TABLE OF CONTENTS

LIST OF FIGURES 1
1. 緒言 2

LIST OF FIGURES

Figure 1. エルラナタマブの構造 2

1. 緒言

エルラナタマブ（遺伝子組換え）（以下，エルラナタマブ，開発番号：PF-06863135）は，多発性骨髄腫に対する治療薬として開発されたヘテロ二量体ヒト化完全長二重特異性抗体であり，B細胞成熟抗原（BCMA）結合アームおよびCD3結合アームと修飾ヒトIgG2ΔA結晶化可能断片（Fc）領域を有する（Figure 1）。

エルラナタマブは標的細胞の細胞表面に発現したBCMAおよびT細胞に発現した細胞外サブユニットであるCD3εを直接架橋することで，T細胞のシグナル伝達，活性化および標的細胞に対する細胞傷害作用を誘導すると考えられる。エルラナタマブの抗原結合ドメインは，標的であるBCMAおよびCD3εを認識して結合する。またエルラナタマブのFc領域は，新生児Fc受容体（FcRn）に対して結合するが，C1qならびに一部のサブタイプに対する弱い結合を除いてFcγ受容体（FcγR）に結合しない。

本製造販売承認申請における効能・効果および用法・用量を添付文書（案）（1.8.1）に記載した。

Figure 1.　エルラナタマブの構造

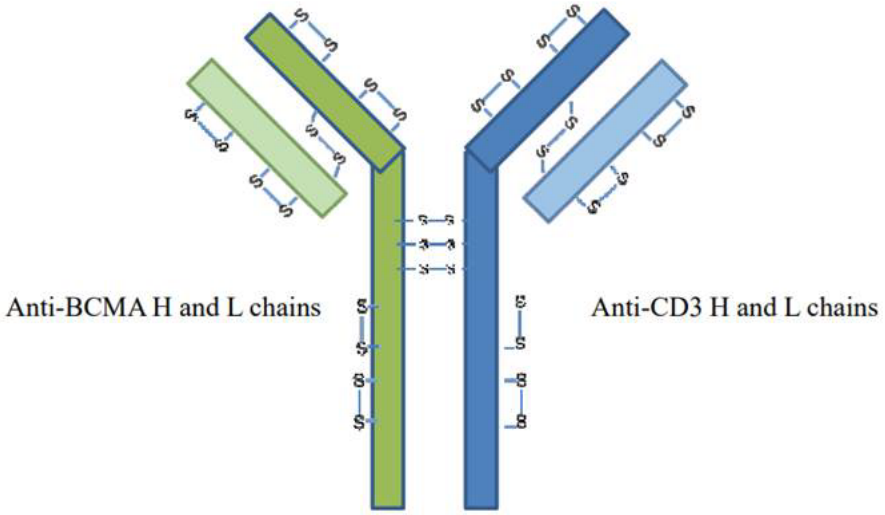


TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 2
LIST OF FIGURES 2
本項で使用する用語・略号 3
1. まとめ 5
1.1. 背景 5
1.2. 非臨床試験の概要 6
1.2.1. 効力を裏付ける試験 7
1.2.2. 副次的薬理試験 7
1.2.3. 安全性薬理試験 7
2. 効力を裏付ける試験 8
2.1. 効力を裏付ける試験（*In vitro*） 8
2.1.1. エルラナタマブの結合親和性および結合特異性 8
2.1.2. FcRn および FcγR に対するエルラナタマブの結合活性 9
2.1.3. ヒト BCMA とヒト APRIL またはヒト BAFF との相互作用に対するエルラナタマブの阻害作用 11
2.1.4. 細胞表面上の BCMA に対するエルラナタマブの結合 11
2.1.5. 細胞傷害性 T リンパ球（CTL）活性に対するエルラナタマブの作用 12
2.2. 効力を裏付ける試験（*In vivo*） 14
2.2.1. ヒト T 細胞を移植した同所性骨髄腫モデルにエルラナタマブを単独投与したときの抗腫瘍効果 14
2.2.2. 同所性骨髄腫モデルにエルラナタマブと IMiD を併用投与したときの抗腫瘍効果 17
2.2.3. 同所性骨髄腫モデルにγ-セクレターゼ阻害剤 Nirogacestat とエルラナタマブを併用投与したときの抗腫瘍効果 20
3. 副次的薬理試験 24
4. 安全性薬理試験 24
5. 薬力学的薬物相互作用試験 25
6. 考察及び結論 26
7. 図表 27
8. 参考文献 28

