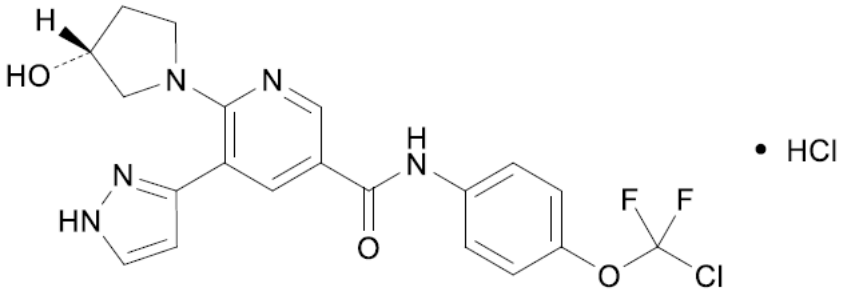
2.6.1 緒言

1 緒言

アシミニブ（ABL001，Figure 1-1）は強力かつ経口投与可能な BCR-ABL1 タンパク質チロシンキナーゼ阻害薬であり，ABL1 タンパク質を構成する SH1 ドメイン上のアロステリック部位に対して特異的に結合する。このアロステリック部位（アシミニブのミリストリル化 N 末端）は，本来，ABL キナーゼ活性を制御しているが，*BCR-ABL1* 遺伝子融合によってその機能を失うことで，ABL チロシンキナーゼが恒常的に活性化し，白血病細胞の増殖を促進するシグナル伝達経路の調節機能に異常を示す。アシミニブは，アロステリック部位に結合し，ABL キナーゼ活性の制御を正常化することで，BCR-ABL を発現する CML 細胞の増殖を強力かつ選択的に阻害することが期待される。

Figure 1-1 アシミニブ（ABL001）の構造式



一般的名称：アシミニブ塩酸塩（Asciminib Hydrochloride）

分子式：$C_{20}H_{18}ClF_2N_5O_3$・HCl

分子量：フリー体としての分子量 449.8（塩酸塩としての分子量は 486.3）

化学名：*N*-[4-(Chlorodifluoromethoxy)phenyl]-6-[(3*R*)-3-hydroxypyrrolidin-1-yl]-5-(1*H*-pyrazol-3-yl)pyridine-3-carboxamide monohydrochloride

[Table2.6.3.1- RD-2013-00008]

2.6.2 薬理試験の概要文

目　次

目　次 2
表 一 覧 3
図 一 覧 3
略号一覧 5
1 薬理試験の概要文 7
1.1 まとめ 7
1.2 アシミニブの薬理作用 7
1.3 アシミニブの ABL1 結合部位とアロステリックな作用機序 8
1.4 BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬の薬剤耐性 9
2 効力を裏付ける試験 9
2.1 ABL1 に対する結合親和性とリン酸化阻害作用 10
2.1.1 アシミニブの ABL1 に対する結合親和性とリン酸化阻害作用 10
2.1.2 アシミニブの代謝物の ABL1 リン酸化阻害作用 10
2.2 *In vitro* 細胞活性 10
2.2.1 ヒトがん細胞株の増殖に及ぼす影響 10
2.2.2 野生型 BCR-ABL1 発現 Ba/F3 細胞の増殖に及ぼす影響 12
2.2.3 BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬への耐性変異を導入した Ba/F3 細胞の増殖に及ぼす影響 13
2.3 *In vivo* 薬理試験 14
2.3.1 KCL-22 細胞異種移植モデルに対するアシミニブ 1 日 1 回投与の影響 15
2.3.2 KCL-22 細胞異種移植モデルに対するアシミニブ 1 日 2 回投与の影響 16
2.3.3 Thr315Ile（T315I）変異 KCL-22 細胞異種移植モデルに対するアシミニブ 1 日 2 回投与の影響 18
2.4 薬効薬理試験における忍容性の検討 19
2.5 機能モデルでの検討 20
2.6 病態モデルでの検討 20
2.6.1 急性リンパ芽球性白血病モデルに対するアシミニブの効果 20
2.7 薬物動態学（PK）/薬力学（PD）試験 21
3 副次的薬理試験 23
3.1 *In vitro* 副次的薬理試験 23
3.2 *In vivo* 副次的薬理試験 24
4 安全性薬理試験 24
4.1 各種受容体等に対する作用 24
4.2 心血管系に及ぼす影響 24
4.2.1 *In vitro* 安全性薬理試験 24
4.2.2 *In vivo* 安全性薬理試験 25

4.3 中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響 26
5 薬力学的薬物相互作用試験 26
6 考察及び結論 26
7 参考文献 27

表一覧

Table 2-1 ABL 又は BCR-ABL1 キナーゼ依存性細胞に対するアシミニブの増殖抑制作用 12
Table 2-2 野生型又は変異型 BCR-ABL1 導入 Ba/F3 細胞に対するアシミニブ及び ATP 競合型阻害薬の増殖抑制作用 14
Table 2-3 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 1 回 11 日間投与の影響 16
Table 2-4 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 2 回 7 日間投与の影響 17
Table 2-5 T315I 変異 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 2 回 8 日間投与の影響 19
Table 2-6 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルにアシミニブを単回投与したときの血漿中薬物濃度と腫瘍中 STAT-5 リン酸化抑制作用 23
Table 4-1 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における曝露量 26

図一覧

Figure 1-1 *ABL*，*BCR*，及び *BCR–ABL* 遺伝子 7
Figure 1-2 アシミニブとニロチニブの ABL1 チロシンキナーゼへの結合部位 9
Figure 2-1 ヒトがん細胞 495 株の増殖に及ぼすアシミニブの影響 11
Figure 2-2 IL-3 存在下又は非存在下での野生型 BCR-ABL1 導入 Ba/F3 細胞の増殖に及ぼすアシミニブの影響 13
Figure 2-3 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 1 回投与の影響 15
Figure 2-4 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 2 回投与の影響 17
Figure 2-5 T315I 変異 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 2 回投与の影響 18
Figure 2-6 KCL-22 細胞を移植したマウスの体重に及ぼすアシミニブ 1 日 1 回 11 日間投与の影響 19
Figure 2-7 KCL-22 細胞を移植したマウスの体重に及ぼすアシミニブ 1 日 1 回又は 1 日 2 回 7 日間投与の影響 20
Figure 2-8 患者由来 ALL（ALL-7015）細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブの効果 21

Figure 2-9 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルにアシミニブを単回投与したときの PK/PD 相関 22

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ABCB1	ATP binding cassette subfamily B member 1	-
ABCC1	ATP binding cassette subfamily C member 1	-
ABCG2	ATP binding cassette subfamily G member 2	-
ABL1/ABL1	*italicized*: Abelson oncogene 1 non-italicized: Abelson protein 1	Abelson 遺伝子 1 Abelson タンパク質 1
ABL2/ABL2	*italicized*: Abelson oncogene 2 non-italicized: Abelson protein 2	Abelson 遺伝子 2 Abelson タンパク質 2
ALL	acute lymphoblastic leukemia	急性リンパ芽球性白血病
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
AUC	area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
BCR	breakpoint cluster region gene	breakpoint cluster region 遺伝子
BCR-ABL1	breakpoint cluster region Abelson 1 proto-oncogene	breakpoint cluster region-Abelson1 融合遺伝子
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
CCLE	cancer cell line encyclopedia	-
CHO	chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
Cmax	maximal drug plasma (serum/blood) concentration	最高血漿（血清／血液）中薬物濃度
Cmin	minimum drug plasma (serum/blood) concentration	最低血漿（血清／血液）中薬物濃度
CML	chronic myeloid leukemia	慢性骨髄性白血病
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DPH	5-(1,3-diaryl-1H-pyrazol-4-yl) hydantoin	-
FOB	functional observational battery	機能観察総合評価法
HCD	human CD45	-
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児由来腎臓
hERG	human ether-à-go-go-related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
IC50	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
IL-3	interleukin 3	インターロイキン 3
LC/MS	liquid chromatography-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー/質量分析
Luc-Ba/F3	luciferase-BaF3	ルシフェラーゼ-BaF3
MRP	multidrug resistance protein	多剤耐性タンパク質
Ncap	N-terminalcap	N 末端
PBS	phosphate buffered saline	リン酸緩衝生理食塩液
Ph	philadelphia chromosome	フィラデルフィア染色体
QTcV	QT interval corrected according to the Van de Water formula	Van de Water 式を用いて心拍数で補正した QT 間隔
SH	SRC homology structurally conserved protein domain	-
SRC	protein kinase encoded by sarcoma proto-oncogene	-
STAT-5	signal transducer and activator of transcription-5	シグナル伝達兼転写活性化因子 5

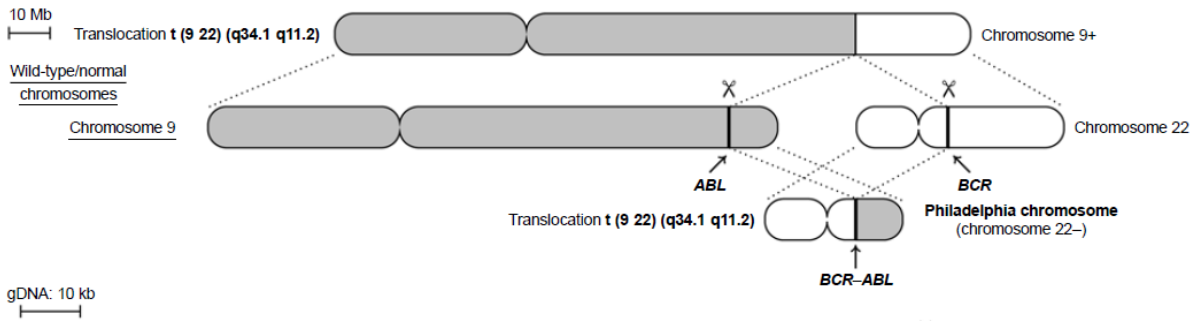
略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
T/C	ratio of tumor volume in drug-treated to that of control (vehicle) at a given time-point expressed as a percentage	相対的腫瘍増殖率（%）

1 薬理試験の概要文

1.1 まとめ

慢性骨髄性白血病（CML）は，骨髄，末梢血又は脾臓において造血前駆細胞の不完全な分化により生じる蓄積した未成熟な血液細胞で構成される骨髄増殖性腫瘍である。CML は，多能性造血幹細胞における不完全な DNA（デオキシリボ核酸）修復による 9 番染色体と 22 番染色体間での染色体相互転座の結果として生じる（Flis and Chojnacki 2019, Manley et al. 2020）（Figure 1-1）。9 番染色体の損傷部位は一般に Abelson 遺伝子 1（*ABL1*）のエクソン 2 の上流に存在し，この部位が 22 番染色体上にある breakpoint cluster region 遺伝子（*BCR*）の 3 領域のうちの一つに融合している。さまざまな *BCR-ABL1*（breakpoint cluster region-Abelson1）融合遺伝子は 3 種類の腫瘍性タンパク質をコードしており，そのうち 210 kDa（p210）の BCR-ABL1 は CML 患者の 95%に発現している（Hantschel and Superti-Furga G 2004, Hantschel 2012）。

Figure 1-1 *ABL*，*BCR*，及び *BCR–ABL* 遺伝子



9 番染色体と 22 番染色体の *ABL* 及び *BCR* 遺伝子の位置，フィラデルフィア（Ph）染色体の *BCR-ABL* 融合遺伝子（9 番染色体と 22 番染色体間の染色体相互転座）

Source: Flis and Chojnacki 2019

ABL1 キナーゼは非受容体型チロシンキナーゼで，生理的条件下でその相同体である ABL2 キナーゼとともに，細胞の分化，分裂，接着，形態形成，運動能，DNA 損傷や酸化ストレスに対する応答のプロセスに関与している（Khatri et al. 2016, Blakes et al. 2021）。ABL1 キナーゼ及び ABL2 キナーゼの活性は正常な状態では強固に制御されているが，融合タンパクである BCR-ABL1 では自己制御機構の消失によりその活性は恒常的に活性化している（Manley et al. 2020）。

