目次

2.6.1　緒言 3
2.6.1.1　ポラツズマブ　ベドチンの構造 3
2.6.1.2　科学的根拠 3
2.6.1.3　作用機序 4
2.6.1.4　申請した臨床適応症及び用法・用量 4
2.6.1.4.1　効能・効果 4
2.6.1.4.2　用法・用量 4
2.6.1.5　参考文献一覧 4

図一覧

図 2.6.1.1-1　ポラツズマブ　ベドチンの構造 3

略語一覧

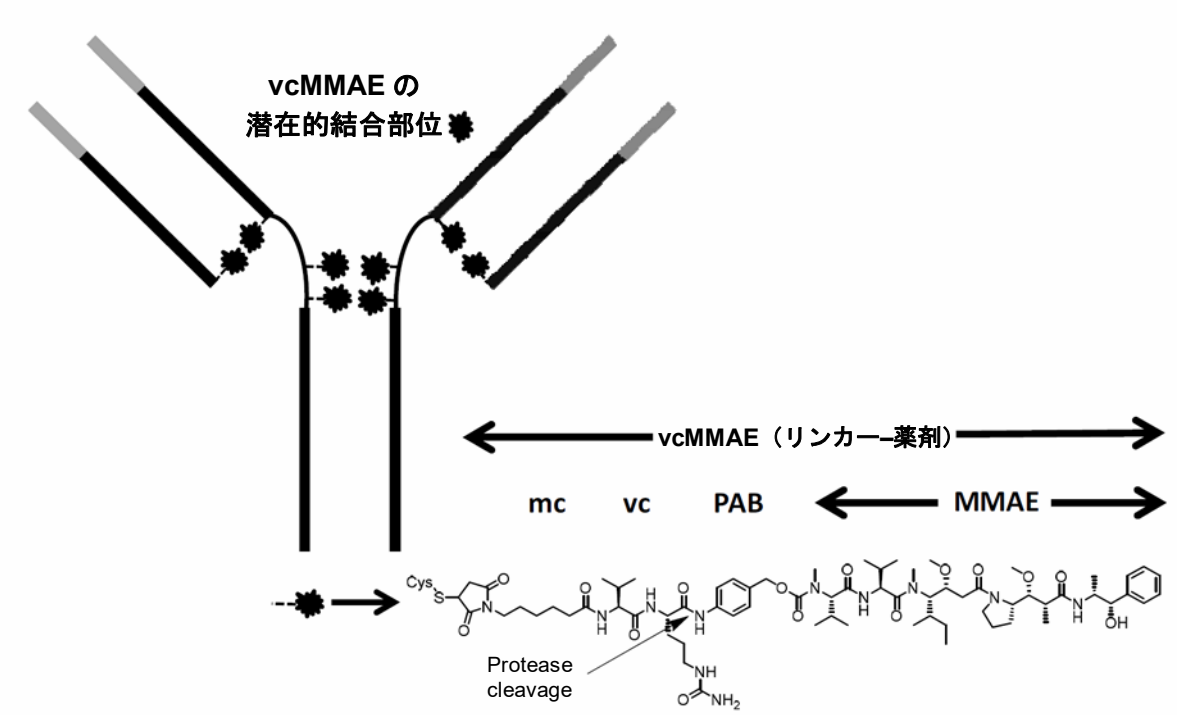
略語	英名	和名
ADC	Antibody-drug conjugate	抗体薬物複合体
CR	complete response	完全奏効
DLBCL	diffuse large B-cell lymphoma	びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫
HDC/SCT	high-dose chemotherapy and stem cell transplantation	造血幹細胞移植併用大量化学療法
mc-vc-PAB	maleimidocaproyl-valine-citrulline-*p*-aminobenzyloxycarbonyl	maleimidocaproyl-valine-citrulline-*p*-aminobenzyloxycarbonyl
MMAE	monomethyl auristatin E	モノメチルアウリスタチン E
NHL	non-Hodgkin's lymphoma	非ホジキンリンパ腫
PAB	*p*-aminobenzyloxycarbonyl	*p*-aminobenzyloxycarbonyl
R/R	relapsed/refractory	再発性又は難治性
vcMMAE	mc-vc-PAB-MMAE	mc-vc-PAB-MMAE

2.6.1　緒言

2.6.1.1　ポラツズマブ　ベドチンの構造

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，CD79b を標的としたヒト化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（図 2.6.1.1-1）。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[1)]（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 2.6.1.1-1　ポラツズマブ　ベドチンの構造



mc：maleimidocaproyl，MMAE：モノメチルアウリスタチン E，PAB：*p*-aminobenzyloxycarbonyl，vc：valine-citrulline，vcMMAE：mc-vc-PAB-MMAE。

【Li et al. (2019)[1)]　Figure 1を改変】

2.6.1.2　科学的根拠

CD79b は B 細胞の表面に存在する B 細胞受容体のシグナル伝達を担うタンパクであり，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，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[2)–7)]。したがって，MMAE の移行は，これらの細胞に限定されると予想される。

ヒト DLBCL 細胞を含む各種非ホジキンリンパ腫（NHL）の非臨床 *in vivo* 異種移植マウスモデルにおいて，ポラツズマブ　ベドチンの単独投与により幅広い抗腫瘍活性がみられた。また，ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルにおいて，ポラツズマブ　ベドチンとベンダムスチン ＋ 免疫療法薬リツキシマブとの併用投与により著明な抗腫瘍活性が認められた。加えて，ポラツズマブ　ベドチンとベンダムスチン ＋ リツキシマブとの併用投与による体重減少は10%未満であった。

DLBCL は NHL で最もよくみられるタイプの腫瘍であり[8),9)]，NHL 症例の30~40%を占める

と報告されている[9]。DLBCL に対する一次治療としてのリツキシマブ，シクロホスファミド，ドキソルビシン，ビンクリスチン及びプレドニゾロン併用療法の成績は完全奏効割合が約60～75%と報告されており，本療法は多くの患者で完全奏効（CR）及び治癒が期待できる治療法であるものの，一次治療を受けた DLBCL の約1/3は治療抵抗性を示し，4年以内に再発することが報告されている（2.5.1.1.2）。

DLBCL に対する二次治療は，造血幹細胞移植併用大量化学療法（HDC/SCT）の適応の有無で分かれる。二次治療で HDC/SCT の適応とならない多くの患者，HDC/SCT 後に CR が得られない患者及び HDC/SCT 後の再発患者に対する治療選択肢は限られており，また，これらの患者の予後は不良であるため，再発又は難治性（R/R）の DLBCL に対するアンメットニーズは非常に高い（2.5.1.1.2）。

R/R DLBCL 患者 に対して，ベンダムスチン ＋ リツキシマブの併用療法は良好な有効性をもたらすことが論文報告されている[10),11)]。非臨床 *in vivo* 試験では，ヒト DLBCL 異種移植マウスモデルへのポラツズマブ　ベドチンとベンダムスチン ＋ リツキシマブとの併用投与は，腫瘍増殖を強く抑制し，また忍容性も良好であったことから，臨床 R/R DLBCL において，ポラツズマブ　ベドチン ＋ ベンダムスチン ＋ リツキシマブの三剤併用は，有益なベネフィット・リスクプロファイルを有する新規併用療法になる可能性がある。

2.6.1.3　作用機序

非臨床薬理試験結果から，ポラツズマブ　ベドチン の作用機序は以下（1）～（3）のように推定される。（1）ポラツズマブ　ベドチンはヒト CD79b に特異的に結合した後に速やかに細胞内に移行する[7),12),13)]。（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[14)]。（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[15)–17)]。

2.6.1.4　申請した臨床適応症及び用法・用量

2.6.1.4.1　効能・効果

1.8参照。

2.6.1.4.2　用法・用量

1.8参照。

2.6.1.5　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 Pharmcol 2019;176:3805-18.

2）Koyama M, Ishihara K, Karasuyama H, Cordell JL, Iwamoto A, Nakamura T. CD79α/CD79β heterodimers are expressed on pro-B cell surfaces without associated μ 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） Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. J Clin Oncol 1998;16:2780-95.
9） Vaidya R, Witzig TE. Prognostic factors for diffuse large B-cell lymphoma in the R(X)CHOP era. Ann Oncol 2014;25:2124-33.
10） Ohmachi K, Niitsu N, Uchida T, Kim SJ, Ando K, Takahashi N, et al. Multicenter phase II study of bendamustine plus rituximab in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. J Clin Oncol 2013;31:2103-9.
11） Vacirca JL, Acs PI, Tabbara IA, Rosen PJ, Lee P, Lynam E. Bendamustine combined with rituximab for patients with relapsed or refractory diffuse large B cell lymphoma. Ann Hematol 2014;93:403-9.
12） 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.
13） 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.
14） Sutherland MSK, Sanderson RJ, Gordon KA, Andreyka J, Cerveny 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.
15） Bai R, Pettit GR, Hamel E. Binding of dolastatin 10 to tubulin at a distinct site for peptide antimitotic agents near the exchangeable nucleotide and vinca alkaloid sites. J Biol Chem 1990;265:17141-9.
16） Doronina SO, Toki BE, Torgov MY, Mendelsohn BA, Cerveny CG, Chace DF, et al. Development of potent monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy. Nat Biotechnol 2003;21:778-84.
17） Francisco JA, Cerveny 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.

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 6
2.6.2.1 まとめ 6
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 9
2.6.2.2.1 *In vitro* 結合及び生物活性 9
2.6.2.2.1.1 B 細胞リンパ腫及び慢性リンパ性白血病細胞における CD79b の発現 9
2.6.2.2.1.2 マウス，ラット，カニクイザル及びヒトの末梢血単核細胞の B 細胞に対するポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC の結合特異性 9
2.6.2.2.1.3 CD79b に対するポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，サロゲート ADC 及びサロゲート抗体の結合親和性 11
2.6.2.2.1.4 ポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体及び MMAE の細胞増殖抑制活性の比較 12
2.6.2.2.1.5 ポラツズマブ抗体及びサロゲート抗体によるサイトカイン産生の誘導 12
2.6.2.2.1.6 ヒト FcγR に対するポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，サロゲート ADC 及びサロゲート抗体の結合活性 15
2.6.2.2.1.7 ポラツズマブ　ベドチン及びポラツズマブ抗体による ADCC 及び CDC の誘導 17
2.6.2.2.1.8 *In vitro* での WSU-DLCL2 腫瘍細胞におけるポラツズマブ　ベドチンの取り込み，及びポラツズマブ　ベドチンの異化に対するポラツズマブ　ベドチンと抗 CD20 抗体との併用処理による影響 19
2.6.2.2.2 *In vivo* 抗腫瘍効果 20
2.6.2.2.2.1 ヒトバーキットリンパ腫 BJAB-PD.cyCD79b.E3 を C.B-17 Fox Chase SCID マウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとサロゲート ADC の抗腫瘍効果 20
2.6.2.2.2.2 ヒト DLBCL WSU-DLCL2 を C.B-17 Fox Chase SCID マウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとポラツズマブ抗体の抗腫瘍効果 21
2.6.2.2.2.3 ヒトバーキットリンパ腫 BJAB-luc を C.B-17 Fox Chase SCID マウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとポラツズマブ抗体の抗腫瘍効果 23
2.6.2.2.2.4 ヒト MCL Z138 を SCID ベージュマウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンと抗 CD20 抗体との併用効果 24
2.6.2.2.2.5 ヒト DLBCL WSU-DLCL2 を C.B-17 Fox Chase SCID マウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとリツキシマブ + 化学療法薬との併用効果 25
2.6.2.2.2.6 ヒト DLBCL WSU-DLCL2 を C.B-17 Fox Chase SCID マウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとオビヌツズマブ + 標準療法薬 CHP 又はベンダムスチンとの併用効果 27

2.6.2.2.3 カニクイザルにおけるサロゲート ADC の PD 作用 28
2.6.2.2.3.1 サロゲート ADC 及びサロゲート抗体の単回静脈内投与による PK/PD 試験 28
2.6.2.2.3.2 ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の反復静脈内投与時の毒性，トキシコキネティクス，及び安全性薬理試験 31
2.6.2.3 副次的薬理試験 32
2.6.2.4 安全性薬理試験 32
2.6.2.4.1 MMAE の *in vitro* hERG 試験 32
2.6.2.4.2 *In vivo* 試験 32
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 32
2.6.2.6 考察及び結論 32
2.6.2.7 図表 35
2.6.2.8 参考文献一覧 35

表一覧

表 2.6.2.2.1.3-1 ポラツズマブ　ベドチン，サロゲート ADC，ポラツズマブ抗体及びサロゲート抗体の結合親和性（K_d） 12
表 2.6.2.2.1.4-1 Ramos 細胞及び Jurkat 細胞におけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体及び MMAE の細胞増殖抑制活性（IC_{50}） 12
表 2.6.2.2.1.6-1 FcγR に対するリツキシマブ，ポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，サロゲート ADC 及びサロゲート抗体の結合活性（EC_{50}） 16

図一覧

図 2.6.2.2.1.1-1 CLL 及び B 細胞リンパ腫患者における CD79b の発現 9
図 2.6.2.2.1.2-1 マウス，ラット，カニクイザル及びヒト PBMC の B 細胞に対するポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の結合特異性 10
図 2.6.2.2.1.2-2 マウス，ラット，カニクイザル及びヒトの CD79b タンパクの配列比較 11
図 2.6.2.2.1.5-1 ポラツズマブ抗体曝露時のヒト PBMC における IP-10及び IL-1α 産生の誘導 14
図 2.6.2.2.1.7-1 BJAB 細胞におけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体及びリツキシマブの ADCC 活性 18
図 2.6.2.2.1.7-2 BJAB 細胞におけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体及びリツキシマブの CDC 活性（ウサギ血清補体使用） 18
図 2.6.2.2.1.8-1 WSU-DLCL2細胞におけるポラツズマブ　ベドチンの取り込み 20
図 2.6.2.2.2.1-1 ヒトバーキットリンパ腫 BJAB-PD.cyCD79b.E3異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，サロゲート ADC，サロゲート抗体，又は対照 ADC 単回投与の抗腫瘍効果 21
図 2.6.2.2.2.2-1 ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，又は対照 ADC 単回投与の抗腫瘍効果 22
図 2.6.2.2.2.3-1 ヒトバーキットリンパ腫 BJAB-luc 異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，又は対照 ADC の抗腫瘍効果 23
図 2.6.2.2.2.4-1 ヒト MCL Z138異種移植マウスモデルにおけるリツキシマブ，オビヌツズ

マブ，ポラツズマブ　ベドチン単独投与，及びポラツズマブ　ベドチンとリツキシマブ又はオビヌツズマブとの併用投与の生存期間 25
図 2.6.2.2.2.5-1　ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとリツキシマブ + 化学療法薬との併用効果 26
図 2.6.2.2.2.6-1　ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとオビヌツズマブ + 化学療法薬との併用効果 28
図 2.6.2.2.3.1-1　サロゲート ADC（0，0.3，1，3 mg/kg）又はサロゲート抗体（3 mg/kg）単回静脈内投与後のカニクイザル末梢血における群平均（±SD）$CD20^{+}$絶対数（%BL） 30
図 2.6.2.2.3.1-2　サロゲート ADC（3 mg/kg），サロゲート抗体（3 mg/kg），又は溶媒の単回静脈内投与後のカニクイザル末梢血における $CD20^{+}Ki\text{-}67^{+}$及び $CD20^{+}Ki\text{-}67^{-}$の絶対数（%BL） 31

略語一覧

略語	英名	和名
ACN	acetonitrile	アセトニトリル
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
BCR	B-cell receptor	B 細胞受容体
BL	baseline	ベースライン
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
CLL	chronic lymphocytic leukemia	慢性リンパ性白血病
C_{max}	maximum observed concentration	最高血清中（血漿中）濃度
CR	complete response	完全奏効
DLBCL	diffuse large B-cell lymphoma	びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫
EC_{50}	half-maximal effective concentration	50%有効濃度
FcγR	Fc gamma receptor	Fcγ 受容体
FL	follicular lymphoma	濾胞性リンパ腫
gD	glycoprotein-D	糖タンパク-D
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
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
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ネル遺伝子
HPLC	high-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IFN	interferon	インターフェロン
Ig	immunoglobulin	免疫グロブリン
IL	interleukin	インターロイキン
IP	intraperitoneal	腹腔内
IP-10	interferon-inducible protein 10	インターフェロン誘導タンパク10
IV	intravenous	静脈内
K_d	equilibrium dissociation constant	平衡解離定数
mc-vc-PAB	maleimidocaproyl-valine-citrulline-*p*-aminobenzyloxycarbonyl	maleimidocaproyl-valine-citrulline-*p*-aminobenzyloxycarbonyl
MMAE	monomethyl auristatin E	モノメチルアウリスタチン E
MCL	mantle cell lymphoma	マントル細胞リンパ腫
MFI	mean fluorescence intensity	平均蛍光強度
MIP	macrophage inflammatory protein	マクロファージ炎症性タンパク
MOA	mechanism of action	作用機序
MZL	marginal zone lymphoma	辺縁帯リンパ腫
NK	natural killer	ナチュラルキラー
PBS	phosphate-buffered saline	リン酸緩衝食塩水
PAB	*p*-aminobenzyloxycarbonyl	*p*-aminobenzyloxycarbonyl
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PD	pharmacodynamic	薬力学
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
PO	per os	経口
PR	partial response	部分奏効

略語	英名	和名
QW	weekly	週1回
RP-HPLC	reversed-phase high-performance liquid chromatography	逆相高速液体クロマトグラフィー
SCID	severe combined immunodeficient	重症複合免疫不全症
TGF	tumor growth factor	腫瘍増殖因子
TGI	tumor growth inhibition	腫瘍増殖阻害
TNF	tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子
TTD	time to tumor doubling	腫瘍倍加時間

2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

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[1)]（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タンパクであり，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[2) –7)]。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[7) –9)]，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[10)]。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[11) –13)]。

ポラツズマブ　ベドチンはヒト B 細胞表面の CD79b に特異的に結合するが，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，毒性及び薬理活性における標的分子を介した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。

薬理，薬物動態及び毒性に関する評価結果から，ポラツズマブ　ベドチンとサロゲート ADC の類似性及び非臨床試験におけるサロゲート ADC 使用の妥当性が実証された。また，薬物動態／薬力学（PK/PD）及び毒性試験においてサロゲート ADC の作用を精査することにより，標的細胞である B 細胞に対する影響，MMAE に関連する作用，標的タンパクを介した分布及びクリアランス機序，並びに標的タンパク非特異的な分布及びクリアランス機序に対する影響を評価することが可能となった。

