimidocaproyl-valine-citrulline-*p*-aminobenzyloxycarbonyl (mc-vc-PAB)] を介して共有結合させた抗体薬物複合体 (ADC) である。本 ADC の抗腫瘍活性は、MMAE が B 細胞に選択的に移行することによって発現し、1抗体あたり、約3.5の MMAE 分子が結合している<sup>1)</sup> (4.2.1.1-6, 4.2.3.2-4) (2.3.S.1.3 (ポラツズマブ ベドチン原薬))。

CD79b は B 細胞受容体 (BCR) のシグナル伝達を担う蛋白であり、ポラツズマブ ベドチンはヒト CD79b に特異的に結合する。CD79b の発現は、B 細胞系列内の形質細胞を除く正常細胞及び悪性 B 細胞に限定されており、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) では90%の非常に高い割合で発現している<sup>2) -7)</sup>。したがって、MMAE の移行は、これらの細胞に限定されることが予想される。

ポラツズマブ ベドチンは CD79b に結合すると、速やかに細胞内に移行し<sup>7) -9)</sup>、リンカーはリソソームプロテアーゼによって切断され、MMAE が細胞内に放出される<sup>10)</sup>。放出された MMAE は微小管に結合し、細胞分裂を阻害してアポトーシスを誘導することにより、分裂中の細胞を死滅させる<sup>11) -13)</sup> (図 2.4.1-1)。

ポラツズマブ ベドチンは Fc 領域を有する IgG1薬物複合体であるため、細胞傷害活性を担うエフェクター分子である Fcγ 受容体 (FcγR) や補体と結合し、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) や補体依存性細胞傷害 (CDC) 等のエフェクター機能を引き起こす可能性がある。そのため、ポラツズマブ ベドチンのエフェクター分子を介した殺細胞活性について、FcγR 又はリンパ腫瘍株を用いた *in vitro* 試験系で評価した。非臨床試験成績から、ポラツズマブ ベドチンの抗腫瘍活性及び毒性は、エフェクター機能によるものではなく、主に MMAE を介した作用によって促進されることが示された。各試験の評価を裏付ける根拠資料の概要については、2.6.2に記載した。

図 2.4.1-1 ポラツズマブ ベドチンの作用機序（推定）



ポラツズマブ ベドチンの開発中に、ポラツズマブ抗体、サロゲート ADC 及びサロゲート抗体は、図、報告書、及びその他の提出文書において以下の名称が用いられた。

名称	相当する抗体/薬物の説明	相当する開発番号
ポラツズマブ ベドチン	ヒト CD79b を認識する ADC（臨床試験及び非臨床試験で使用）	DCDS4501A, DCDS4501S
ポラツズマブ抗体	MMAE を結合させる前のポラツズマブ ベドチンの抗体成分	MCDS4409A
サロゲート ADC	カニクイザル CD79b を認識する ADC（非臨床試験のみで使用）	DCDS5017A
サロゲート抗体	MMAE を結合させる前のサロゲート ADC の抗体成分	MCDS1358A

## 2.4.2 非臨床試験計画概略

### 2.4.2.1 非臨床試験計画

DLBCL 治療を目的としたポラツズマブ ベドチンの臨床開発及び承認申請のために、本 ADC の薬理、薬物動態 (PK)、薬力学 (PD)、吸収・分布・代謝・排泄 (ADME)、免疫原性、製造工程の異なる製剤間 PK 比較、及び毒性について評価を行った。これらの試験により、ポラツズマブ ベドチンの薬理学的特性、*in vivo* での PK 挙動、安全性プロファイル、臨床試験開始用量、及び投与レジメンを検証した。また、ポラツズマブ ベドチンの作用機序 (MOA)、PK/PD、ADME、安全性、及び有効性について精査するために、必要に応じて、本 ADC に加えてポラツズマブ抗体、サロゲート ADC、サロゲート抗体、又は MMAE を用いて試験を実施した。

### 2.4.2.2 サロゲート ADC の使用根拠

ポラツズマブ ベドチンはヒト B 細胞表面の CD79b を特異的に認識するが、ヒト以外の霊長類やげっ歯類の CD79b には結合しない。そのため、本 ADC の薬物動態、毒性及び標的分子を介した薬理作用を精査するために、カニクイザルの CD79b に特異的に結合するサロゲート ADC を作製した。サロゲート ADC はカニクイザルの CD79b に特異的に結合するヒト-マウスキメラ IgG1モノクローナル抗体であり、ポラツズマブ ベドチンと同一のリンカー及び薬物から構成されている。サロゲート ADC は、ポラツズマブ ベドチンと同様の結合特性を有し、その薬物抗体比はポラツズマブ ベドチンと同様に平均3.5である。サロゲート ADC とポラツズマブ ベドチンの同等性及び非臨床試験においてサロゲート ADC を使用することの妥当性を実証するために、薬理、薬物動態及び毒性に関する評価を行った。

### 2.4.2.3 薬理試験

ポラツズマブ ベドチン、必要に応じてポラツズマブ抗体、サロゲート ADC、サロゲート抗体、又は MMAE を使用して薬理試験を実施した。薬理試験の目的は、本 ADC の CD79b に対する種特異的な結合特性、異種移植マウスモデルにおける抗腫瘍効果、PK/PD 作用及び MOA を明らかにすることである。

細胞増殖抑制試験では、CD79b を発現しているヒトバーキットリンパ腫 B 細胞株 BJAB 又は Ramos 細胞を使用した。抗腫瘍効果試験では、各種ヒト CD79b 発現腫瘍細胞株を免疫不全マウスに移植して作製した異種移植マウスモデルを使用した。腫瘍細胞株は、CD79b の発現レベル及び移植モデルにおける細胞株の増殖能に基づき、WSU-DLCL2 (DLBCL) , BJAB (バーキットリンパ腫) 及び Z138 [マントル細胞リンパ腫 (MCL) ] を選択した。ポラツズマブ ベドチンの感受性は BJAB 細胞が最も高く、WSU-DLCL2細胞が最も低かった (2.6.2.2.2) 。併用薬や投与経路等の選定においては、ポラツズマブ ベドチンの臨床上的使用状況を鑑みて、実際の臨床状況にできるだけ合わせるようにした。

*In vitro* では、ポラツズマブ ベドチンのヒト B 細胞への結合特異性、ヒト CD79b に対する結合親和性、各種 FcγR への結合活性 [酵素免疫測定法 (ELISA) にて測定]、及びエフェクター機能 (細胞ベースのアッセイで ADCC 及び CDC 活性を測定) について評価した。

CD79b は BCR のシグナル伝達を担う蛋白であることから、ポラツズマブ ベドチンは炎症誘発性サイトカインの放出を引き起こす可能性がある。そのため、ポラツズマブ ベドチンによる各種サイトカインの産生量を、末梢血単核細胞 (PBMC) を用いた試験系で評価した。リツキシマブ/オビヌツズマブ併用時のポラツズマブ ベドチンの細胞内への取り込み量及びその異化については、WSU-DLCL2腫瘍細胞を用いた試験系で評価した。

*In vivo* では、ポラツズマブ ベドチンの用量反応性、腫瘍増殖抑制効果及び他剤との併用効果を、異種移植マウスモデルを用いて評価した。サロゲート ADC の増殖性 B 細胞に対する選択的な減少作用及び PK/PD 作用については、カニクイザルを用いた試験系で評価した。

実施した薬理試験の概要については、2.6.2に記載した。

### 2.4.2.4 薬物動態試験

#### 分析法の開発及びバリデーション

ポラツズマブ ベドチンの PK, 代謝/異化, 及びトキシコキネティクス (TK) の特性を明らかにして ADC としての薬物動態を評価するため、また、薬効及び毒性等の非臨床試験を裏付けるため、以下の3種類の重要な測定対象の定量法を開発した<sup>14), 15)</sup>。

#### 結合型分子

ADC 分子内の MMAE の変化を高感度で測定可能と考えられる抗体結合型 MMAE (acMMAE, 抗体に結合している MMAE の総量) として評価した。血漿試料中の ADC をプロテイン A の免疫親和性 (IA) を用いて分離後、酵素的な処理により遊離させた MMAE

を液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法 (LC-MS/MS) で測定した。

#### 総抗体

ELISA 又は IA LC-MS/MS (プロテイン A による免疫親和性捕捉の後にトリプシン処理して得られるシグネチャーペプチドを LC-MS/MS で測定) のいずれかの測定法を用いて、ADC の総濃度 (完全結合型、部分的結合解離型、及び完全解離型の総和) として評価した。

#### 遊離型 MMAE

抗体に結合していない MMAE を評価した。血漿試料を有機溶媒で除蛋白処理し、上清中の MMAE を LC-MS/MS を用いて測定した。

医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 (GLP) に準拠した毒性試験では、バリデートされた測定法を使用し、総抗体 (ELISA) 及び遊離型 MMAE を測定した。また IA LC-MS/MS を含む適切な測定法を用いて、非 GLP の PK 試験の総抗体及び acMMAE などの測定を実施した。また、適性を確認した測定法で *in vitro* 血漿中安定性試験にて総抗体 (ELISA)、acMMAE 及び遊離型 MMAE を測定した。血漿、胆汁並びに尿中の MMAE 及び MMAE 含有代謝物を評価するため、追加の探索的測定法を開発した。

また、カニクイザルを対象とした毒性試験及び PK 試験での免疫原性の評価を目的として、ポラツズマブ ベドチン又はサロゲート ADC のいずれかに対する抗薬物抗体 (ADA) 測定のためのブリッジング ELISA を開発し、バリデートした。ADA 測定には2段階アプローチを用い<sup>15)</sup> <sup>16)</sup>、試料はまず ADA 測定法でスクリーニングし、陽性と判定された試料に関してはその力価を測定した。

上記の分析法についての詳細は、2.6.4.2に記載している

#### 薬物動態

非臨床 PK 試験は、マウス、ラット及びカニクイザルで実施した。ポラツズマブ ベドチン/ポラツズマブ抗体 (マウス、ラット及びカニクイザルの CD79b に結合しない) による抗原非依存性の PK 及びサロゲート ADC/サロゲート抗体 (カニクイザルの CD79b に結合する) による抗原依存性 (すなわち B 細胞介在性) の PK の両方を評価した。また、ポラツズマブ ベドチン投与時の毒性プロファイルの解釈に用いるため、ポラツズマブ ベドチンから細胞傷害性薬物として遊離する可能性のある MMAE をカニクイザルに投与し、その PK 特性を評価した。また、ラットを用いて、v1.0工程 (商用予定) 由来のポラツズマブ ベドチンの PK を v0.1工程 (GO29365試験の主要部分及び他の初期の臨床試験への供給に使用) 由来のものと比較する PK 試験を実施した。

これらの試験結果により、薬効試験 (マウス)、毒性/TK 試験 (ラット及びカニクイザル)、並びに PK/PD 試験 (カニクイザル) における曝露量が確認され、臨床試験の用量及び投与レジメンの設定が裏付けられた。また、商用予定工程及び臨床試験使用のポラツズマブ ベドチンの PK には製法変更の影響がないことが示唆された。