1.2 アシミニブの薬理作用

アシミニブは，新規作用機序を有する強力かつ経口投与可能な BCR-ABL1 阻害薬である（Wylie et al. 2017, Schoepfer et al. 2018, Manley et al. 2020）。イマチニブ（グリベック®），ボスチニブ（ボシュリフ®），ダサチニブ（スプリセル®），ニロチニブ（タシグナ®），及びポナチニブ（アイクルシグ®）等のアデノシン三リン酸（ATP）結合（isosteric 化合物による ATP 競合）部位を標的とする既存の BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬（Manley and Stiefl 2018）とは

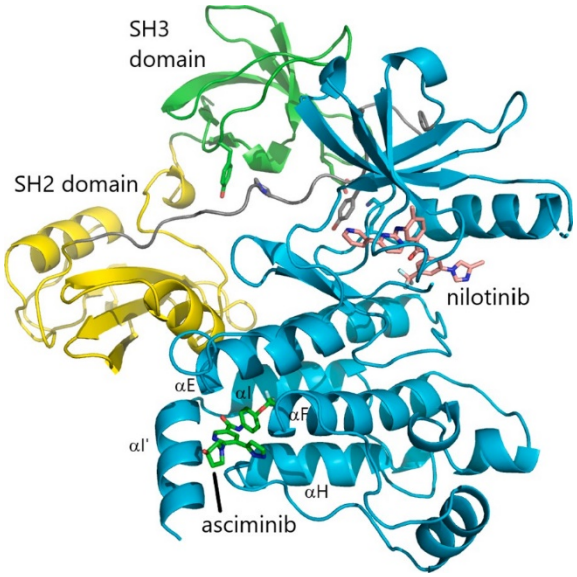
対照的に，アシミニブは BCR-ABL1 のアロステリック部位であるミリストイルポケットに特異的に結合することにより BCR-ABL1 の ABL1 キナーゼ活性を阻害する。

BCR-ABL1 阻害薬に対する耐性に共通する原因として，薬物の結合を妨げるタンパク質の異常（アミノ酸置換をコードする一塩基変異の出現）が挙げられる（Manley and Stiefl 2018）。イマチニブや第二世代のチロシンキナーゼ阻害薬を処方された患者でみられる耐性の 10%～68%が一塩基変異の出現によるものである。Thr315Ile 変異はチロシンキナーゼ阻害薬に耐性の CML 患者で最も頻繁にみられる変異である（Soverini et al. 2006，Jabbour et al. 2013，Nicolini et al. 2017）。Thr315Ile 変異は，イマチニブ，ダサチニブ，ニロチニブやボスチニブといった慢性期 CML の適応を有する大部分の ATP 競合的阻害薬に対して強い耐性を示し，ポナチニブのみが Thr315Ile 変異を有する CML に対する適応の承認を受けている（Miller et al. 2014，Soverini et al. 2014）。アシミニブは，以下に示すアロステリックな作用機序を有するため，Thr315Ile 変異による耐性に対しても活性を有している[Table2.6.3.2-RD-2020-00314]（Manley et al. 2020，Hughes et al. 2019）。

1.3 アシミニブの ABL1 結合部位とアロステリックな作用機序

Thr315Ile と Asp382Asn の両変異を有する ABL1（46-534）とアシミニブ及びニロチニブによる複合体の X 線結晶構造解析により，アシミニブの ABL1 への結合部位は ATP 競合的阻害薬であるニロチニブとは異なり，キナーゼドメイン C-lobe 深部に位置するミリストイルポケットであることが示された（Figure 1-2）（Wylie et al. 2017，Manley et al. 2020）。野生型 ABL1 では，ミリストイル基の結合による分子内 N-ミリストイル化が自己制御機構において重要な役割を果たしている。N-ミリストイル化により αI ヘリックスに変化が生じ，ABL1 の SH（SRC homology structurally conserved protein domain）3 ドメインと SH2 ドメインが SH1 のキナーゼドメインに結合して安定で非活性な立体構造が保持される（Nagar et al. 2003）。一方，BCR-ABL1 では，ABL1 の SH3 ドメインに位置するミリストイル化すべき Ncap 領域（N 末端先端）が BCR との融合タンパク質のフラグメントに置き換えられるため，N-ミリストイル化が生じずに自己制御機構が消失して ABL1 は恒常的に活性化している。アシミニブは ABL1 の N-ミリストイル化に必要なミリストイルポケットに結合し，安定で非活性な立体構造を誘導する（Zhang et al. 2010，Wylie et al. 2017）。一方，DPH（5-(1,3-diaryl-1H-pyrazol-4-yl)hydantoin）のような化合物はミリストイルポケットに結合することにより，αI ヘリックスの屈曲化を構造的に妨げて ABL1 を活性化することが知られている（Yang et al. 2011）。

Figure 1-2　　アシミニブとニロチニブの ABL1 チロシンキナーゼへの結合部位



Thr315Ile 及び Asp382Asn 変異を有する ABL1（46-534）とアシミニブ及びニロチニブによる複合体の立体構造。ABL1 の SH3 ドメインを緑，SH2 ドメインを黄色，キナーゼドメイン又は SH1 ドメインを青リボンで示す。ニロチニブ（ピンクの炭素環）及びアシミニブ（緑の炭素環）は，各々，ATP 結合部位及び 5 つのヘリックス（αI，αF，αH，αI’，及び αE）に覆われたミリストイルポケットに結合している。

Source: Manley et al. 2020

1.4　　BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬の薬剤耐性

がんを標的とするプロテインキナーゼ阻害薬に共通する問題として，遺伝的に不安定な腫瘍細胞が薬剤に対して耐性を獲得することが知られている。薬剤耐性の機序としては，代償的な生存・増殖シグナル伝達経路の活性化，標的タンパクや薬物排出ポンプの亢進，薬物の結合を妨げるタンパク質の異常（アミノ酸置換をコードする一塩基変異の出現），薬物と薬物結合部位間の相互作用に対する妨害又は薬物結合部位タンパク質の立体構造の不安定化が挙げられる。ATP 競合型 BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬（以下，ATP 競合型阻害薬）に対する薬剤耐性のほとんどは遺伝子変異によるもので，薬剤耐性変異として 100 以上の遺伝子変異が報告されている（Apperley 2007, Cowan-Jacob et al. 2004, Loscocco et al. 2019）。そのうち 315 番目のアミノ酸残基がスレオニンからイソロイシンに置換した Thr315Ile 変異株は，ポナチニブのみに感受性を示す（Eide et al. 2019）。

2　　効力を裏付ける試験

BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬であるアシミニブの薬理作用を明らかにするために，*in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を実施した。各試験では，アシミニブ原末又は溶解性を改善したアシミニブ固体分散体を使用した。以下に，本薬の効力を裏付ける試験の詳細を示す。

2.1 ABL1 に対する結合親和性とリン酸化阻害作用

2.1.1 アシミニブの ABL1 に対する結合親和性とリン酸化阻害作用

アシミニブの ABL1 に対する結合親和性について，ABL1（46-534）タンパク質を用いた等温滴定カロリメトリー法により検討した（Manley et al. 2020）[Table2.6.3.2-RD-2020-00196]。なお，ミリストイルポケットを含む ABL1（46-534）は，タンパク質発現ベクターを用いて大腸菌に発現させ，アフィニティークロマトグラフィーを用いて精製した。アシミニブの ABL1 に対する K_D 値は 0.5 nM を示し，熱力学的パラメータ（ΔH = -72.8 kJ/mol，ΔS = -65.3 J/mol^{-1}K^{-1}，ΔG = -53.2 kJ/mol）からは，アシミニブの ABL1 に対する結合は立体構造の変化を伴うアロステリック結合（強いエンタルピー駆動性を有するエントロピー）であることが示唆された（Schoepfer et al. 2018）。また，Thr315Ile 点突然変異を有する ABL1 タンパク質に対する K_D 値（0.5～0.8 nM）も ABL1 に対するものとほぼ同等であった（Wylie et al. 2017）。放射標識キナーゼアッセイ及び蛍光共鳴エネルギー移動法を用いたリン酸化酵素アッセイにおいて，アシミニブは ABL1（64-515）と基質の結合による自己リン酸化を阻害し，各方法での IC50 値（50%阻害濃度）は 2.6 ± 0.8 nM（n = 6）及び 0.5 ± 0.1 nM（n = 6）であった（Manley et al. 2020）[Table2.6.3.2-RD-2013-50447]。

2.1.2 アシミニブの代謝物の ABL1 リン酸化阻害作用

アシミニブの主代謝物として，酸化生成物 M44（NVP-LMN773）及びピロリジン開裂産物 M29.5（NVP-CRE850）が動物とヒト血漿中に検出された[2.6.4-5.2 項]（Tran et al. 2020）。これらの代謝物は，蛍光共鳴エネルギー移動法を用いたリン酸化酵素アッセイにおいて，ABL1（64-515）自己リン酸化阻害活性を示し，IC50 値は各々，5.0 nM 及び 6.6 nM で，アシミニブより高値を示した。

2.2 *In vitro* 細胞活性

アシミニブの ABL キナーゼ阻害作用について，ABL キナーゼ活性に依存的に増殖する細胞株を用いて *in vitro* で検討した。

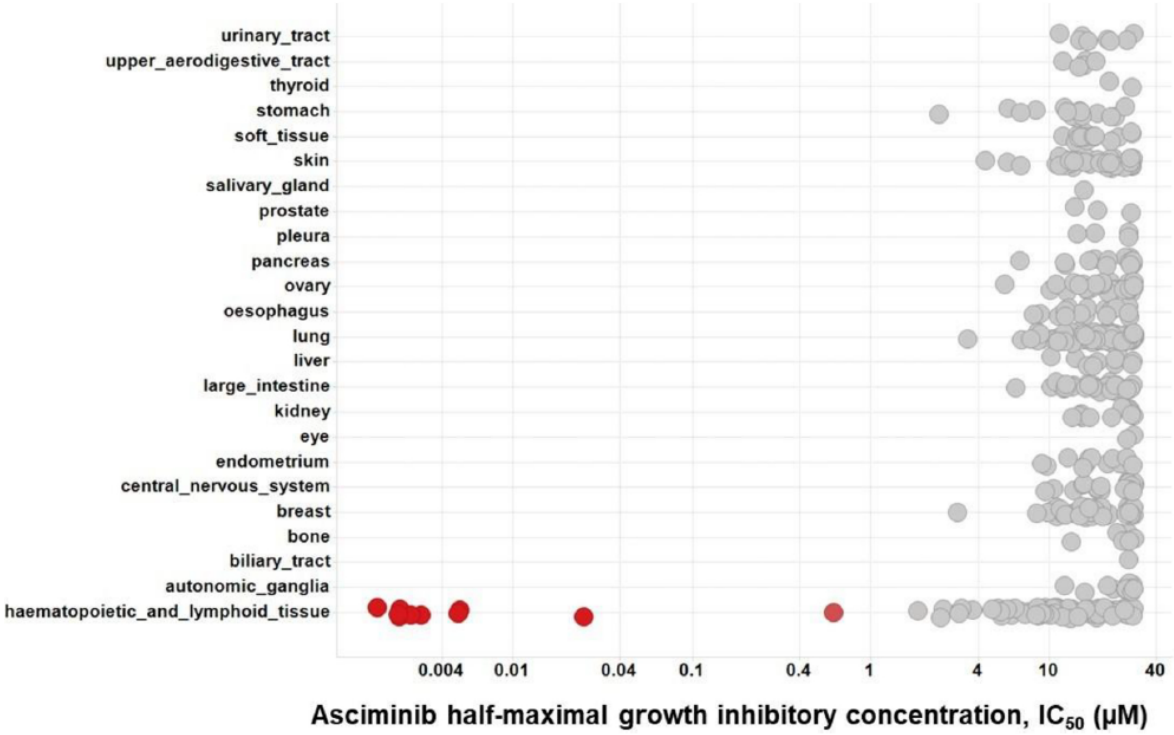
2.2.1 ヒトがん細胞株の増殖に及ぼす影響

Cancer Cell Line Encyclopedia（CCLE）に登録され（Barretina et al. 2012），遺伝子発現データや変異データが明らかなヒトがん細胞株 495 株を用いてアシミニブの増殖抑制作用を検討した[Table 2.6.3.2-RD-2019-00440]。細胞数は，CellTiter-Glo®を用いて細胞内在性の ATP を定量することにより測定した。その結果，BCR-ABL1 発現ヒト CML 由来細胞に対してアシミニブは優れた増殖抑制作用を示し，その IC50 値は 1.7～24 nM であった。アシミニブは多発性骨髄腫由来の KMS-12-BM 細胞に対しても，比較的高濃度で増殖抑制作用（IC50 値：約 617 nM）を示した（Table 2-1）。なお，ABL 又は BCR-ABL1 キナーゼ非依存性細胞に対しては 2 μM より低濃度ではその増殖に影響を及ぼさなかった（Figure 2-1）。多発性骨髄腫由来の KMS-12-BM 細胞株で特