LIST OF TABLES

Table 1. エルラナタマブの結合特性 9
Table 2. エルラナタマブの FcRn および FcγR に対する結合親和性 10
Table 3. 内在性 BCMA を細胞表面上に発現する細胞株におけるエルラナタマブの CTL 活性および T 細胞活性化 12
Table 4. 内在性 BCMA を細胞表面上に発現する骨髄腫細胞株存在下におけるエルラナタマブによる T 細胞のサイトカイン放出 14

LIST OF FIGURES

Figure 1. CTL 活性と各細胞株の細胞表面上の BCMA 発現量の相関性 13
Figure 2. ヒト T 細胞を移植した同所性骨髄腫モデルにエルラナタマブを単独投与した際の抗腫瘍効果 16
Figure 3. MM.1S 移植モデルおよび MOLP8 移植モデルにレナリドミドとエルラナタマブを併用投与した際の抗腫瘍効果 18
Figure 4. MM.1S 移植モデルおよび MOLP8 移植モデルにレナリドミドとエルラナタマブを併用投与したときの体重推移 19
Figure 5. MOLP8 移植モデルにおけるエルラナタマブの抗腫瘍効果，体重減少および生存曲線 21
Figure 6. MOLP8 移植モデルにおける nirogacestat とエルラナタマブの併用投与による抗腫瘍効果および生存率 22
Figure 7. MOLP8 移植モデルにおける nirogacestat とエルラナタマブを併用投与したときの体重推移 23

本項で使用する用語・略号

略号，用語	省略していない表現または定義
APC	antigen presenting cell：抗原提示細胞
APRIL	増殖誘導リガンド，別名：腫瘍壊死因子リガンドスーパーファミリーメンバー13（TNFSF13）
ALL	acute lymphoblastic leukemia：B 細胞性急性リンパ性白血病
BAFF	B-cell activating factor：B 細胞活性化因子
BCMA	B-cell maturation antigen：B 細胞成熟抗原
bsAb	bispecific antibody：二重特異性抗体
CAR-T	chimeric antigen receptor T cell：キメラ抗原受容体 T 細胞
CD3	cluster of differentiation 3 T-cell co-receptor
CD3δ	cluster of differentiation 3 T-cell co-receptor delta subunit
CD3ε	cluster of differentiation 3 T-cell co-receptor epsilon subunit
CD3εδ	cluster of differentiation 3 T-cell co-receptor epsilon/delta subunit
CD3ζ	cluster of differentiation 3 T-cell co-receptor zeta subunit
CD8	cluster of differentiation 8
CD19	cluster of differentiation 19
CD25	cluster of differentiation 25
CD69	cluster of differentiation 69
CHO	Chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
CR	complete response：完全奏効
CRBN	cereblon：セレブロン
CTL	cytotoxic T lymphocyte：細胞傷害性 T リンパ球
EC_{50}	concentration corresponding to 50% of the maximum effect：最大効果の 50%の効果を示す濃度
Fc	fragment crystallizable：結晶化可能断片
FcγR	fragment crystallizable gamma receptor：結晶化可能断片γ受容体
FcRn	neonatal fragment crystallizable receptor：新生児結晶化可能断片受容体
GSI	γ-secretase inhibitor
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
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
IMiD	immunomodulatory drug：免疫調節薬
k_a	association rate constant：結合速度定数
k_d	dissociation rate constant：解離速度定数
K_D	equilibrium dissociation constant：平衡解離定数
Luc	Luciferase：ルシフェラーゼ
mAb	monoclonal antibody：モノクローナル抗体
MFI	Median fluorescence intensity：蛍光強度の中央値
MHC	major histocompatibility：主要組織適合遺伝子複合体
MM	multiple myeloma：多発性骨髄腫
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
NK	natural killer：ナチュラルキラー
NKT	natural killer T：ナチュラルキラーT
PBMC	peripheral blood mononuclear cell：末梢血単核球
PI	proteasome inhibitor：プロテアソーム阻害薬

略号，用語	省略していない表現または定義
SABC	specific antibody binding capacity：特異的抗体結合能
SD	standard deviation：標準偏差
SEM	standard error of the mean：平均値の標準誤差
SPR	surface plasmon resonance：表面プラズモン共鳴
TCR	T-cell receptor：T 細胞受容体
TNF	tumor necrosis factor：腫瘍壊死因子
TNFR	tumor necrosis factor receptor：腫瘍壊死因子受容体