#### ADME

ポラツズマブ ベドチンあるいは MMAE の血漿中安定性、組織分布、異化/代謝、及びマスバランスを評価するための試験を実施した。組織分布試験及び *in vivo* での異化/代謝の試験は、ポラツズマブ抗体部分あるいは MMAE 部分を放射性標識したポラツズマブ ベドチンをラットに投与、又は MMAE の放射性標識体をラットに投与して実施した。動物及びヒトにおいてポラツズマブ ベドチン投与後に血漿中に非常に低い濃度ではあるものの遊離型 MMAE が検出されるため、MMAE による毒性発現及び薬物相互作用 (DDI) の可能性を考慮して評価を実施した。

IgG1を基本骨格とするポラツズマブ ベドチンはバイオ医薬品であり、シトクロム P450

(CYP) が関与しないプロセスを介して異化/代謝されると予想される<sup>17)</sup>。したがって、*in vitro* の代謝試験は MMAE を用いて実施し、ポラツズマブ ベドチンは用いなかった。MMAE を用いて実施した *in vitro* 試験は、血漿蛋白結合、赤血球 (RBC) への分配、ヒト肝ミクロソームを用いた代謝関与 CYP 分子種の同定、異なる動物種の肝ミクロソーム及び肝細胞における代謝の程度と代謝物の同定、ヒト肝ミクロソームにおける CYP 阻害、ヒト肝細胞における CYP 誘導、並びに薬物トランスポーターと MMAE との相互作用の評価を含むものである。

*In vitro* の DDI の試験は、米国食品医薬品局 (FDA) の業界向けガイダンス：臨床薬物相互作用試験<sup>18)</sup>、並びに *in vitro* 代謝及びトランスポーターを介した薬物相互作用試験<sup>19)</sup> に従って実施した。ラットのマスバランス試験で、MMAE の尿中排泄が投与量の10%未満であったことから、腎臓のトランスポーターである multidrug and toxin extrusion protein (MATE) 1又は MATE2-K の基質及び阻害剤として MMAE の評価は実施しなかった。なお、ポラツズマブ ベドチンの予定臨床用量 (1.8 mg/kg) で患者に認められた遊離型 MMAE の最高血中濃度 ( $C_{max}$ ) が約10 nmol/L (DCS4968g 試験, 2.7.2.2.3.3) あるいは約2.3 nmol/L (JO29138試験, 2.7.2.2.3.1) と低濃度であることから、MMAE と種々のトランスポーターとの相互作用が臨床で生じる可能性は低いと考えられる。

ラットは、ポラツズマブ抗体に交差する CD79b を発現せず、ADC の非特異的な組織への取り込みを示す正常組織を有するため、ADME 試験、及び同等性/同質性評価を含む、ポラツズマブ ベドチンの抗原非依存性の PK を評価する試験に適した動物種と考えられる。また、ラットは胆汁、尿、及び組織試料の採取にも適している。更に、ラットはマンノース受容体を発現し<sup>20)</sup>、別の IgG1モノクローナル抗体ではクリアランスに対する高マンノースグリコフォームの影響がラットで実証されている<sup>21)</sup> ことから、製剤間比較 PK 試験へのラットの使用は妥当であると考えられる。

### 免疫原性

カニクイザルにおける GLP 反復投与毒性試験において、ポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC に対する ADA を測定し、総抗体及び遊離型 MMAE の PK/TK に対する影響について評価した。

上記、PK 試験及び ADME 試験については、2.6.5に一覧表を記載している。

### 2.4.2.5 毒性試験

ポラツズマブ ベドチンの毒性試験プログラムは、本薬の臨床試験の開始及び臨床開発、並びに承認申請をサポートすることを目的として計画された。

毒性試験は、ラット及びカニクイザルを用いて実施した。ポラツズマブ ベドチンはヒト以外の霊長類及びげっ歯類の CD79b には結合しないことから、カニクイザルの CD79b に特異的に結合するサロゲート ADC を作製した (2.4.2.2)。サロゲート ADC を用いることにより、カニクイザルでは抗原依存的毒性 (標的分子である CD79b への特異的結合に関連した作用) 及び抗原非依存的毒性 (MMAE の作用を含む、CD79b への特異的結合に関連しない作用) の両方が評価可能であり、本動物種はポラツズマブ ベドチンの毒性評価に最も適した動物種と考えられた。また、ラットについては、ポラツズマブ ベドチンの投与による非特異的作用 (エンドサイトーシスによる取り込み) や本薬の分解産物又は異化代謝産物の曝露に関連した抗原非依存的毒性を評価するための第二の動物種とした。

ポラツズマブ ベドチンの毒性試験プログラムには、主要な試験としてポラツズマブ ベドチンのラット4週間 (週1回、計4回) 投与試験、ポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC のカニクイザル10週間 (3週に1回、計4回) 投与試験 (安全性薬理評価を含む)、並びにポラツズマブ ベドチンのヒト組織交差反応性試験が含まれる。また、ポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC の毒性プロファイルへの MMAE の寄与を明らかにするため、MMAE

のラット単回及び反復（週1回，計4回）投与試験，並びにカニクイザル単回及び反復（3週に1回，計4回）投与試験を実施した。その他，MMAE に関する試験として，遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験，マウスリンフォーマ細胞を用いる遺伝子突然変異試験及びラット小核試験），生殖発生毒性試験（ラット胚・胎児発生に関する試験），及び *in vitro* hERG（ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子）試験（2.4.3.5）も実施した。

実施した毒性試験の概要については，2.6.6に記載した。

#### 2.4.2.6 投与経路（投与レジメン）及び用量の選択

ポラツズマブ ベドチンの予定臨床投与経路は静脈内（IV）であり，投与レジメンは3週に1回投与である。したがって，主要な毒性試験であるカニクイザルを用いたポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC の反復投与試験は，臨床投与レジメンを模して，3週に1回，計4回の反復 IV 投与により実施した。

ポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC の用量は，MMAE の毒性試験で得られた最大耐量，及び他の MMAE 含有 ADC において得られた毒性学的情報を参考に，各動物種において可能な限り最大の全身曝露量が得られる用量を設定した。

#### 2.4.2.7 GLP 及びガイドライン

ヒトを対象とする臨床試験の実施をサポートするための主要な毒性試験及び安全性薬理試験（2.4.3.5）は，FDA の GLP 規則（21 CFR Part 58）又は経済協力開発機構（OECD）の GLP 原則 [C(97)186/Final] を遵守して実施し，OECD のデータ相互受入（MAD）プログラムの参加国で実施した。その他の追加の毒性試験については，科学的かつ綿密な非 GLP 試験として実施した。

試験項目及び実施時期については，医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに準拠した。なお，主要な反復投与試験として実施したカニクイザル10週間（3週に1回，計4回）投与試験については，投与期間終了時剖検を最終投与後7日（Day 71）に実施したが，回復性評価のための休薬期間終了時剖検は最終投与後9週（Day 128）に実施しており，休薬群の動物においては，概ね3カ月間にわたって，ポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC の一定の曝露量が維持された。このことから，本試験の投与期間は，進行がん患者の治療に用いる抗悪性腫瘍薬の製造販売承認申請のための反復投与毒性試験の投与期間として，3カ月間を推奨する現行の ICH S9（平成22年6月4日 薬食審査発0604第1号 抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン）の趣旨を満たしていると判断した。

#### 2.4.2.8 毒性試験で用いた被験物質

市販用のポラツズマブ ベドチン製剤（v1.0工程由来の140 mg 凍結乾燥製剤）は，主要な臨床試験（GO29365）及び GLP 下での毒性試験で用いた製剤（v0.1工程由来の ████████ 溶液製剤）と異なる工程により製造されている（2.3.P.2.3）。v1.0製剤と v0.1製剤との同等性については，以下の試験により確認されている。

- ポラツズマブ ベドチンの患者における安全性及び抗腫瘍活性に不可欠な指標についての分析的及び生物学的評価。
- ポラツズマブ ベドチンの v1.0 製剤と v0.1 製剤の薬物動態を比較することを目的とした，ラットを用いた PK 試験（2.6.4.8.2）。
- 他の治療薬との併用でポラツズマブ ベドチン（v1.0 製剤）を投与する，再発又は難治性（R/R）DLBCL 及び R/R 濾胞性リンパ腫患者を対象とした 3 つの進行中の第 Ib/II 相試験の 100 例以上から得られた薬物動態，ADA 及び安全性の評価。
- リツキシマブ及びベンダムスチンとの併用によるポラツズマブ ベドチンの主要な臨床試験（GO29365）において追加した，v1.0 製剤を 20 例以上の R/R DLBCL 患者へ投与する

群（G 群）から得られた薬物動態及び安全性の評価。G 群のデータはその後、本試験の副次的有効性評価及び ADA に関する追加データとして利用された。

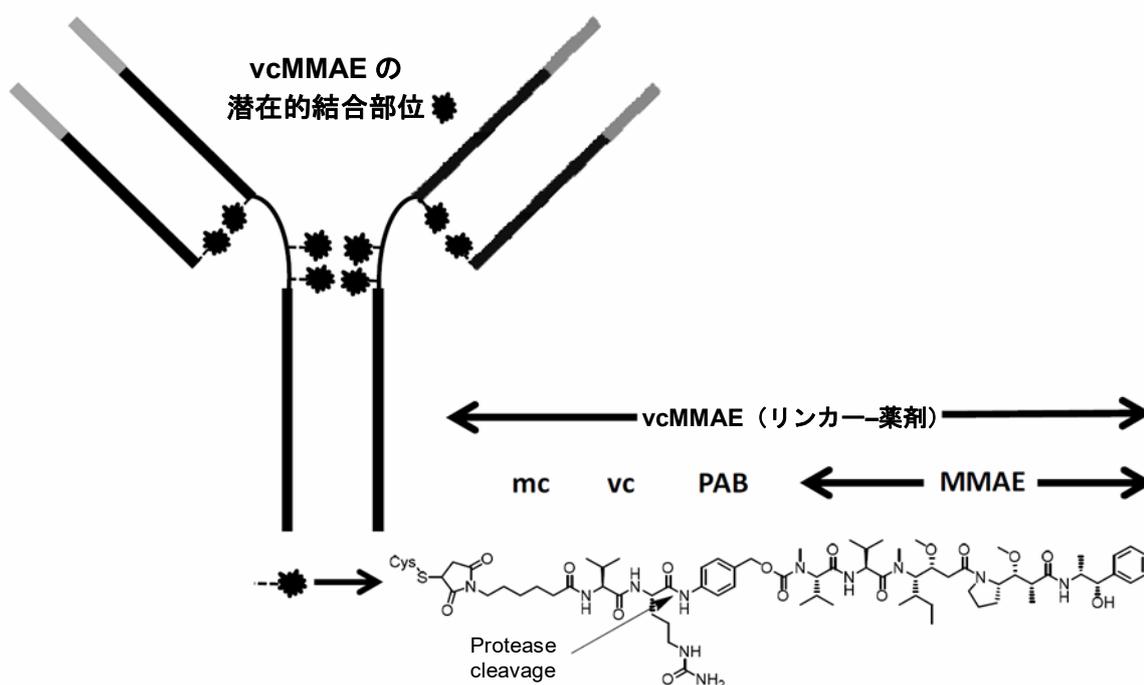
ポラツズマブ ベドチンにおいて同定されたすべての工程由来不純物及び製剤分解物は、v1.0製剤及び v0.1製剤のいずれにおいても、ICH Q3A(R2)（平成14年12月16日 医薬審発第1216001号 新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン [一部改定：平成18年12月4日 薬食審査発第1204001号]）及び Q3B(R2)（平成15年6月24日 医薬審発第0624001号 新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン [改定：平成18年7月3日 薬食審査発第0703004号]）の各ガイドラインに記載されている定量が必要となる閾値を下回っていた（2.3.S.3.2 [リンカー-薬物中間体]， 2.3.P.5.5）。したがって、単離した不純物又は分解物を用いた非臨床毒性試験は実施しなかった。