定された 100 以上の変異の中に *ABL2* 変異も含まれるため，アシミニブの KMS-12-BM 細胞に対する活性は ABL2 阻害に直接関連していると考えられた（Barretina et al 2012, Namba et al 1989）。

数百にも上るがん細胞株を用いた薬剤感受性試験，小ヘアピン RNA（shRNA）又はガイド RNA（sgRNA）を用いた遺伝子ノックダウンの CCLE データにおいて，ABL 又は BCR-ABL1 に対するアシミニブの特異性が確認されている。PC-3 前立腺がん細胞は SRC（protein kinase encoded by sarcoma proto-oncogene）依存的（Chang et al. 2008）に，また，NCI-H3255 肺がん細胞は EGFR 依存的（Yeo et al. 2010）に増殖するが，アシミニブは両細胞株に対して増殖抑制作用を示さなかった（IC50 値 > 24000 nM）ことから，SRC や EGFR シグナルに影響を及ぼさないことが確認された。一方，急性転化期 CML 患者由来の K562 細胞に対しアシミニブは増殖抑制作用を示し，その IC50 値は 9.8 nM であった（Qiang et al. 2017）。CCLE データと増殖抑制作用の検討から，アシミニブが ABL 及び BCR-ABL1 を選択的に阻害することが確認された。

Figure 2-1　　ヒトがん細胞 495 株の増殖に及ぼすアシミニブの影響



495 種のがん細胞株を 10 nM～30 µM 濃度のアシミニブ（固体分散体）と 72 時間共培養した後，CellTiter-Glo®アッセイにより生細胞数を測定した。得られた濃度-反応曲線から最大効果と IC50 値を算出した。図中のプロットは各細胞株での IC50 値。1 µM 以下の IC50 値は赤でプロットし，最大効果（抑制%）とともに Table 2-1 に示した。

Source: [Table 2.6.3.2-RD-2019-00440]

Table 2-1 ABL 又は BCR-ABL1 キナーゼ依存性細胞に対するアシミニブの増殖抑制作用

細胞株	細胞の起源	増殖抑制作用の IC50 値（nM）	最大効果（抑制%）
bv173	慢性骨髄性白血病	1.685	-90.3
cmlt1	慢性骨髄性白血病	2.113	-88.7
molm6	慢性骨髄性白血病	2.148	-97.7
em2	慢性骨髄性白血病	2.254	-86.6
ku812	慢性骨髄性白血病	2.777	-96.4
kcl22	慢性骨髄性白血病	3.06	-90.8
kyo1	慢性骨髄性白血病	5.178	-95.7
lama84	慢性骨髄性白血病	5.31	-97.0
meg01	慢性骨髄性白血病	23.52	-97.0
kms12bm	多発性骨髄腫	616.681	-84.1

がん細胞株を 10 nM～30 µM 濃度のアシミニブ（固体分散体）と 72 時間共培養した後，CellTiter-Glow®アッセイにより生細胞数を測定した。得られた濃度-反応曲線から最大効果と IC50 値を算出した。

Source: [Table 2.6.3.2-RD-2019-00440]

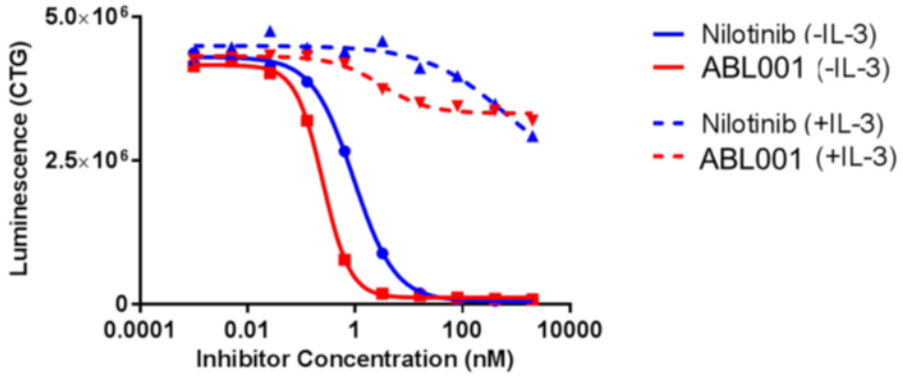
2.2.2 野生型 BCR-ABL1 発現 Ba/F3 細胞の増殖に及ぼす影響

Ba/F3 細胞はマウスの造血系細胞で，IL-3（interleukin 3）依存的に増殖し，生存する。Ba/F3 細胞に *BCR-ABL1* のようながん遺伝子を導入すると，IL-3 非存在下でも増殖可能となり，BCR-ABL1 キナーゼ依存的に増殖・生存するようになる（Warmuth et al. 2007）。BCR-ABL1 に対するオンターゲット作用とオフターゲット作用を区別するために，IL-3 非存在下と IL-3 存在下でヒト野生型 *BCR-ABL1* 導入 Ba/F3 細胞に対するアシミニブの増殖抑制作用を検討した。増殖抑制作用の検討には，*BCR-ABL1* を導入した Luc-Ba/F3（ルシフェラーゼ-BaF3）細胞を用い，ルシフェラーゼレポーターアッセイにより生細胞数を測定した。

アシミニブは，IL-3 非存在下で野生型 *BCR-ABL1* 導入 Luc-Ba/F3 細胞の増殖を抑制（IC50 値：0.25 nM）し，オンターゲット作用を示したが，IL-3 存在下では増殖抑制作用を示さず，オフターゲット作用を示さなかった（Figure 2-2）[Table 2.6.3.2-RD-2013-50447]。陽性対照薬として用いたニロチニブでも同様であった。

アシミニブの主代謝物である M44（IC50 値：3.8 nM，n = 2）と M29.5（IC50 値：58 ± 4 nM，n = 3）も，IL-3 非存在下で *BCR-ABL1* 導入 Luc-Ba/F3 細胞に対して増殖抑制作用を示したが，その効力はアシミニブより弱かった。

Figure 2-2 IL-3 存在下又は非存在下での野生型 BCR-ABL1 導入 Ba/F3 細胞の増殖に及ぼすアシミニブの影響



ルシフェラーゼベクターを用いて *BCR-ABL1* を導入した Ba/F3 細胞（2500 個/ウェル）を，IL-3（5 ng/mL）存在下又は非存在下で各濃度の被験物質（溶媒 DMSO）と 37°C で 48 時間共培養した（n = 2）。Britelite™ 試薬を添加した後，発光量をマルチ検出モードマイクロプレートリーダーで測定してウェルごとの生細胞数を算出した。得られた濃度-反応曲線から IC50 値を求めた。ABL001：アシミニブ

Source: [Table 2.6.3.2-RD-2013-50447]

2.2.3 BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬への耐性変異を導入した Ba/F3 細胞の増殖に及ぼす影響

臨床で観察される点突然変異を含む BCR-ABL1 配列を有する Luc-Ba/F3 細胞を用いて，アシミニブの増殖阻害能を評価した。アシミニブは，BCR-ABL1 の ATP 結合部位には結合しないことから，ATP 競合型阻害薬に耐性の変異株に対しても活性を示す。野生型 BCR-ABL1 に加えて，臨床的に観察されるキナーゼドメインの突然変異である G250H（Gly250His），Q252H（Gln252His），Y253H（Tyr253His），E255K/V（Glu255Lys/Val），T315I（Thr315Ile），及び E459K（Glu459Lys）を導入した Luc-Ba/F3 細胞にアシミニブを作用させた。その結果，アシミニブは，野生型 BCR-ABL1 を導入した Luc-Ba/F3 細胞株の増殖を強力かつ選択的に阻害した（IC50 値 = 0.61 nM）。また，アシミニブは ATP 結合部位と相互作用を示さないため，ATP 部位に結合する BCR-ABL1 チロシンキナーゼの耐性変異を導入した Luc-Ba/F3 細胞に対しても増殖抑制作用を示した（IC50 値：0.7～10.9 nM）（Table 2-2）（Schoepfer et al. 2018，Manley et al. 2020）。一方，BCR-ABL1 キナーゼドメインの点突然変異はアシミニブへの感受性も低下させ得ることが報告されている（Wylie et al. 2017, Manley et al. 2020）。

アシミニブに対する感受性を低下させる要因として，BCR-ABL1 発現細胞におけるトランスポーターの発現亢進が知られている。実際に，ABCB1（P 糖タンパク質：MDR1），ABCC1（多剤耐性タンパク質：MRP1），ABCG2（乳癌耐性タンパク質：BCRP）等の ATP 結合カセットトランスポーターは，イマチニブ，ニロチニブやダサチニブに対する薬剤耐性に関連している（Dohse et al. 2010, Eadie et al. 2018）。また，CML 由来細胞株では ATP 結合カセットトランスポ

ーターの ABCB1 及び ABCG2 の発現亢進によりアシミニブに対する感受性が低下することが示されている（Qiang et al. 2017, Eadie et al. 2018）。

Table 2-2 野生型又は変異型 BCR-ABL1 導入 Ba/F3 細胞に対するアシミニブ及び ATP 競合型阻害薬の増殖抑制作用

BCR-ABL1 変異	アシミニブ	ボスチニブ	ダサチニブ	イマチニブ	ニロチニブ	ポナチニブ
	IC50 の平均値（nM）± 標準偏差，n = 3					
野生型	0.61 ± 0.21	204 ± 32	0.30 ± 0.04	90.5 ± 19.2	3.52 ± 1.07	0.37 ± 0.04
G250H	0.74 ± 0.27	146 ± 24	0.29 ± 0.03	77.1 ± 11.8	3.71 ± 1.61	0.34 ± 0.07
E255V	1.17 ± 0.54	278 ± 49	0.77 ± 0.31	874 ± 92	61.6 ± 13.2	1.93 ± 0.79
Y253H	1.71 ± 0.75	177 ± 78	0.42 ± 0.08	836 ± 171	132 ± 52	1.21 ± 0.32
E255K	2.35 ± 0.71	356 ± 69	1.44 ± 0.45	838 ± 64	36.9 ± 8.5	2.60 ± 0.75
E459K	3.01 ± 1.37	140 ± 25	0.25 ± 0.09	201 ± 44	9.21 ± 3.41	0.64 ± 0.27
V299L	6.12 ± 4.21	449 ± 58	1.84 ± 1.00	154 ± 47	5.20 ± 1.93	0.32 ± 0.22
T315I	7.64 ± 3.22	642 ± 100	2562 ± 516	9645 ± 710	2262 ± 891	1.60 ± 0.48
E355G	9.33 ± 2.14	128 ± 30	0.21 ± 0.01	149 ± 6.4	4.82 ± 1.60	0.28 ± 0.17
Q252H	10.9 ± 3.53	243 ± 44	0.98 ± 0.40	455 ± 54.9	18.9 ± 4.71	1.89 ± 0.57
F359V	11.5 ± 4.87	195 ± 46	0.33 ± 0.05	249 ± 87	29.6 ± 11.2	1.63 ± 0.50
P223S	15.0 ± 5.74	147 ± 32	0.25 ± 0.04	63.0 ± 17.3	2.90 ± 1.11	0.32 ± 0.02
K294E	18.2 ± 9.80	112 ± 18	0.14 ± 0.29	43.8 ± 18.5	2.40 ± 1.00	0.25 ± 0.07
I502L	30.2 ± 10.3	137 ± 25	0.21 ± 0.03	56.2 ± 16.7	2.68 ± 0.92	0.29 ± 0.09
V468F	322 ± 83	152 ± 11	0.14 ± 0.04	65.3 ± 24.1	2.40 ± 0.86	1.57 ± 0.07
P465S	369 ± 119	161 ± 39	0.25 ± 0.02	92.2 ± 10.2	3.30 ± 1.14	3.64 ± 0.04
A337V	453 ± 70	200 ± 38	0.29 ± 0.08	82.1 ± 21.9	3.67 ± 1.51	3.52 ± 0.08