ポラツズマブ　ベドチンの開発中に，ポラツズマブ　ベドチン，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

薬効薬理試験では，毒性試験（2.6.6）及び PK/PD 試験（2.6.4）におけるサロゲート ADC の必要性及びその使用の妥当性を実証すること，ポラツズマブ　ベドチンとサロゲート ADC の

結合特性及びその薬理活性，並びにポラツズマブ　ベドチンの作用機序（MOA）を明らかにすることを主目的とした。

In vitro 試験

カニクイザル CD79b に特異的に結合するサロゲート ADC の作製は，各種抗体の結合種を対象とした毒性試験及び PK/PD 試験の実施を可能にした。フローサイトメトリーの結果から，ポラツズマブ　ベドチンはヒトの B 細胞に結合するが，マウス，ラット及びカニクイザルの B 細胞には結合しないことが示された。一方，サロゲート ADC はカニクイザルの B 細胞に結合するが，マウス，ラット及びヒトの B 細胞には結合しないことが明らかとなった。これらのデータから，カニクイザルでの毒性試験及び PK/PD 試験にサロゲート ADC を用いることの妥当性が実証された。

ポラツズマブ　ベドチンとサロゲート ADC は CD79b に対して同程度の結合活性を示し，CD79b タンパクにおけるポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC のエピトープは，N 末端の同一の領域内に位置することが確認されている[4)]。ポラツズマブ　ベドチンはヒト CD79b に対して高い結合親和性を示し〔平衡解離定数（K_d）= 1.83 ± 0.26 nmol/L〕，サロゲート ADC はカニクイザル CD79b に対して高い結合親和性を示した（K_d = 1.51 ± 0.25 nmol/L）。サロゲート ADC は Fcγ 受容体（FcγR）IA に対しポラツズマブ　ベドチンと同程度の結合活性を示し，FcγRIIA（H131，R131），FcγRIIB 及び FcγRIIIA（F158，V158）に対しては，ポラツズマブ　ベドチンに比較して約2～3倍強い結合活性を示した。

ポラツズマブ　ベドチンは FcγR に結合活性を示すことから，エフェクター機能を有することが予想されたが，そのエフェクター機能の寄与はわずかであった。ヒトバーキットリンパ腫 B 細胞株 BJAB 細胞において中程度の抗体依存性細胞傷害（ADCC）がポラツズマブ　ベドチンで認められたが，その活性はリツキシマブよりも1桁以上低かった。また，ウサギ血清由来の補体を用いた試験では補体依存性細胞傷害（CDC）はみられなかったが，陽性対照のリツキシマブは強い活性を示した。

ポラツズマブ　ベドチンは *in vitro* で CD79b 陽性腫瘍細胞の増殖に対して，強力かつ選択的な阻害活性を示した。細胞生存率アッセイにおいてポラツズマブ　ベドチンは CD79b 陽性ヒトバーキットリンパ腫細胞株（Ramos）の増殖を nmol/L 以下の濃度で抑制したが〔50%阻害濃度（IC_{50}）= 0.071 ± 0.014 nmol/L〕，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。また，ポラツズマブ　ベドチンは，CD79b を発現する活性化 B 細胞と胚中心 B 細胞サブタイプの両細胞を含む多くのヒト DLBCL 細胞株においても増殖抑制活性を示した[7)]。一方，ポラツズマブ抗体は，試験を実施したいずれの細胞株においても，増殖抑制活性を示さなかった。

CD79b 及び CD20の両抗原を発現するヒト DLBCL WSU-DLCL2腫瘍細胞におけるポラツズマブ　ベドチンと抗 CD20抗体（リツキシマブ又はオビヌツズマブ）との併用試験の結果から，両薬物の併用は，放射標識ポラツズマブ　ベドチン（抗 CD79b-vc-[^{3}H]MMAE）の活性，取り込み及び異化に影響を与えないことが確認された。これらのことから，ポラツズマブ　ベドチンと抗 CD20抗体ベースの標準治療薬との併用が可能であることが示された。

CD79b は BCR のシグナル伝達を担うことから，抗 CD79b 抗体はサイトカインの産生を誘導し，BCR シグナル伝達を促進する可能性があるが，*in vitro* サイトカイン放出アッセイでは，ポラツズマブ抗体による広範な炎症誘発性サイトカインの放出は認められなかった。インターロイキン（IL）-1α 及びインターフェロン誘導タンパク10（IP-10）の上昇が認められたが，その上昇の程度は，陽性対照の抗 CD3抗体 OrthoClone（OKT3）に比べて同程度（IP-10）又は低かった（IL-1α）。しかし，カニクイザルでの *in vivo* 試験において，ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC と放出症候群との関連性を示唆する変化は認められなかった（2.6.6.3.4, 2.6.6.9.2）。

ポラツズマブ　ベドチンの *in vitro* 安全性薬理評価は実施していないが，MMAE の心血管系に対する影響の評価として *in vitro* 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ネル遺伝子）試験を実施した。血漿タンパク結合がないと仮定したときの MMAE の hERG チャネルに対する IC_{50}は100 μmol/L 以上であり，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 の最高血漿中濃度（C_{max}）［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。

In vivo 試験

ヒト及びカニクイザルの CD79b を同程度発現するヒトバーキットリンパ腫 BJAB-PD.cyCD79b.E3（BJAB 細胞の亜株）異種移植マウスモデル[4] においてポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC は同程度の抗腫瘍活性を示した。この *in vivo* データからサロゲート ADC とポラツズマブ　ベドチンの有効性が同等であることが明らかとなり，サロゲート ADC が，毒性試験及び PK/PD 試験において適切なサロゲートであることが *in vitro* に加えて *in vivo* からも裏付けられた。

ポラツズマブ　ベドチンの単独投与は，CD79b 陽性ヒト DLBCL WSU-DLCL2及びヒトバーキットリンパ腫 BJAB-luc（BJAB にルシフェラーゼ遺伝子を導入した細胞株）異種移植マウスモデルの腫瘍増殖を用量依存的に抑制した。一方，ポラツズマブ抗体及びサロゲート抗体をポラツズマブ　ベドチンが腫瘍退縮をもたらした用量と同じ用量を投与したときに，その有効性はごくわずかであった。これらの結果からポラツズマブ　ベドチンの抗腫瘍活性は主に CD79b 陽性腫瘍への 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 MMAE 非存在下での抗体の作用のいずれでもないことが示唆された。

ヒト DLBCL WSU-DLCL2腫瘍細胞での *in vitro* 試験においてポラツズマブ　ベドチンと標準治療薬との併用により抗腫瘍効果が高まる可能性が示されたことから，*in vivo* でポラツズマブ　ベドチンと標準治療薬との併用試験を実施した。ヒトマントル細胞リンパ腫（MCL）Z138異種移植マウスモデルにおいて，ポラツズマブ　ベドチンと抗 CD20モノクローナル抗体（リツキシマブ又はオビヌツズマブ）の併用は，それぞれの単独投与と比較して動物の生存率を上昇させた。ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルにおいて，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） + 化学療法薬〔ベンダムスチン又はシクロホスファミド + ドキソルビシン + プレドニゾン（CHP）〕の併用は，ポラツズマブ　ベドチンのみ又は抗 CD20抗体 + 化学療法薬に比較して良好な有効性を示した。

カニクイザルへの単回投与及び反復投与試験において，サロゲート ADC は，末梢血 $CD20^+$ B 細胞を枯渇させた。また，サロゲート ADC を投与したカニクイザルでは，サロゲート抗体を投与したカニクイザルと比較して，血中において長期にわたる B 細胞の枯渇がみられた。この長期にわたる B 細胞の枯渇は，非増殖性 $Ki\text{-}67^-$ B 細胞に比較して増殖性 $Ki\text{-}67^+$ B 細胞に優先的に観察され，この結果はサロゲート ADC の抗有糸分裂作用と一致していた。一方，カニクイザルの CD79b を認識しないポラツズマブ　ベドチンを投与したカニクイザルでは，B 細胞の減少は認められなかった（2.6.6.3.4）。

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 *in vivo* 安全性薬理評価は，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。ポラツズマブ　ベドチンを投与したラットにおいて，中枢神経系の異常は認められなかった。また，ポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC を投与したカニクイザルにおいても，心血管系，呼吸系及び中枢神経系の異常は認められなかった。

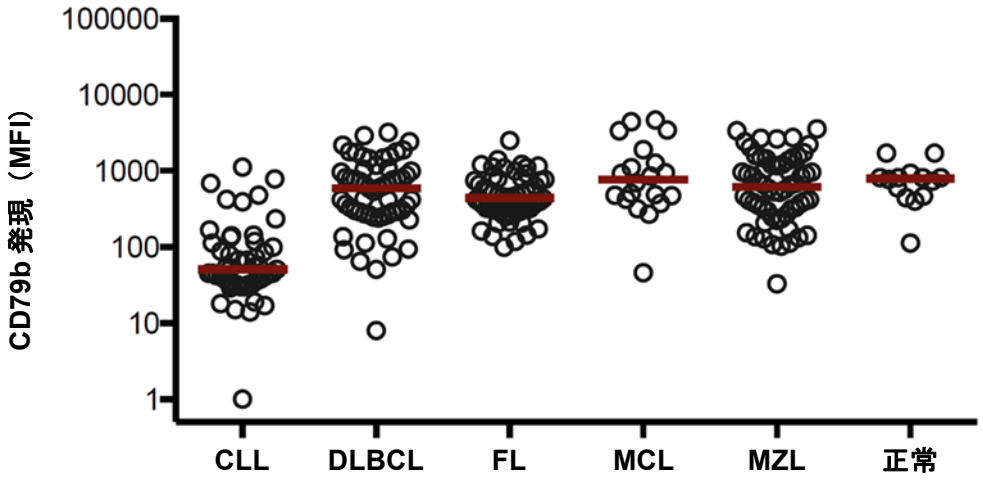
2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　*In vitro* 結合及び生物活性

2.6.2.2.1.1　B 細胞リンパ腫及び慢性リンパ性白血病細胞における CD79b の発現

原発性ヒト B 細胞リンパ腫検体及び慢性リンパ性白血病（CLL）検体の細胞表面上の CD79b の発現率をフローサイトメトリーにて測定した[3)]。CD79b は，CLL，DLBCL，濾胞性リンパ腫（FL），MCL，及び辺縁帯リンパ腫（MZL）のほぼすべての症例で検出された（図 2.6.2.2.1.1-1）。

図 2.6.2.2.1.1-1　CLL 及び B 細胞リンパ腫患者における CD79b の発現



MFI：平均蛍光強度。
注：CLL：n = 75，DLBCL：n = 59，FL：n = 58，MCL：n = 20，MZL：n = 60。赤線は中央値を表す。
【Dornan et al. (2009)[3)] Figure 2C を改変】

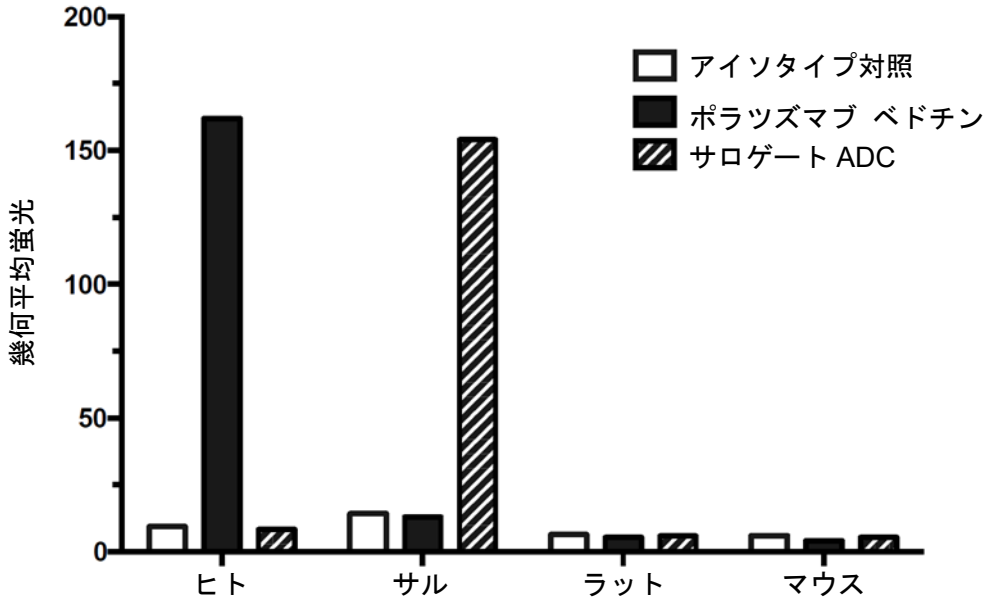
2.6.2.2.1.2　マウス，ラット，カニクイザル及びヒトの末梢血単核細胞の B 細胞に対するポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC の結合特異性

（資料番号：4.2.1.1-1）

マウス，ラット，カニクイザル及びヒトの B 細胞に対するポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の結合活性をフローサイトメトリーにて評価した。マウス，ラット，カニクイザル及びヒトの末梢血単核細胞（PBMC）を，ポラツズマブ　ベドチン，サロゲート ADC，及びアイソタイプ対照（ヒト IgG）と共培養した。カニクイザル PBMC 及びヒト PBMC の B 細胞マーカーとしてマウス抗ヒト CD20抗体（クローン2H7）を使用した。マウス及びラットの PBMC の B 細胞マーカーとしてそれぞれ，ラット抗マウス CD45R 抗体（クローン RA3-6B2）及びマウス抗ラット CD45RA 抗体（クローン OX33）を使用した。

ポラツズマブ　ベドチンはヒト PBMC の B 細胞（$CD20^+$）のみに結合活性を示し，サロゲート ADC はカニクイザル PBMC の B 細胞（$CD20^+$）のみに結合活性を示した（図 2.6.2.2.1.2-1）。ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC はいずれも，ラット又はマウスの PBMC の B 細胞（$CD20^+$）に対して結合活性を示さなかった。

図 2.6.2.2.1.2-1　マウス，ラット，カニクイザル及びヒト PBMC の B 細胞に対するポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の結合特異性

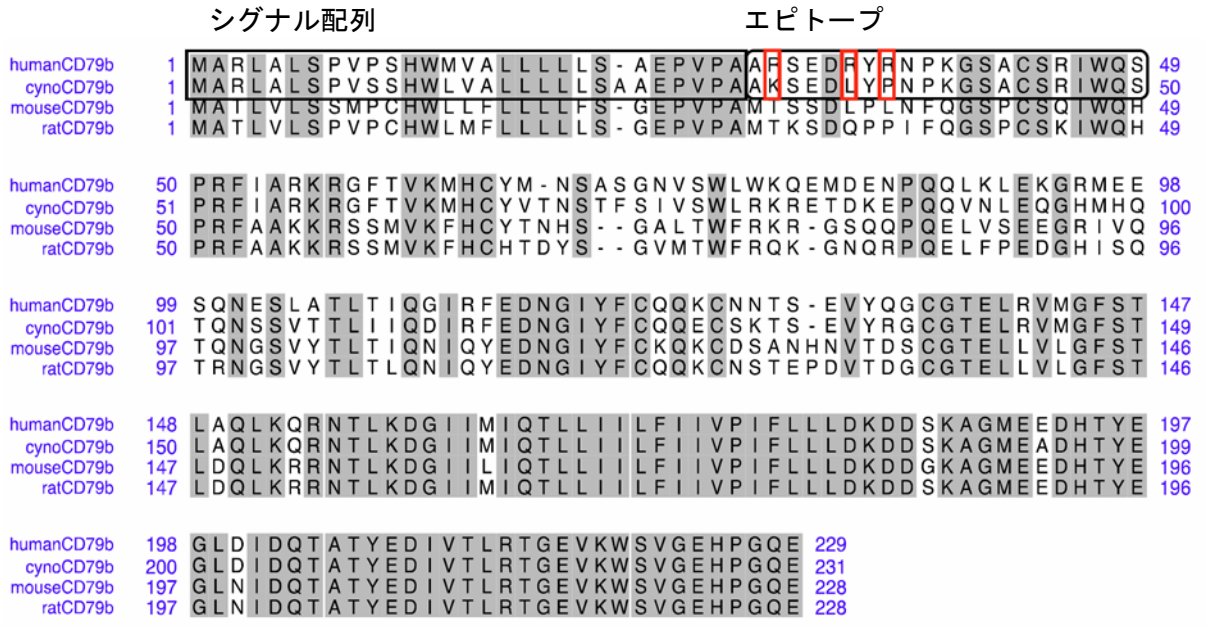


サル：カニクイザル。

【4.2.1.1-1 Figure 1を改変】

抗ヒト CD79b（SN8）抗体[3),4)]（ポラツズマブ抗体の前駆体）及び抗カニクイザル CD79b 抗体（サロゲート抗体）のエピトープは，それぞれの CD79b タンパク N 末端の最初の21アミノ酸領域に位置していた[4)]（図 2.6.2.2.1.2-2）。エピトープの違いはわずか3つのアミノ酸であるにもかかわらず（図 2.6.2.2.1.2-2の赤線のボックスで識別），カニクイザル CD79b に対するポラツズマブ　ベドチンの交差反応性も，ヒト CD79b に対するサロゲート ADC の交差反応性も検出されなかった。

図 2.6.2.2.1.2-2　マウス，ラット，カニクイザル及びヒトの CD79b タンパクの配列比較



cyno：カニクイザル。

【4.2.1.1-1 Figure 2を改変】

2.6.2.2.1.3　CD79b に対するポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，サロゲート ADC 及びサロゲート抗体の結合親和性

（資料番号：4.2.1.1-2）

ヒト及びカニクイザルの両 CD79b を発現するように形質転換したヒトバーキットリンパ腫 B 細胞株 BJAB 細胞を用いて，ポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，サロゲート ADC 及びサロゲート抗体の CD79b に対する結合親和性（K_d）を測定した。各抗体の K_d 値は，放射標識抗体を利用した平衡結合分析法により算出した。