## 2.4.3 薬理試験

### 2.4.3.1 ポラツズマブ ベドチンの構造

ポラツズマブ ベドチンは、CD79b を標的としたヒト化モノクローナル抗体をプロテアーゼ切断性リンカーである mc-vc-PAB を介して MMAE に共有結合させた ADC である（図 2.4.3.1-1）。本 ADC には、1抗体あたり、約3.5の MMAE 分子が結合している<sup>1)</sup>（4.2.1.1-6， 4.2.3.2-4）（2.3.S.1.3（ポラツズマブ ベドチン原薬））。

図 2.4.3.1-1 ポラツズマブ ベドチンの構造



mc : maleimidocaproyl, PAB : *p*-aminobenzyloxycarbonyl, vc : valine-citrulline, vcMMAE : mc-vc-PAB-MMAE。

【Li et al. (2019)<sup>1)</sup> Figure 1を改変】

### 2.4.3.2 *In vitro* 薬理試験

*In vitro* 薬理試験の主な結果を以下に要約した。

- ポラツズマブ ベドチンの ADC 特性 – マウス，ラット，カニクイザル及びヒト PBMC の B 細胞において，ポラツズマブ ベドチンはヒト B 細胞のみに対して結合活性を示した。ま

た、ポラツズマブ ベドチンはヒト CD79b に強い親和性を示し、CD79b 陽性ヒトバーキットリンパ腫 B 細胞株 Ramos に対して選択的かつ強力な細胞増殖抑制活性を示した。一方、CD79b 陰性ヒト T 細胞白血病細胞株 Jurkat に対しては、増殖抑制活性を示さなかった。ポラツズマブ ベドチン及びポラツズマブ抗体のヒト CD79b への結合、及び細胞増殖抑制活性（50%阻害濃度：IC<sub>50</sub>値）については、表 2.4.3.2-1 に示した。

ポラツズマブ ベドチンの主な MOA は、本 ADC が CD79b に結合した後に速やかに細胞内に移行し<sup>7)</sup>、放出された MMAE が標的依存的に細胞増殖抑制活性を発揮することであると推定される。

- FcγR 結合 – ヒト Fcγ 受容体 (FcγR) [FcγRIA, FcγRIIA (H131), FcγRIIA (R131), FcγRIIB, FcγRIIA (F158), 及び FcγRIIA (V158)] に対するポラツズマブ ベドチン及びポラツズマブ抗体の結合活性は同程度であった。
  - ポラツズマブ ベドチンはポラツズマブ抗体と同様に FcγR に結合したことから、本 ADC の Fc 領域の FcγR への結合能は維持されていることが明らかとなった。
  - ポラツズマブ ベドチン及びポラツズマブ抗体の FcγR に対する結合活性はいずれも、陽性対照のリツキシマブに比較して低かった。
- ADCC 誘導に対する影響 – ポラツズマブ ベドチン及びポラツズマブ抗体はいずれも、10 µg/mL までの濃度でヒトバーキットリンパ腫 B 細胞株 BJAB 細胞に中程度の ADCC を誘導したが、その誘導能はリツキシマブに比較して 1 桁以上低かった。
- CDC 誘導に対する影響 – ポラツズマブ ベドチンはウサギ血清由来の補体を使用した BJAB 細胞での試験系において、CDC 活性を示さなかったが、陽性対照のリツキシマブは強い CDC 活性を示した。

サイトカイン産生誘導に対する影響 – ポラツズマブ抗体はインターロイキン-1α 及びインターフェロン誘導タンパク 10 を上昇させたが、その上昇の程度は、陽性対照の抗 CD3 抗体 OrthoClone (OKT3) に比べて低かった。サイトカイン放出症候群において上昇することが報告されている炎症誘発性サイトカイン<sup>22)</sup> の上昇は誘発しなかった。カニクイザルでの *in vivo* 試験では、ポラツズマブ ベドチンとサイトカイン放出症候群との関連性は認められなかった。
- 抗 CD20 抗体併用時のポラツズマブ ベドチンの細胞内取り込み及び異化に対する影響 – CD79b 及び CD20 の両抗原を発現するヒト DLBCL WSU-DLCL2 腫瘍細胞において、ポラツズマブ ベドチンと抗 CD20 抗体（リツキシマブ又はオビヌツズマブ）の併用は、放射性標識ポラツズマブ ベドチン（抗 CD79b-vc-[<sup>3</sup>H]MMAE）の放射活性、取り込み、及び異化に影響を与えなかった。このことは、ポラツズマブ ベドチンと抗 CD20 抗体治療薬との併用が可能であることを示している。

表 2.4.3.2-1 ポラツズマブ ベドチンのヒト CD79b に対する結合親和性 ( $K_d$ ) 及び細胞増殖抑制活性 ( $IC_{50}$ )

MOA	主な結果
CD79b への結合	CD79b に対するポラツズマブ ベドチン及びポラツズマブ抗体の親和性は同程度であり、ポラツズマブ ベドチンは抗原結合特異性を維持していた。 ポラツズマブ ベドチン： $K_d = 1.83 \pm 0.26$ nmol/L ポラツズマブ抗体： $K_d = 1.33 \pm 0.14$ nmol/L
CD79b 依存的な細胞増殖抑制活性	ポラツズマブ ベドチンは、CD79b 陽性細胞株 Ramos の細胞増殖を強力かつ選択的に抑制した ( $IC_{50} = 0.071 \pm 0.014$ nmol/L)。一方、CD79b 陰性細胞株 Jurkat に対しては、細胞増殖抑制活性を示さなかった。 Ramos 及び Jurkat 両細胞株に対するポラツズマブ抗体の増殖抑制活性はわずかであったが、MMAE は両細胞株に非特異的な増殖抑制活性を示した。

$K_d$ ：平衡解離定数， $IC_{50}$ ：50%阻害濃度。

### 2.4.3.3 *In vivo* 薬理試験

#### 異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ ベドチンの単独投与

ヒト DLBCL WSU-DLCL2, BJAB-luc (BJAB にルシフェラーゼ遺伝子を導入した細胞株) 及びヒトバーキットリンパ腫 BJAB PD.cyCD79b.E3 (BJAB 細胞の亜株) を含む各種 CD79b 陽性細胞異種移植マウスモデルを用いて、ポラツズマブ ベドチンの抗腫瘍効果を評価した。主な結果を以下に要約した。

- すべての異種移植マウスモデルにおいて、ポラツズマブ ベドチンは単独投与で用量依存的かつ著明な腫瘍増殖抑制効果を示した。
  - ポラツズマブ ベドチンに対して BJAB-luc モデルでは、0.5 mg/kg の IV 投与で腫瘍増殖抑制効果が観察された。2 及び 4 mg/kg の IV 投与では完全寛解を含む強い増殖抑制効果が認められた [それぞれ 8 例中 7 例及び 8 例中 8 例のマウスが完全奏効 (CR) を示した]。
  - ポラツズマブ ベドチンに対して WSU-DLCL2 モデルでは、1 mg/kg 以上の IV 投与で明確な腫瘍増殖抑制効果がみられ、12 mg/kg の IV 投与で完全寛解が認められた (8 例中 7 例のマウスが CR を示した)。
- ポラツズマブ ベドチンの抗腫瘍効果は、主に標的腫瘍への MMAE の選択的な移行に起因するものであり、ADC の非特異的な作用又はポラツズマブ抗体のみの作用ではないと推定された。
  - CD79b 陽性細胞異種移植マウスモデルへのポラツズマブ ベドチンの単独投与は、腫瘍に完全な退縮をもたらした。一方、CD79b 陽性細胞異種移植マウスモデルへのポラツズマブ抗体及び対照 ADC (抗 Her2-mc-vc-PAB-MMAE) の単独投与においては、腫瘍増殖抑制効果はほとんどみられず、みられた場合でもごくわずかであった。

#### 異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ ベドチンと他剤との併用投与

ヒト MCL Z138及びヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルを用いて、ポラツズマブ ベドチンと他剤との併用効果を評価した。主な結果を以下に要約した。

- 抗 CD20 抗体との併用** - ヒト MCL Z138 異種移植マウスモデルにおいて、抗 CD20 モノクローナル抗体であるリツキシマブ又はオビヌツズマブにポラツズマブ ベドチン (4 mg/kg の IV 投与) を併用することにより、抗腫瘍効果が増強した。
- 抗 CD20 抗体 + 化学療法薬の併用** - ヒト DLBCL WSU-DLCL2 異種移植マウスモデルにおいて、B 細胞性悪性リンパ腫の代表的なレジメン CHOP [シクロホスファミド (C) + ドキ

ソルビシン (H) + ビンクリスチン (O) + プレドニゾン (P) ] 中のビンクリスチンをポラツズマブ ベドチンに置き換えた CHP + ポラツズマブ ベドチン (2 mg/kg の IV 投与) と抗 CD20 抗体 (リツキシマブ又はオビヌツズマブ) との併用は、ポラツズマブ ベドチン単独、又は抗 CD20 抗体 + CHP, 若しくは抗 CD20 抗体 + CHOP との併用に比較して、抗腫瘍効果を大幅に増強させた。また、ポラツズマブ ベドチンと抗 CD20 抗体 + 化学療法薬 (ベンダムスチン) との併用は、ポラツズマブ ベドチン単独、抗 CD20 抗体 + CHP 又は CHOP の併用、又は抗 CD20 抗体 + ベンダムスチンとの併用と比較して、優れた抗腫瘍効果を示した。