Source: Manley et al. 2020

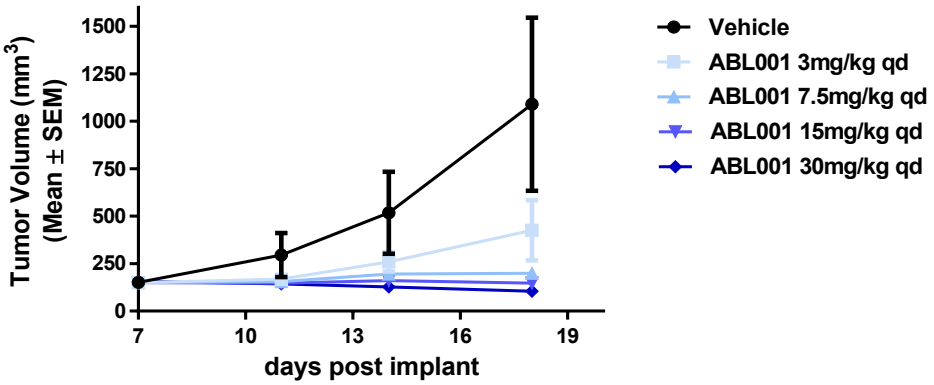
2.3 *In vivo* 薬理試験

急性転化期のヒト CML 由来の KCL-22 細胞株をマウスに皮下移植（異種移植モデル）して，アシミニブの抗腫瘍効果を検討した[Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]。なお，KCL-22 細胞は BCR-ABL1 を発現し *in vitro* でアシミニブに感受性を示す。また，同 KCL-22 細胞異種移植モデルを用い，腫瘍中 STAT-5（シグナル伝達兼転写活性化因子 5）のリン酸化を PD マーカーとした PK/PD 試験において，アシミニブは優れた PK/PD 相関を示している（2.7 項）。

2.3.1 KCL-22 細胞異種移植モデルに対するアシミニブ 1 日 1 回投与の影響

胸腺欠損マウスに KCL-22 細胞（2～5 × 10^6 個）を皮下移植し，平均腫瘍体積が 151 mm^3 に達した時点（移植 7 日後）から，アシミニブ（3，7.5，15，及び 30 mg/kg）又は溶媒を 1 日 1 回 11 日間連日経口投与した[Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]。被験物質にはアシミニブ原末を用い，溶媒には 10%塩酸，30%ポリエチレングリコール 300，及び 30%15-ヒドロキシステアレート（20%水性）含有クエン酸緩衝溶液（pH4）を用いた。腫瘍体積（mm^3）は，腫瘍の長さ（L）× 幅（W^2）× 1/2 の式から求めた。溶媒対照群（C）と比較した投与群（T）の相対的腫瘍増殖率（%T/C）を薬効評価の指標とした。その結果，最低用量の 3 mg/kg 投与では有意な腫瘍増殖抑制効果は認められなかったが，7.5 mg/kg では有意な腫瘍増殖抑制効果，15 mg/kg では弱いながらも腫瘍退縮効果（7.5 mg/kg の T/C:5%及び 15 mg/kg の腫瘍退縮率:2%）がみられ，30 mg/kg 投与では有意な腫瘍退縮効果（腫瘍退縮率：33%）が確認された（Figure 2-3, Table 2-3）。

Figure 2-3 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 1 回投与の影響



胸腺欠損マウスに KCL-22 細胞（2～5 × 10^6 個）を皮下移植した 7 日後からアシミニブ（3，7.5，15，及び 30 mg/kg）又は溶媒を 1 日 1 回 11 日間経口投与した（n = 5）。溶媒には 10%塩酸，30%ポリエチレングリコール 300，及び 30%15-ヒドロキシステアレート（20%水性）含有クエン酸緩衝溶液（pH4）を用いた。Vehicle：溶媒，ABL001：アシミニブ，qd：1 日 1 回

値は腫瘍体積（mm^3）（平均値 ± 標準誤差），横軸は KCL-22 細胞移植後の日数を示す。

Source: [Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]

Table 2-3 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 1 回 11 日間投与の影響

被験物質	%T/C	腫瘍退縮率（%）	腫瘍体積の増加（mm^3，平均値 ± 標準誤差）	体重の変化（%，平均値 ± 標準誤差）	生存例
溶媒	100		939 ± 452	6.9 ± 2.3	5/5
アシミニブ（3 mg/kg）	29		276 ± 156	1.5 ± 1.7	5/5
アシミニブ（7.5 mg/kg）	5		49 ± 31*	-0.2 ± 0.5	5/5
アシミニブ（15 mg/kg）		2	-3 ± 5*	0.6 ± 1.1	5/5
アシミニブ（30 mg/kg）		33	-51 ± 9*	0.5 ± 0.8	5/5

平均腫瘍体積が 151 mm^3 に達した時点（移植 7 日後）から，アシミニブ（3，7.5，15，及び 30 mg/kg）又は溶媒を 1 日 1 回 11 日間連日経口投与した。週に 2 回腫瘍体積と体重を測定し，投与開始前から終了後までの腫瘍体積と体重の変化を求めた。腫瘍体積（mm^3）は，腫瘍の長さ（L）× 幅（W^2）× 1/2 の式から求めた。%T/C：対照群（C）と比較した投与群（T）の相対的腫瘍増殖率。

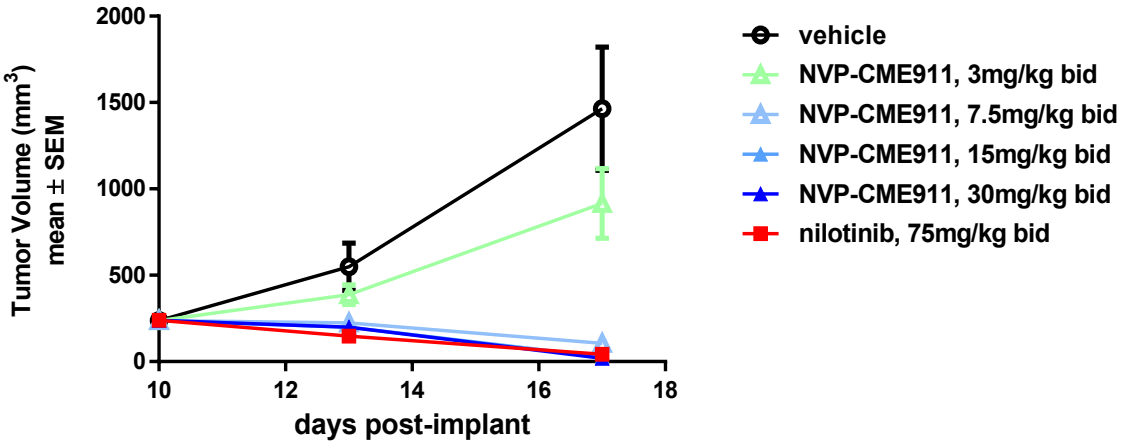
溶媒対照群に対する有意差，*：$p < 0.05$（Dunn の多重比較検定）

Source: [Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]

2.3.2 KCL-22 細胞異種移植モデルに対するアシミニブ 1 日 2 回投与の影響

胸腺欠損マウスに KCL-22 細胞（2～5 × 10^6 個）を皮下移植し，平均腫瘍体積が 238 mm^3 に達した時点（移植 10 日後）から，アシミニブ（3，7.5，15，及び 30 mg/kg）又は溶媒を 1 日 2 回 7 日間連日経口投与した[Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]。PK/PD 試験（2.7 項）においてアシミニブのマウスでの半減期は比較的短かった（4 時間未満）ことから，1 日 1 回投与に加えて 1 日 2 回投与での抗腫瘍効果についても検討した。被験物質にはアシミニブの固体分散体を，溶媒にはリン酸緩衝生理食塩液（PBS）を用いた。その結果，すべての群で忍容性がみられ，体重低下は軽度であった。最低用量の 3 mg/kg 投与で腫瘍増殖が 55%に抑制され，7.5，15，及び 30 mg/kg では有意な腫瘍退縮効果（腫瘍退縮率：56%，88%，及び 92%）が確認された。陽性対照薬のニロチニブでも 75 mg/kg の 1 日 2 回投与で腫瘍退縮効果（腫瘍退縮率：82%）が認められた（Figure 2-4, Table 2-4）[Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]。

Figure 2-4 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 2 回投与の影響



平均腫瘍体積が 238 mm^3 に達した時点（移植 10 日後）から，アシミニブ固体分散体（3，7.5，15，及び 30 mg/kg），ニロチニブ（75 mg/kg）又は溶媒（PBS）を 1 日 2 回 7 日間連日経口投与した（n = 6）。
vehicle：溶媒，NVP-CME911：アシミニブ固体分散体，nilotinib：ニロチニブ，bid：1 日 2 回
値は腫瘍体積（mm^3）（平均値 ± 標準誤差），横軸は KCL-22 細胞移植後の日数を示す。
Source: [Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]

Table 2-4 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 2 回 7 日間投与の影響

被験物質	%T/C	腫瘍退縮率（%）	腫瘍体積の増加（mm^3，平均値 ± 標準誤差）	体重の変化（%，平均値 ± 標準誤差）	生存例
溶媒	100		1226 ± 340	6.3 ± 1.1	6/6
アシミニブ（3 mg/kg）	55		679 ± 192	9.1 ± 1.1	6/6
アシミニブ（7.5 mg/kg）		56	-133 ± 17*	1.6 ± 1.2	6/6
アシミニブ（15 mg/kg）		88	-211 ± 21*	2.3 ± 1.4	6/6
アシミニブ（30 mg/kg）		92	-219 ± 18*	2.1 ± 1.2	6/6
ニロチニブ（75 mg/kg）		82	-196 ± 15*	9.5 ± 1.5	6/6

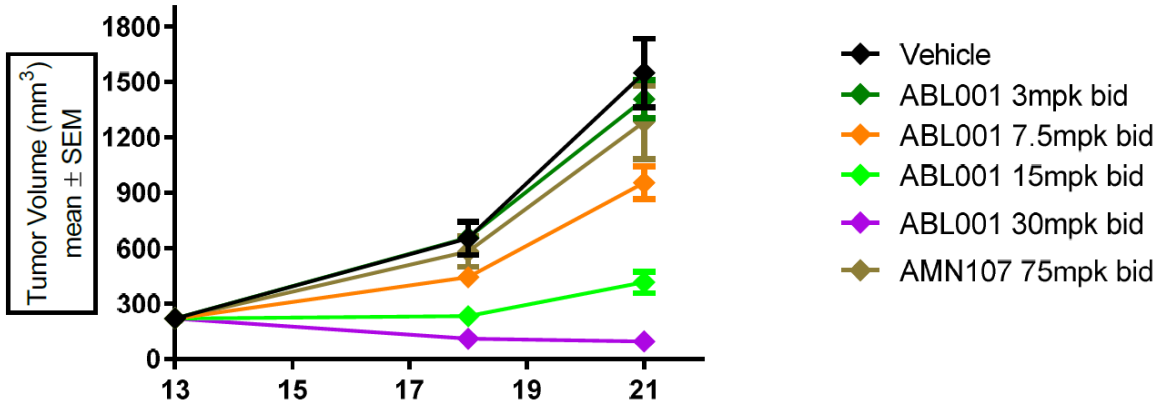
平均腫瘍体積が 238 mm^3 に達した時点（移植 10 日後）から，アシミニブ固体分散体（3，7.5，15，及び 30 mg/kg），ニロチニブ（75 mg/kg）又は溶媒（PBS）を 1 日 2 回 7 日間連日経口投与した。週に 2 回腫瘍体積と体重を測定し，投与開始前から終了後までの腫瘍体積と体重の変化を求めた。腫瘍体積（mm^3）は，腫瘍の長さ（L）× 幅（W2）× 1/2 の式から求めた。%T/C：対照群（C）と比較した投与群（T）の相対的腫瘍増殖率。
溶媒対照群に対する有意差，*：$p < 0.05$（Dunn の多重比較検定）
Source: [Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]