ポラツズマブ　ベドチンは平均 K_d 値1.83 nmol/L で，ヒト CD79b に対して高い結合親和性を示した。ポラツズマブ　ベドチンの結合親和性は，ポラツズマブ抗体の結合親和性（K_d = 1.33 nmol/L）と同程度であり，ポラツズマブ　ベドチンが抗原に対する結合親和性を維持していることが確認された（表 2.6.2.2.1.3-1）。

サロゲート ADC 及びサロゲート抗体も，高い親和性でカニクイザル CD79b に結合した（それぞれ平均 K_d 値は1.51 nmol/L 及び1.21 nmol/L；表 2.6.2.2.1.3-1）。更に，サロゲート ADC は，ヒト CD79b へのポラツズマブ　ベドチンの結合で認められた同程度の親和性で，カニクイザル CD79b に結合した。これらのことから，サロゲート ADC が毒性試験及び PK/PD 試験における適切なサロゲートであることが確認された。

表 2.6.2.2.1.3-1　ポラツズマブ　ベドチン，サロゲート ADC，ポラツズマブ抗体及びサロゲート抗体の結合親和性（K_d）

抗体	K_d (nmol/L)
ポラツズマブ　ベドチン	1.83 ± 0.26
ポラツズマブ抗体	1.33 ± 0.14
サロゲート ADC	1.51 ± 0.25
サロゲート抗体	1.21 ± 0.10

注：各数値は3回の独立した実験による測定結果の平均値±標準偏差を示す。

【4.2.1.1-2 Table 1を改変】

2.6.2.2.1.4　ポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体及び MMAE の細胞増殖抑制活性の比較

（資料番号：4.2.1.1-3）

ポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体及び MMAE の細胞増殖抑制活性を細胞生存率アッセイにより評価した。CD79b 陽性ヒトバーキットリンパ腫 B 細胞株（Ramos）及び CD79b 陰性対照ヒト T 細胞白血病細胞株（Jurkat）を，ポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，又は MMAE と共培養した。陰性対照として，trastuzumab mc-vc-PAB MMAE を用いた。

MMAE は CD79b 陽性の Ramos 及び CD79b 陰性の Jurkat の両細胞に増殖抑制活性を示し，その平均 IC_{50}値はそれぞれ0.075 ± 0.024及び0.13 ± 0.089 nmol/L であった。一方，ポラツズマブ　ベドチンは Jurkat 細胞と比較して Ramos 細胞に強い増殖抑制活性を示し，その平均 IC_{50}値（0.071 ± 0.014 nmol/L）は MMAE と同程度であった（表 2.6.2.2.1.4-1）。ポラツズマブ抗体の細胞増殖抑制活性は試験をした濃度範囲でわずかであった。予想されたように，trastuzumab mc-vc-PAB MMAE では細胞増殖抑制活性は認められなかった（データ未記載）。陰性対照細胞である Jurkat 細胞では，ポラツズマブ　ベドチン及びポラツズマブ抗体がいずれも非常に高濃度な場合を除き，増殖抑制活性を示さなかった。これらの結果は，MMAE が非特異的な細胞傷害活性を示すのとは対照的に，ポラツズマブ　ベドチンは標的依存的に増殖抑制活性を発揮することを示している。

表 2.6.2.2.1.4-1　Ramos 細胞及び Jurkat 細胞におけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体及び MMAE の細胞増殖抑制活性（IC_{50}）

	IC_{50} (nmol/L)	
	Ramos	**Jurkat**
ポラツズマブ　ベドチン	0.071 ± 0.014	10 nmol/L まで殺細胞なし [a]
ポラツズマブ抗体	10 nmol/L まで殺細胞なし [a]	10 nmol/L まで殺細胞なし [a]
MMAE	0.075 ± 0.024	0.13 ± 0.089

注：各数値は3回の独立した実験による測定結果の平均値±標準偏差を示す。

[a] 10 nmol/L は試験した最高濃度。

【4.2.1.1-3 Table 2を改変】

2.6.2.2.1.5　ポラツズマブ抗体及びサロゲート抗体によるサイトカイン産生の誘導

（資料番号：4.2.1.1-4）

CD79b は BCR のシグナル伝達[14)] を担うことから，抗 CD79b 抗体は BCR シグナル伝達を促進し，サイトカインの産生を促進する可能性がある。特に，IL-1β，IL-6，IL-10，腫瘍増殖因子（TGF）-α，顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF），マクロファージ炎症性タンパク（MIP）-1α 及び MIP-1β は，BCR の刺激時に B 細胞によって産生される場合があ

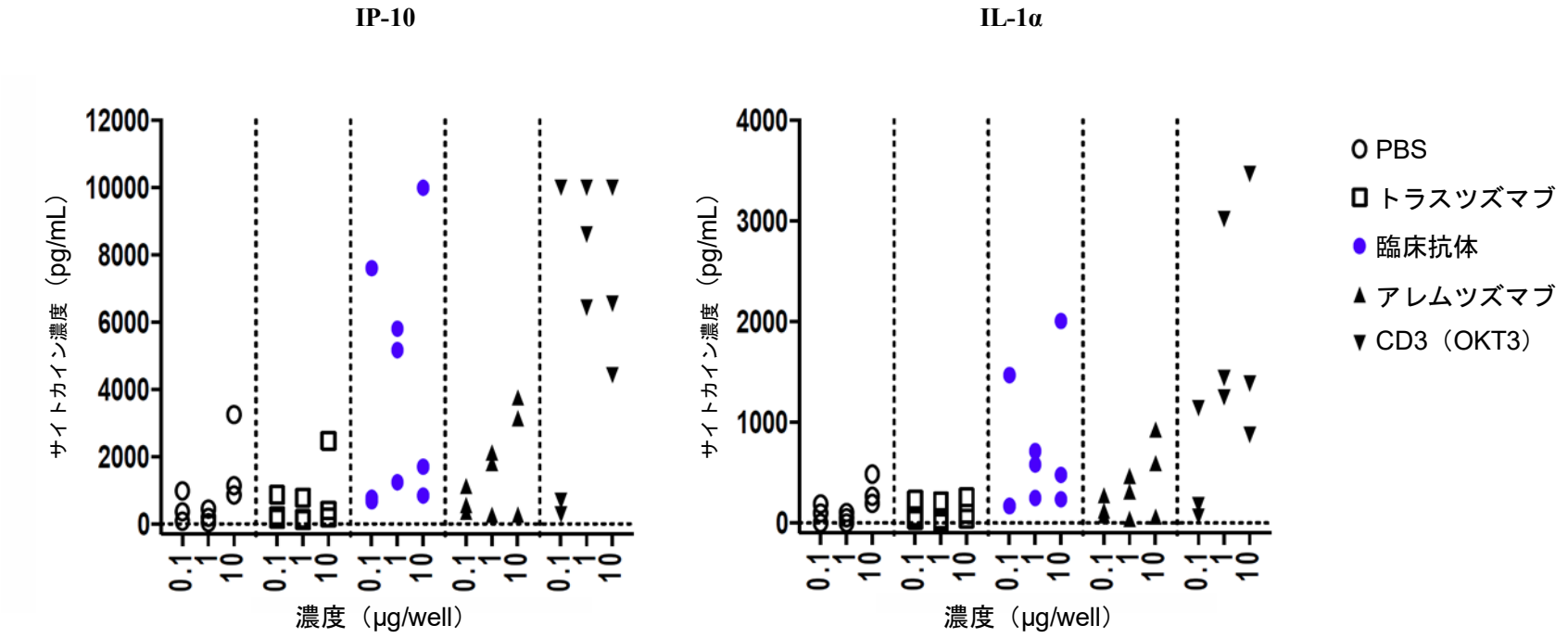
ることが報告されている[4)]。また，腫瘍壊死因子（TNF）-α，インターフェロン（IFN）-γ，IL-6及び IL-10などの炎症誘発性サイトカインは，サイトカイン放出症候群に関与することが知られている[15)]。

ポラツズマブ　ベドチンによるサイトカイン産生誘導能を調べるために，*in vitro* でヒト及びカニクイザルの PBMC とポラツズマブ抗体又はサロゲート抗体それぞれを共培養したときのサイトカイン産生量を測定した。陽性対照として，サイトカイン放出を引き起こすことが知られているアレムツズマブ（抗 CD52モノクローナル抗体；Genzyme；マサチューセッツ州，ケンブリッジ）及び OKT3（抗 CD3モノクローナル抗体；eBioscience；カリフォルニア州，サンディエゴ）を用いた。陰性対照として，PBMC に結合しない抗 HER2モノクローナル抗体（トラスツズマブ）を使用した。予想されたように，ヒト及びカニクイザルの PBMC に陽性対照抗体を曝露させたときにサイトカイン産生は上昇したが，陰性対照抗体ではサイトカインは上昇しなかった（データ未記載）。

ヒト PBMC での試験では，ポラツズマブ抗体の曝露後に，IP-10及び IL-1α 濃度の上昇が認められた（図 2.6.2.2.1.5-1）。これらの上昇は，陽性対照抗体の OKT3への曝露後にサイトカインの上昇が観察された濃度と比較して，同程度（IP-10）又はそれ以下（IL-1α）であった。他のサイトカイン（エオタキシン，G-CSF，GM-CSF，IFN-α2，IFN-γ，IL-1β，IL-1ra，IL-2，IL-3，IL-4，IL-5，IL-6，IL-7，IL-8，IL-10，IL-12 p40，IL-12 p70，IL-13，IL-15，IL-17，単球走化性タンパク-1，MIP-1α，MIP-1β，可溶性 CD40リガンド，TGF-α，TNF-α，TNF-β 及び VEGF）では，陰性対照抗体のトラスツズマブの曝露によりいくつかのサイトカイン濃度の上昇がみられたが，ポラツズマブ抗体の曝露ではトラスツズマブでみられたサイトカイン濃度の上昇を超えるものは観察されなかった。カニクイザルの PMBC を用いてのサイトカインのサブセット試験では，サロゲート抗体の曝露により同様の所見がみられた。本サブセット試験では，カニクイザルの IP-10及び IL-1α を検出するためのアッセイが利用できなかったため，IP-10及び IL-1α 濃度の変動を評価することはできなかった。

以上，*in vitro* での試験結果からは，ポラツズマブ抗体による広範な炎症誘発性サイトカインの放出を示す所見は観察されなかった。評価した30種類のサイトカインのうち，ヒト PBMC とポラツズマブ抗体を共培養したときに，2つのサイトカイン（IP-10及び IL-1α）のみに濃度の増加が観察された。

図 2.6.2.2.1.5-1　ポラツズマブ抗体曝露時のヒト PBMC における IP-10及び IL-1α産生の誘導



PBS：リン酸緩衝食塩水，臨床抗体：ポラツズマブ抗体。

【4.2.1.1-4 Figure 1～31に基づいて作成】

2.6.2.2.1.6　ヒト FcγR に対するポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，サロゲート ADC 及びサロゲート抗体の結合活性

（資料番号：4.2.1.1-5）

ヒト FcγR に対するポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，サロゲート ADC，及びサロゲート抗体の結合を酵素免疫測定法にて調べた。FcγRIA，FcγRIIA の2つのアロタイプ（H131及び R131），FcγRIIB，並びに FcγRIIIA の2つのアロタイプ（F158及び 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（表 2.6.2.2.1.6-1）。同一パネルへのサロゲート ADC 及びサロゲート抗体の結合も，同程度であった（表 2.6.2.2.1.6-1）。

ポラツズマブ　ベドチンの FcγRIIA（H131及び R131），FcγRIIB，及び FcγRIIIA（F158及び V158）に対する結合活性は，サロゲート ADC に比較して2～3倍低かった。FcγRIA に対するポラツズマブ　ベドチンとサロゲート ADC の結合活性は同程度であった。また，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。

表 2.6.2.2.1.6-1　FcγR に対するリツキシマブ，ポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，サロゲート ADC 及びサロゲート抗体の結合活性（EC_{50}）

被験物質	EC_{50}					
	FcγRIA（ng/mL）	FcγRIIA-H131（μg/mL）	FcγRIIA-R131（μg/mL）	FcγRIIB（μg/mL）	FcγRIIIA-F158（μg/mL）	FcγRIIIA-V158（μg/mL）
リツキシマブ	6.89 ± 2.01	0.457 ± 0.0739	1.42 ± 0.448	2.03 ± 0.144	2.72 ± 0.0404	0.618 ± 0.168
ポラツズマブ　ベドチン	9.46 ± 2.37	3.15 ± 0.204	5.13 ± 0.543	7.81 ± 0.728	7.39 ± 1.56	1.82 ± 0.272
ポラツズマブ抗体	12.4 ± 3.18	2.76 ± 0.466	8.11 ± 1.08	9.53 ± 0.110	6.52 ± 1.38	1.23 ± 0.247
サロゲート ADC	8.53 ± 2.17	1.49 ± 0.121	1.96 ± 0.276	2.98 ± 0.137	2.34 ± 0.289	0.714 ± 0.147
サロゲート抗体	10.7 ± 3.02	1.24 ± 0.119	2.98 ± 0.690	3.77 ± 0.319	2.02 ± 0.244	0.547 ± 0.102

EC_{50}：50%有効濃度（FcγR への結合から最大反応の50%が検出された抗体の有効濃度）。
注：各数値は3回の独立した実験による実験結果の平均値 ± 標準偏差を示す。

【4.2.1.1-5 Table 2を改変】

2.6.2.2.1.7　ポラツズマブ　ベドチン及びポラツズマブ抗体による ADCC 及び CDC の誘導

（資料番号：4.2.1.1-5）

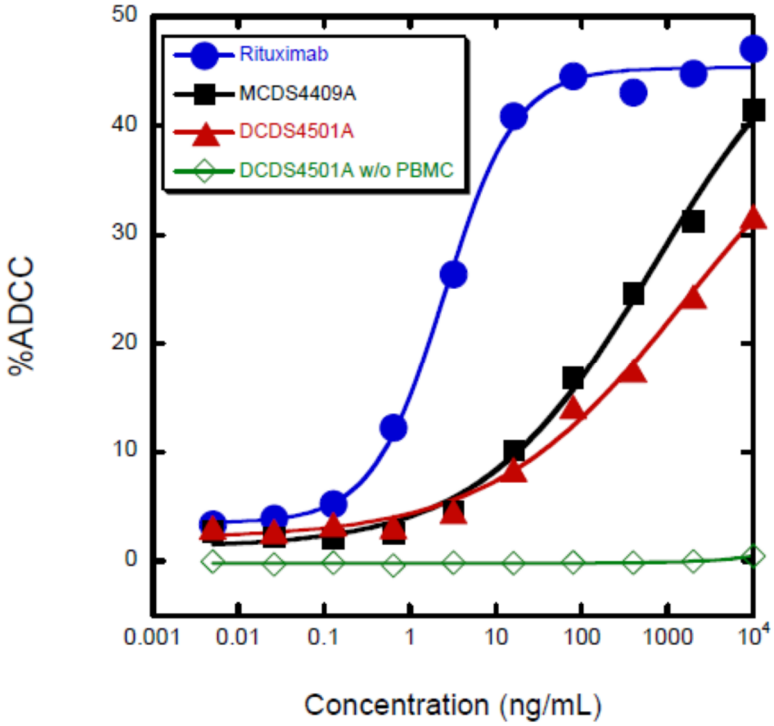
抗体依存性細胞傷害（ADCC）は，自然免疫系において，抗原特異的抗体がエフェクター細胞に抗原発現標的細胞を殺傷するように働きかける抗体のエフェクター機能である。CDC は，細胞表面への抗体の結合及びそれに続く補体経路の活性化の結果として，補体依存性の細胞溶解が引き起こされる殺細胞の機序である。本試験ではヒトバーキットリンパ腫細胞株 BJAB 細胞を用いて，*in vitro* におけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，及びリツキシマブ（陽性対照）の ADCC 及び CDC 活性を調べた。

正常ヒト PBMC エフェクター細胞での ADCC 活性誘導能の評価において，ポラツズマブ ベドチンとポラツズマブ抗体はいずれも10 μg/mL までの濃度で BJAB 細胞に中程度の ADCC を誘導したが，リツキシマブと比較してその活性は1桁以上低かった（図 2.6.2.2.1.7-1）。また，ポラツズマブ　ベドチンは，アッセイ時間内で PBMC 非存在下では BJAB 細胞の殺傷を誘導しなかった。これらの結果は，ポラツズマブ　ベドチンの ADCC 活性が MMAE を介した細胞傷害に起因するものではないことを示唆している。

CDC 活性誘導能の評価は，正常ヒト血清又はウサギ血清のいずれかの補体を用いて実施した。CDC アッセイにおけるウサギ血清補体の使用は，腫瘍細胞に対する種特異的膜結合補体調節タンパクの阻害作用[16] を回避でき，異なる標的細胞が関与する CDC 活性を増強させることが報告されている[17] 。CDC 活性は細胞生存率アッセイにおいて測定され，このアッセイにおけるシグナルの減少は試験薬物の細胞毒性の程度を示す。

ポラツズマブ　ベドチン及びポラツズマブ抗体は，ウサギの補体を用いたアッセイにおいて 10 μg/mL までの濃度で BJAB 細胞に検出可能な CDC 活性を誘導しなかったが，陽性対照のリツキシマブは強い活性を示した（図 2.6.2.2.1.7-2）。また，ポラツズマブ　ベドチン及びポラツズマブ抗体は，ヒト補体を用いたアッセイでも10 μg/mL までの濃度で BJAB 細胞に検出可能な CDC 活性を誘導しなかった（データ未記載）。

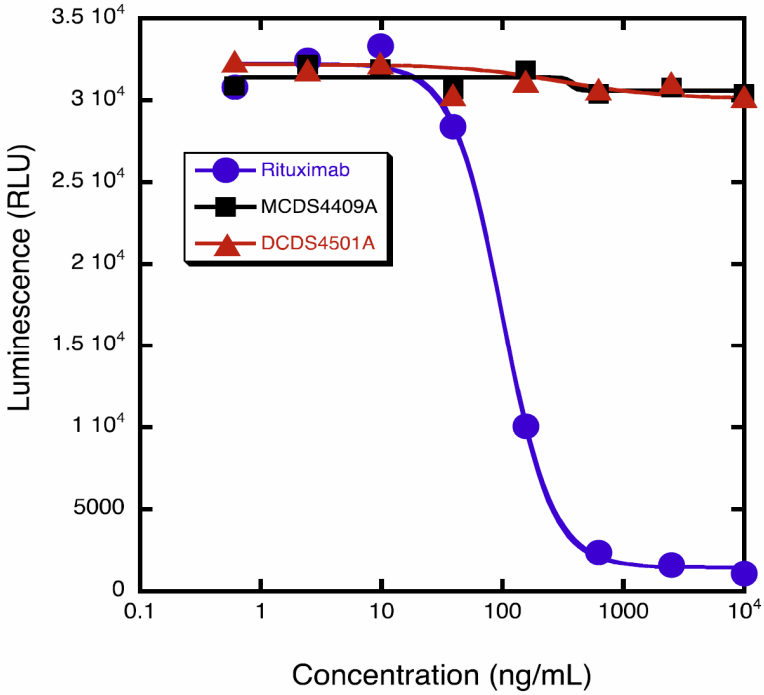
図 2.6.2.2.1.7-1　BJAB 細胞におけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体及びリツキシマブの ADCC 活性