### 末梢 B 細胞に対する *in vivo* 薬理活性

カニクイザルへのサロゲート ADC 単回 (0.3~3 mg/kg の IV) 投与及び反復 (3, 5 mg/kg の IV) 投与の試験結果から、サロゲート ADC の薬理活性は末梢血 CD20<sup>+</sup>B 細胞を枯渇させることであることが明らかとなった。この CD20<sup>+</sup>B 細胞のレベルは、サロゲート ADC が B 細胞枯渇作用を示した用量と同じ用量のポラツズマブ ベドチンを投与した時には減少しなかった。サロゲート ADC 及びポラツズマブ ベドチンのいずれの投与においても、CD79b を発現していない T 細胞又はナチュラルキラー細胞の減少は認められなかった。以上のことから、CD79b を標的とするポラツズマブ ベドチンの標的依存的な活性が確認された。また、サロゲート ADC (3 mg/kg の IV) の投与は増殖性 CD20<sup>+</sup>Ki-67<sup>+</sup>B 細胞を選択的に減少させたが、サロゲート抗体では明らかな影響はみられなかった。この CD20<sup>+</sup>Ki-67<sup>+</sup>B 細胞の減少は、サロゲート ADC の MMAE の抗有糸分裂作用に起因すると推定された。

#### 2.4.3.4 副次的薬理試験

ポラツズマブ ベドチンの副次的薬理試験は実施しなかった。

#### 2.4.3.5 安全性薬理試験

ポラツズマブ ベドチンの心血管系、呼吸系及び中枢神経系に対する安全性薬理的評価は、GLP 下でのラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験において実施した。また、MMAE について、GLP 下での *in vitro* 心血管系試験 (hERG 試験) を実施した。

ラットにポラツズマブ ベドチンを10 mg/kg までの用量で週1回、計4回 IV 投与したとき、いずれの用量においても中枢神経系 (FOB 法による神経行動学的評価及び運動機能評価) に異常は認められなかった。10 mg/kg の雄でオープンフィールドでの自発運動低下、2 mg/kg 以上の雄でフォトセルにより測定した自発運動の低下がみられたが、これらの変化は骨髄毒性による全身状態悪化に関連して生じたものであり、本薬の特異的な神経系に対する作用によるものではないと考えられた。また、カニクイザルに、ポラツズマブ ベドチン又はサロゲート ADC を5 mg/kg までの用量で3週に1回、計4回 IV 投与したとき、いずれの用量においても心血管系 (血圧、心拍数及び心電図)、呼吸系 (呼吸数及びパルスオキシメトリー) 及び中枢神経系 (神経学的評価) に異常は認められなかった。

*In vitro* hERG 試験における MMAE の IC<sub>50</sub>は100 µmol/L 以上であり、血漿タンパク結合がないと仮定したときの IC<sub>50</sub>は、臨床用量である1.8 mg/kg を投与したときに予想される MMAE の C<sub>max</sub> (1.67 ng/mL 又は2.33 nmol/L, 2.7.2.2.3.1) の10000倍以上であった。以上の *in vivo* 及び *in vitro* 心血管系評価の結果から、臨床においてポラツズマブ ベドチンの投与に関連した QT 延長のリスクは低いと考えられた<sup>23)</sup>。

#### 2.4.3.6 薬理試験の総括及び結論

*In vitro* 試験データから、ポラツズマブ ベドチンはヒト CD79b に対して高い親和性を有し、その細胞増殖抑制活性は CD79b 発現細胞に選択的であることが明らかとなった。ポラツズマ

ブ ベドチン が CD79b に結合した後に急速に細胞内に取り込まれるとの論文知見<sup>7)</sup>を踏まえると、ポラツズマブ ベドチンの主な MOA は、本 ADC が CD79b に結合した後に速やかに細胞内移行した後に、放出された MMAE が標的依存的に細胞増殖抑制活性を発揮することであると推定される。ポラツズマブ ベドチンは *in vitro* において活性化 B 細胞及び胚中心 B 細胞型の両細胞を含む DLBCL、並びに原発腫瘍にみられる広範囲の表面 CD79b を発現する細胞株、更には CD79b の発現レベルが非常に低い細胞株に対して、幅広くかつ強い増殖抑制活性を示すことが報告されている<sup>7)</sup>。

非ホジキンリンパ腫 (NHL) の *in vivo* 異種移植マウスモデルにおいて、ポラツズマブ ベドチンは単独投与で抗腫瘍効果を示した。代表的な化学療法薬のレジメン (CHOP 又は CHP) 又は抗 CD20抗体 (リツキシマブ又はオビヌツズマブ) とポラツズマブ ベドチンとの併用、あるいは CHOP 中の抗有糸分裂剤ビンクリスチン (O) をポラツズマブ ベドチンと置き換えてポラツズマブ ベドチン + CHP として併用した時に、ポラツズマブ ベドチンを含む併用レジメンはいずれも抗腫瘍効果を増強させた。各種異種移植マウスモデルにおいて、ポラツズマブ ベドチンの単独投与は0.5~3 mg/kg の用量から腫瘍増殖を抑制し、2~12 mg/kg の用量では完全寛解が認められた。

ラット及びカニクイザルを用いた安全性薬理評価において、ポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC の投与による心血管系、呼吸系及び中枢神経系に対する影響は認められなかった。また、MMAE のみでは hERG チャネルへの明らかな阻害作用は認められなかった。

ポラツズマブ ベドチンの抗腫瘍効果は MMAE が標的依存的に腫瘍細胞に移行されることに起因することが、NHL 異種移植マウスモデルから示された。この NHL モデルにおいてポラツズマブ ベドチンの投与で強い増殖抑制効果が認められたが、ポラツズマブ ベドチン投与群が完全寛解をもたらした用量と同じ用量を投与したポラツズマブ抗体投与群ではその抗腫瘍効果はほとんどないかあったとしてもわずかであった。

## 2.4.4 薬物動態

実施した PK 試験及び ADME 試験については、2.6.5に一覧表を記載している。

### 2.4.4.1 吸収及び薬物動態

ポラツズマブ ベドチンの予定臨床投与経路は IV であるため、ポラツズマブ ベドチンのすべての PK/TK 試験は IV 投与で実施した。

PK 試験の主な結果は以下に要約し、代表的な試験を記載した。ADC の PK を評価するため、必要に応じて次の3種類の分析対象を測定した：総抗体（完全結合型、部分的結合解離型、及び完全解離型の抗体の総濃度を評価）、結合型分子 (acMMAE として評価)、及び遊離型 MMAE (抗体と結合していない MMAE を評価)。

#### **ポラツズマブ ベドチン IV 投与**

ポラツズマブ ベドチン投与後の総抗体のクリアランスは小さく、交差反応性を示さないマウスに5 mg/kg の用量で単回 IV 投与後の消失半減期 ( $t_{1/2}$ ) は11.8日と長かった。acMMAE 血漿中濃度は、総抗体と同様に経時的に低下し、*in vivo* の循環血中では ADC から MMAE が急速に解離しないことが示唆された。

ラットはポラツズマブ ベドチンに交差反応性を示さないことから、2~10 mg/kg の用量範囲でのポラツズマブ ベドチンのラット反復 IV 投与毒性試験 (週1回、計4回投与) では、総抗体の血清中曝露量は用量比例的な増加が認められ、反復投与により中程度 (1.10~1.71倍) の蓄積比 (TK 21日目から TK 28日目までの濃度-時間曲線下面積 (AUC) を TK 0日目から TK 7日目までの AUC で割った値 [AUC<sub>21-28</sub>/AUC<sub>0-7</sub>]) を示した。

カニクイザルはポラツズマブ ベドチンに交差反応性を示さないことから、1~5 mg/kg の用量でのポラツズマブ ベドチンのカニクイザル反復 IV 投与毒性試験 (3週に1回、計4回投与)

では、総抗体は線形の薬物動態を示し、蓄積は認められなかった。

ラットを用いた PK 試験において、v1.0由来のポラツズマブ ベドチン製剤（6 mg/kg 投与）の、v0.1由来のポラツズマブ ベドチン製剤（6 mg/kg 投与）に対する  $C_{max}$  及び投与後定量可能な最終測定時点までの AUC（ $AUC_{last}$ ）の幾何平均比の90%信頼区間は、総抗体及び acMMAE のいずれについても0.80~1.25の区間内であり、生物学的同等性の基準を満たした。

上記ポラツズマブ ベドチン投与後のラット及びカニクイザルの血漿中に低濃度の遊離型 MMAE が認められた。遊離型 MMAE 濃度はポラツズマブ ベドチンの用量の増加とともに上昇したが、すべての試験で、検討したいずれの用量（ラットで最高10 mg/kg の IV 投与、カニクイザルで最高5 mg/kg の IV 投与）においても、1 ng/mL 未満であった。

### **MMAE IV 投与**

MMAE（0.03又は0.063 mg/kg）を単回 IV 投与したカニクイザルでは、投与後の血漿中 MMAE 濃度の急速な二相性の低下が見られた。クリアランスは肝血流の約30~60%であり、群平均は16.6~22.7 mL/min/kg の範囲であった。定常状態での分布容積は、体内総水分量よりもかなり多く、広く組織に分布することが示唆された。

### **サロゲート ADC IV 投与**

マウスはサロゲート抗体（カニクイザル CD79b を認識）及びポラツズマブ抗体に交差反応性を示さないことから、マウスに5 mg/kg 単回 IV 投与後のサロゲート ADC の総抗体の血清中濃度推移は、ポラツズマブ ベドチン投与後の総抗体の推移と同様であった。

カニクイザル CD79b はサロゲート抗体と結合することから、サロゲート ADC をカニクイザルに0.3~3 mg/kg の用量で単回 IV 投与後の総抗体の血清中曝露量は用量比以上に増加した。これは、B 細胞を介したクリアランス機序に飽和が生じたためと考えられた。また、サロゲート ADC をカニクイザルに3又は5 mg/kg の用量で反復 IV 投与（3週に1回、計4回投与）した際の総抗体の曝露量は用量に比例して増加し、中程度（1.22~1.52倍）の蓄積性が認められた。

カニクイザルにおけるポラツズマブ ベドチン反復 IV 投与（3週に1回、計4回投与）時の総抗体の曝露量（ $AUC_{0-70}$ ）は、同一用量のサロゲート ADC 投与時のものより1.2~1.4倍程度高かった。これはポラツズマブ ベドチンにはサロゲート ADC に想定されるような標的を介するクリアランス機序がないことに起因していると考えられた。

サロゲート ADC 投与後のカニクイザルの血漿中に遊離型 MMAE が認められたが、ポラツズマブ ベドチン投与後と同程度に低濃度であった。

### **PK/TKに関するその他の結論**

いずれの TK 試験においても、性差は認められなかった。

ポラツズマブ ベドチン又はサロゲート ADC に対する ADA の発現は、総抗体又は遊離型 MMAE の PK/TK 曝露量の評価に影響を与えなかった（2.4.4.6）。

## **2.4.4.2 分布**

分布に関連する主な結果を以下に要約する。

### **In Vitro**

ポラツズマブ ベドチン又はサロゲート ADC を血漿中37°C で96時間インキュベートした後でも、MMAE の約60%は抗体に結合した状態であり、検出された遊離型 MMAE はごくわずかであった。また、評価した動物種（マウス、ラット、カニクイザル、及びヒト）間で類似した血漿中安定性の結果を示した。