2.3.3 Thr315Ile（T315I）変異 KCL-22 細胞異種移植モデルに対するアシミニブ 1 日 2 回投与の影響

胸腺欠損マウスに T315 I 変異した KCL-22 細胞（5×10^6 個）を皮下移植し，平均腫瘍体積が 218 mm^3 に達した時点（移植 13 日後）から，アシミニブ（3，7.5，15，及び 30 mg/kg）又は溶媒を 1 日 2 回 8 日間連日経口投与した。溶媒には 3% 1N HCl，30% PEG300，6% Solutol HS15，pH 4 クエン酸緩衝液を用いた。対照薬としてニロチニブ（75 mg/kg，1 日 2 回投与）を用いた。

アシミニブは，最低用量の 3 mg/kg 投与では腫瘍増殖（%T/C）を有意に抑制しなかった（T/C：89%）。7.5 及び 15 mg/kg 投与では%T/C が各々55%及び 15%まで低下し，30 mg/kg の 1 日 2 回投与では腫瘍退縮効果（腫瘍退縮率：56%）が確認された。一方，ニロチニブ 75 mg/kg の 1 日 2 回投与は，T315I 変異株 KCL-22 細胞異種移植モデルの腫瘍増殖を抑制しなかった（T/C = 80%）（Figure 2-5, Table 2-5）[Table 2.6.3.2-RD-2020-00314]。アシミニブ（30 mg/kg）の 1 日 2 回投与は KCL-22 細胞移植マウスの体重変化に影響を及ぼさず，投与時の Cmax（最高血漿中薬物濃度）は 7136 nM，Cmin（最低血漿中薬物濃度）（16h）は 30.5 nM であった。

Figure 2-5 T315I 変異 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 2 回投与の影響



平均腫瘍体積が 218 mm^3 に達した時点（移植 13 日後）から，アシミニブ原末（3，7.5，15，及び 30 mg/kg），ニロチニブ（75 mg/kg）又は溶媒（3% 1N HCl，30% PEG300，6% Solutol HS15，pH 4 クエン酸緩衝液）を 1 日 2 回 8 日間連日経口投与した（n = 7）。

vehicle：溶媒，ABL001：アシミニブ，AMN107：ニロチニブ，bid：1 日 2 回

値は腫瘍体積（mm^3）（平均値 ± 標準誤差），横軸は KCL-22 細胞移植後の日数を示す。

Source: [Table 2.6.3.2-RD-2020-00314]

Table 2-5 T315I 変異 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブ 1 日 2 回 8 日間投与の影響

被験物質	%T/C	腫瘍退縮率（%）	腫瘍体積の増加（mm^3，平均値 ± 標準誤差）	体重の変化（%，平均値 ± 標準誤差）	生存例
溶媒	100		1330.7 ± 185.2	9.1 ± 0.7	7/7
アシミニブ（3 mg/kg）	89		1187.8 ± 105.1	10.1 ± 0.7	7/7
アシミニブ（7.5 mg/kg）	55		733.7 ± 88.9*	6.6 ± 1.4	7/7
アシミニブ（15 mg/kg）	15		196.1 ± 59.4*	5.6 ± 2.5	7/7
アシミニブ（30 mg/kg）		56	-123.0 ± 6.2*	3.0 ± 1.0	7/7
ニロチニブ（75 mg/kg）	80		1064.5 ± 199.1	6.9 ± 1.5	7/7

平均腫瘍体積が 218 mm^3 に達した時点（移植 13 日後）から，アシミニブ原末（3，7.5，15，及び 30 mg/kg），ニロチニブ（75 mg/kg）又は溶媒を 1 日 2 回 8 日間連日経口投与した。溶媒には 3%塩酸，30%ポリエチレングリコール 300，及び 6%15-ヒドロキシステアレート含有クエン酸緩衝溶液（pH4）を用いた。週に 2 回腫瘍体積と体重を測定し，投与開始前から終了後までの腫瘍体積と体重の変化を求めた。腫瘍体積（mm^3）は，腫瘍の長さ（L）× 幅（W2）× 1/2 の式から求めた。%T/C：対照群（C）と比較した投与群（T）の相対的腫瘍増殖率。

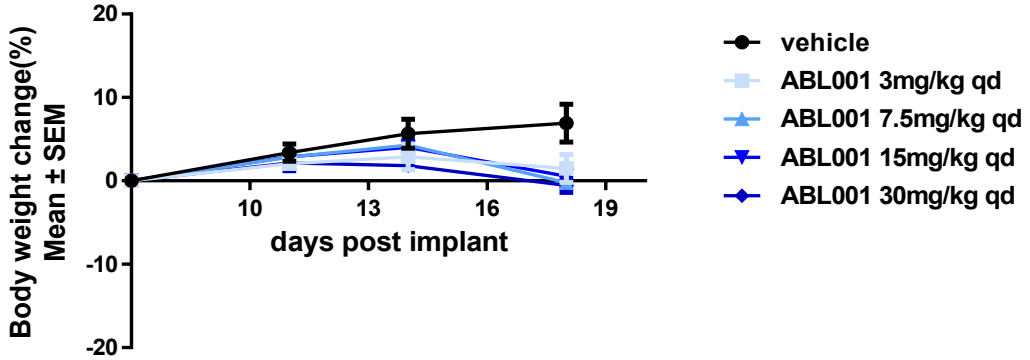
溶媒対照群に対する有意差，*：$p < 0.05$（Dunn の多重比較検定）

Source: [Table 2.6.3.2-RD-2020-00314]

2.4 薬効薬理試験における忍容性の検討

アシミニブの忍容性について，薬効薬理試験で用いた KCL-22 細胞異種移植モデルにおける体重の推移により確認した[Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]。その結果，最高 120 mg/kg までの 1 日 1 回投与で，アシミニブによる体重減少は軽微であり，良好な忍容性を示した（Figure 2-6, Figure 2-7）。

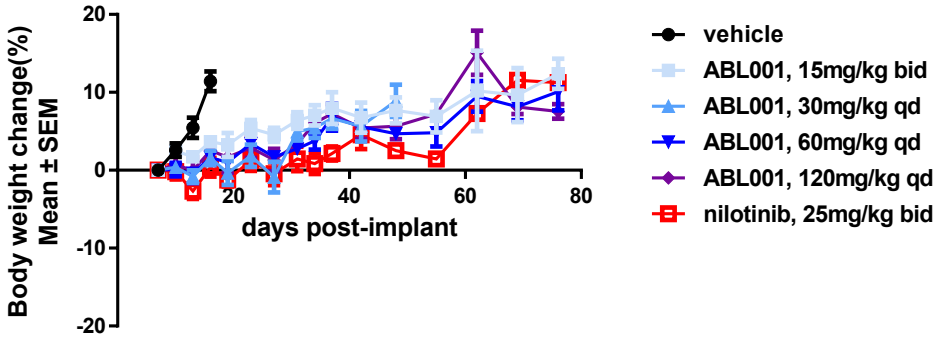
Figure 2-6 KCL-22 細胞を移植したマウスの体重に及ぼすアシミニブ 1 日 1 回 11 日間投与の影響



胸腺欠損マウスに KCL-22 細胞（2～5 × 10^6 個）を皮下移植した 7 日後からアシミニブ原末（3，7.5，15，及び 30 mg/kg）又は溶媒を 1 日 1 回 11 日間経口投与した（n = 5）。溶媒には 10%塩酸，30%ポリエチレングリコール

300，及び 30%15-ヒドロキシステアレート（20%水性）含有クエン酸緩衝溶液（pH4）を用いた。vehicle：溶媒，ABL001：アシミニブ
値は投与前からの体重変化率（%）（平均値 ± 標準誤差），横軸は KCL-22 細胞移植後の日数を示す。
Source: [Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]

Figure 2-7　KCL-22 細胞を移植したマウスの体重に及ぼすアシミニブ 1 日 1 回又は 1 日 2 回 7 日間投与の影響



胸腺欠損マウスに KCL-22 細胞（2～5 × 10^6 個）を皮下移植した 7 日後からアシミニブ原末（15 mg/kg の 1 日 2 回，又は 30，60，120 mg/kg の 1 日 1 回），ニロチニブ（25 mg/kg の 1 日 2 回）又は溶媒を 7 日間経口投与した（n = 5）。溶媒には 10%塩酸，30%ポリエチレングリコール 300，及び 30%15-ヒドロキシステアレート（20%水性）含有クエン酸緩衝溶液（pH4）を用いた。vehicle：溶媒，ABL001：アシミニブ，nilotinib：ニロチニブ，bid：1 日 2 回，qd：1 日 1 回
値は投与前からの体重変化率（%）（平均値 ± 標準誤差），横軸は KCL-22 細胞移植後の日数を示す。
Source: [Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]

2.5　機能モデルでの検討

2.2 項及び 2.3 項に記載した。

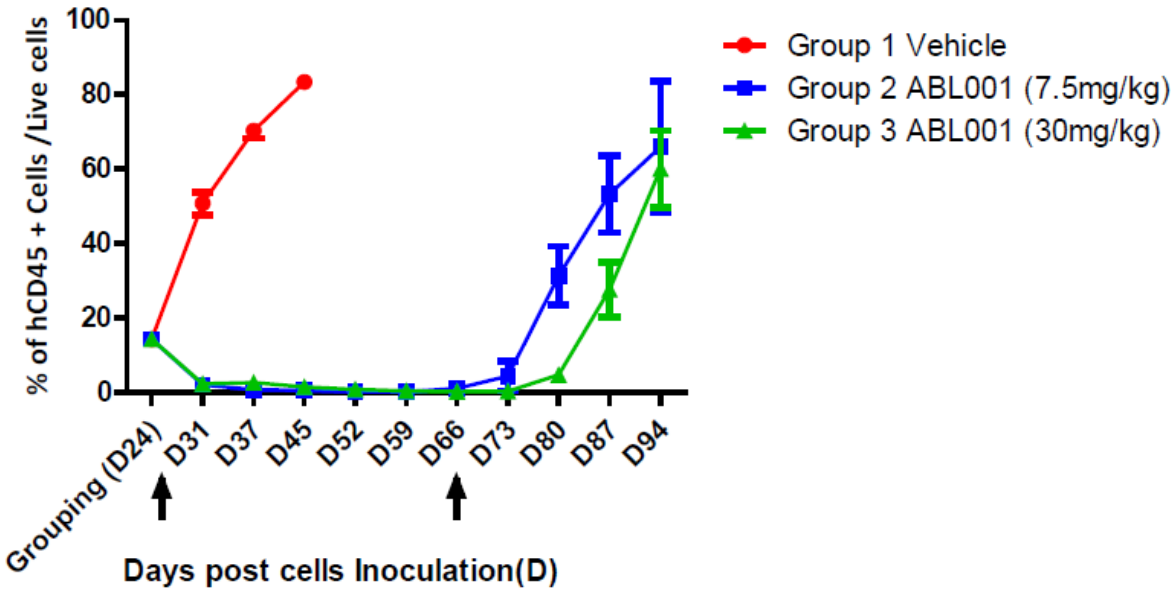
2.6　病態モデルでの検討

2.6.1　急性リンパ芽球性白血病モデルに対するアシミニブの効果

フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ芽球性白血病（ALL）患者 3 名由来の ALL 細胞株（ALL-7015，ALL-7119，及び ALL-7155）を用いた異種移植モデルにより，アシミニブの効果を検討した[Table 2.6.3.2-RD-2018-00292]。代表例として 210 kDa（p210）BCR-ABL1 を有する ALL-7015 株に対する効果を Figure 2-8 に示す。Ph 陽性の ALL 細胞（2 × 10^6 個）を SCID マウスに静脈内接種し，末梢血中での HCD45（Human CD45）陽性細胞の割合をフローサイトメトリー（FACS）解析により測定した。HCD45 陽性細胞の割合が 8%～14%（ALL-7015：約 14%，ALL-7119：約 8%，ALL-7155：約 9%）に達した翌日からアシミニブ（7.5 及び 30 mg/kg）又は溶媒を 1 日 2 回 6 週間経口投与した。なお，被験物質にはアシミニブ原末を用いた。その結果，溶媒対照群の HCD45 陽性細胞の割合は経時的に増加したが，アシミニブはいずれの用量においても末梢血中での HCD45 陽性細胞の増加を完全に抑制した。アシミニブを休薬すると HCD45 陽性細胞