DCDS4501A：ポラツズマブ　ベドチン，MCDS4409A：ポラツズマブ抗体，w/o：なし。

【4.2.1.1-5 Figure 2再掲】

図 2.6.2.2.1.7-2　BJAB 細胞におけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体及びリツキシマブの CDC 活性（ウサギ血清補体使用）



DCDS4501A：ポラツズマブ　ベドチン，MCDS4409A：ポラツズマブ抗体，RLU：相対発光量。

【4.2.1.1-5 Figure 3B 再掲】

2.6.2.2.1.8　*In vitro* での WSU-DLCL2腫瘍細胞におけるポラツズマブ　ベドチンの取り込み，及びポラツズマブ　ベドチンの異化に対するポラツズマブ　ベドチンと抗 CD20抗体との併用処理による影響

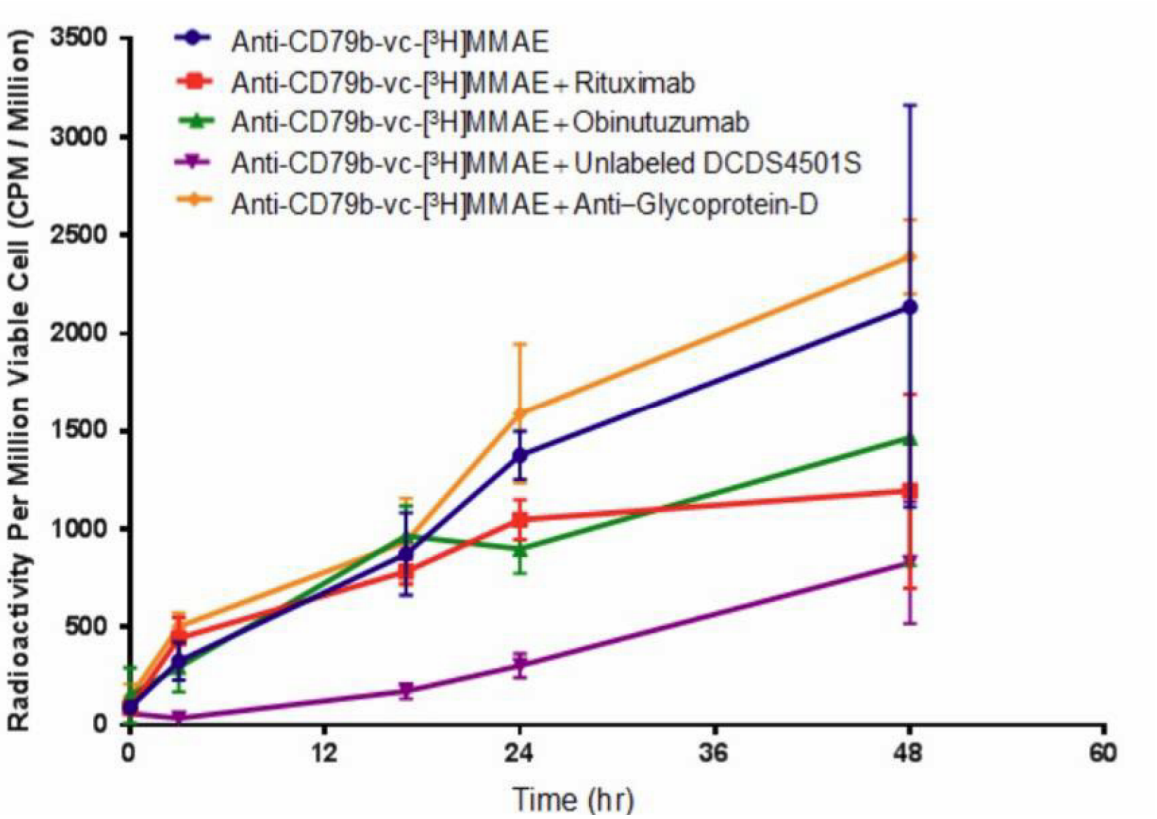
（資料番号：4.2.1.1-6）

ヒト WSU-DLCL2（CD79b と CD20の両抗原を発現するヒト DLBCL 株）及び HT（CD79b 標的陰性対照）腫瘍細胞株を，臨床的に妥当な濃度である0.0667 μCi/mL（1 μg/mL の ADC に相当）の抗 CD79b-vc-[^{3}H]MMAE（放射標識ポラツズマブ　ベドチン；トレーサー）のみ，あるいは抗 CD20抗体（リツキシマブ又はオビヌツズマブ），未標識ポラツズマブ　ベドチン，又は抗糖タンパク-D（抗 gD）抗体（標的に無関係のモノクローナル抗体対照）と併用処理した。37°C で培養を行い，0，3，17，24及び48時間後に細胞を採取した（n = 3）。総細胞数（死滅及び生存），生存率，総放射活性及びアセトニトリル（ACN）可溶性放射活性並びに ACN 沈殿性放射活性を各々測定した。更に，細胞可溶化物を β-RAM を用いた逆相高速液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）にて分離解析し，ポラツズマブ　ベドチンの異化代謝産物をプロファイルした。

ガンマカウンターを用いて細胞の放射活性を測定したところ，ポラツズマブ　ベドチントレーサーのみで処理した後の WSU-DLCL2細胞の総放射活性濃度に時間依存的な上昇がみられた。リツキシマブ，オビヌツズマブ，又は抗 gD 抗体とトレーサーとの併用により，WSU-DLCL2細胞にトレーサー単独処理したものと同程度の放射活性の取り込みが生じた（図 2.6.2.2.1.8-1）。対照的に，未標識のポラツズマブ　ベドチンとトレーサーとの同時培養により，抗 CD79b-vc-[^{3}H]MMAE の取り込みが有意に減少した。このことから，WSU-DLCL2細胞による抗 CD79b-vc-[^{3}H]MMAE の取り込みは標的特異的なプロセスであり，抗 CD20抗体との併用は，ポラツズマブ　ベドチンの取り込みに影響を及ぼさないことが示唆された。また，いずれの処理でも標的陰性対照 HT 細胞株で検出された放射活性はわずかであった（データ未記載）。WSU-DLCL2細胞可溶化物の ACN 沈殿画分では，トレーサーで単独処理したものとリツキシマブ，オビヌツズマブ，又は抗 gD 抗体との併用で処理したものとにおいて同程度の異化作用がみられた。RP-HPLC を用いた WSU-DLCL2細胞の可溶化物のプロファイリングにおいても，トレーサーで単独処理したものとリツキシマブ，オビヌツズマブ，又は抗 gD 抗体との併用処理したものとの異化代謝産物プロファイルは同様であることが明らかになった。MMAE は処理を問わず，すべての処理において唯一の検出可能な異化代謝産物として同定された。

以上，*in vitro* でのリツキシマブ又はオビヌツズマブとの併用処理は，WSU-DLCL2腫瘍細胞におけるポラツズマブ　ベドチンの取り込み及び異化に影響を与えなかった。これらのことから，ポラツズマブ　ベドチンと抗 CD20抗体に基づいた標準治療薬との併用が可能であることが示された。

図 2.6.2.2.1.8-1　WSU-DLCL2細胞におけるポラツズマブ　ベドチンの取り込み



Anti-CD79b-vc-[^{3}H]MMAE：放射標識ポラツズマブ　ベドチン，CPM：カウント毎分，DCDS4501S：ポラツズマブ　ベドチン。

【4.2.1.1-6 Figure 6再掲】

2.6.2.2.2　*In vivo* 抗腫瘍効果

ヒト B 細胞リンパ腫に由来する様々な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試験を実施した。腫瘍増殖阻害（TGI）は，3次スプラインフィット法を用いて評価した[18)]。腫瘍倍加時間（TTD）は，溶媒群の投与開始日時（Day 0）の腫瘍体積と比較して，腫瘍の体積が2倍になるまでの日数と定義した。部分奏効（PR）は，開始時の腫瘍体積の50%超かつ100%未満の腫瘍退縮と定義し，完全奏効（CR）は，100%の腫瘍退縮（すなわち，測定可能な腫瘍なし）と定義した。

2.6.2.2.2.1　ヒトバーキットリンパ腫 BJAB-PD.cyCD79b.E3 を C.B-17 Fox Chase SCID マウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ ベドチンとサロゲート ADC の抗腫瘍効果

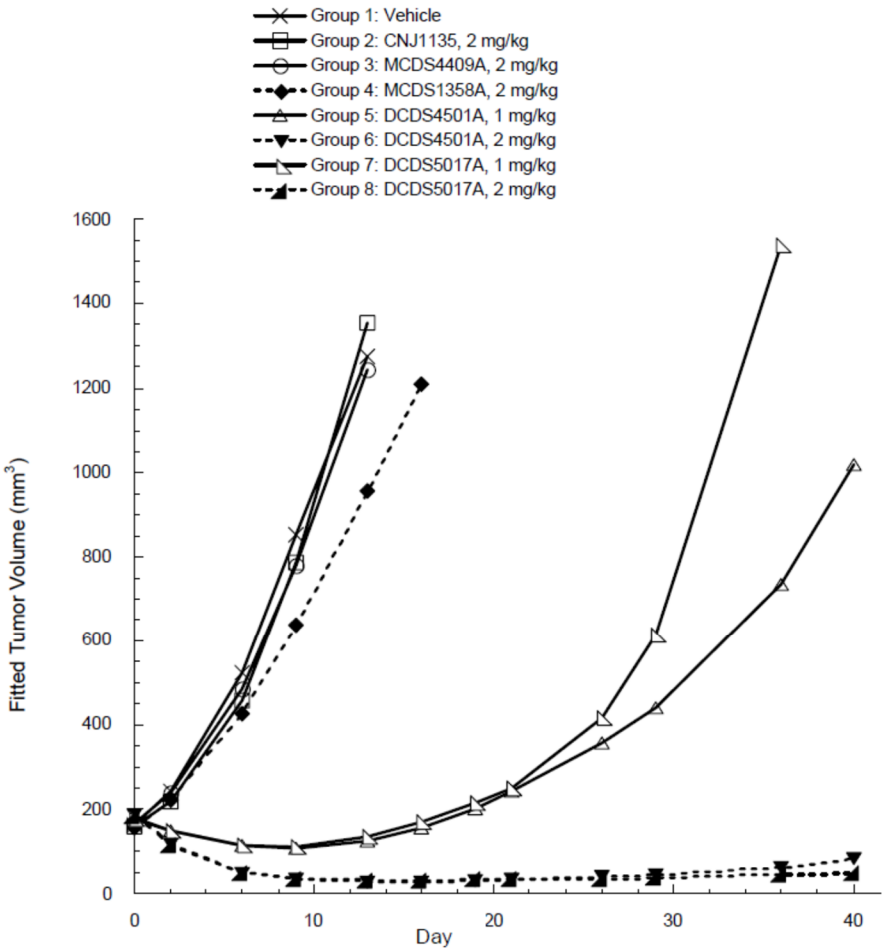
（資料番号：4.2.1.1-7）

ヒトバーキットリンパ腫 BJAB-PD.cyCD79b.E3（BJAB 細胞の亜株）を C.B-17 Fox Chase 重症複合免疫不全（SCID）マウスに移植して作製した異種移植マウスモデルを用いて，ポラツズマブ　ベドチンとサロゲート ADC の抗腫瘍効果を評価した。BJAB-PD.cyCD79b.E3細胞株は，カニクイザル及びヒト CD79b を同程度発現するため[4)]，これら2つの ADC の直接比較が可能である。腫瘍が117～214 mm^{3}の体積に達したときに，溶媒，ポラツズマブ　ベドチン（1，2 mg/kg），サロゲート ADC（1，2 mg/kg），ポラツズマブ抗体（2 mg/kg），サロゲート抗体（2 mg/kg），あるいは対照 ADC（抗 Her2-mc-vc-PAB-MMAE）（2 mg/kg）を単回で静脈内（IV）投与した。

ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC は，同程度の腫瘍増殖阻害作用を示した（図

2.6.2.2.2.1-1）。1 mg/kg のポラツズマブ　ベドチン投与群及び1 mg/kg のサロゲート ADC 投与群において，それぞれ PR（5/10例）がみられた。2 mg/kg のポラツズマブ　ベドチン投与群及び2 mg/kg のサロゲート ADC 投与群の抗腫瘍活性はより顕著であり，投与されたマウスの大多数に持続的な腫瘍退縮をもたらした。2 mg/kg のポラツズマブ　ベドチン投与群では，PR（5/10例）及び CR（5/10例）がみられ，2 mg/kg のサロゲート ADC 投与群では PR（2/10例）及び CR（7/10例）が観察された。ポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC の単回投与による腫瘍増殖抑制作用は，試験終了時まで持続された。一方，ポラツズマブ抗体，サロゲート抗体及び対照 ADC（抗 Her2-mc-vc-PAB-MMAE）の2 mg/kg 投与群では腫瘍増殖抑制効果はほとんどみられなかった。

図 2.6.2.2.2.1-1　ヒトバーキットリンパ腫 BJAB-PD.cyCD79b.E3異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，サロゲート ADC，サロゲート抗体，又は対照 ADC 単回投与の抗腫瘍効果



CNJ1135：抗 Her2-mc-vc-PAB-MMAE（対照 ADC），DCDS4501A：ポラツズマブ　ベドチン，DCDS5017A：サロゲート ADC，MCDS1358A：サロゲート抗体，MCDS4409A：ポラツズマブ抗体。
注：被験物質はいずれも，Day 0に尾静脈から IV で単回投与した。

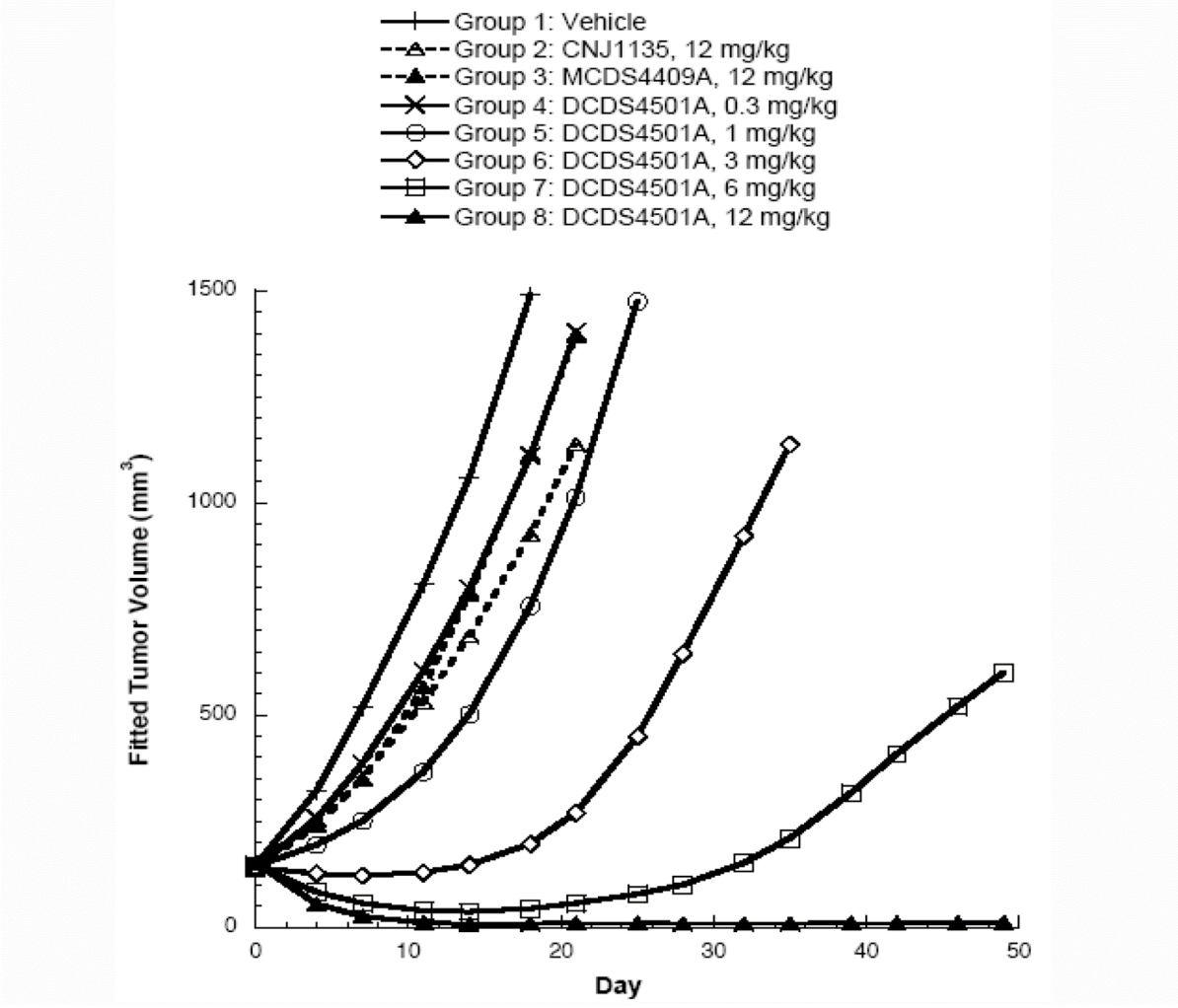
【4.2.1.1-7 Figure 1再掲】

2.6.2.2.2.2　ヒト DLBCL WSU-DLCL2を C.B-17 Fox Chase SCID マウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとポラツズマブ抗体の抗腫瘍効果