*In vitro* で、MMAE のヒト血漿蛋白結合率は中程度であり（70.6~76.7%）、蛋白結合率の高い他の薬物との置換を生じる可能性は低いと考えられた。血漿蛋白結合率は濃度（1~

1000 nmol/L)には依存しなかったが、動物種により異なった(ラットで87.5~90.8%, カニクイザルで61.4~69.2%)。

MMAEは*in vitro*でヒトRBCへの明らかな分配は認められず、全血中濃度/血漿中濃度比(B/P)は、1.34~1.65であった。一方、マウス、ラット、及びカニクイザルにおいてはRBCへの分配が認められ、B/Pは2~20 nmol/Lの濃度で、マウスで約16~20、ラットで約3~4、及びカニクイザルで約2~3であった。

#### **In Vivo ポラツズマブ ベドチン IV投与**

ラットにおけるポラツズマブ ベドチン及びポラツズマブ抗体(いずれも抗体部分に $[^{125}\text{I}]$ 又は $[^{111}\text{In}]$ 放射性標識)の組織分布は類似しており、ポラツズマブ ベドチンの組織分布は抗体成分の挙動を反映し、MMAEとの結合はその組織分布にほとんど影響しないことが示唆された。また、ポラツズマブ ベドチン及びポラツズマブ抗体ともに、トレーサー単体として、又はトレーサー+同等の非標識物質10 mg/kgをIV投与したときにも組織分布には影響がないことが認められた。

抗体部分( $[^{125}\text{I}]$ 又は $[^{111}\text{In}]$ )又はMMAE部分( $[^3\text{H}]$ )に放射性標識したポラツズマブ ベドチンを投与したいずれの組織分布試験も、血中の放射能が最も高く、肝臓、肺、心臓、腎臓、脾臓、副腎、卵巣、及び骨髄などのラットの血流量の多い組織への非特異的な分布を示したが、脳組織に放射能はほとんど認められなかった。また、いずれの組織においても放射能の滞留性は認められなかった。このポラツズマブ ベドチンの組織分布試験の結果は、モノクローナル抗体で通常認められる結果と同様である<sup>17) 24)</sup>。

MMAE部分を $[^3\text{H}]$ 放射性標識したポラツズマブ ベドチンを投与して、経時的に得られたラット組織ホモジネートをアセトニトリル処理して調べたところ、ポラツズマブ ベドチンは組織に分布した後、様々な程度の代謝を受けることが示唆された。

#### **In Vivo MMAE IV投与**

$[^3\text{H}]$ 放射性標識したMMAEを0.2 mg/kgの用量でラットに単回IV投与後、放射能は急速に血液から消失し、速やかに血流量の多い組織(肝臓、肺、心臓、腎臓、脾臓、骨髄、副腎など)に分布したが、脳組織にはわずかに放射能が検出されたのみであった。放射能の滞留性は認められなかった。なお、この試験で使用したMMAEの投与量は、用量10 mg/kgのポラツズマブ ベドチンに含まれるMMAE量にほぼ等しい。

### 2.4.4.3 代謝

*In vitro*及びラットを対象とした代謝試験の主な所見を以下に要約する

#### **In Vitro MMAE**

*In vitro*試験より、MMAEの主要代謝酵素はCYP3A4/5であった。また、肝クリアランスはすべての動物種で低~中程度であり、ヒト肝細胞を用いて算出した値は1.2~3.5 mL/min/kgの範囲であったことから、MMAEは*in vitro*での代謝には比較的安定であることが示唆された。

ラット、カニクイザル、並びにヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞を用いた試験で検出されたMMAEの15種の代謝物には、ヒト特異的代謝物は認められなかった。この15種の代謝物はMMAEの第I相酸化物あるいは加水分解物として生じ、複数の代謝反応により順次生成することが示唆された。

#### **In Vivo ポラツズマブ ベドチン IV投与**

ポラツズマブ ベドチンの異化/代謝については、MMAE部分に $[^3\text{H}]$ 放射性標識したポラツズマブ ベドチンを10 mg/kgの用量で単回IV投与したラットの生体試料を用いて検討した。投与後14日間のほぼすべての時点で、血漿中放射能の大部分(99%以上)はポラツズマブ

ベドチンとして存在し、血漿中放射能の1%未満が蛋白質に結合していない MMAE 由来の低分子量の関連物質として存在していることが示唆された。

血漿及び尿中で同定された唯一の代謝物は MMAE であった。

ラット胆汁中で同定された主な代謝物（7日間累積採取試料中）は、MMAE（16.5% of dose）、cys-vc-MMAE（2.6% of dose）、O-脱メチル MMAE（13.5% of dose）、並びにアミド加水分解 MMAE 及び水酸化+N-脱メチル化 MMAE（合わせて12.2% of dose）であった。

これらの生体試料のアセトニトリル可溶性画分中の放射能回収率が > 80%であることに基づくると、ほとんどの MMAE 関連放射能は尿及び糞中に低分子代謝物として排泄されていることが示唆された。

#### In Vivo MMAE IV 投与

[<sup>3</sup>H]放射性標識した MMAE を0.2 mg/kg の用量で IV 投与したラットでは、MMAE は投与量の半分程度が代謝を受けずに排泄された。この試験で投与された MMAE の量は、用量10 mg/kg のポラツズマブ ベドチンに含まれる MMAE 量にほぼ等しい。

ラット胆汁中の放射能は主に未変化体の MMAE であり、投与後6時間までの胆汁中放射能の約63%及び投与した放射能の約46%に相当した。残りの胆汁中放射能は代謝物に由来し、6種類の代謝物が同定された。このうち4種類の代謝物は *in vitro* 試験においても認められたものであった。

[<sup>3</sup>H]放射性標識 MMAE を用量0.2 mg/kg で IV 投与後のラットの血漿及び尿中に検出された唯一の成分は MMAE であった。

#### 2.4.4.4 排泄

ラットへのポラツズマブ ベドチン又は MMAE 投与後の排泄試験を実施した。これらの試験の主な結果を以下に要約する。

#### In vivo ポラツズマブ ベドチン IV 投与

ラットでは、MMAE 部分を [<sup>3</sup>H]放射性標識したポラツズマブ ベドチンを10 mg/kg の用量で単回 IV 投与後14日以内に、投与放射能の > 95%が糞中に排泄され、投与放射能の5%が尿に排泄された。また、投与量の約70%の放射能が投与後14日までに胆汁中に回収された。

#### In Vivo MMAE IV 投与

ラットでは、 [<sup>3</sup>H]放射性標識した MMAE を 0.2 mg/kg の用量で単回 IV 投与後6日までに、投与放射能の > 90%が糞中に排泄され、投与放射能の約9%が尿に排泄された。この試験で投与された MMAE の量は、用量10 mg/kg のポラツズマブ ベドチンに含まれる MMAE 量にほぼ等しい。

ラット胆汁中に回収された放射能は、投与後6時間までに投与量の74.2%であり、投与後6日間でほぼ100%であった。

#### 2.4.4.5 PK 薬物相互作用

MMAE が他の薬物と相互作用を生じる可能性を評価するために *in vitro* 試験を実施した。これらの試験の主な結果を以下に要約する。

- MMAE は CYP3A4/5 の基質である。
- MMAE は 1 µmol/L までの濃度では CYP 分子種を誘導しない。
- MMAE は、*in vitro* で CYP3A4/5 を競合的に阻害し、その IC<sub>50</sub> 値は 10 µmol/L である。また、MMAE は CYP3A4/5 の弱い時間依存性 *in vitro* 阻害剤であり、最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度 (K<sub>I</sub>) 値は 1.12 µmol/L 及び阻害剤の飽和濃度で最大酵素不活性化

化速度値は  $0.1 \text{ min}^{-1}$  である)。しかしながら、上記の  $\text{IC}_{50}$  値及び  $\text{K}_1$  値は、予定臨床用量  $1.8 \text{ mg/kg}$  のポラツズマブ ベドチン投与後の遊離型 MMAE の臨床  $\text{C}_{\text{max}}$  (約  $10 \text{ nmol/L}$  (DCS4968g 試験, 2.7.2.2.3.3) あるいは約  $2.3 \text{ nmol/L}$  (JO29138 試験, 2.7.2.2.3.1)) よりそれぞれ 1000 倍以上及び約 100 倍以上高いため、臨床使用上、他剤との DDI を生じる可能性は低いと考える。

- MMAE は、*in vitro* で CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, 及び CYP2D6 を阻害しない ( $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{mol/L}$ )。
- MMAE は、*in vitro* で多剤耐性蛋白質 1 (MDR1) /P-糖蛋白質 (P-gp) の基質であるが、有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP) 1B1, OATP1B3, 有機カチオントランスポーター (OCT) 2, 有機アニオントランスポーター (OAT) 1, OAT3, 多剤耐性関連蛋白質 (MRP) 2, 及び乳癌耐性蛋白質 (BCRP) の基質ではない。
- MMAE は、*in vitro* において、臨床で認められる濃度で MDR1, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OCT2, OAT1, OAT3, 胆汁酸塩排出ポンプ (BSEP), MRP2, 及び BCRP を阻害しない。

#### 2.4.4.6 免疫原性

カニクイザルでは、ADA の発現率は、ポラツズマブ ベドチンの反復投与後では43%、サロゲート ADC の投与後では67% (単回投与) 及び20% (反復投与) であった。ポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC に対する ADA の産生は、総抗体及び遊離型 MMAE の PK/TK 曝露量の評価に影響を与えなかった。ADA 又は免疫複合体形成に起因する毒性所見は、いずれの試験でも確認されていない。

#### 2.4.4.7 結論

マウス、ラット、及びカニクイザルにポラツズマブ ベドチンあるいはサロゲート ADC を IV 投与後、すべての動物種において、総抗体の血清中濃度推移は、分布相が短く、消失相が長い特徴を示した。これは抗 CD79b 抗体の推移を反映しているものと考えられる。これらの特徴は、IgG1モノクローナル抗体薬に認められるものと一致している。ポラツズマブ ベドチン又はサロゲート ADC に対する ADA の産生は、総抗体又は遊離型 MMAE の PK/TK 曝露量の評価に影響を与えなかった。

ラットの試験より、抗体部分又は MMAE 部分のいずれの放射性標識のポラツズマブ ベドチン投与においても、放射能の組織分布は主に ADC の抗体成分の組織分布を反映しており、交差反応性を示さない動物種におけるポラツズマブ ベドチンの PK 特性について予想されたように、血流量の多い組織に非特異的に分布し、滞留性は認められなかった。ポラツズマブ ベドチンは、血液中の主な成分であることが示唆されている。

MMAE は *in vitro* 及び *in vivo* ともにあまり代謝を受けないが、*in vitro* 試験より MMAE が CYP3A4/5 の基質であることが示されている。複数の MMAE 代謝物が、ラット、カニクイザル、並びにヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞で検出されたが、ヒトに特異的な代謝物は *in vitro* では認められなかった。