の増加が再発したことから，ALL 治療にはアシミニブの持続的な投与が必要であることが示唆された。

Figure 2-8　患者由来 ALL（ALL-7015）細胞異種移植マウスモデルに対するアシミニブの効果



Ph 陽性の ALL 細胞（2×10^6 個）を SCID マウスに静脈内接種した（Day 0）。末梢血中での HCD45 陽性細胞の割合（%）が約 14%に達した翌日（接種 25 日後：Day 25，↑で示す）から，Day 66（↑で示す）までアシミニブ又は溶媒を 1 日 2 回経口投与した（n = 6）。溶媒には 10%塩酸，30%ポリエチレングリコール 300，及び 30%15-ヒドロキシステアレート（20%水溶液）含有クエン酸緩衝液（pH4）を用いた。

Vehicle：溶媒，ABL001：アシミニブ

値は末梢血中での HCD45 陽性細胞の割合（%）（平均値 ± 標準誤差），横軸は ALL 細胞移植後の日数を示す。

Source: [Table 2.6.3.2-RD-2018-00292]

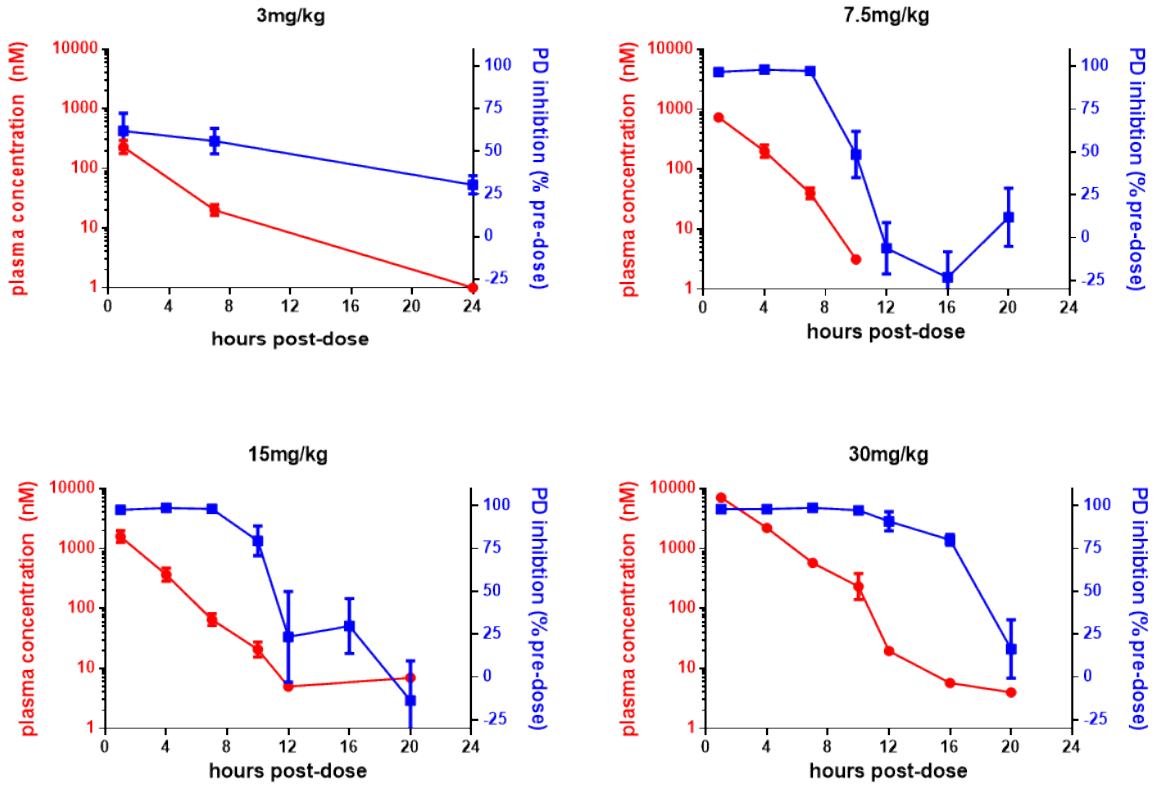
2.7　薬物動態学（PK）/薬力学（PD）試験

アシミニブの PK/PD 相関について KCL-22 細胞異種移植モデルを用いて検討した[Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]。KCL-22 細胞は BCR-ABL1 を発現し，*in vitro* でアシミニブに感受性を示す。本細胞の STAT-5（signal transducer and activator of transcription-5）は BCR-ABL1 の発現により活性化し，イマチニブやニロチニブのような ATP 競合型阻害薬によってその活性は抑制される（Ye et al. 2006）。アシミニブの BCR-ABL1 下流のシグナルへの影響について，STAT-5 のリン酸化を測定することにより検討した。被験物質にはアシミニブの固体分散体を，溶媒には PBS を用いた。

KCL-22 細胞（$2 \sim 5 \times 10^6$ 個）を胸腺欠損マウスに皮下移植した 14 日後にアシミニブを単回経口投与した。経時的にマウスを安楽死させ，PK（血漿中アシミニブ濃度）/PD（腫瘍中 STAT-5 リン酸化抑制作用）解析用に血漿と腫瘍サンプルを採取した。PK/PD 相関を Figure 2-9 に示す。

腫瘍サンプル中の STAT-5 のリン酸化レベルは，抗リン酸化 STAT-5 抗体（抗 Tyr694 抗体）と抗総 STAT-5 抗体を用いた ELISA 法で，また，血漿中アシミニブ濃度は LC/MS（液体クロマトグラフィー/質量分析法）で測定した。アシミニブの 3，7.5，15，及び 30 mg/kg は，マウスに皮下移植された KCL-22 腫瘍細胞の STAT-5 のリン酸化を各々，最大 62，98，99，及び 99%抑制した。30 mg/kg では 80%を上回るリン酸化抑制作用が投与後 16 時間持続した。より低用量の 7.5 及び 15 mg/kg では 90%を上回るリン酸化抑制作用は投与後 7 時間しか持続せず（Table 2-6），血漿中アシミニブ濃度の半減期も 4 時間より短かった。なお，60 及び 120 mg/kg では STAT-5 リン酸化抑制作用はより長く持続したが，PK プロファイルでは吸収の遅延が示唆された。

Figure 2-9　KCL-22 細胞異種移植マウスモデルにアシミニブを単回投与したときの PK/PD 相関



アシミニブを単回経口投与した後，経時的に血漿及び腫瘍サンプルを採取した。血漿中アシミニブ濃度と腫瘍中 STAT-5 リン酸化レベルを測定し，PK（血漿中アシミニブ濃度）及び PD（腫瘍中 STAT-5 リン酸化抑制作用）について分析した。値は平均値 ± 標準誤差（3 mg/kg：n = 3，それ以外の用量：n = 4～8），横軸は投与後の時間を示す。

Source: [Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]

Table 2-6 KCL-22 細胞異種移植マウスモデルにアシミニブを単回投与したときの血漿中薬物濃度と腫瘍中 STAT-5 リン酸化抑制作用

	アシミニブ（7.5 mg/kg）		アシミニブ（15 mg/kg）		アシミニブ（30 mg/kg）	
投与後時間（h）	血漿中アシミニブ濃度（μM）	STAT-5 リン酸化抑制率（%）	血漿中アシミニブ濃度（μM）	STAT-5 リン酸化抑制率（%）	血漿中アシミニブ濃度（μM）	STAT-5 リン酸化抑制率（%）
1	0.73 ± 0.12	96.7 ± 1.2	1.59 ± 0.41	97.6 ± 0.4	7.13 ± 0.47	98.1 ± 0.8
4	0.20 ± 0.05	98.1 ± 0.5	0.37 ± 0.11	98.7 ± 0.2	2.22 ± 0.14	98.1 ± 0.5
7	0.04 ± 0.01	97.4 ± 0.6	0.07 ± 0.02	98.2 ± 0.7	0.58 ± 0.09	98.9 ± 0.2
10	0.003 ± 0.0	48.6 ± 13.5	0.02 ± 0.01	79.5 ± 8.6	0.23 ± 0.15	97.4 ± 1.1
12	BQL	-6.1 ± 15.1	0.005 ± 0.0	23.5 ± 26.5	0.02 ± 0.00	91.0 ± 5.6
16	BQL	-23.2 ± 15	BQL	29.9 ± 16.0	0.006 ± 0.0	80.1 ± 3.2
20	BQL	12.0 ± 17.0	0.007 ± 0.0	-13.7 ± 23	0.004 ± 0.0	16.4 ± 17.1
AUC（μM*h）	2.30		4.66		23.5	

アシミニブを単回経口投与した後，経時的に血漿及び腫瘍サンプルを採取した。血漿中アシミニブ濃度と腫瘍中 STAT-5 リン酸化レベルを測定し，PK（血漿中アシミニブ濃度），PD（腫瘍中 STAT-5 リン酸化抑制作用）について分析した。値は平均値 ± 標準誤差（n = 4～8）で示す。AUC：濃度-時間曲線下面積，BQL：定量限界以下

Source: [Table 2.6.3.2-RD-2013-50145]

3 副次的薬理試験

ABL1 及び ABL2 キナーゼはヒト組織に偏在的に発現し，広範な生理機構に関与している（Khatri et al. 2016）が，ABL キナーゼ阻害薬であるアシミニブは *BCR-ABL1* や *ABL1* 変異等の発がん変異を来した細胞以外には作用を示さなかった（Figure 2-1）。また，小ヘアピン RNA（shRNA）を用いたヒトのがん細胞を対象とした *ABL1* や *ABL2* 遺伝子ノックダウン試験では，細胞生存率への影響はほとんど認められていない（カットオフ：RSA 値 ≤ −3）（McDonald III et al. 2017）。

3.1 *In vitro* 副次的薬理試験

アシミニブのオフターゲット作用について検討する目的で，野生型プロテインキナーゼによる ATP から基質へのリン酸基転移に対する影響について，放射性リン酸化アッセイ（^{33}PanQinase® Activity Assay）で検討した。335 種の野生型プロテインキナーゼを各々の基質存在下で[γ-^{33}P]ATP 試薬に反応させ，生じるリン酸基転移（^{33}P の基質ペプチドへの取り込み）に対するアシミニブの阻害作用について検討した。その結果，10 μM 濃度まで，プロテインキナーゼ活性に 34%を超える低下（残存活性 ≥ 66%）はみられず，アシミニブは明らかな阻害作用を示さなかった[Table 2.6.3.3-RD-2020-00068]，[Table 2.6.3.3-RD-2020-00069]。これは，アシミニブがアロステリックな作用機序を有するために ATP 結合部位との相互作用を示さず，プロテインキナーゼの触媒活性を阻害しないためと考えられる。なお，14 種の脂質キナーゼに対してもアシミニブは阻害活性を示さなかった。

3.2 *In vivo* 副次的薬理試験

In vivo 副次的薬理試験は実施していない。

4 安全性薬理試験

4.1 各種受容体等に対する作用

G タンパク質共役型受容体，細胞トランスポーター，イオンチャネル，核内受容体，酵素を含めた 144 種のタンパク質に対するアシミニブ（固体分散体）の阻害活性について検討した。その結果，5-リポキシゲナーゼ（IC50 値：3.3 μM），小胞モノアミントランスポーター2（IC50 値：3.5 μM），及びセロトニン 2B 受容体（IC50 値：5.1 μM）に対して 10 μM で 50%を超える阻害がみられた。10～30 μM では，アデノシン A3 受容体（IC50：21 μM）,セロトニン 2A 受容体（IC50：18 μM）,ノルエピネフリン・トランスポーター（IC50：22 μM），及びナトリウムチャネル Nav1.5（IC50：29.7 μM）に対して阻害活性を示した[Table 2.6.3.4-RD-2013-50448]。