（資料番号：4.2.1.1-8）

ポラツズマブ　ベドチンの抗腫瘍効果を，ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルを用いて評価した。腫瘍体積が101～197 mm^3のマウスに，溶媒，ポラツズマブ　ベドチン（0.3，1，3，6，12 mg/kg），ポラツズマブ抗体（12 mg/kg），対照 ADC（抗 Her2-mc-vc-PAB-MMAE）（12 mg/kg）を単回で IV 投与した。ポラツズマブ　ベドチンは，溶媒群と比較して1 mg/kg 以上の投与群で明らかな用量依存的な腫瘍増殖抑制作用を示した（図 2.6.2.2.2.2-1）。6 mg/kg のポラツズマブ　ベドチン投与群では，PR（1/8例）及び CR（3/8例）がみられた。12 mg/kg のポラツズマブ　ベドチン投与群での抗腫瘍活性はより顕著であり，投与したすべてのマウスで腫瘍退縮が認められた〔PR（1/8例）及び CR（7/8例）〕。ポラツズマブ　ベドチンの単回投与による腫瘍増殖抑制作用は持続され，12 mg/kg のポラツズマブ　ベドチン投与群では CR（6/8例）がみられ，試験終了時まで維持した。一方，ポラツズマブ抗体及び対照 ADC（抗 Her2-mc-vc-PAB-MMAE）の12 mg/kg 投与群の腫瘍増殖抑制効果はごくわずかであった。

図 2.6.2.2.2.2-1　ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，又は対照 ADC 単回投与の抗腫瘍効果



CNJ1135：抗 Her2-mc-vc-PAB-MMAE（対照 ADC），DCDS4501A：ポラツズマブ　ベドチン，MCDS4409A：ポラツズマブ抗体。
注：被験物質はいずれも，Day 0に尾静脈からの IV で単回投与した。

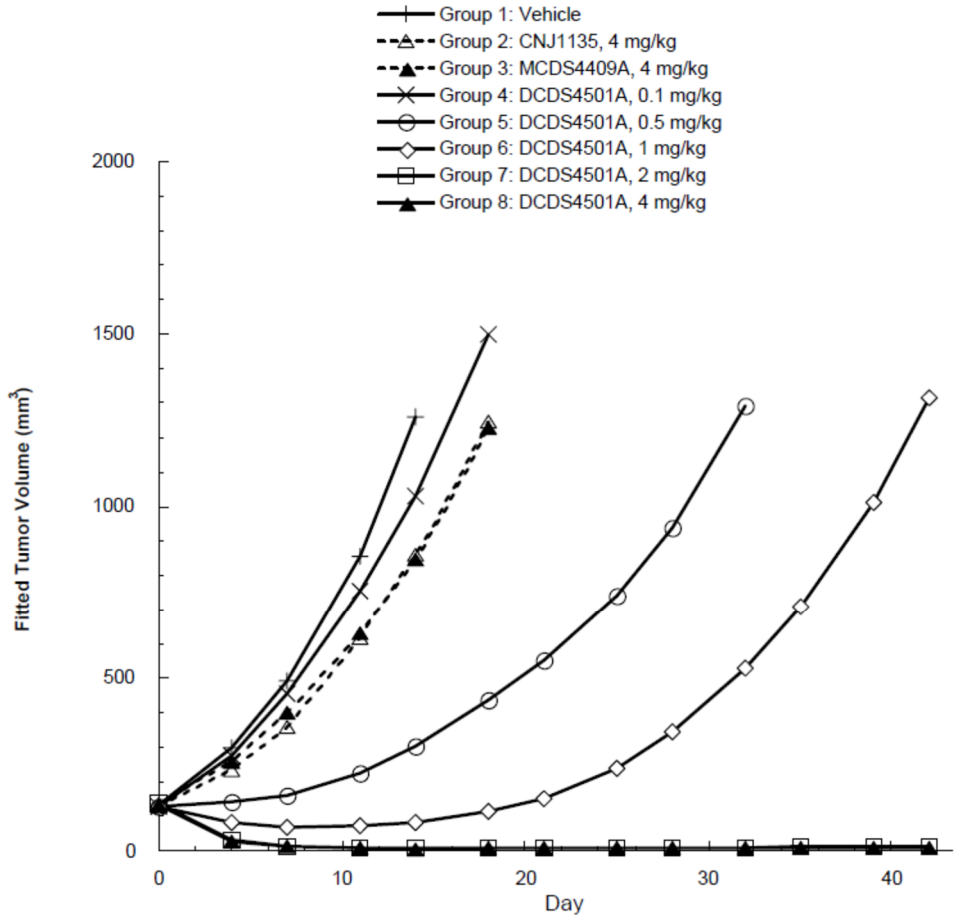
【4.2.1.1-8 Figure 1再掲】

2.6.2.2.2.3　ヒトバーキットリンパ腫 BJAB-luc を C.B-17 Fox Chase SCID マウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとポラツズマブ抗体の抗腫瘍効果

（資料番号：4.2.1.1-9）

ポラツズマブ　ベドチンの抗腫瘍効果を，ヒトバーキットリンパ腫 BJAB-luc（BJAB にルシフェラーゼ遺伝子を導入した細胞株）異種移植マウスモデルを用いて評価した。腫瘍体積が 105～177 mm^3のマウスに，溶媒，ポラツズマブ　ベドチン（0.1，0.5，1，2，4 mg/kg），ポラツズマブ抗体（4 mg/kg），あるいは対照 ADC（抗 Her2-mc-vc-PAB-MMAE）（4 mg/kg）を単回で IV 投与した。ポラツズマブ　ベドチンは溶媒群と比較して，0.5 mg/kg 以上の投与群で明らかな用量依存的な腫瘍増殖抑制作用を示した（図 2.6.2.2.2.3-1）。1 mg/kg のポラツズマブ　ベドチン投与群では，PR（4/8例）がみられた。2 mg/kg 以上のポラツズマブ　ベドチン投与群では最大の抗腫瘍活性を示し，投与したマウスの大多数で CR が認められた。ポラツズマブ　ベドチンによる単回投与の腫瘍増殖抑制作用は持続し，2 mg/kg 投与群の CR（7/8例）及び4 mg/kg 投与群の CR（8/8例）は，試験終了時まで維持された。一方，ポラツズマブ抗体及び対照 ADC（抗 Her2-mc-vc-PAB-MMAE）の4 mg/kg 投与群の腫瘍増殖抑制効果はごくわずかであった。

図 2.6.2.2.2.3-1　ヒトバーキットリンパ腫 BJAB-luc 異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ　ベドチン，ポラツズマブ抗体，又は対照 ADC の抗腫瘍効果



CNJ1135：抗 Her2-mc-vc-PAB-MMAE（対照 ADC），DCDS4501A：ポラツズマブ　ベドチン，MCDS4409A：ポラツズマブ抗体。
注：被験物質はいずれも，Day 0に尾静脈から IV で単回投与した。

【4.2.1.1-9 Figure 1再掲】

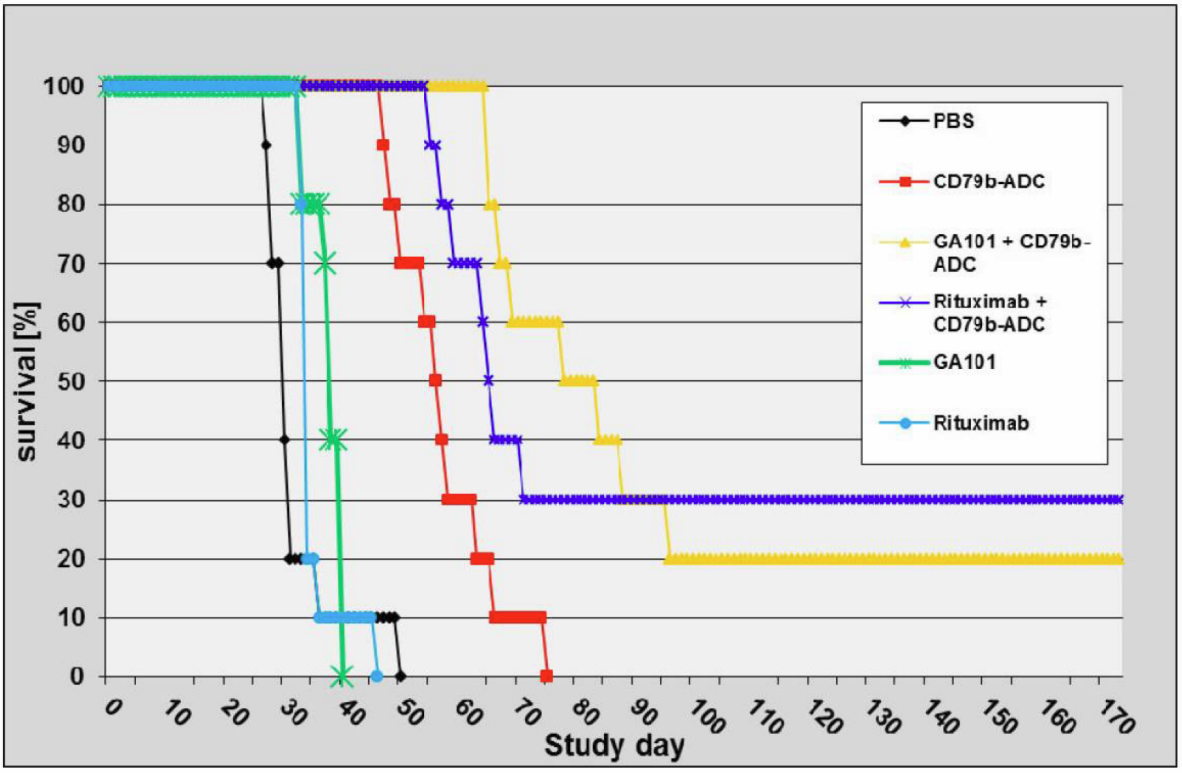
2.6.2.2.2.4　ヒト MCL Z138を SCID ベージュマウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンと抗 CD20抗体との併用効果

（資料番号：4.2.1.1-10）

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）との併用効果を，ヒト MCL Z138を SCID ベージュマウスに IV 投与して作製した異種移植マウスモデルを用いて評価した。Day 0に Z138細胞をマウスに IV 投与した後に，Day 21（腫瘍移植後）にマウスを無作為化し，溶媒〔PBS，週1回（QW）×3〕，ポラツズマブ　ベドチン（4 mg/kg，1回），抗 CD20抗体（リツキシマブ又はオビヌツズマブ，30 mg/kg，QW×3），あるいはポラツズマブ　ベドチン（4 mg/kg，1回）+ 抗 CD20抗体（リツキシマブ又はオビヌツズマブ，30 mg/kg，QW×3）を IV で併用投与した。すべてのマウスを1日1回モニタリングし，毛の汚れ，猫背の姿勢，呼吸困難，歩行運動障害及び／又は後肢麻痺などの有害な臨床症状がみられた場合は速やかに安楽死させた。

生存データはカプランーマイヤー曲線で表した。溶媒群の生存期間中央値（50%の生存）は30日であった。抗 CD20抗体リツキシマブ又はオビヌツズマブ単独投与群の生存期間中央値はそれぞれ34日又は38日であった。ポラツズマブ　ベドチンでは単独投与による明らかな抗腫瘍活性がみられ，抗 CD20抗体単独投与群に比較してその生存期間中央値が56.5日と延長していた。ポラツズマブ　ベドチンと抗 CD20抗体のリツキシマブ又はオビヌツズマブとの併用では，それぞれ生存期間中央値が65.5日又は81日と更に延長した（図 2.6.2.2.2.4-1）。

図 2.6.2.2.2.4-1　ヒト MCL Z138異種移植マウスモデルにおけるリツキシマブ，オビヌツズマブ，ポラツズマブ　ベドチン単独投与，及びポラツズマブ　ベドチンとリツキシマブ又はオビヌツズマブとの併用投与の生存期間



PBS：リン酸緩衝食塩水，CD79b-ADC：ポラツズマブ　ベドチン，GA101：オビヌツズマブ。
注：被験物質はいずれも，尾静脈から IV 投与した。Day 21にポラツズマブ　ベドチン（4 mg/kg）を単回投与した。溶媒（PBS），リツキシマブ（30 mg/kg）及びオビヌツズマブ（30 mg/kg）は，Day 21，Day 28及び Day 35に週1回投与した。

【4.2.1.1-10 Figure 1再掲】

2.6.2.2.2.5　ヒト DLBCL WSU-DLCL2を C.B-17 Fox Chase SCID マウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとリツキシマブ + 化学療法薬との併用効果

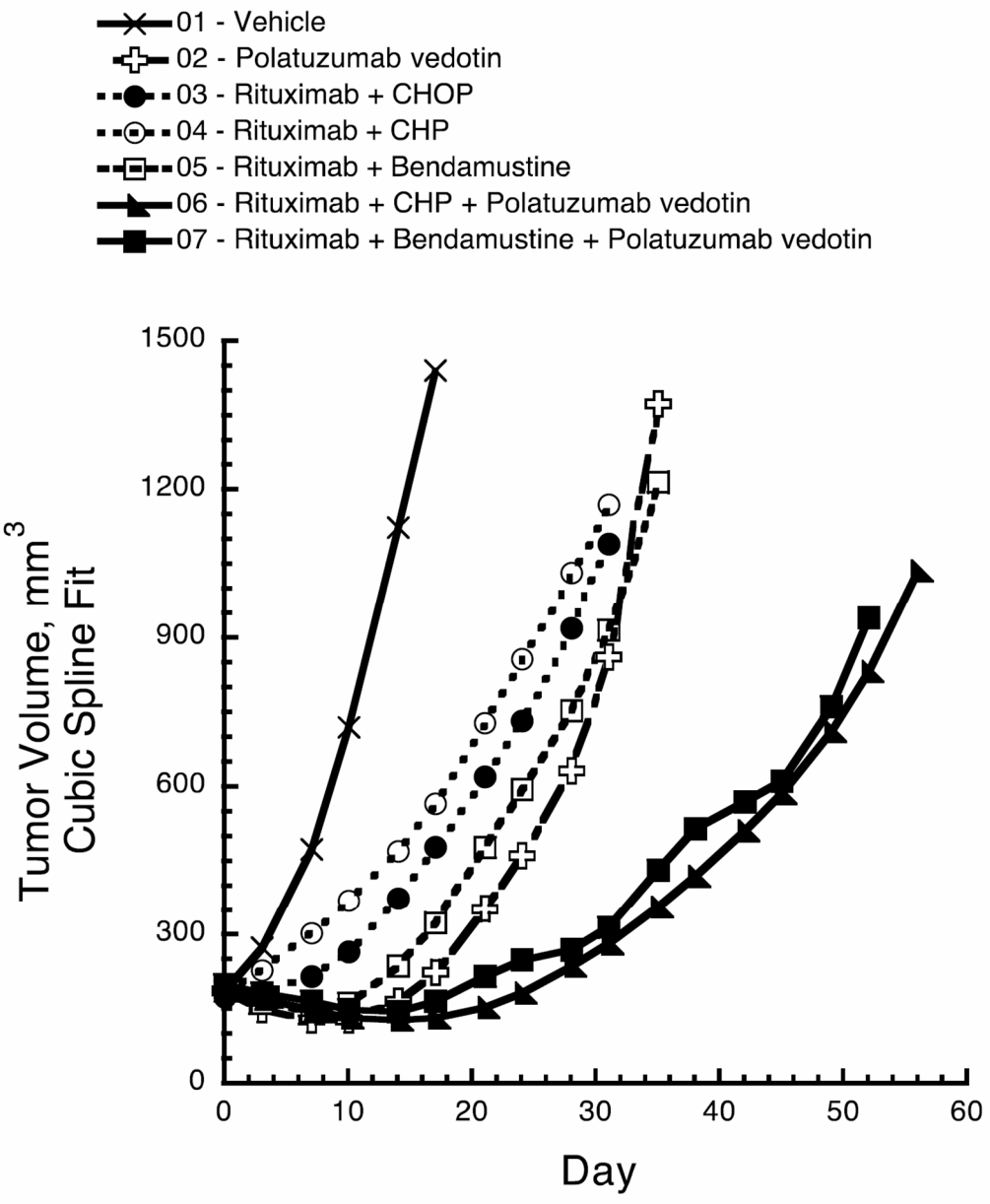
（資料番号：4.2.1.1-11）

リツキシマブ + 化学療法薬とポラツズマブ　ベドチンとの併用効果を，ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルを用いて評価した。腫瘍の平均体積が182 mm^3（142～270 mm^3の範囲）のマウスに，ポラツズマブ　ベドチンを単独投与，あるいはリツキシマブと化学療法薬〔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），又はベンダムスチン〕を併用投与した。

ポラツズマブ　ベドチン（2 mg/kg）の単独投与群では，溶媒群と比較して明らかな腫瘍増殖抑制効果がみられ，その TTD は21日，TGI は107%であった。リツキシマブ + 化学療法薬（CHP，CHOP，又はベンダムスチン）併用群でも明らかな腫瘍増殖抑制効果がみられ，それぞれ TTD が9.5日，13.5日及び18日，TGI が66%，80%及び102%であった。ポラツズマブ　ベドチンとリツキシマブ + 化学療法薬（CHP 又はベンダムスチン）の併用投与では，ポラツズマブ　ベドチン単独，又はリツキシマブ + 化学療法薬の併用群に比較して，より持続性のある有効性（それぞれ TTD が35日及び32.5日）が認められた（図 2.6.2.2.2.5-1）。単独投与及び併用投与群のいずれのマウスにおいても忍容性は良好であり，試験期間全体にわたり，その体

重減少は10%未満であった（データ未記載）。

図 2.6.2.2.2.5-1　ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとリツキシマブ + 化学療法薬との併用効果



C：シクロホスファミド，H：ドキソルビシン，O：ビンクリスチン，P：プレドニゾン，IP：腹腔内，IV：静脈内，PO：経口。
注：3次スプラインフィット法による各群の腫瘍体積を示す。Day 0から以下1）–3）のレジメンに従い，薬物の単独又は併用投与を開始した：1）リツキシマブ（30 mg/kg，IP，単回）；2）ベンダムスチン（30 mg/kg，IV，単回）又は CHO（それぞれ，30，2.475及び0.375 mg/kg，IV，単回）+ P（0.15 mg/kg，PO，1日1回×5）；3）ポラツズマブ　ベドチン（2 mg/kg，IV，単回）。