1. まとめ

1.1. 背景

近年多発性骨髄腫（MM）の治療法は進歩しているものの，MM は治癒困難な疾患と考えられている。ほとんどの MM 患者で再発が想定されており，また各治療ラインによって患者はより治療抵抗性となる。自家幹細胞移植に適格な患者における再発までの期間は 17.2 ヵ月（中央値）であり[1]，一次治療として新規の免疫調節薬（IMiD）またはプロテアソーム阻害薬（PI）をベースとした併用療法の適用された患者における再発までの期間は 16.4 ヵ月（中央値）である[2]。このため，再発・難治性 MM に対する新たな治療法が求められている。

T 細胞は抗原特異的免疫応答を誘導する抗原特異的 T 細胞受容体（TCR）複合体を発現する強力な免疫細胞である[3]。TCR は，抗原提示細胞（APC）表面上に主要組織適合遺伝子複合体（MHC）によって提示されたウイルス感染細胞や腫瘍細胞等に由来したペプチドを認識する。提示されたペプチド-MHC 複合体に対する TCR の結合親和性が十分である場合，免疫シナプスが形成されることで，TCR/CD3 複合体のクラスター形成および CD3ζ を介した細胞内シグナルの活性化が引き起こされる[3]。CD3 シグナルを活性化された T 細胞はパーフォリンおよびグランザイム B を APC に対して放出し，この結果 T 細胞と免疫シナプスを形成した APC は細胞溶解されて細胞死に至る。腫瘍細胞は，MHC によるペプチド提示をダウンモジュレートして T 細胞による抗原認識から回避可能とされる。あるいは，腫瘍細胞抗原が提示されたとしても，この抗原を認識できる T 細胞集団が存在しない場合，腫瘍細胞の排除が生じない可能性も考えられる[4,5]。

二重特異性抗体（bsAb）は，腫瘍細胞を細胞傷害性 T 細胞の直接的な標的とする新規の免疫療法である。bsAb は腫瘍抗原と T 細胞上に発現する CD3 に対する異なる 2 つの抗原認識ドメインを有する。bsAb が CD3 と腫瘍抗原にそれぞれ結合し架橋すると，T 細胞は腫瘍細胞に対する細胞傷害反応を開始する。bsAb により誘導される細胞傷害性は T 細胞による通常の細胞傷害性とは異なり，TCR および共刺激分子を発現した T 細胞，APC ならびに腫瘍細胞の抗原ペプチドを提示した MHC I 分子の細胞上への発現を必要としない。CD19/CD3 bsAb であるブリナツモマブは米国 FDA に承認された初の bsAb であり[6,7]，再発・難治性の B 細胞性急性リンパ性白血病（ALL）を対象とした第 2 相試験において 33%が完全奏効（CR），10%が造血機能の部分的な回復を伴う CR が得られた。さらに最近では，再発・難治性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫を対象とした mosunetuzumab[8] および切除不能または HLA-A*02:01 陽性の転移性ぶどう膜黒色腫の成人を対象とした Kimmtrak（tebentafusp-tebn）[9] が T 細胞を腫瘍細胞にリダイレクトする bsAb の成功例として報告された。以上より，腫瘍特異的な抗原に対する bsAb の MM に対する適用可能性が示唆される。

腫瘍壊死因子受容体（TNFR）スーパーファミリーに属する B 細胞成熟抗原（BCMA）は，B 細胞系列に選択的に発現する。非造血組織およびナイーブ B 細胞では BCMA の RNA 発現は認められず，B 細胞の形質芽細胞および骨髄形質細胞への分化時に発現が亢進する[10,11,12]。リガンドである B 細胞活性化因子（BAFF）および増殖誘導リガンド（APRIL）の BCMA に対する結合によって細胞内シグナル伝達が促進され，B 細胞の活性化と形質細胞への分化・成熟が生じ，また形質細胞は長期生存する[13,14]。形質細胞の悪性化により BCMA の発現は維持または亢進することが知られており，骨髄への悪性形質細胞（以下，骨髄腫細胞）の蓄積を特徴とするがんである MM において BCMA は理想的な細胞表面標的である[12]。近年，免疫調節薬（IMiD），

プロテアソーム阻害薬（PI）およびモノクローナル抗体（mAb）が MM に対する治療法として承認・使用されており，MM の治療法は進歩している[15,16]。しかし，最終的にほとんどの患者において再発が認められ，治癒は依然として困難であることから，治癒を目的とした新たな治療方法が求められている[17]。