4.2 心血管系に及ぼす影響

4.2.1 *In vitro* 安全性薬理試験

ナトリウムチャネル Nav1.5，L 型カルシウムチャネル Cav1.2，及び遅延整流性カリウムチャネル IKs 電流に対するアシミニブの影響について，オートパッチクランプシステムで検討した（非 GLP 試験）[Table 2.6.3.4-RD-2013-50448]，[Table 2.6.3.4-RD-2012-50350]。パッチクランプには，ヒト Nav1.5 を発現させた HEK（ヒト胎児由来腎臓）293 細胞，hCav1.2/β2/α2δ1 サブユニットを共発現させた Cav1.2 チャネル発現 CHO（チャイニーズハムスター卵巣）細胞，又は hKvLQT1/hminK（IKs）を発現させた CHO 細胞を用いた。アシミニブ（固体分散体）は 0.3%DMSO に溶解し，0.09～50 μM 又は 0.01～30 μM 濃度で適用した。その結果，アシミニブは Nav1.5 チャネル電流を阻害し，IC50 値は 29.7 μM であった[Table 2.6.3.4-RD-2013-50448]。一方，Cav1.2 及び IKs チャネル電流に対しては 30 μM で各々11%（11 ± 6.7，n = 6）及び 5.2%（5.2 ± 6.1，n = 3）の阻害率を示し，IC50 値は求められなかった[Table 2.6.3.4-RD-2012-50350]。

hERG（human ether-à-go-go-related gene）チャネル電流に対するアシミニブの影響について，hERG チャネルを発現させた CHO 細胞膜標品又は全細胞を用いて，[^{3}H]dofetilide をリガンドとした放射性リガンド結合アッセイ及びオートパッチクランプシステムによるパッチクランプ法で検討した（非 GLP 試験）[Table 2.6.3.4-RD-2013-50448]。その結果，アシミニブは，hERG 阻害薬 dofetilide の CHO 細胞膜への結合を阻害し，30 μM での阻害率は平均で 48%（38%，57.8%）であった（n = 2）。CHO 細胞を用いたオートパッチクランプにおいてアシミニブは hERG 電流を 30 μM で 54.9%阻害した（IC50 値：26.2 μM，n = 1）。

hERG チャネル電流に対するアシミニブの影響について，hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞を用いて検討した。その結果，アシミニブは 30 μM で hERG チャネル電流を 15.5%阻害

（$p < 0.001$，$n = 3$）したが，10 μM では影響は認められなかった（非 GLP 試験）[Table 2.6.3.4-1214502]。また，1～30 μM を用いた GLP 試験では濃度依存的な阻害がみられ，各濃度での阻害率（平均値 ± 標準誤差）は，溶媒で 0.6 ± 0.5%（$n = 3$），1 μM で 11.6 ± 1.3%（$n = 3$），3 μM で 19.1 ± 1.4%（$n = 3$），10 μM で 51.7 ± 2.5%（$n = 4$），30 μM では 66.6 ± 1.3%（$n = 3$）であった[Table 2.6.3.4-1370037]。各濃度での阻害率と溶媒対照の間にはいずれも有意差（$P < 0.05$）が認められ，アシミニブの hERG 阻害作用の IC50 値は 11.4 μM と算出された（ヒル係数：0.9）。

4.2.2 *In vivo* 安全性薬理試験

4.2.2.1 心血管系に及ぼす影響（無麻酔雄性ビーグル犬の単回経口投与試験）

アシミニブの心血管系に及ぼす影響を検討する目的で，テレメトリー装置を装着した覚醒下イヌ（雄性ビーグル犬）を用いた GLP 試験を実施した[Table 2.6.3.4-1270621]。被験物質にはアシミニブの固体分散体を用いた。4 例のビーグル犬に 0（溶媒），3，15，及び 60 mg/kg のアシミニブをラテン方格法で割り付け，単回経口投与した。溶媒には 1.8%（w/v）ヒドロキシプロピルメチルセルロース及び 1.8%（w/v）Kollidon® VA 64 含有リン酸緩衝液を用い，5 mL/kg の容量で投与した。死亡の有無，一般状態，体重，体温，心血管系への影響（収縮期，拡張期，及び平均血圧，心拍数，心電図を投与前 2 時間から投与後 24 時間まで測定）について検討した。

アシミニブ投与に関連した死亡，一般状態，体重，及び体温の変化はみられなかった。60 mg/kg 投与では拡張期血圧に影響はみられなかったが，収縮期血圧（最大 17 mmHg，13%の低下），平均血圧（最大 15 mmHg，15%の低下），及び脈圧（最大 11 mmHg，15%の低下）の低下が認められ，心拍数の増加（24 bpm，44%の増加）もみられた。心拍数と平均血圧は投与 17 時間後までに回復したが，収縮期血圧と脈圧は投与 24 時間後においても回復しなかった。心電図では，心拍数の増加により QT 間隔の短縮がみられたが，心電図波形，QRS 間隔，PR 間隔，心拍数で補正した QT 間隔（QTcV: Van de Water 式を用いて心拍数で補正した QT 間隔）に影響はみられなかった。なお，3 及び 15 mg/kg ではいずれのパラメータにも影響はみられなかった。

4.2.2.2 心血管系に及ぼす影響（反復投与毒性試験）

アシミニブの心血管系機能に及ぼす影響については，イヌを用いた用量漸増投与毒性試験（非 GLP）[Table 2.6.7.5-1270174]，イヌを用いた 2 週間反復投与用量設定試験（非 GLP）[Table 2.6.7.6-1270561]，イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（GLP）[Table 2.6.7.7C-1270620]，サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験（GLP）[Table 2.6.7.7D-1470095]，及びサルを用いた 39 週間反復投与毒性試験（GLP）[Table 2.6.7.7E-1470799]においても検討されている。

イヌを用いた用量漸増試験（30～600 mg/kg を単回経口投与）[Table 2.6.7.5-1270174]において，600 mg/kg 投与の 3 例中 1 例で心拍数の増加がみられた以外，心血管系への影響はみられなかった。心電図検査においても，イヌに最大 4 週間，サルに最大 39 週間投与しても QT 延長はみられなかった。

4.3 中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響

アシミニブの中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響について，ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験（GLP）[Table 2.6.7.7A-1270619]の中で検討した。被験物質にはアシミニブの固体分散体を用いた。

アシミニブを 0（溶媒），50，200，及び 600 mg/kg の用量で 1 日 1 回 29 日間経口投与した（雌雄 10 例／群）。呼吸系の評価として，投与 3 日（Day 3）の投与 6 時間後まで及び投与 24 時間後にプレチスモグラフィーを用いて呼吸数，1 回換気量，及び分時換気量を測定した。中枢神経系の評価として，投与 11 日（Day 11）の投与前と投与約 2 時間後に機能観察総合評価法（FOB，functional observational battery）による観察を行い，ホームケージ内での観察，ハンドリング，及びオープンフィールドによる観察，刺激に対する感覚反応，運動機能について評価した。

FOB 観察において 200 mg/kg 以上の雄で流涎がみられたが，その後の観察で回復性が認められたことから有害な変化とは評価されなかった。プレチスモグラフィーを用いた呼吸器パラメータにはいずれの用量においても影響は認められなかった。各用量での曝露量を Table 4-1 に示す。

以上，アシミニブを 600 mg/kg/日まで投与しても，ラットの中枢神経系及び呼吸系に有害な影響は認められなかった。

Table 4-1 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験における曝露量

		雄		雌	
用量（mg/kg/日）	測定日	AUC0-24h（ng· h/mL）	Cmax（ng/mL）	AUC0-24h（ng· h/mL）	Cmax（ng/mL）
50	投与 1 日	47700	4860	36300	5360
	投与 29 日	50200	5450	59600	5200
200	投与 1 日	221000	15700	177000	12300
	投与 29 日	177000	16500	212000	16400
600	投与 1 日	296000	13800	271000	16800
	投与 29 日	337000	21900	457000	31100

n = 2
溶媒：7.5%（w/v）ヒドロキシプロピルメチルセルロース及び 7.5%（w/v）Kollidon® VA 64 含有リン酸緩衝液

5 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用の検討は実施していない。

6 考察及び結論

アシミニブは強力な BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬であり，BCR-ABL1 のアロステリック部位であるミリストイルポケットに特異的に結合する。このアロステリック部位は，本来，ABL キナーゼ活性を制御しているが，*BCR-ABL1* 遺伝子融合によってその機能を失うことで，ABL チロシンキナーゼが恒常的に活性化し，白血病細胞の増殖を促進するシグナル伝達経路の調

節機能に異常を示す。アシミニブは，このアロステリック部位に結合し，ABL キナーゼ活性の制御を正常化することで，BCR-ABL1 を発現する CML 細胞の増殖を強力かつ選択的に阻害することが期待される。

In vitro 生化学的活性試験では，アシミニブは *BCR-ABL1* 融合タンパク質のキナーゼドメインのアロステリック部位に対して高い親和性で結合し，ABL1 キナーゼ活性を強力に阻害した（2.2 項）。*BCR-ABL1* がん遺伝子を発現するヒト由来白血病細胞の増殖に対するアシミニブの特異的阻害能についても評価した結果，BCR-ABL1 依存の増殖に対するアシミニブの阻害能（IC50）は 1.7～24 nM であった（2.2.1 項）。アシミニブは，野生型 BCR-ABL1 を導入した Luc-Ba/F3 細胞株の増殖を強力かつ選択的に阻害した。アシミニブは ATP 結合部位と相互作用を示さないため，ATP 部位に結合する BCR-ABL1 チロシンキナーゼの耐性変異を導入した Luc-Ba/F3 細胞に対しても増殖抑制作用を示した（2.2.3 項）。

In vivo 薬理試験では，BCR-ABL1 を発現した急性転化期のヒト CML 由来の KCL-22 細胞株を異種移植したマウスモデルにアシミニブを 1 日 1 回 11 日間又は 1 日 2 回で 7 日間経口投与した結果，7.5 mg/kg 以上の用量で腫瘍退縮が認められた（2.3.1 項，2.3.2 項）。この有効性には，BCR-ABL1 下流の PD マーカーである STAT-5 の阻害作用との関連性が示唆された（2.7 項）。アシミニブは，ALL 患者由来の異種移植腫瘍モデルにおいても，7.5 mg/kg 以上の 1 日 1 回経口投与により，強力かつ持続的な抗腫瘍活性を示した（2.6.1 項）。

副次的薬理試験において，アシミニブは ATP 競合型阻害薬とは異なり ABL 又は BCR-ABL1 に優れた選択性を有するため，他のプロテインキナーゼへのオフターゲット作用を示さなかった。

安全性薬理試験では，中枢神経系及び呼吸系に有害な影響は認められなかった。アシミニブは hERG チャネル電流を阻害し，その IC50 値は 11.4 µM であったが，イヌの *in vivo* 試験において 600 mg/kg までの単回経口投与で心血管系に有害な影響（QT 延長及び心電図の変化）は認められなかった。

以上の薬理試験成績から，前治療薬に抵抗性又は不耐容の慢性骨髄性白血病患者の治療において，添付文書案に規定した用法及び用量で本薬を使用することは支持されると判断した。

7 参考文献

[Apperley JF (2007)] Part I: mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia. Lancet Oncol; 8:1018-29.

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

[Blakes AJM, Gaul E, Lam W, et al. (2021)] Pathogenic variants causing ABL1 malformation syndrome cluster in a myristoyl-binding pocket and increase tyrosine kinase activity. Eur Human Genetics; 29:593-603.

[Chang YM, Bai L, Liu S, et al. (2008)] Src family kinase oncogenic potential and pathways in prostate cancer as revealed by AZD0530. Oncogene; 27(49):6365-75.

[Cowan-Jacob SW, Guez V, Fendrich G, et al. (2004)] Imatinib (STI571) resistance in chronic myelogenous leukemia: molecular basis of the underlying mechanisms and potential strategies for treatment. Mini Rev Med Chem; 4:285-99.

[Dohse M, Scharenberg C, Shukla S, et al. (2010)] Comparison of ATP-binding cassette transporter interactions with the tyrosine kinase inhibitors imatinib, nilotinib, and dasatinib. Drug Met Disp; 38:1371-80.

[Eadie LN, Saunders VA, Branford S, et al. (2018)] The new allosteric inhibitor asciminib is susceptible to resistance mediated by ABCB1 and ABCG2 overexpression *in vitro*. Oncotarget; 9:13423-37.

[Eide CA, Zabriskie MS, Stevens SLS, et al. (2019)] Combining the allosteric inhibitor asciminib with ponatinib suppresses emergence of and restores efficacy against highly resistant BCR-ABL1 mutants. Cancer Cell; 36:431-43.

[Flis S and Chojnacki T (2019)] Chronic myelogenous leukemia, a still unsolved problem: pitfalls and new therapeutic possibilities. Drug Des Dev Ther; 13:825-43.

[Hantschel O (2012)] Structure, regulation, signaling, and targeting of Abl kinases in cancer. Genes Cancer; 3:436-46.

[Hantschel O and Superti-Furga G (2004)] Regulation of the c-Abl and Bcr-Abl tyrosine kinases. Nat Rev Mol Cell Biol; 5(1):33-44.