【4.2.1.1-11 Figure 1再掲】

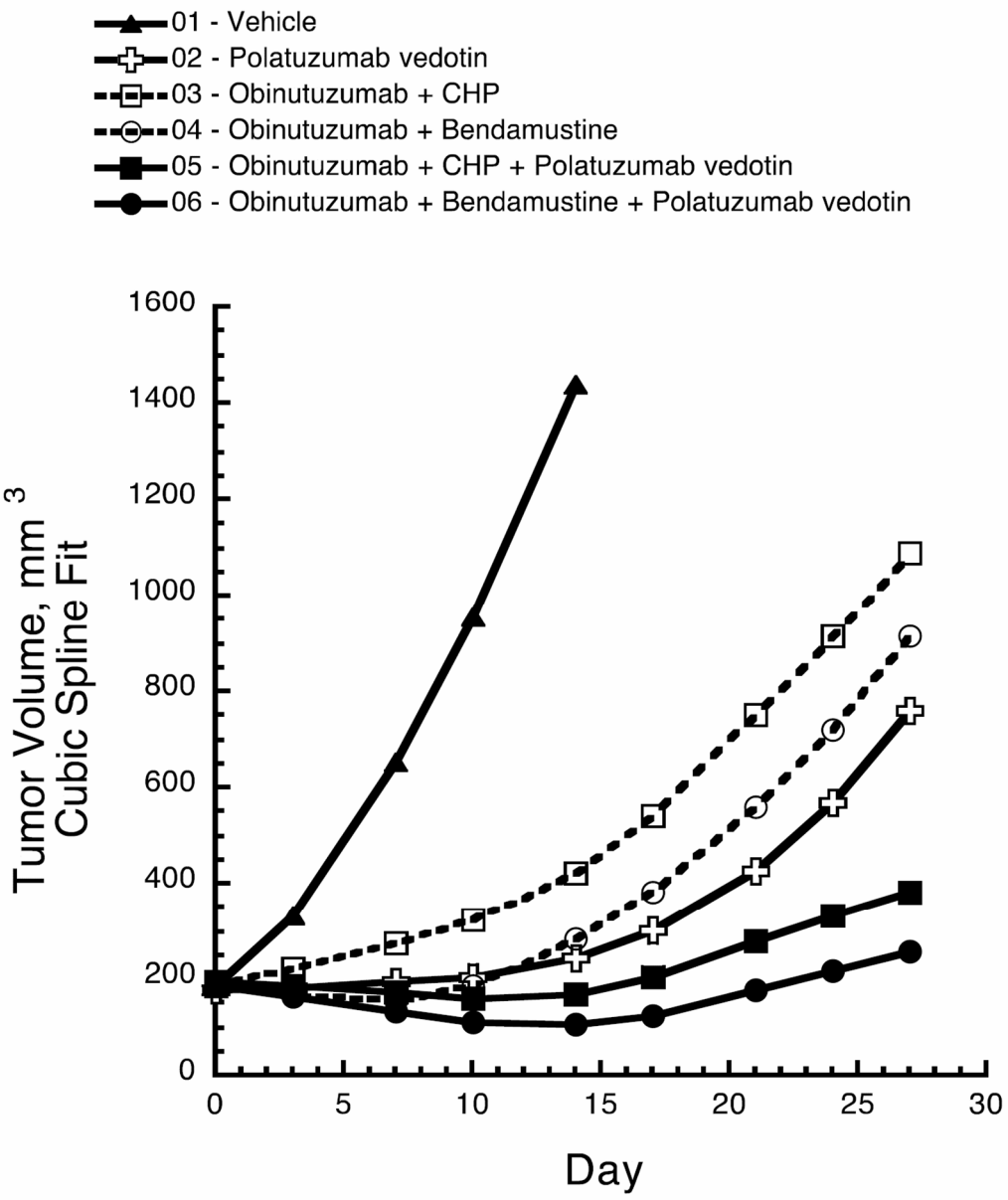
2.6.2.2.2.6　ヒト DLBCL WSU-DLCL2を C.B-17 Fox Chase SCID マウスに異種移植したモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとオビヌツズマブ + 標準療法薬 CHP 又はベンダムスチンとの併用効果

（資料番号：4.2.1.1-12）

オビヌツズマブ + 化学療法薬とポラツズマブ　ベドチンの併用効果を，ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルを用いて評価した。腫瘍が平均体積177 mm^3（131～284 mm^3の範囲）に達したときにマウスへの投与を開始した。

2 mg/kg のポラツズマブ　ベドチンの単独投与群では，溶媒群と比較して明らかな腫瘍増殖抑制効果がみられ，その TTD は18.5日，TGI は96%であった。オビヌツズマブ + 化学療法薬（CHP 又はベンダムスチン）でも明らかな腫瘍増殖抑制効果がみられ，それぞれ TTD が11日及び16日，TGI が81%及び102%であった。ポラツズマブ　ベドチンとオビヌツズマブ + 化学療法（CHP 又はベンダムスチン）との併用では，ポラツズマブ　ベドチン単独，又はオビヌツズマブ + 化学療法薬の併用群と比較して，より持続性のある有効性（それぞれ TTD が24.5日及び > 27日）が認められた（図 2.6.2.2.2.6-1）。単独投与及び併用投与群のいずれのマウスにおいても忍容性は良好であり，試験期間全体にわたり，その体重減少は10%未満であった（データ未記載）。

図 2.6.2.2.2.6-1　ヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルにおけるポラツズマブ　ベドチンとオビヌツズマブ + 化学療法薬との併用効果



C：シクロホスファミド，H：ドキソルビシン，P：プレドニゾン，IP：腹腔内，IV：静脈内，PO：経口。
注：3次スプラインフィット法による各群の腫瘍体積を示す。Day 0から以下1）–3）のレジメンに従い，薬物の単独又は併用投与を開始した：1）オビヌツズマブ（30 mg/kg，IP，単回）；2）ベンダムスチン（30 mg/kg，IV，単回）又は CH（それぞれ，30及び2.475 mg/kg，IV，単回）+ P（0.15 mg/kg，PO，1日1回×5）；3）ポラツズマブ　ベドチン（2 mg/kg，IV，単回）。

【4.2.1.1-12 Figure 1再掲】

2.6.2.2.3　カニクイザルにおけるサロゲート ADC の PD 作用

2.6.2.2.3.1　サロゲート ADC 及びサロゲート抗体の単回静脈内投与による PK/PD 試験

（資料番号：4.2.1.1-13）

単回投与時の PK/PD 作用を調べる試験の一部として，サロゲート ADC 及びサロゲート抗体の PD 作用をカニクイザルにて評価した。カニクイザルにサロゲート抗体（3 mg/kg）又はサ

ロゲート ADC（0.3，1，3 mg/kg）を単回 IV ボーラス投与した後に，末梢血 B リンパ球（$CD20^+$）の減少作用を調べた。

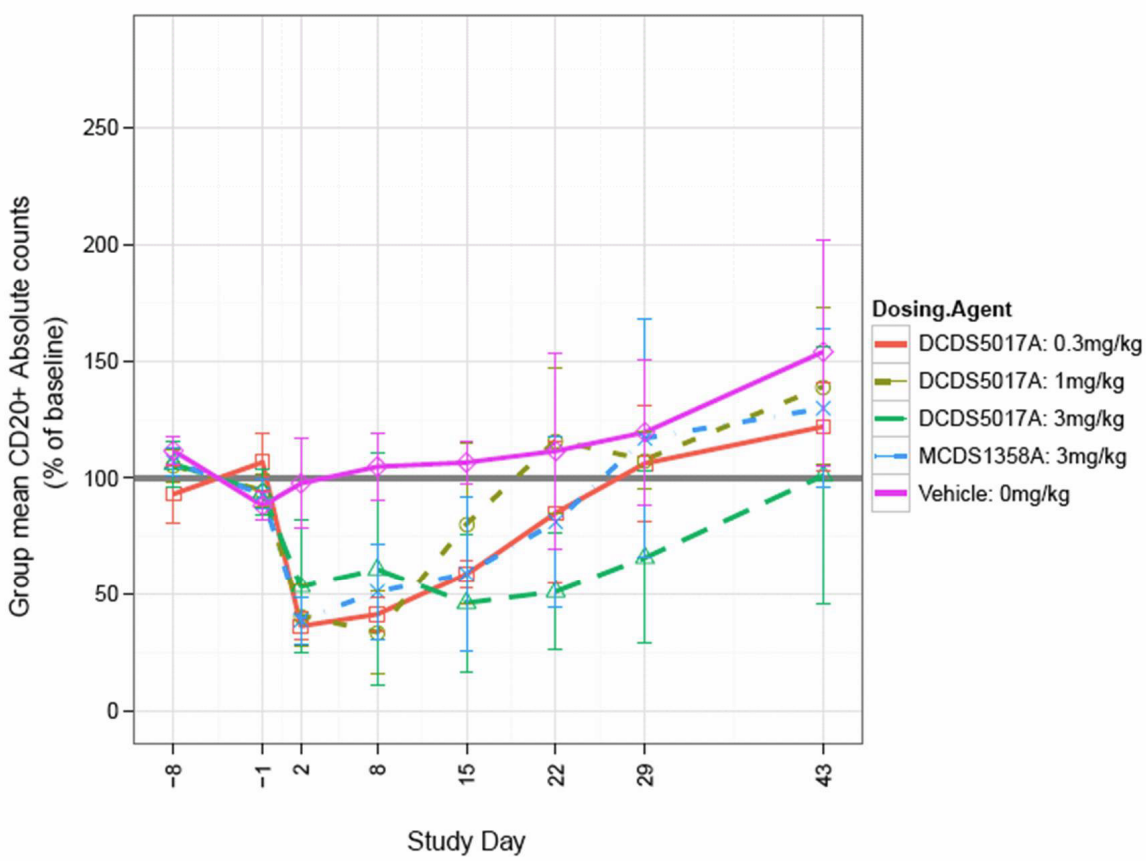
サロゲート ADC 又はサロゲート抗体を投与したカニクイザルでは共に，末梢血 $CD20^+$リンパ球の枯渇がみられた。サロゲート抗体（3 mg/kg）投与群における $CD20^+$リンパ球の絶対数〔%baseline（BL）：薬物投与前平均値に対する割合〕は Day 2に38.91%BL に低下した後に，Day 8では ＞50%BL に回復した。サロゲート ADC （0.3，1及び3 mg/kg）のすべての群における% BL の最大値は，Day 2（36.4%BL），Day 8（33.76%BL）に低下した後に，Day 22では ＞50%BL に回復した。投与後の初期において，サロゲート ADC（3 mg/kg）投与群の $CD20^+$リンパ球の減少作用は，サロゲート ADC （0.3及び1 mg/kg）投与群又はサロゲート抗体（3 mg/kg）投与群と比較して同程度であったが，減少作用の持続期間はより長かった（図 2.6.2.2.3.1-1）。T 細胞又はナチュラルキラー（NK）細胞の濃度において，サロゲート ADC 投与群又はサロゲート抗体投与群と溶媒投与群との間に実質的な差は認められなかった。

Ki-67の発現は，細胞増殖と密接に関連していることが報告されている[19)]。サロゲート ADC の増殖細胞に対する枯渇作用を評価するために，フローサイトメトリーにて，サロゲート ADC（3 mg/kg）投与後の末梢血 CD20陽性 Ki-67陽性（$CD20^+Ki\text{-}67^+$）リンパ球数とサロゲート抗体（3 mg/kg）投与後の末梢血 $CD20^+Ki\text{-}67^+$リンパ球数を比較した。

サロゲート ADC（3 mg/kg）を投与したカニクイザルでは，Day 15での末梢血 $CD20^+Ki\text{-}67^+$リンパ球（増殖 B 細胞）の絶対数（%BL）は，Ki-67陰性末梢血発現 $CD20^+$（$CD20^+Ki\text{-}67^-$；休止 B 細胞）リンパ球の絶対数（%BL）よりも低く，Day 22にその差が観察されなくなった（図 2.6.2.2.3.1-2）。対照的にサロゲート抗体（3 mg/kg）又は溶媒を投与したカニクイザルでは，Day 15の時点ですでに末梢血 $CD20^+Ki\text{-}67^+$リンパ球と $CD20^+Ki\text{-}67^-$リンパ球との絶対数（%BL）の間に明らかな差は認められなかった。これらの結果は，サロゲート ADC のカニクイザルへの投与により増殖性 B 細胞が優先的に枯渇されることを示しており，この増殖性 B 細胞の減少にはサロゲート ADC の抗有糸分裂作用が起因していることが推定される。

本試験の PK に関する結果は，2.6.4.3.1.2に要約した。

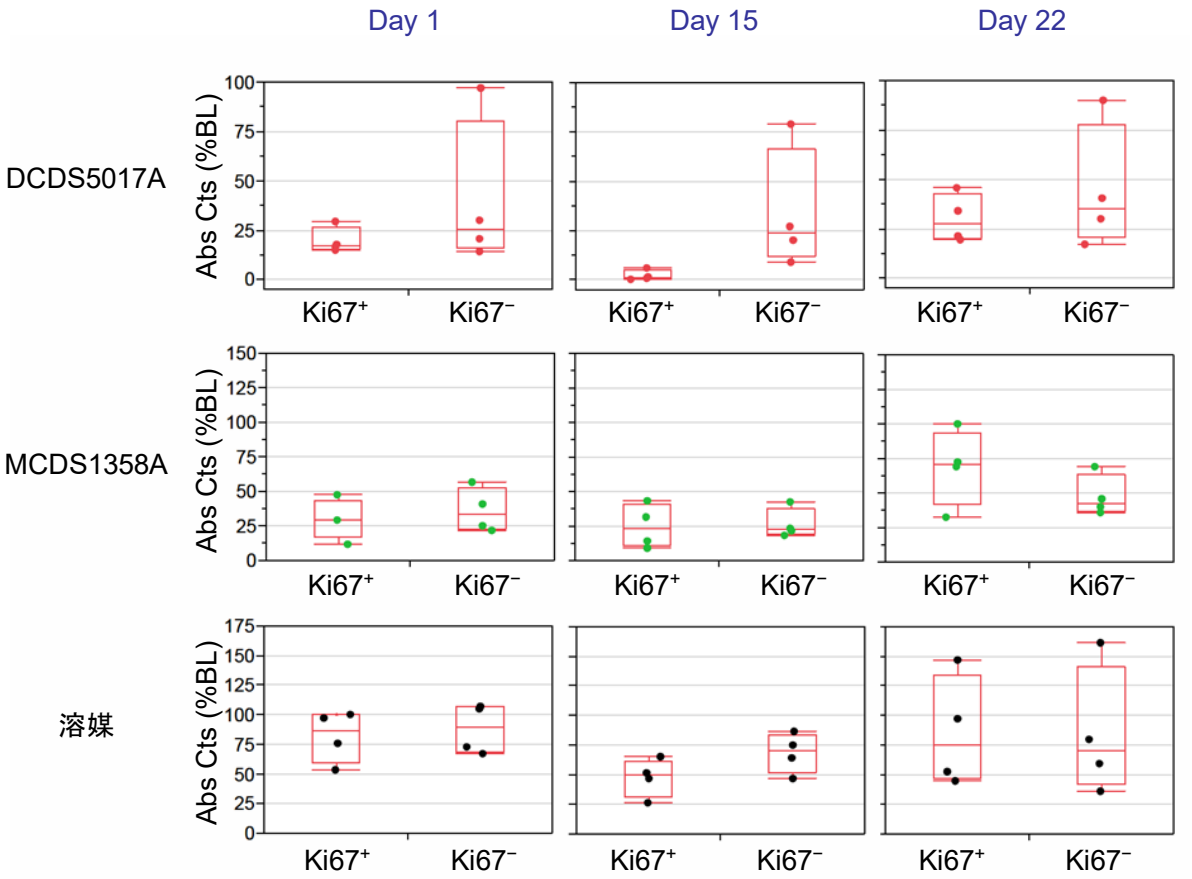
図 2.6.2.2.3.1-1　サロゲート ADC（0，0.3，1，3 mg/kg）又はサロゲート抗体（3 mg/kg）単回静脈内投与後のカニクイザル末梢血における群平均（±SD）$CD20^+$絶対数（%BL）



DCDS5017A：サロゲート ADC，MCDS1358A：サロゲート抗体。
注：絶対数（%BL）はゲートされたリンパ球の割合であり，各動物のベースライン（薬物投与前平均値）に対する割合として表される。

【4.2.1.1-13 Figure 1再掲】

図 2.6.2.2.3.1-2　サロゲート ADC（3 mg/kg），サロゲート抗体（3 mg/kg），又は溶媒の単回静脈内投与後のカニクイザル末梢血における CD20⁺Ki-67⁺及び CD20⁺Ki-67⁻の絶対数（%BL）



Abs Cts：絶対数，BL：ベースライン，DCDS5017A：サロゲート ADC，MCDS1358A：サロゲート抗体。
注：絶対数（%BL）は，ゲートされたリンパ球の割合であり，各動物のベースライン時の割合として表される。
溶媒：n = 4，サロゲート ADC：n = 4，サロゲート抗体：n = 4。各ボックスプロット内の水平線はその群の中央値を表し，各ボックスプロットのスパンは各集団の25%と75%の四分位数を表し，ひげは範囲を表す。各群の個々のカニクイザルの値は点で示している。

【4.2.1.1-13 Figure 6を改変】

2.6.2.2.3.2　ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の反復静脈内投与時の毒性，トキシコキネティクス，及び安全性薬理試験

〔資料番号：4.2.1.1-14（4.2.3.2-4と同じ）〕

ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の PD 作用については，カニクイザルを用いた反復 IV 投与毒性試験の中でトキシコキネティクス及び安全性薬理試験の一環として検討した。ポラツズマブ　ベドチン（1，3，5 mg/kg）又はサロゲート ADC（3，5 mg/kg）の反復 IV 投与後の末梢血 B リンパ球（CD20⁺）の減少は，3週間に1回，合計4回の投与後に9週間の回復期間を設定し，評価した。

サロゲート ADC の反復 IV 投与後，末梢血 CD20⁺リンパ球は減少した。最大の減少は，3 mg/kg 及び5 mg/kg 投与群のサロゲート ADC でそれぞれ Day 50（21%BL）及び Day 71（16%BL）に認められた。すべての試験動物において，回復期間の最終日までに CD20⁺リンパ球の回復（> 40%BL）が観察された。