MMAE 及び MMAE 由来の代謝物は、主に胆汁を介して糞中に排泄される。MMAE を IV 投与後、MMAE はラット胆汁中に最も多い MMAE 関連代謝物であり、ラット血漿中及び尿中で検出された唯一の MMAE 関連代謝物であった。*In vitro* のデータは、MMAE が相互作用薬として他の併用薬剤に対して臨床的に意味のある DDI をもたらす可能性が低いことを示唆している。

ラットでの PK 比較試験より、v0.1由来から v1.0由来のポラツズマブ ベドチン製剤への製法変更は、ポラツズマブ ベドチンの PK に影響を与える可能性は低いことが示唆された。

## 2.4.5 毒性試験

ポラツズマブ ベドチンの主要な毒性試験として、ポラツズマブ ベドチンのラット4週間（週1回、計4回）投与試験、ポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC のカニクイザル10週間（3週に1回、計4回）投与試験（安全性薬理評価を含む）、並びにポラツズマブ ベドチンのヒト組織交差反応性試験を実施した。また、ポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC の毒性プロファイルへの MMAE の寄与を明らかにするため、MMAE のラット単回及び反復（週1回、計4回）投与試験、並びにカニクイザル単回及び反復（3週に1回、計4回）投与試験を実施した。その他、MMAE に関する試験として、遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ細胞を用いる遺伝子突然変異試験及びラット小核試験）、生殖発生毒性試験（ラット胚・胎児発生に関する試験）及び *in vitro* hERG 試験も実施した。

### 2.4.5.1 急性毒性

MMAE のラット単回投与試験において、骨髄毒性（血小板及び白血球低値、並びに骨髄細胞減少）、肝毒性（血清肝パラメータの上昇、並びに肝細胞/胆管上皮のアポトーシス、壊死及び有糸分裂増加）、リンパ器官毒性（アポトーシス増加を伴う胸腺の萎縮）が認められ、検討した最高用量（0.516 mg/kg）では全身状態悪化が認められた。

MMAE のカニクイザル単回投与試験では、ラットへの MMAE 投与時と同様の、可逆的な骨髄毒性が認められた。骨髄毒性は、最高用量（0.116 mg/kg）を投与した雄における死亡及び日和見感染症（肺膿瘍）と関連していた。この用量では、体重及び摂餌量の減少も認められた。カニクイザルにおける MMAE の単回投与による重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は、0.030 mg/kg であった。

### 2.4.5.2 反復投与毒性

MMAE のラット4週間（週1回、計4回）投与試験では、単回投与試験でみられた変化と同様の、用量に依存した可逆的な骨髄毒性、肝毒性及びリンパ器官毒性が認められた。また、用量に依存した体重減少及び摂餌量の減少に関連した体重増加量の低値がみられた。更に高用量（0.194 mg/kg）では、精巣毒性（精細管変性及び精子形成減少）も認められた。精巣毒性以外の所見はいずれも可逆的であった。本試験における MMAE の無毒性量は0.097 mg/kg であった。

MMAE のカニクイザルを用いた最長10週間（3週に1回、計4回）の反復投与試験では、0.058mg/kg の用量で概して良好な忍容性が認められ、ラットと同様の、骨髄及びリンパ器官における可逆的な毒性が認められた。

ラット反復投与試験において、ポラツズマブ ベドチンを週1回、計4回投与したとき、MMAE 投与時と類似した用量に依存した骨髄、肝臓、胸腺及び精巣毒性が認められた。雄への高用量（10 mg/kg）投与で認められた赤血球量の減少による全身状態悪化、並びに体幹及び眼の蒼白化は骨髄毒性と関連していた。雄でのさらなる所見として、摂餌量減少に一致した用量依存的な体重増加量低値、及び全身状態悪化に関連した自発運動低下がみられた。精巣毒性以外の所見はいずれも6週間の休薬期間終了時まで概ね回復した。以上の結果から、ラットにおけるポラツズマブ ベドチンの供試動物の10%に重篤な毒性が発現する投与量（STD<sub>10</sub>）は、10 mg/kg と判断された。

カニクイザル反復投与試験において、ポラツズマブ ベドチンを3週に1回、計4回投与したとき、5 mg/kg までの用量で良好な忍容性が認められ、MMAE 投与時と類似した可逆的な骨髄毒性が認められた。また、サロゲート ADC の3週に1回、計4回の投与においても同様の可逆的な骨髄毒性が認められ、高用量（5 mg/kg）では、サロゲート ADC による骨髄抑制に起因した細菌性心内膜炎による死亡が認められた。また、予想された薬理学的作用として、可逆的な末梢血 B リンパ球の減少及び脾臓のリンパ濾胞性胚中心の消失が認められた。以上の結果か

ら、カニクイザルにおけるポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC の HNSTD は、それぞれ5 mg/kg 及び3 mg/kg と判断された。

異なる動物種（ラット、カニクイザル）及び異なる被験物質（MMAE、ポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC）において同様の骨髄毒性が認められたことから、この変化は MMAE の薬理活性に直接関係していると考えられた。

#### 2.4.5.3 遺伝毒性及びがん原性

ポラツズマブ ベドチンは ADC であることから、ICH S6(R1)（平成24年3月23日 薬食審査発0323第1号 バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価）に従い、遺伝毒性試験は実施しなかった。しかし、MMAE についての一連の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験の結果から、本薬の潜在的な遺伝毒性リスクを評価した。MMAE は細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ細胞を用いる遺伝子突然変異試験において陰性であり、遺伝子突然変異誘発性はないことが確認された。一方、ラット骨髄小核試験では、0.1 mg/kg 以上の用量で小核を有する多染色赤血球の有意な増加が認められた。小核誘発の機序を明らかにするため、特異的抗体を用いた動原体解析を実施した結果、MMAE の異数性誘発作用が確認された。MMAE は急速に分裂する細胞を標的とする微小管阻害剤であり、異数性誘発作用は予想された変化と考えられた。

ポラツズマブ ベドチンは再発又は難治性の B 細胞性悪性腫瘍患者の治療を目的とした薬剤であることから、ICH S9に従い、がん原性試験は実施しなかった。

#### 2.4.5.4 生殖発生毒性試験

ポラツズマブ ベドチンの独立した生殖発生毒性試験は実施していないが、本薬の胚・胎児発生に及ぼす影響については、MMAE のラット胚・胎児発生に関する試験において評価した。MMAE の0.2 mg/kg を妊娠6及び13日目に IV 投与したとき、総胎児吸収、後期吸収胚及び生存胎児を有さない母動物数の有意な増加が認められた。また胎児検査では、外表異常（舌突出、四肢回転異常、腹壁破裂及び無顎症）が認められたことから、MMAE は胚・胎児毒性及び催奇形性を惹起すると考えられた。催奇形性及び胚・胎児毒性の所見は、急速に分裂する細胞を標的とする微小管阻害剤としての MMAE の作用機序に基づく所見として一貫しており、ポラツズマブ ベドチンを投与したヒトにおいても外挿性のある変化と考えられた。

雌雄受胎能については、ポラツズマブ ベドチン及び MMAE のラット反復投与試験の結果から、ポラツズマブ ベドチンが雄の生殖機能及び受精能に影響を及ぼす可能性が示唆された。具体的には、用量に依存した非可逆的な精巣の精細管変性が認められ、この変化に伴い、精巣上体では異常な管腔内容物が認められた。一方、カニクイザルでは、ポラツズマブ ベドチン又はサロゲート ADC を3週に1回、計4回投与したとき、5 mg/kg までの用量で雌雄生殖器に対する影響は認められなかった。

なお、ICH S9に従い、本薬の出生前及び出生後の発生並び母体の機能に関する試験は実施しなかった。

#### 2.4.5.5 新生児を用いた試験

ポラツズマブ ベドチンの幼若動物毒性を評価するための試験は実施しなかった。

#### 2.4.5.6 局所刺激性

ポラツズマブ ベドチンの独立した局所刺激性試験は実施していないが、ポラツズマブ ベドチン、サロゲート ADC 及び MMAE の反復投与毒性試験において、注射部位の評価を実施した。いずれの被験物質においても、肉眼的及び病理組織学的評価で IV 投与による刺激性を示唆する変化は認められず、局所忍容性は良好であった。

### 2.4.5.7 その他の毒性試験

#### 組織交差反応性試験

正常ヒト組織を用いた組織交差反応性試験において、ポラツズマブ ベドチンによる特異的染色が主にリンパ球（特に B 細胞領域）で認められ、B 細胞上の CD79b の既知の発現パターンと一致していた<sup>25)</sup>。

#### 光安全性評価

ポラツズマブ ベドチンの構成成分である MMAE 及び vcMMAE は自然光の範囲内（290～700 nm）の光を吸収しなかったことから、ICH S10（平成26年5月21日 薬食審査発0521第1号 医薬品の光安全性評価ガイドライン）に従い、本薬の光安全性試験は実施しなかった。

### 2.4.5.8 動物からヒトへの外挿（曝露量、臨床との関連）

ポラツズマブ ベドチンは、カニクイザルで5 mg/kg、ラットで6 mg/kg（STD<sub>10</sub>は10 mg/kg）までの用量で良好な忍容性を示し、サロゲート ADC はカニクイザルで3 mg/kg までの用量で良好な忍容性を示した。毒性所見は、ラット及びカニクイザルにおける MMAE 及びポラツズマブ ベドチン、並びにカニクイザルにおけるポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC でそれぞれ類似していたことから、これらの変化は主に MMAE に起因したものであり<sup>26)</sup>、標的抗原結合にほとんど依存しないことが示唆された。

ラット及びカニクイザルにおいて共通して認められた主要な所見は、可逆的な骨髄毒性及びリンパ器官毒性であり、カニクイザルでは、骨髄毒性により一部の動物で日和見感染によると考えられる全身状態悪化が認められた。これらの骨髄毒性は、臨床試験においてポラツズマブ ベドチンを投与したときの変化と類似しており、主な有害所見として、好中球減少、血小板減少及び貧血が認められている（2.7.4.2.1.1）。

ラットにおいては、肝臓、肺、皮膚及び精巣への影響も認められ、いずれも MMAE の作用に関連した変化と考えられた。ラットで認められた肝毒性は、臨床試験での肝トランスアミナーゼ及び/又はビリルビン上昇が発現した臨床試験の有害事象と一致していた。なお、臨床試験では、3週に1回、5サイクルの投与においても肝臓に対する累積毒性は生じなかった（2.7.4.3）。肺、皮膚及び精巣の変化は、ラット4週間（週1回、計4回）投与試験において認められた（精巣の変化は非可逆的）が、臨床の投与レジメンを模したカニクイザル10週間（3週に1回、計4回）投与試験では、これらの器官/組織に対する影響は認められなかった。

ポラツズマブ ベドチンの投与による骨髄/リンパ器官及び肝臓に対する有害な作用（血液検査値の変化を含む）は、臨床において管理可能かつ可逆的であると考えられる<sup>27)</sup>。