エルラナタマブ（遺伝子組換え）（以下，エルラナタマブ，開発番号：PF-06863135）はヘテロ二量体ヒト化完全長二重特異性抗体であり，BCMA 結合アームおよび CD3 結合アームならびにヒト修飾 IgG2ΔA 結晶化可能断片（Fc）領域からなる。エルラナタマブはその作用機序として，本来 T 細胞の活性化に必要となる MHC クラス I により提示された抗原と TCR との相互作用を不要とし，T 細胞に発現した CD3εと骨髄腫細胞に発現した BCMA の両方に直接結合することで，T 細胞を標的細胞である骨髄腫細胞にリダイレクトすることが期待される。これにより，BCMA を発現した腫瘍を認識し応答する T 細胞のレパートリーが拡充する。

T 細胞の機能不全や老化は，CD3 bsAb に対する耐性を引き起こす可能性がある。サリドマイド由来の合成化合物である IMiD（第二世代 IMiD であるレナリドミドおよびポマリドミドを含む）は，一次治療および再発・難治性 MM の両方に対する標準治療薬として FDA に認可されている[18]。IMiD は免疫調節作用，抗腫瘍効果および血管新生阻害作用といった広範な作用を示す。IMiD がセレブロン（CRBN）に結合すると CRBN E3 ユビキチンリガーゼ複合体の基質特異性が変化し，最終的に転写抑制因子である IKZF1（Ikaros）および IKZF3（Aiolos）が分解される[19]。IKZF1 および IKZF3 はインターロイキン（IL）-2 の転写抑制因子であるため，IMiD は結果として免疫調節作用を有し，これに加えて抗腫瘍作用（直接的および間接的）を示す。IMiD は，T 細胞共刺激の誘導，他の有益なサイトカイン産生，樹状細胞の成熟，ナチュラルキラー（NK）細胞または NKT 細胞の活性亢進などの有益なメカニズムのほかに，T 細胞の老化を軽減する可能性がある。さらに，BCMA のキメラ抗原受容体 T 細胞（CAR-T）を用いた *in vivo* 非臨床試験では，レナリドミドは低い抗原濃度または抑制的な試験条件で CAR-T の活性を増強し，機能的な疲弊を遅延させた[20]。したがって，エルラナタマブのような BCMA/CD3 bsAb と IMiD の併用により，T 細胞の機能改善および増殖誘導，ならびに機能を失った老化 T 細胞の回復が生じ，その結果持続的かつ効率的に悪性腫瘍細胞が除去されることが考えられる。

γ-セクレターゼは細胞表面上の膜型 BCMA を切断する酵素である。γ-セクレターゼは BCMA を発現した骨髄腫細胞数の減少と可溶性 BCMA プールの増加をもたらし，エルラナタマブのような BCMA を標的とした治療薬の骨髄腫細胞に対する結合能および細胞傷害作用を低下させ，MM 患者における治療効果を低下させる可能性がある。これに対して，γ-セクレターゼ阻害剤（GSI）は骨髄腫細胞表面上の BCMA の切断を阻害することにより，BCMA を標的とした治療法の有効性を高める可能性がある。骨髄腫モデルを用いた *in vivo* 試験では，BCMA の CAR-T と GSI の併用による抗腫瘍効果の増強が示されており[21]，エルラナタマブと GSI の併用投与による治療効果の増強の可能性が考えられる。

1.2. 非臨床試験の概要

以下に要約した非臨床試験により，*in vitro* および *in vivo* でエルラナタマブ（PF-06863135）の薬理学的特性を評価した。PF-06863135 の薬理学的特性を評価するために実施した試験一覧は 2.6.3.1 に示した。評価の結果は 2.6.3.2 に示した。