予想されたように，カニクイザルへのポラツズマブ　ベドチン（カニクイザルにおける非結合型 ADC）又は溶媒の投与は CD20⁺リンパ球数を減少させなかった。また，T リンパ球及び

NK リンパ球数において，サロゲート ADC 又はポラツズマブ　ベドチン投与群と溶媒投与群の動物間に実質的な差はみられなかった。

本試験の毒性に関する結果は，2.6.6.3.4に要約した。

2.6.2.3　副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施しなかった。

2.6.2.4　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学的評価は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（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。

2.6.2.4.1　MMAE の *in vitro* hERG 試験

（資料番号：4.2.1.3-1）

hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を用いて，MMAE の hERG K^+電流に与える影響を検討した（マニュアルパッチクランプ法）。MMAE による hERG K^+電流の阻害率は10 µmol/L で1.8±0.1%（平均値±標準誤差，n=3），100 µmol/L で13.6±2.6%（平均値±標準誤差，n=3）であり，100 µmol/L での hERG K^+電流阻害作用は対照群と比較して統計学的に有意であった。本試験で用いた最高濃度が100 µmol/L であったことから，MMAE の hERG 阻害作用の IC_{50}は100 µmol/L 以上と考えられた。

血漿タンパク結合がないと仮定したときの MMAE のヒト hERG チャネルに対する IC_{50}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_{max}（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。

2.6.2.4.2　*In vivo* 試験

（資料番号：4.2.3.2-2，4.2.3.2-4）

ラットにポラツズマブ ベドチンを0（溶媒），2，6，及び10 mg/kg 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（2.6.6.3.2）。また，カニクイザルに，ポラツズマブ ベドチンの0（溶媒），1，3，5 mg/kg，又はサロゲート ADC の3，5 mg/kg を3週間に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（2.6.6.3.4）。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

薬物相互作用試験は実施しなかった。

2.6.2.6　考察及び結論

ポラツズマブ　ベドチンはヒト B 細胞上の CD79b を特異的に認識するが，カニクイザル B 細胞には結合しない。そのため，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，カニクイザルを対象とした毒性試験及び PK/PD 試験を実施した。サロゲート ADC 及びポラツズマブ　ベドチンはそれぞれ，カニクイザル及びヒト CD79b のタンパク N 末端の

同一領域に位置する類似のエピトープを認識した[4]。

サロゲート ADC とポラツズマブ　ベドチンの同等性を検証するために，これら二つの ADC の薬理学的特性を比較検討した。*In vitro* 結合試験では，カニクイザル CD79b へのサロゲート ADC の親和性は，ヒト CD79b へのポラツズマブ　ベドチンの親和性と同程度であることが確認された。*In vivo* 抗腫瘍試験においても，ヒト及びカニクイザルの CD79b を同程度発現する腫瘍異種移植マウスモデルにおいて，ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC の腫瘍増殖抑制効果は同程度であることが確認された。これらの結果から，カニクイザルでの抗原依存的な毒性及び抗原非依存的な毒性評価において，サロゲート ADC を使用することは妥当であることが実証された。

一連の薬理試験によって，ポラツズマブ　ベドチンの MOA は，主に細胞傷害性薬剤 MMAE が標的細胞である CD79b 陽性細胞へ選択的に移行されることに起因することを明らかにした。*In vitro* での細胞生存率アッセイにおいて，MMAE は CD79b 発現の有無にかかわらず同程度に細胞増殖を抑制したが，ポラツズマブ　ベドチンは CD79b 陽性 Ramos 細胞のみにおいて増殖抑制活性を示した。CD79b 陰性 Jurkat 細胞において，ポラツズマブ　ベドチンは増殖抑制活性を示さなかった。*In vivo* での CD79b 陽性腫瘍異種移植マウスモデルにおいて，ポラツズマブ　ベドチンは用量依存的な腫瘍増殖抑制効果を示したが，CD79b に結合しない対照 ADC では，ポラツズマブ　ベドチンが完全寛解をもたらした用量と同じ用量を投与した場合でも，有効性はみられず，あったとしてもごくわずかであった。また，上述のいずれの試験においてもポラツズマブ抗体の腫瘍増殖抑制効果は認められないか，認められてもごくわずかであったことから，標的細胞を介したポラツズマブ抗体の腫瘍増殖抑制作用への寄与はごくわずかであることが示唆された。

細胞表面における CD79b の存在はポラツズマブ　ベドチンが活性を発揮するための前提条件であるが，CD79b 単独の発現レベルの評価は，*in vitro* におけるポラツズマブ　ベドチンの活性を正確に判断するための予測因子とはならない[7]。ポラツズマブ　ベドチンの細胞増殖抑制活性は，細胞表面に CD79b を広範囲に発現する DLBCL 細胞株で認められた一方で，CD79b を非常に低レベルで発現する細胞株でもみられた[7]。これらのことは，ポラツズマブ　ベドチンの効力には，腫瘍細胞の MMAE 感受性又は細胞中への抗体移行速度などの他の因子も寄与している可能性を示しており，臨床現場において，患者の反応を予測することを目的に，表面 CD79b 発現レベルを設定することは困難であることを示唆している。

臨床では B 細胞性悪性リンパ腫の代表的なレジメンとして， CHOP 療法が汎用されている。CD79b と CD20の両抗原を発現するヒト DLBCL WSU-DLCL2異種移植マウスモデルでの *in vivo* 試験において，リツキシマブ + CHOP の併用は腫瘍増殖を抑制したが，CHOP 中のビンクリスチン（全身性抗有糸分裂化学療法薬）（O）をポラツズマブ　ベドチンに置き換えたリツキシマブ + CHP + ポラツズマブ　ベドチンの併用は，リツキシマブ + CHOP 併用投与と比較して腫瘍増殖抑制効果を大幅に増強させた。これは WSU-DLCL2腫瘍細胞での *in vitro* 試験において，抗 CD20抗体とポラツズマブ　ベドチンとの併用が標識ポラツズマブ　ベドチン（抗 CD79b-vc-[^{3}H]MMAE）の取り込み又は異化に影響を及ぼさなかったという所見と一致する。

ポラツズマブ　ベドチンは Fc 領域を有することから，細胞傷害活性を担うエフェクター分子である FcγR や補体と結合し，ADCC や CDC 等のエフェクター機能を引き起こすことが予想される。しかしながら，抗腫瘍活性に対するポラツズマブ　ベドチンによるエフェクター機能の寄与は，MMAE を介した抗腫瘍活性に比較してはるかに少ないことが，以下の論文知見及び薬理試験の結果から推察された。

いくつかの論文知見から，患部リンパ組織へ到達するエフェクター細胞は限られていること，またエフェクター機能の発現に対して阻害要因となる細胞微小環境が存在することから[20) –22)]，患部リンパ組織においてエフェクター機能が増強される可能性は低いことが示唆されている。更にエフェクター機能の発揮のためには，標的分子が高密度で発現していること，また抗

CD79b 抗体は CD79b に結合すると迅速に腫瘍内に移行することが必要である。これらの事象はいずれも，抗体のエフェクター機能というよりも MMAE の抗腫瘍活性の発揮により有利な要因である[7),8),23),24)]と考えられる。*In vivo* SCID マウス異種移植マウスモデルでの試験では，ポラツズマブ　ベドチン投与群のマウスに著明な腫瘍増殖抑制効果（腫瘍退縮）がみられたが，ポラツズマブ　ベドチン投与群が腫瘍退縮を示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の腫瘍増殖抑制効果はわずかであった。また，一連の FcγR での *in vitro* 結合試験において，ポラツズマブ　ベドチンは各種 FcγR に結合したものの，細胞ベースのアッセイでは中程度の ADCC 活性しか検出されず，CDC 活性は検出されなかった。一方，陽性対照のリツキシマブは，強力な ADCC 及び CDC 活性を示した。CD79b を発現する腫瘍細胞の大多数が CD20も発現する[25)]ことを考慮すると，リツキシマブ等の抗 CD20抗体とポラツズマブ　ベドチンを併用したときには，有効性に対するポラツズマブ　ベドチンよるエフェクター機能の寄与は更に小さくなると予想される[5),26)]。

サイトカイン放出症候群に対するポラツズマブ　ベドチンの影響については，PBMC を用いての *in vitro* 試験で評価した。ヒト PBMC をポラツズマブ抗体に曝露したときに，30パネルの内 IP-10及び IL-1α の2つのサイトカイン濃度に上昇が認められた。カニクイザル PBMC での試験においては，本動物に対する特異的なアッセイがなかったために，IP-10及び IL-1α 濃度の変動を評価できなかったが，本動物において，ポラツズマブ　ベドチン及びサロゲート ADC のサイトカイン放出症候群との関連性を示唆する変化は認められなかった（2.6.6.3.4，2.6.6.9.2）。一方，TNF-α，IFN-γ，IL-6及び IL-10などのサイトカイン放出症候群に関与することが知られている炎症誘発性サイトカイン[15)]は，ポラツズマブ抗体及びヒト PBMC を用いての *in vitro* 試験で増加しなかった。

カニクイザルへの単回投与及び反復投与試験の結果から，サロゲート ADC の薬理活性は末梢血 $CD20^+$ B 細胞を枯渇させることであることが明らかとなった（2.6.2.2.3及び2.6.6.3.4）。サロゲート ADC 又はサロゲート抗体を投与したいずれの動物においても初期に $CD20^+$ B 細胞が同程度枯渇したが，サロゲート ADC は，サロゲート抗体と比較して末梢血中 B 細胞を長期にわたり枯渇させた。この長期にわたる B 細胞の枯渇は，増殖性 $CD20^+Ki\text{-}67^+$ B 細胞の優先的な枯渇を特徴とし，サロゲート ADC の成分である MMAE の抗有糸分裂作用に起因するものと推定された。予想されたように，カニクイザル CD79b を認識しないポラツズマブ　ベドチンを投与した動物では $CD20^+$ B 細胞の減少はみられず（2.6.6.3.4），冒頭に述べたサロゲート ADC がカニクイザルの CD79b に特異的に結合するとの知見に加えて，本所見からも毒性試験でサロゲート ADC を使用することが妥当であることが裏付けられた。また，CD79b を発現しない他のリンパ球系 T 細胞及び NK 細胞において，溶媒投与群とポラツズマブ　ベドチン又はサロゲート ADC 投与群との間に実質的な差がみられなかったという所見は，先に述べたポラツズマブ　ベドチンが CD79b 陰性腫瘍細胞で効力を示さなかったという結果と伴に，ポラツズマブ　ベドチン及びそのサロゲート ADC が標的依存的に抗腫瘍活性を発揮することを支持するものであった。

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，血漿タンパク結合がないと仮定したときの MMAE のヒト hERG チャネルに対する IC_{50}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_{max}（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[27)]。

以上のように，ポラツズマブ ベドチンの非臨床薬理試験成績は，臨床での有効性及び安全性成績と一致しており，B 細胞悪性腫瘍の有望な治療法としてポラツズマブ ベドチンを臨床開発するための理論的な根拠を示していると考えられる。

2.6.2.7　図表

本文中に記載。

2.6.2.8　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 Pharmcol 2019;176:3805-18.
2) Koyama M, Ishihara K, Karasuyama H, Cordell JL, Iwamoto A, Nakamura T. CD79α/CD79β heterodimers are expressed on pro-B cell surfaces without associated μ 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, Cerveny 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 antimitotic 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, Cerveny CG, Chace DF, et al. Development of potent monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy. Nat Biotechnol 2003;21:778-84.
13) Francisco JA, Cerveny 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) Niiro H, Clark EA. Regulation of B-cell fate by antigen-receptor signals. Nat Rev Immunol 2002;2:945-56.
15) 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.
16) Golay J, Zaffaroni L, Vaccari T, Lazzari M, Borleri G-M, Bernasconi S, et al. Biologic response of B lymphoma cells to anti-CD20 monoclonal antibody rituximab in vitro: CD55 and CD59 regulate complement-mediated cell lysis. Blood 2000;95:3900-8.
17) Ferrone S, Cooper NR, Pellegrino MA, Reisfeld RA. The lymphocytotoxic reaction: the mechanism of rabbit complement action. J Immunol 1971;107:939-47.

18）Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, the R Core team. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R package, version 3.1-89.2008.
19）Schlüter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker MHG, Key G, Flad H-D, et al. The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins. J Cell Biol 1993;123:513-22.
20）Gong Q, Ou Q, Ye S, Lee WP, Cornelius J, Diehl L, et al. Importance of cellular microenvironment and circulatory dynamics in B cell immunotherapy. J Immunol 2005;174:817-26.
21）Townsend MJ, Monroe JG, Chan AC. B-cell targeted therapies in human autoimmune diseases: an updated perspective. Immunol Rev 2010;237:264-83.
22）Fuh FK, Looney C, Li D, Poon KA, Dere RC, Danilenko DM, et al. Anti-CD22 and anti-CD79b antibody-drug conjugates preferentially target proliferating B cells. Br J Pharmacol 2017;174:628-40.
23）Mimura K, Kono K, Hanawa M, Kanzaki M, Nakao A, Ooi A, et al. Trastuzumab-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity against esophageal squamous cell carcinoma. Clin Cancer Res 2005;11:4898-904.
24）van Meerten T, van Rijn RS, Hol S, Hagenbeek A, Ebeling SB. Complement-induced cell death by rituximab depends on CD20 expression level and acts complementary to antibody-dependent cellular cytotoxicity. Clin Cancer Res 2006;12:4027-35.
25）Chu PG, Loera S, Huang Q, Weiss LM. Lineage determination of $CD20^{-}$ B-Cell neoplasms: an immunohistochemical study. Am J Clin Pathol 2006;126:534-44.
26）de Jong MRW, Visser L, Huls G, Diepstra A, van Vugt M, Ammatuna E, et al. Identification of relevant drugable targets in diffuse large B-cell lymphoma using a genome-wide unbiased CD20 guilt-by association approach. PLoS ONE 2018;13:e0193098.
27）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.

目次

2.6.3 薬理試験概要表 3
2.6.3.1 薬理試験一覧表 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 11
2.6.3.4 安全性薬理試験 12
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 13

表一覧

表 2.6.3.1-1 薬理試験一覧表 3
表 2.6.3.2-1 効力を裏付ける試験 5
表 2.6.3.4-1 安全性薬理試験 12

略語一覧

略語	英名	和名
ACN	acetonitrile	アセトニトリル
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
BL	baseline	ベースライン
CDC	complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害
CH	cyclophosphamide, doxorubicin	シクロホスファミド，ドキソルビシン併用療法
CHO	cyclophosphamide, doxorubicin, and vincristine	シクロホスファミド，ドキソルビシン，ビンクリスチン併用療法
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
CR	complete response	完全奏効
DLBCL	diffuse large B-cell lymphoma	びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫
EC_{50}	half-maximal effective concentration	50%有効濃度
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫測定法
FcγR	Fc gamma receptor	Fcγ 受容体
gD	glycoprotein-D	糖タンパク質-D
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
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児由来腎臓
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ネル遺伝子
HPLC	high-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IL	interleukin	インターロイキン
IP	intraperitoneal	腹腔内
IP-10	interferon-inducible protein 10	インターフェロン誘導タンパク質10
IV	intravenous	静脈内
K_d	equilibrium dissociation constant	平衡解離定数
mc-vc-PAB	maleimidocaproyl-valine-citrulline-*p*-aminobenzyloxycarbonyl	maleimidocaproyl-valine-citrulline-*p*-aminobenzyloxycarbonyl
MMAE	monomethyl auristatin E	モノメチルアウリスタチン E
PAB	*p*-aminobenzyloxycarbonyl	*p*-aminobenzyloxycarbonyl
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PO	per os	経口
PR	partial response	部分奏効
Q3W	once every 3 weeks	3週間に1回
QW	weekly	週1回
RP-HPLC	reversed-phase high-performance liquid chromatography	逆相高速液体クロマトグラフィー
SCID	severe combined immunodeficient	重症複合免疫不全症
TGI	tumor growth inhibition	腫瘍増殖阻害
TTD	time to tumor doubling	腫瘍倍加時間

2.6.3　薬理試験概要表

2.6.3.1　薬理試験一覧表

表 2.6.3.1-1　薬理試験一覧表

Test Article: Polatuzumab vedotin

Type of Study	Test System / Species	Method of Administration	Testing Facility	Report No.	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics					
Species binding specificity assay	PBMCs	*In vitro*	Genentech	[redacted]-2535	4.2.1.1-1
Cell-based equilibrium binding assay	Transfected BJAB cells	*In vitro*	Genentech	[redacted]-2298	4.2.1.1-2
Anti-proliferation study	Human B and T cell lines	*In vitro*	Genentech	[redacted]-2308	4.2.1.1-3
Cytokine release study	PBMCs	*In vitro*	Genentech	[redacted]-2299	4.2.1.1-4
FcγR, ADCC and CDC assays	FcγRs, BJAB cells	*In vitro*	Genentech	[redacted]-2764	4.2.1.1-5
Polatuzumab vedotin uptake and catabolism with anti-CD20 antibody	WSU-DLCL2 and HT tumor cells	*In vitro*	Genentech	[redacted]-0682	4.2.1.1-6
Comparing efficacy of DCDS4501A and DCDS5017A against BJAB-PD.cyCD79b.E3 xenograft	Mouse: C.B-17 Fox Chase SCID	IV	Genentech	[redacted]-0406 B	4.2.1.1-7
Effect of MCDS4409A and DCDS4501A against WSU-DLCL2 xenograft	Mouse: C.B-17 Fox Chase SCID	IV	Genentech	[redacted]-0406 D	4.2.1.1-8
Effect of MCDS4409A and DCDS4501A against BJAB-luc xenograft	Mouse: C.B-17 Fox Chase SCID	IV	Genentech	[redacted]-0406 E	4.2.1.1-9
Antitumor activity of a combination of GA101 with a CD79b antibody–drug conjugate compared to combination with Rituximab in a Z138 xenograftt	Mouse: SCID beige	IV	Roche	[redacted]48504	4.2.1.1-10
Efficacy of DCDS4501A with R-CHP (Rituximab plus CHP) or R-Bendamustine against WSU-DLCL2 xenograft	Mouse: C.B-17 Fox Chase SCID	IP, IV, PO	Genentech	[redacted]-0599	4.2.1.1-11
Efficacy of anti-CD79b-mc-vc-PAB-MMAE with anti-CD20 antibody GA101 plus CHP or Bendamustine against WSU-DLCL2 xenograft	Mouse: C.B-17 Fox Chase SCID	IP, IV, PO	Genentech	[redacted]-3262 B	4.2.1.1-12

表 2.6.3.1-1　薬理試験一覧表（続）

Test Article: Polatuzumab vedotin

Type of Study	Test System / Species	Method of Administration	Testing Facility	Report No.	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics (cont'd)					
Single-dose pharmacokinetic and pharmacodynamic study	Cynomolgus monkey	IV	[redacted]	[redacted]-0899	4.2.1.1-13
Multiple-dose toxicity, toxicokinetic, and cardiovascular safety pharmacology study	Cynomolgus monkey	IV	[redacted]	[redacted]-0044 [a]	4.2.1.1-14 (4.2.3.2-4)
Safety Pharmacology					
hERG channel current assay	HEK293 cells	*In vitro*	[redacted]	[redacted]-0611 [a]	4.2.1.3-1
Central nervous system	Rat: Sprague-Dawley	IV	[redacted]	[redacted]-0898 [a]	4.2.3.2-2
Cardiovascular, central nervous, and respiratory system	Cynomolgus monkey	IV	[redacted]	[redacted]-0044 [a]	4.2.3.2-4

PBMC = Peripheral blood mononuclear cell; FcγR = Fc gamma receptor; ADCC = antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; CDC = complement-dependent cytotoxicity; DCDS4501A = polatuzumab vedotin; DCDS5017A = surrogate ADC; SCID = severe combined immunodeficient; IV = intravenous; MCDS4409A = polatuzumab antibody; IP = intraperitoneal; PO = oral; GLP = Good Laboratory Practice.

a GLP study.