主要な試験であるラット4週間投与試験及びカニクイザル10週間投与試験で得られた曝露量と、臨床推奨用量（1.8 mg/kg）投与時の曝露量との比較を表 2.4.5.8-1に示した。ラットにおけるポラツズマブ ベドチンの週1回、計4回投与による STD<sub>10</sub>、並びにカニクイザルにおけるポラツズマブ ベドチンの3週に1回、計4回投与による HNSTD での総抗体曝露量は、いずれも臨床推奨用量投与時の曝露量を上回っていた（AUC で2倍以上）。また、カニクイザルにおけるサロゲート ADC の3週に1回、計4回投与による HNSTD での総抗体曝露量は、臨床推奨用量投与時の曝露量と同程度（C<sub>max</sub> で1.89倍、AUC で0.88倍）であった。一方、上記用量での遊離 MMAE の曝露量は、いずれも臨床推奨用量投与時の曝露量を下回っていた。

なお、カニクイザル10週間投与試験におけるポラツズマブ ベドチンの HNSTD である 5 mg/kg での MMAE 含量（体表面積換算で約1100 µg/m<sup>2</sup>）は、MMAE を単独で投与（単回）したときの HNSTD（0.030 mg/kg、体表面積換算で360 µg/m<sup>2</sup>）よりも約3倍高かった。したがって、抗 CD79b 抗体への MMAE の結合により、MMAE 単独の場合よりも忍容性が向上することが示唆された。また、ポラツズマブ ベドチンの臨床推奨用量（1.8 mg/kg）における

MMAE 含量は、体表面積換算で約1200  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、カニクイザルの HNSTD と同程度である。

表 2.4.5.8-1 反復投与毒性試験における曝露量と臨床推奨用量における曝露量との比較

総抗体の曝露量						
動物種	被験物質	用量 (mg/kg)	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{day}/\text{mL}$ )	曝露量比 (動物/ヒト <sup>a</sup> )	
					$C_{\text{max}}$	AUC
ラット	ポラツズマブ ベドチン	10 (STD <sub>10</sub> )	393 <sup>b</sup>	923 <sup>b</sup>	8.3	2.75
カニクイザル	ポラツズマブ ベドチン	5 (HNSTD)	177 <sup>c</sup>	796 <sup>c</sup>	3.73	2.37
	サロゲート ADC	3 (HNSTD)	89.4 <sup>c</sup>	295 <sup>c</sup>	1.89	0.88
遊離 MMAE の曝露量						
動物種	被験物質	用量 (mg/kg)	$C_{\text{max}}$ (ng/mL)	AUC (ng $\cdot$ day/mL)	曝露量比 (動物/ヒト <sup>a</sup> )	
					$C_{\text{max}}$	AUC
ラット	ポラツズマブ ベドチン	10 (STD <sub>10</sub> )	0.390 <sup>b</sup>	1.16 <sup>b</sup>	0.23	0.07
カニクイザル	ポラツズマブ ベドチン	5 (HNSTD)	0.104 <sup>c</sup>	0.253 <sup>c</sup>	0.06	0.01
	サロゲート ADC	3 (HNSTD)	0.0729 <sup>c</sup>	0.178 <sup>c</sup>	0.04	0.01

a：日本人 B 細胞リンパ腫患者にポラツズマブ ベドチン（単剤）の 1.8 mg/kg を 3 週に 1 回投与したときのサイクル 1 における  $C_{\text{max}}$ （総抗体：47.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，遊離型 MMAE：1.67 ng/mL）及び  $\text{AUC}_{\text{inf}}$ （総抗体：336  $\mu\text{g}\cdot\text{day}/\text{mL}$ ，遊離型 MMAE：17.7 ng $\cdot$ day/mL） [JO29138 試験，2.7.2.2.3.1]

b：ラット 4 週間（週 1 回，計 4 回）投与試験の 4 回目投与時の  $C_{\text{max}}$  及び  $\text{AUC}_{21-28}$ （総抗体）又は  $\text{AUC}_{21-25}$ （MMAE）

c：カニクイザル 10 週間（3 週に 1 回，計 4 回）投与試験の 4 回目投与時の  $C_{\text{max}}$  及び  $\text{AUC}_{63-84}$ （総抗体）又は  $\text{AUC}_{0-3}$ （MMAE）

*In vitro* 試験及びラットを用いた *in vivo* 試験の結果から，MMAE は遺伝毒性（異数性誘発性）を有し，胚・胎児毒性及び催奇形性を惹起することが確認された。これらはいずれも，急速に分裂する細胞を標的とする微小管阻害剤としての MMAE の作用機序に一致する。MMAE のラット小核試験及び胚・胎児発生に関する試験で得られた曝露量と，臨床推奨用量（1.8 mg/kg）投与時の遊離型 MMAE 曝露量との比較を表 2.4.5.8-2 に示した。雄ラットにおいて小核誘発が認められた最小用量（0.1 mg/kg）での MMAE の  $C_{\text{max}}$ ，並びに胚・胎児毒性及び催奇形性が認められた用量（0.2 mg/kg）での MMAE の AUC は，ポラツズマブ ベドチンの臨床推奨用量（1.8 mg/kg）を 3 週に 1 回投与したときの MMAE 曝露量のそれぞれ 2.11 倍及び 1.45 倍であった。これらの結果から，ポラツズマブ ベドチンは，臨床推奨用量における曝露量付近でヒトの胚・胎児発生に有害な影響を及ぼす可能性があると考えられた。

表 2.4.5.8-2 MMAE のラット小核試験及び胚・胎児発生に関する試験における曝露量とポラツズマブ ベドチンの臨床推奨用量における MMAE 曝露量との比較

試験の種類	用量(mg/kg)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	AUC	曝露量比 (動物/ヒト <sup>a</sup> )	
				C <sub>max</sub>	AUC
小核	0.1 <sup>b</sup>	3.53 <sup>c</sup>	25.7 <sup>c</sup>	2.11	1.45
胚・胎児発生	0.2	50.2 <sup>d</sup>	25.6 <sup>d</sup>	30.1	1.45

a : 日本人 B 細胞リンパ腫患者にポラツズマブ ベドチン (単剤) の 1.8 mg/kg を 3 週に 1 回投与したときのサイクル 1 における遊離型 MMAE の C<sub>max</sub> (1.67 ng/mL) 及び AUC<sub>inf</sub> (17.7 ng•day/mL) [JO29138 試験, 2.7.2.2.3.1]

b : 統計学的に有意な小核誘発が認められた最小用量

c : MMAE のラット 4 週間投与試験における 0.097 mg/kg 初回投与時の雄ラットの C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>0-24h</sub> (ng•hr/mL)

d : 2 回目投与時 (妊娠 13 日目) の C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>0-1d</sub> (ng•day/mL)

## 2.4.6 総括及び結論

### 薬理試験

一連の *in vitro* 及び *in vivo* 非臨床薬理試験データから、ポラツズマブ ベドチンの薬理学的特性が明らかとなり、MOA として以下 (1) ~ (3) が推定された。

- (1) ポラツズマブ ベドチンは、BCR のシグナル伝達を担うヒト CD79b に特異的に結合した後、速やかに細胞内に移行する<sup>7) -9)</sup>。
- (2) 細胞内においてリンカーはリソソームプロテアーゼによって切断され、MMAE が細胞内に放出される<sup>10)</sup>。
- (3) 放出された MMAE は微小管に結合し、細胞分裂を阻害してアポトーシスを誘導することにより、分裂中の細胞を死滅させる<sup>11) -13)</sup>。最終的に、抗腫瘍効果が引き起こされる。

*In vitro* において、ポラツズマブ ベドチンは高親和性で CD79b に結合し、CD79b 発現ヒト B 細胞リンパ腫に対して強力かつ選択的な細胞増殖抑制活性を示したが、CD79b を発現しない細胞では増殖抑制活性は認められなかった。このことから、細胞傷害性薬剤 MMAE がポラツズマブ ベドチンの抗腫瘍活性の発揮に不可欠であることが明らかとなった。

ポラツズマブ ベドチンは、活性化 B 細胞及び胚中心 B 細胞型の両細胞を含む DLBCL、並びに原発腫瘍にみられる広範囲に CD79b を発現する細胞株、更には CD79b の発現レベルが非常に低い細胞株に対して、幅広くかつ強い増殖抑制活性を示すことが知られている<sup>7)</sup>。フローサイトメトリーによる評価では、CD79b は、90%の非常に高い割合で DLBCL に発現していることが報告されている<sup>3)</sup>。

MMAE がポラツズマブ ベドチンの抗腫瘍活性の発揮に不可欠であることは、*in vitro* での試験結果に加えて *in vivo* での NHL 異種移植マウスモデルにおいても確認された。本 NHL モデルにおいて、ポラツズマブ ベドチン 投与群は強い増殖抑制効果を示したが、ポラツズマブ ベドチン 投与群が完全寛解をもたらした用量と同じ用量を投与したポラツズマブ 抗体投与群ではその抗腫瘍効果はほとんどないかあったとしてもわずかであった。

*In vivo* において、各種 NHL 異種移植マウスモデルへのポラツズマブ ベドチンの単独投与はその腫瘍増殖を抑制した。また、ポラツズマブ ベドチンに標準治療で使用されている抗 CD20 抗体を併用したとき、標準の化学療法レジメン CHOP を併用したとき、又 CHOP 中のビンクリスチン (O) をポラツズマブ ベドチンと置き換えたときのいずれの併用においても、併用による腫瘍増殖抑制効果の増強が認められた。

### 薬物動態及び ADME

ポラツズマブ ベドチンの薬物動態及び組織分布は、主に抗 CD79b 抗体の PK 特性が反映されたものであり、MMAE との結合による影響はほとんどないことが示された。血清中総抗体

及び血漿中 acMMAE 濃度が経時的に同程度に低下することを示した *in vivo* PK データ、及び、各動物種の *in vitro* 血漿中安定性データに基づく、MMAE は体内においてポラツズマブ ベドチンから急速に解離しないものと考えられる。ポラツズマブ ベドチンに交差反応性のないラットでは、ポラツズマブ ベドチンの組織分布及び体内からの消失は、抗体成分を反映した非特異的経路によるものと考えられる。これらの結果は、抗体としてのターゲティング能力及び好ましい PK 特性、並びに MMAE の高い細胞傷害活性を活用するポラツズマブ ベドチンの投与が、MMAE のみの投与と比較して、有効性及び安全性を高められる療法であることを示唆している。

予想されたように、ポラツズマブ ベドチンの PK (総抗体として測定) は、ポラツズマブ ベドチンに交差反応を示さない動物種であるラット、及びカニクイザルにおいて、用量比例性が認められた。一方、カニクイザルにおけるサロゲート ADC の PK (総抗体として測定) は標的介在性の消失経路が存在するため、やや非線形性を示した。MMAE を IV 投与した場合、サロゲート ADC 又はポラツズマブ ベドチンに由来する遊離型 MMAE の濃度推移と比較して、投与後早い時点の MMAE の血漿中濃度は速やかに低下した。カニクイザルへの反復 IV 投与時 (3週に1回、計4回投与)、ポラツズマブ ベドチン投与群の総抗体の全身曝露量 (AUC<sub>0-70</sub>) は、サロゲート ADC 投与群より1.2~1.4倍程度高かったが、ポラツズマブ ベドチン投与群のほうが、HNSTD は高値であった。