[Hughes TP, Mauro MJ, Cortes JE, et al. (2019)] Asciminib in chronic myeloid leukemia after ABL kinase inhibitor failure. N Engl J Med; 381(24):2315-26.

[Jabbour EJ, Cortes JE, Kantarjian HM (2013)] Resistance to tyrosine kinase inhibition therapy for chronic myelogenous leukemia: A clinical perspective and emerging treatment options. Clin Lymphoma Myeloma Leuk; 13:515-29.

[Khatri A, Wang J, Pendergast AM (2016)] Multifunctional Abl kinases in health and disease. J Cell Sci; 129: 9-16.

[Loscocco F, Visani G, Galimberti S, et al. (2019)] BCR-ABL independent mechanisms of resistance in chronic myeloid leukemia. FrontOncol; 9:1-11.

[Manley PW and Stiefl NJ (2018)] Progress in the discovery of BCR-ABL kinase inhibitors for the treatment of leukemia. Top Med Chem; 28: 1-37.

[Manley PW and Barys L (2020)] The specificity of asciminib, a potential treatment for chronic myeloid leukemia, as a myristate-pocket binding ABL inhibitor and analysis of its interactions with mutant forms of BCR-ABL1 kinase. Leukemia Res; 98:106458.

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

[Miller GD, Bruno BJ, Lim CS (2014)] Resistant mutations in CML and Ph^{+}ALL – role of ponatinib. Biologics: Targets and Therapy; 8:243-54.

[Nagar B, Hantschel O, Young MA (2003)] Structural basis for the autoinhibition of c-Abl tyrosine kinase. Cell; 112:859-71.

[Namba M, Ohtsuki T, Mori M, et al. (1989)] Establishment of five human myeloma cell lines. *In vitro* Cell Dev Biol; 25:723-9.

[Nicolini FE, Basak GW, Kim D-W, et al. (2017)] Overall survival with ponatinib versus allogeneic stem cell transplantation in Philadelphia chromosome-positive leukemias with the T315I mutation. Cancer; 123: 2875-80.

[Qiang W, Antelope O, Zabriskie MS, et al. (2017)] Mechanisms of resistance to the BCR-ABL1 allosteric inhibitor asciminib. Leukemia; 31:2844-7.

[Schoepfer J, Jahnke W, Berellini G, et al. (2018)] Discovery of asciminib (ABL001), an allosteric inhibitor of the tyrosine kinase activity of BCR-ABL1. J Med Chem; 61:8120-35.

[Soverini S, Branford S, Nicolini FE, et al. (2014)] Implications of BCR-ABL1 kinase domain-mediated resistance in chronic myeloid leukemia. Leuk Res 38:10-20.

[Soverini S, Colarossi S, Gnani A, et al. (2006)] Contribution of ABL kinase domain mutations to imatinib resistance in different subsets of Philadelphia-positive patients: by the GIMEMA working party on chronic myeloid leukemia. Clin Cancer Res. 12(24):7374-9.

[Tran P, Hanna I, Eggimann FK, et al. (2020)] Disposition of asciminib, a potent BCR-ABL1 tyrosine kinase inhibitor, in healthy male subjects. Xenobiotica; 50(2):160-179.

[Warmuth M, Kim S, Gu X-J, et al. (2007)] Ba/F3 cells and their use in kinase drug discovery. Current Opin Oncol; 19:55-60.

[Wylie AA, Schoepfer J, Jahnke W, et al. (2017)] The allosteric inhibitor ABL001 enables dual targeting of BCR-ABL1. Nature; 543:733-7.

[Yang J, Campobasso N, Biju MP, et al. (2011)] Discovery and characterization of a cell-permeable, small-molecule c-Abl kinase activator that binds to the myristoyl binding site. Chem Biol; 18:177-86.

[Ye D, Wolff N, Li L, et al. (2006)] STAT5 signaling is required for the efficient induction and maintenance of CML in mice. Blood; 107:4917-25.

[Yeo WL, Riely GJ, Yeap BY, et al. (2010)] Erlotinib at a dose of 25 mg daily for non-small-cell lung cancers with EGFR mutations. J Thorac Oncol; 5(7):1048-53.

[Zhang J, Adrián FJ, Jahnke W, et al. (2010)] Targeting Bcr-Abl by combining allosteric with ATP-binding-site inhibitors. Nature; 463:501-6.

2.6.3 薬理試験概要表

目　次

目　次 2
略号一覧 3
2.6.3.1　薬理試験一覧表 4
2.6.3.2　薬効を裏付ける試験 6
2.6.3.3　副次的薬理試験 6
2.6.3.4　安全性薬理試験 7

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ABL1/ABL1	*italicized*: Abelson oncogene 1 non-italicized: Abelson protein 1	Abelson 遺伝子 1 Abelson タンパク質 1
BCR-ABL1	breakpoint cluster region Abelson 1 proto-oncogene	breakpoint cluster region-Abelson1 融合遺伝子
CHO	chinese hamster ovary	チャイニーズハムスターの卵巣
CML	chronic myeloid leukemia	慢性骨髄性白血病
CNS	central nervous system	中枢神経系
ECG	electrocardiogram	心電図
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	ヒト胎児腎
hERG	human Ether-à-go-go related gene	ヒト Ether-à-go-go 関連遺伝子
IC50	half maximal (50%) inhibitory concentration	50%阻害濃度
PD	pharmacodynamics	薬力学
PK	pharmacokinetics	薬物動態
PR	PR interval	PR 間隔
QRS	QRS interval	QRS 間隔
QT	QT interval	QT 間隔
QTc	QTc interval corrected for heart rate	心拍数補正 QT 間隔
RLB	radioligand binding	放射リガンド結合

2.6.3.1 薬理試験一覧表

Type of study	Test system or protocol	Method of administration	Test facility	Report number	Location in CTD
効力を裏付ける試験					
>*In vitro* 薬理試験					
Isothermal calorimetry studies of asciminib binding to ABL1	Binding studies of asciminib to ABL1 protein	*In vitro*	[redacted]	[RD-2020-00196]	4.2.1.1-1
Biochemical and cellular activity of ABL001	Biochemical activity in ABL1 kinase assay; effects on proliferation of cells engineered to be dependent upon BCR-ABL1; effects on viability of large panel of human cancer cell lines	*In vitro*	Novartis Pharma AG	[RD-2013-50447]	4.2.1.1-2
Effects of asciminib on the proliferation of a large panel of cancer lines	Comparative effects on viability of human CML cell lines with those in large panel of human cancer cell lines	*In vitro*	Novartis Pharma AG	[RD-2019-00440]	4.2.1.1-3
Structure confirmation	The chemical structure of ABL001 is validated based on IR, Raman, high-resolution MS and NMR spectroscopy	*In vitro*	Novartis Pharma AG	[RD-2013-00008]	4.2.1.1-4
Structure confirmation	The chemical structure of ABL001 was confirmed by x-ray analysis of a crystalline specimen grown from a mixture of methanol, ethanol and hydrochloric acid	*In vitro*	Novartis Pharma AG	[RD-2013-00510]	4.2.1.1-5
Characterization of the ABL1-asciminib-dasatinib ternary complex	Nuclear magnetic resonance study of asciminib-ABL1-dasatinib ternary complex	*In vitro*	Novartis Pharma AG	[RD-2020-00071]	4.2.1.1-6
>*In vivo* 薬理試験					
In vivo efficacy of ABL001 in CML model with PKPD assessment	Pharmacokinetic, pharmacodynamic and efficacy studies in murine models of CML	Single oral (3, 7.5, 15, 30 mg/kg)	Novartis Pharma AG	[RD-2013-50145]	4.2.1.1-7
In vivo efficacy of ABL001 in T315I CML model	*In vivo* efficacy of ABL001 in T315I-mutant xenograft model	BID oral (3, 7.5, 15, 30 mg/kg)	Novartis Pharma AG	[RD-2020-00314]	4.2.1.1-8
In vivo efficacy of ABL001 in acute lymphoblastic leukemia	Effects of asciminib in murine model of ALL	BID oral (7.5, 30 mg/kg)	[redacted] (Beijing)	[RD-2018-00292]	4.2.1.1-9

Type of study	Test system or protocol	Method of administration	Report number	Location in CTD
副次的薬理試験				
>*In vitro* 副次的薬理試験				
NVP-ABL001: *In vitro* effects on protein and lipid kinases	Effects on kinases in biochemical assays	*In vitro*	[RD-2020-00068]	4.2.1.2-1
NVP-ABL001: *In vitro* effects on protein and lipid kinases	Effects on kinases in biochemical assays	*In vitro*	[RD-2020-00069]	4.2.1.2-2
安全性薬理試験	Refer to 2.6.3.4			
薬力学的薬物相互作用試験	No studies pertinent to the proposed current indication were performed.			

2.6.3.2　薬効を裏付ける試験

2.6.3.1 に記載

2.6.3.3　副次的薬理試験

2.6.3.1 に記載

2.6.3.4 安全性薬理試験

Organ systems evaluated	Species/strain	Method of admin.	Doses (mg/kg)[a]	Gender and no. per group	Significant findings	GLP	Report number	Location in CTD
Multi-organ (off-target panel; 144 off-targets)	Mammalian /human/ insect cells	*In vitro*	0.1 to 30 µM	Multi-well plates	Activity of >50% (inhibition/activation) at 10 or 30 µM: 5-lipoxygenase: IC50 = 3.3 µM; VMAT-2 vesicular monoamine transporter: IC50 = 3.5 µM; 5HT2B serotonin receptor antagonism: IC50 = 5.1 µM; adenosine Ad3 receptor: binding-IC50 = 21 µM; 5HT2A antagonism: IC50 = 18 µM; NET norepinephrine transporter: IC50 = 22 µM	No	[RD-2013-50448]	4.2.1.3-1
Cardiovascular	HEK293 cells	*In vitro*	0.09 to 50 µM	Multi-well plates	Nav1.5 cardiac sodium channel: IC50 = 29.7 µM	No	[RD-2013-50448]	4.2.1.3-1
Cardiovascular	CHO cells	*In vitro*	0.003 to 30 µM	96-well format	RLB: IC50 >30 µM (48% inhibition at 30 µM)	No	[RD-2013-50448]	4.2.1.3-1
	CHO cells	*In vitro*	0.37 to 30 µM	96-well format	Qpatch: IC50 = 26.2 µM			
Cardiovascular	CHO cells	*In vitro*	0.01 to 30 µM	Multi-well plates	30 µM: No inhibition for IKs 30 µM: No inhibition for Cav1.2	No	[RD-2012-50350]	4.2.1.3-2
Cardiovascular	hERG HEK293 cells	*In vitro*	10, 30 µM	3 cells/group	30 µM: decreased hERG channel activity by 15.5%	No	[1214502]	4.2.1.3-3
Cardiovascular	hERG HEK293 cells	*In vitro*	1, 3, 10 and 30 µM	3-4 cells/group	IC50 for hERG = 11.4 µM	Yes	[1370037]	4.2.1.3-4

Organ systems evaluated	Species/strain	Method of admin.	Doses (mg/kg)[a]	Gender and no. per group	Significant findings	GLP	Report number	Location in CTD
Cardiovascular	Dog/Beagle	Oral (gavage)	0, 3, 15, 60	4 males	60 mg/kg: increased heart rate (up to 24 beats/min or 44%), decreased systolic pressure (up to 17 mmHg or -13%), decreased mean arterial pressure (up to 15 mmHg or -15%), and decreased arterial pulse pressure (up to 11 mmHg or -15%). Heart rate and mean arterial pressure returned to control levels by 17 hours after dosing, but reversibility of the systolic and arterial pulse pressure effects was not evident within 24 hours postdose. Shortening of QT interval was secondary to increased heart rate, and no test article-related changes in qualitative ECG, QRS duration, PR interval, QTc interval, diastolic pressure, or body temperature occurred. 3 or 15 mg/kg: No effect on ECG or hemodynamic measures	Yes	[1270621]	4.2.1.3-5
CNS and Respiratory	Rat/Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	0, 50, 200, 600 for 4 weeks	males and female 10 per group	≥200 mg/kg/day: Excessive salivation in males No effect on measures of respiratory function (respiration rate, tidal volume, and minute volume) through 24 hours postdose	Yes	[1270619]	4.2.3.2-2

a = Single dose unless specified otherwise.