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

In vitro 試験

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験

Test Article: Polatuzumab vedotin

Study Type	**Test system**	**Test Method**	**Key Results**	**Location in CTD**
Species binding specificity assay	Human, cynomolgus monkey, rat and mouse PBMCs	*In vitro*; 10.0 µg/mL of polatuzumab vedotin or surrogate ADC	Polatuzumab vedotin demonstrated binding activity exclusively to the B cell ($CD20^+$) subpopulation of the human PBMCs, while the surrogate ADC demonstrated binding activity exclusively to the B cell ($CD20^+$) subpopulation of the cynomolgus monkey PBMCs. Neither cross reactivity of polatuzumab vedotin to cynomolgus monkey CD79b nor cross reactivity of the surrogate ADC to human CD79b was detected.	4.2.1.1-1
Cell-based equilibrium binding assay	Transfected BJAB cells, a human Burkitt lymphoma cell line, that express both human and cynomolgus monkey CD79b	*In vitro*; polatuzumab vedotin, polatuzumab antibody, surrogate ADC or surrogate antibody	Polatuzumab vedotin demonstrated a binding affinity to human CD79b with an average equilibrium dissociation constant (K_d) value of 1.83 nmol/L. The binding affinity of polatuzumab vedotin appeared similar to that of the polatuzumab antibody (K_d = 1.33 nmol/L). The surrogate ADC and the surrogate antibody also bound to cynomolgus monkey CD79b with affinities (average K_d values of 1.51 and 1.21 nmol/L, respectively).	4.2.1.1-2
Anti-proliferation study	A CD79b positive human Burkitt lymphoma-derived B cell line (Ramos) and a CD79b negative human T cell leukemia cell line (Jurkat)	*In vitro*; polatuzumab vedotin, polatuzumab antibody or MMAE	While both Ramos and Jurkat cell lines had comparable mean IC_{50} values to MMAE (0.075 ± 0.024 and 0.13 ± 0.089 nmol/L), only proliferation of Ramos cells was inhibited in a dose dependent manner by polatuzumab vedotin with an IC_{50} value of 0.071 ± 0.014 nmol/L. The polatuzumab antibody had minimal effect on tumor cell proliferation in the tested concentration range.	4.2.1.1-3

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続）

Test Article: Polatuzumab vedotin

Study Type	**Test system**	**Test Method**	**Key Results**	**Location in CTD**
Cytokine release study	Human and cynomolgus monkey PBMCs	*In vitro*; polatuzumab antibody or surrogate antibody	Increased levels of IP-10 and IL-1α were observed with the polatuzumab antibody when tested with human PBMCs. However, for both IP-10 and IL-1α, the increase was less than the level observed following exposure to the OKT3 positive control. No other cytokines evaluated in human PBMC experiments were elevated above the levels observed following exposure to the negative control antibody (trastuzumab). A subset of cytokines evaluated in cynomolgus monkey PMBC experiments with the surrogate antibody showed a similar finding.	4.2.1.1-4
FcγR, ADCC and CDC assays	FcγRs binding ELISA, ADCC and CDC assays in BJAB cells	*In vitro*; polatuzumab vedotin, polatuzumab antibody, surrogate ADC or surrogate antibody	Binding activity: The binding of polatuzumab vedotin (EC_{50}: 9.46 ng/mL – 7.81 μg/mL) and the polatuzumab antibody (EC_{50}: 12.4 ng/mL – 9.53 μg/mL) to FcγRIA, two allotypes of FcγRIIA (H131 and R131), FcαRIIB, and two allotypes of FcγRIIIA (F158 and V158) were comparable. The binding of the surrogate ADC (EC_{50}: 8.53 ng/mL – 2.98 μg/mL) and the surrogate antibody (EC_{50}: 10.7 ng/mL – 3.77 μg/mL) to the same panel of FcγRs were comparable. Induction activity: Both polatuzumab vedotin and the polatuzumab antibody at concentrations up to 10 μg/mL induced moderate ADCC in BJAB cells, but with at least one order of magnitude lower of measured activity than rituximab. Polatuzumab vedotin and the polatuzumab antibody demonstrated no detectable CDC activity in BJAB cells at antibody concentrations of up to 10 μg/mL with either human or rabbit complement, whereas rituximab as a positive control displayed robust activity with rabbit complement.	4.2.1.1-5

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続）

Test Article: Polatuzumab vedotin

Study Type	Test system	Test Method	Key Results	Location in CTD
Polatuzumab vedotin uptake and catabolism with anti-CD20 antibody	Human DLBCL WSU-DLCL2 and HT tumor cells	*In vitro*; anti-CD79b-vc-[^{3}H]MMAE (1 µg/mL) alone or in combination with rituximab (300 µg/mL), obinutuzumab (700 µg/mL), unlabeled polatuzumab vedotin (50 µg/mL) or anti-gD antibody (700 µg/mL)	Co-treatment of anti-CD79b-vc-[^{3}H]MMAE (radiolabeled polatuzumab vedotin; tracer) with rituximab, obinutuzumab, or anti-gD antibody (target irrelevant monoclonal antibody control) resulted in a similar radioactivity uptake to that in the tracer alone group in WSU-DLCL2 cells. In contrast, co-incubation of tracer with unlabeled polatuzumab vedotin significantly reduced the uptake of anti-CD79b-vc-[^{3}H]MMAE. ACN precipitation of WSU-DLCL2 cell lysates showed comparable catabolism between tracer alone and co-treatment with rituximab, obinutuzumab, or anti-gD antibody. Profiling of WSU-DLCL2 cell lysates using RP-HPLC revealed a similar catabolite profile between tracer alone and co-treatment with rituximab, obinutuzumab, or anti-gD antibody. MMAE was identified as the only detectable catabolite in all groups regardless of treatment.	4.2.1.1-6

PBMC = Peripheral blood mononuclear cell; ADC = antibody–drug conjugate; MMAE = monomethyl auristatin E; FcγR = Fc gamma receptor; ADCC = antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; CDC = complement-dependent cytotoxicity; DLBCL = diffuse large B-cell lymphoma; anti-gD = anti-glycoprotein D; ACN = acetonitrile.

In vivo 試験

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続）

Test Article: Polatuzumab vedotin

Study Type	**Test system**	**Test Method**	**Key Results**	**Location in CTD**
Comparing efficacy of DCDS4501A and DCDS5017A against BJAB-PD.cyCD79b.E3 xenograft	Mouse: C.B-17 Fox Chase SCID	*In vivo* (n=10); • Polatuzumab vedotin (1, 2 mg/kg, IV, once) • Surrogate ADC (1, 2 mg/kg, IV, once)	Polatuzumab vedotin and the surrogate ADC showed comparable inhibition of tumor growth. Five of 10 mice given 1 mg/kg polatuzumab vedotin or the surrogate ADC had partial responses (PRs). The effects of 2 mg/kg polatuzumab vedotin and the surrogate ADC were more pronounced, leading to sustained tumor regression in the majority of treated animals. Polatuzumab vedotin at 2 mg/kg resulted in five PRs and five complete responses (CRs), and the surrogate ADC at 2 mg/kg resulted in two PRs and seven CRs.	4.2.1.1-7
Effect of MCDS4409A and DCDS4501A against WSU-DLCL2 xenograft	Mouse: C.B-17 Fox Chase SCID	*In vivo* (n=8); • Polatuzumab vedotin (0.3, 1, 3, 6, 12 mg/kg, IV, once)	Polatuzumab vedotin showed clear dose dependent inhibitory activity when administered at ≥ 1 mg/kg compared with the vehicle group. Polatuzumab vedotin at 6 mg/kg resulted in one PR and three CRs. The effects of 12 mg/kg polatuzumab vedotin were more pronounced, with all treated mice experiencing tumor regression (one PR and seven CRs).	4.2.1.1-8
Effect of MCDS4409A and DCDS4501A against BJAB-luc xenograft	Mouse: C.B-17 Fox Chase SCID	*In vivo* (n=8); Polatuzumab vedotin (0.1, 0.5, 1, 2, 4 mg/kg, IV, once)	Polatuzumab vedotin showed clear dose dependent inhibitory activity when administered at ≥ 0.5 mg/kg compared with the vehicle group. Polatuzumab vedotin at 1 mg/kg led to four PRs. Polatuzumab vedotin at ≥ 2 mg/kg reached maximal efficacy, resulting in CRs in the majority of treated animals.	4.2.1.1-9
Antitumor activity of a combination of GA101 with a CD79b antibody–drug conjugate compared to combination with Rituximab in a Z138 xenograftt	Mouse: SCID beige	*In vivo* (n=10); • Polatuzumab vedotin (4 mg/kg, IV, once) • Rituximab or obinutuzumab (30 mg/kg, IV, QW × 3)	Animals in the vehicle group had a median survival (i.e., 50% survival) of 30 days. Animals in the anti-CD20 antibody rituximab or obinutuzumab groups had a median survival of 34 or 38 days, respectively. Polatuzumab vedotin showed clear single agent activity, extending the median survival to 56.5 days. The combination of polatuzumab vedotin with anti-CD20 antibody rituximab or obinutuzumab further increased the median survival to 65.5 or 81 days, respectively.	4.2.1.1-10

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続）

Test Article: Polatuzumab vedotin

Study Type	**Test system**	**Test Method**	**Key Results**	**Location in CTD**
Efficacy of DCDS4501A with R-CHP (Rituximab plus CHP) or R-Bendamustine against WSU-DLCL2 xenograft	Mouse: C.B-17 Fox Chase SCID	*In vivo* (n=9); • Polatuzumab vedotin (2 mg/kg, IV, once) • Rituximab (30 mg/kg, IP, once) • CHO (30, 2.475, and 0.375 mg/kg, respectively, IV, once) + P (0.15 mg/kg, PO, daily × 5) • Bendamustin (30 mg/kg, IV, once)	A single dose of polatuzumab vedotin at 2 mg/kg resulted in clear inhibition of tumor growth in the WSU-DLCL2 tumor model with a time to tumor doubling (TTD) of 21 days and a tumor growth inhibition (TGI) of 107% compared to the vehicle group. Rituximab plus chemotherapy (CHP, CHOP, or bendamustine) also demonstrated clear anti-tumor activity with a TGI of 66%, 80%, and 102%, respectively, and a TTD of 9.5, 13.5, and 18 days, respectively. Combining polatuzumab vedotin with rituximab plus chemotherapy (CHP or bendamustine) produced more durable efficacy (with a TTD of 35 and 32.5 days, respectively) than either polatuzumab vedotin alone or the combination of rituximab plus chemotherapy.	4.2.1.1-11
Efficacy of anti-CD79b-mc-vc-PAB-MMAE with anti-CD20 antibody GA101 plus CHP or Bendamustine against WSU-DLCL2 xenograft	Mouse: C.B-17 Fox Chase SCID	*In vivo* (n=7); • Polatuzumab vedotin (2 mg/kg, IV, once) • Obinutuzumab (30 mg/kg, IP, once) • CH (30 and 2.475 mg/kg, respectively, IV, once) + P (0.15 mg/kg, PO, daily × 5) • Bendamustine (30 mg/kg, IV, once)	A single dose of polatuzumab vedotin at 2 mg/kg resulted in clear inhibition of tumor growth in the WSU-DLCL2 tumor model with a TTD of 18.5 days and a TGI of 96% compared to the vehicle group. Obinutuzumab plus chemotherapy (CHP or bendamustine) also demonstrated clear anti-tumor activity with a TGI of 81% and 102%, respectively, and a TTD of 11 and 16 days, respectively. Combining polatuzumab vedotin with obinutuzumab plus chemotherapy (CHP or bendamustine) produced more durable efficacy (with a TTD of 24.5 and > 27 days, respectively) than either polatuzumab vedotin alone or the combination of obinutuzumab plus chemotherapy.	4.2.1.1-12

表 2.6.3.2-1　効力を裏付ける試験（続）

Test Article: Polatuzumab vedotin

Study Type	Test system	Test Method	Key Results	Location in CTD
Single-dose pharmacokinetic and pharmacodynamic study	Cynomolgus monkey	*In vivo* (n=4); • Surrogate ADC (0.3, 1, 3 mg/kg, IV, once) • Surrogate antibody (3 mg/kg, IV, once)	Peripheral blood $CD20^+$ lymphocytes were depleted in both the surrogate ADC group and the surrogate antibody group. For the 3 mg/kg surrogate antibody group, absolute counts [% baseline (BL)] of the maximum group mean $CD20^+$ lymphocyte depletion was observed in Day 2 (38.91% BL) and recovered to > 50% BL by Day 8. For the surrogate ADC (0.3, 1, 3 mg/kg) groups, the maximum group mean $CD20^+$ lymphocyte depletion was observed in Day 2 (36.4% BL), Day 8 (33.76% BL) and recovered to > 50% BL by Day 22. The decrease in $CD20^+$ lymphocytes was of a similar extent but of greater duration in animals given 3 mg/kg surrogate ADC compared to animals given 0.3 mg/kg surrogate ADC, 1 mg/kg surrogate ADC, or 3 mg/kg surrogate antibody. The % BL of peripheral blood $CD20^+Ki\text{-}67^+$ lymphocytes (proliferating B cells) were lower than the % BL of peripheral blood non-Ki-67 expressing $CD20^+$ ($CD20^+Ki\text{-}67^-$; resting B cells) lymphocytes in animals given 3 mg/kg surrogate ADC on Day 15; the difference was no longer present by Day 22.	4.2.1.1-13
Multiple-dose toxicity, toxicokinetic, and cardiovascular safety pharmacology study	Cynomolgus monkey	*In vivo* (n=10); • Surrogate ADC (3, 5 mg/kg, IV, Q3W, [4 doses], following by a 9-week recovery periods) • Polatuzumab vedotin (1, 3, 5 mg/kg, IV, Q3W, [4 doses], following by a 9-week recovery periods)	Following multiple IV administrations of the surrogate ADC, peripheral blood $CD20^+$ lymphocytes were decreased; the maximum decrease was observed on Day 50 (21% BL) and Day 71 (16% BL) with 3 and 5 mg/kg surrogate ADC, respectively. The estimated $CD20^+$ lymphocyte recovery to > 40% of BL levels in all remaining study animals was observed by the last day of the recovery periods. As expected, treatment of cynomolgus monkeys with polatuzumab vedotin or vehicle did not show any decrease in $CD20^+$ lymphocyte numbers.	4.2.1.1-14 (4.2.3.2-4)

DCDS4501A = polatuzumab vedotin; DCDS5017A = surrogate ADC; SCID = severe combined immunodeficient; IV = intravenous; PR = partial responses; CR = complete responses; MCDS4409A = polatuzumab antiboy; IP = intraperitoneal; PO = oral; TTD = time to tumor doubling; TGI = tumor growth inhibition; BL = baseline.

2.6.3.3　副次的薬理試験

該当なし。

2.6.3.4　安全性薬理試験

表 2.6.3.4-1　安全性薬理試験

Test Article: MMAE, Polatuzumab vedotin, Surrogate ADC

Study Type	**Test system**	**Test Method**	**Key Results**	**Location in CTD**
Cardiovascular system (GLP)	Recombinant hERG channel expressed in HEK293 cells	*In vitro* (n=3); • MMAE (10 and 100 µmol/L)	MMAE inhibited hERG current by 1.8 ± 0.1% (Mean ± SEM) at 10 µmol/L and 13.6 ± 2.6% at 100 µmol/L versus 0.3 ± 0.2% in control. The inhibition of hERG at 100 µmol/L was statistically significant (P<0.05) when compared to vehicle control values. The IC_{50} for the inhibitory effect of MMAE on hERG current could not be determined because the hERG inhibition at the highest concentration tested, 100 µmol/L, was 13.6%. Therefore, the IC_{50} was estimated to be greater than 100 µmol/L.	4.2.1.3-1
Central nervous system (GLP)	Rat: Sprague-Dawley	*In vivo* (n=10/sex); • Polatuzumab vedotin (2, 6, 10 mg/kg, IV, QW [4 doses], following by a 6-week recovery periods)	No abnormalities for neurobehavioral and motor activities.	4.2.3.2-2
Cardiovascular, central nervous, and respiratory system (GLP)	Cynomolgus monkey	*In vivo* (n=5/sex); • Surrogate ADC (3, 5 mg/kg, IV, Q3W [4 doses], following by a 9-week recovery periods) • Polatuzumab vedotin (1, 3, 5 mg/kg, IV, Q3W [4 doses], following by a 9-week recovery periods)	No toxicologically significant changes in cardiovascular, respiratory, or neurologic safety pharmacology parameters.	4.2.3.2-4

hERG = human ether-à-go-go related gene; MMAE = monomethyl auristatin E.

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

該当なし。