遊離型 MMAE 濃度は、検討したすべての用量で1 ng/mL 未満であり、ADC を IV 投与後の限られた時点でのみ検出可能であった。MMAE 濃度が低いことは、ポラツズマブ ベドチン又はサロゲート ADC からの MMAE の解離がわずかである (又は遅い) こと、あるいは解離後の MMAE 自体の分布容積が大きく、消失も速やかであることによる可能性が高い。

また、非臨床の各動物種でポラツズマブ ベドチン投与後の総抗体の  $t_{1/2}$  が比較的長いことは、3週に1回投与として提案された臨床投与レジメンに対する安全性評価の妥当性を支持している。

抗体と MMAE を結合させたことは、ラットにおいて血液コンパートメントから組織への MMAE の分布を大きく制限しており、血流量の多い組織では、ポラツズマブ ベドチン (MMAE 部分を放射性標識) の投与後に比較的高い放射能が認められたが、血中放射能は試験期間である14日間のすべての時点で常に組織中濃度より高かった。放射能は経時的に比較的緩やかに組織から消失し、抗体部分を放射性標識したポラツズマブ ベドチン投与による組織分布とはほぼ一致していた。

ポラツズマブ ベドチンは、一般的なモノクローナル抗体と同様に異化/代謝され、アミノ酸、小さなペプチド、遊離型 MMAE、及び遊離型 MMAE 関連代謝物が産生されることが予想される。ラットでは、遊離型 MMAE 及び遊離型 MMAE 関連代謝物は、主に胆汁を介して排泄される。ポラツズマブ ベドチン (MMAE 部分を放射性標識) を投与したラットでは、遊離型 MMAE は尿及び血漿中で同定された唯一の代謝物であった。MMAE 投与後のラットの胆汁中では未変化体の MMAE 及び他の代謝物が認められた。

MMAE は *in vitro* 及び *in vivo* において高率には代謝されない。*In vitro* 評価に基づく、臨床使用上、ポラツズマブ ベドチンが他の薬剤や併用薬との薬物動態学的な相互作用を生じる可能性は低いと考えられる。

### 免疫原性

カニクイザルではポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC に対する ADA 産生が認められたが、それらは総抗体及び遊離型 MMAE の PK/TK 曝露量の評価に影響を与えなかった。ADA 又は免疫複合体形成に起因する毒性所見は、いずれの試験でも確認されていない。動物における免疫原性はヒトでの潜在的な免疫原性を予測するものではないと考える (ICH S6 (R1))。

### 毒性試験

ポラツズマブ ベドチンは、カニクイザルで5 mg/kg, ラットで6 mg/kg (STD<sub>10</sub>は10 mg/kg) までの用量で良好な忍容性を示し、サロゲート ADC はカニクイザルで3 mg/kg までの用量で良好な忍容性を示した。毒性所見は、ラット及びカニクイザルにおける MMAE 及びポラツズマブ ベドチン、並びにカニクイザルにおけるポラツズマブ ベドチン及びサロゲート ADC でそれぞれ類似していたことから、これらの変化は主に MMAE に起因したものであり<sup>26)</sup>、標的抗原結合にほとんど依存しないことが示唆された。用量依存性的な毒性として、骨髄及びリンパ器官への影響が認められ、ラットでは肝臓、肺、皮膚及び精巣への影響も認められた。精巣への影響を除き、これらの変化は休薬による回復性を示した。また、MMAE を投与したラットで認められた胚・胎児毒性及び催奇形性は、急速に分裂する細胞を標的とする微小管阻害剤としての MMAE の作用機序に一致している。

全体として、ポラツズマブ ベドチンの毒性試験成績は、DLBCL の治療のための薬剤としての使用をサポートするものとして十分と考えられる。カニクイザルで認められたように、骨髄毒性が悪化した場合、ヒトにおいても感染に対する抵抗性が減弱する可能性がある。また、ラットで認められた精巣毒性及び胚・胎児毒性に基づくと、ポラツズマブ ベドチンはヒトの生殖能力に有害な影響を及ぼす可能性がある。ヒトにおけるこれらのリスクについては、添付文書に記載し注意喚起を行う。

### 総合的な結論

以上の薬理、薬物動態及び毒性試験の結果から、ポラツズマブ ベドチンが CD79b 陽性 B 細胞リンパ腫に対して標的依存的な抗腫瘍効果を示すこと、臨床において許容可能な PK, ADME 及び毒性プロファイルを有することが推定された。臨床の DLBCL において、ポラツズマブ ベドチンは有効性及び安全性に優れた治療薬となることが期待される。

#### 2.4.7 参考文献一覧

- 1) Li D, Lee D, Dere RC, Zheng B, Yu S-F, Fuh FK, et al. Evaluation and use of an anti-cynomolgus monkey CD79b surrogate antibody-drug conjugate to enable clinical development of polatuzumab vedotin. *Br J Pharmacol* 2019;176:3805-18.
- 2) Koyama M, Ishihara K, Karasuyama H, Cordell JL, Iwamoto A, Nakamura T. CD79 $\alpha$ /CD79 $\beta$  heterodimers are expressed on pro-B cell surfaces without associated  $\mu$  heavy chain. *Int Immunol* 1997;9:1767-72.
- 3) Dornan D, Bennett F, Chen Y, Dennis M, Eaton D, Elkins K, et al. Therapeutic potential of an anti-CD79b antibody-drug conjugate, anti-CD79b-vc-MMAE, for the treatment of non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2009;114:2721-9.
- 4) Zheng B, Fuji RN, Elkins K, Yu S-F, Fuh FK, Chuh J, et al. In vivo effects of targeting CD79b with antibodies and antibody-drug conjugates. *Mol Cancer Ther* 2009;8:2937-46.
- 5) Martin AW. Chapter 6 - Immunohistology of non-hodgkin lymphoma. In: Dabbs DJ, editor. *Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications*. 3rd ed. Philadelphia, PA: Saunders, 2010:156-88.
- 6) Rickert RC. New insights into pre-BCR and BCR signalling with relevance to B cell malignancies. *Nat Rev Immunol* 2013;13:578-91.
- 7) Pfeifer M, Zheng B, Erdmann T, Koeppen H, McCord R, Grau M, et al. Anti-CD22 and anti-CD79B antibody drug conjugates are active in different molecular diffuse large B-cell lymphoma subtypes. *Leukemia* 2015;29:1578-86.
- 8) Polson AG, Yu S-F, Elkins K, Zheng B, Clark S, Ingle GS, et al. Antibody-drug conjugates targeted to CD79 for the treatment of non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2007;110:616-23.

- 9) Polson AG, Calemine-Fenaux J, Chan P, Chang W, Christensen E, Clark S, et al. Antibody-drug conjugates for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma: target and linker-drug selection. *Cancer Res* 2009;69:2358-64.
- 10) Sutherland MSK, Sanderson RJ, Gordon KA, Andreyka J, Cervený CG, Yu C, et al. Lysosomal trafficking and cysteine protease metabolism confer target-specific cytotoxicity by peptide-linked anti-CD30-auristatin conjugates. *J Biol Chem* 2006;281:10540-7.
- 11) Bai R, Pettit GR, Hamel E. Binding of dolastatin 10 to tubulin at a distinct site for peptide antimetabolic agents near the exchangeable nucleotide and vinca alkaloid sites. *J Biol Chem* 1990;265:17141-9.
- 12) Doronina SO, Toki BE, Torgov MY, Mendelsohn BA, Cervený CG, Chace DF, et al. Development of potent monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy. *Nat Biotechnol* 2003;21:778-84.
- 13) Francisco JA, Cervený CG, Meyer DL, Mixan BJ, Klussman K, Chace DF, et al. cAC10-vcMMAE, an anti-CD30-monomethyl auristatin E conjugate with potent and selective antitumor activity. *Blood* 2003;102:1458-65.
- 14) Gorovits B, Alley SC, Bilic S, Booth B, Kaur S, Oldfield P, et al. Bioanalysis of antibody-drug conjugates: American Association of Pharmaceutical Scientists Antibody-Drug Conjugate Working Group position paper. *Bioanalysis* 2013;5:997-1006.
- 15) Kaur S, Xu K, Saad OM, Dere RC, Carrasco-Triguero M. Bioanalytical assay strategies for the development of antibody-drug conjugate biotherapeutics. *Bioanalysis* 2013;5:201-26.
- 16) Gorovits B, Wakshull E, Pillutla R, Xu Y, Manning MS, Goyal J. Recommendations for the characterization of immunogenicity response to multiple domain biotherapeutics. *J Immunol Methods* 2014;408:1-12.
- 17) Keizer RJ, Huitema ADR, Schellens JHM, Beijnen JH. Clinical pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet* 2010;49:493-507.
- 18) [FDA] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry. Clinical Drug Interaction Studies-Study Design, Data Analysis, and Clinical Implications. Draft Guidance 2017.
- 19) [FDA] U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for Industry. In Vitro Metabolism- and Transporter-Mediated Drug-Drug Interaction Studies. Draft Guidance 2017.
- 20) Biessen EA, van Teijlingen M, Vietsch H, Barrett-Bergshoeff MM, Bijsterbosch MK, Rijken DC, et al. Antagonists of the mannose receptor and the LDL receptor-related protein dramatically delay the clearance of tissue plasminogen activator. *Circulation* 1997;95:46-52.
- 21) Draganov D, Amano J. Mechanistic pharmacokinetic study to explore the impact of high mannose glycans on tocilizumab pharmacokinetics following intravenous administration to rats (Study No. 198582), Roche Report, 2015.
- 22) Bugelski PJ, Achuthanandam R, Capocasale RJ, Treacy G, Bouman-Thio E. Monoclonal antibody-induced cytokine-release syndrome. *Expert Rev Clin Immunol* 2009;5:499-521.
- 23) Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, Lynch WG, MacKenzie I, Palethorpe S, et al. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. *Cardiovasc Res* 2003;58:32-45.
- 24) Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet* 2010;49:633-59.
- 25) Mason DY, Cordell JL, Tse AGD, van Dongen JJM, van Noesel CJM, Micklem K, et al. The IgM-associated protein mb-1 as a marker of normal and neoplastic B cells. *J Immunol* 1991;147:2474-82.
- 26) Saber H, Leighton JK. An FDA oncology analysis of antibody-drug conjugates. *Regul Toxicol Pharmacol* 2015;71:444-52.

- 27) Palanca-Wessels MCA, Czuczman M, Salles G, Assouline S, Sehn LH, Flinn I, et al. Safety and activity of the anti-CD79B antibody-drug conjugate polatuzumab vedotin in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia: a phase 1 study. *Lancet Oncol* 2015;16:704-15.