1.2.1. 効力を裏付ける試験

BCMA および CD3εに対するエルラナタマブの結合親和性および結合特異性を *in vitro* で評価した。エルラナタマブはヒト，カニクイザル，マウスおよびラットの BCMA と結合し，見かけの K_D 値はそれぞれ 38 pmol/L，57 pmol/L，1.5 nmol/L および 5.4 nmol/L であった。また CD3δとヘテロ二量体複合体を形成する CD3εに対するエルラナタマブの結合親和性はヒトおよびカニクイザルで同程度であった。エルラナタマブはヒトおよびカニクイザルの CD3εペプチド N 末端と結合したが，ラットおよびマウスの CD3εペプチド N 末端とは結合しなかった。ヒトとカニクイザルの BCMA および CD3εに対するエルラナタマブの結合親和性がいずれも同程度であったことから，カニクイザルを毒性試験で使用することの妥当性が示された。エルラナタマブおよびアイソタイプコントロールのヒト新生児 Fc 受容体（FcRn）に対する K_D 値はほぼ同程度であり，カニクイザルの FcRn に対する K_D 値の差は 2 倍以内であった。FcγRIIA-131H に対する弱い結合を除いて，エルラナタマブはヒト FcγR に対して結合しなかった。エルラナタマブはヒト BCMA と結合することで，ヒト BCMA とヒト APRIL およびヒト BAFF の相互作用を阻害した。BCMA 発現量の異なる種々の骨髄腫細胞株を用いた CTL アッセイの結果，エルラナタマブは腫瘍細胞に対する細胞傷害性を示し，またヒト T 細胞によるサイトカイン放出を誘導した。エルラナタマブは再発・難治性 MM 患者 3 例および進行期 MM 患者 1 例から採取した初代培養骨髄腫細胞に対して濃度依存的な細胞溶解を誘導した。すなわち，T 細胞を腫瘍細胞にリダイレクトさせることで細胞傷害活性を誘導するエルラナタマブの作用が示された。

3 種の骨髄腫細胞異種移植モデルを用いた *in vivo* 評価において，エルラナタマブは高い抗腫瘍効果を示し，その効果と BCMA の発現量に相関がみられた。BCMA 発現量の低い腫瘍細胞を用いたモデルにおいて，エルラナタマブ反復投与による腫瘍退縮の延長がみられた。また IMiD であるレナリドミドまたは GSI である nirogacestat とエルラナタマブの併用による抗腫瘍効果の増強作用がみられた。

1.2.2. 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実際していない。

1.2.3. 安全性薬理試験

サルを用いた重要な毒性試験において，安全性薬理試験で評価される項目に対するエルラナタマブの影響は認められなかった。

以上の非臨床薬理試験の結果から，BCMA/CD3 bsAb であるエルラナタマブは MM の治療に有効であることが期待された。また安全性薬理に関する評価においては，臨床使用上安全性に大きな問題を生じる可能性は低いと考えられた。

2. 効力を裏付ける試験

2.1. 効力を裏付ける試験（*In vitro*）

2.1.1. エルラナタマブの結合親和性および結合特異性

報告書番号 PF-06863135_[redacted]_021407，PF-06863135_[redacted]_012102

Biacore を用いた表面プラズモン共鳴（SPR）法を用いて，エルラナタマブの結合親和性および結合特異性を検討した。またフローサイトメトリーを用いて，各動物種の細胞に対するエルラナタマブの結合特異性も検討した。

Biacore を用いた SPR 法により，ビオチン化したマウス，ラット，カニクイザルおよびヒト BCMA-Fc に対するエルラナタマブの見かけの平衡解離定数（以下，K_D 値）を測定した。37°C の条件下でエルラナタマブはマウス，ラット，カニクイザルおよびヒトの BCMA-Fc に結合し，見かけの K_D 値はそれぞれ 1.5×10^3，5.4×10^3，57 および 38 pmol/L であった（Table 1）。エルラナタマブは陰性対照としたヒト GHR-Fc に結合しなかった。SPR 法により，37°C の条件下でカニクイザルおよびヒトの CD3εδに対するエルラナタマブの結合反応速度および結合親和性を測定した結果，見かけの K_D 値は 14 nmol/L および 17 nmol/L であった（Table 1）。またエルラナタマブ（1 μmol/L）はマウスおよびラットの CD3εペプチドの N 末端に結合しなかった。

フローサイトメトリーを用いて，各動物種の細胞に対するエルラナタマブの結合特異性を検討した。ヒト，マウス，ラットおよびカニクイザルから単離した CD3 陽性 T 細胞（各 3 例）をエルラナタマブおよび抗 CD8 抗体で染色し，フローサイトメトリーにより CD3/CD8 陽性 T 細胞の CD3 に対するエルラナタマブの結合を蛍光強度の中央値（MFI）として測定した。エルラナタマブは，サルおよびヒトの CD3/CD8 陽性 T 細胞に対して強い結合がみられたが，マウスおよびラットの T 細胞には結合しなかった。

なお，以上の結果に基づくと共に ICH S6 ガイドラインに従い，毒性を評価する動物種としてはカニクイザルを選択した。

Table 1.　エルラナタマブの結合特性

エルラナタマブのヒト，カニクイザル，マウスおよびラット BCMA に対する結合反応速度および結合親和性（SPR 法，37°C）				
抗体	**抗原**	**k_a（$\times10^6$ mol/L^{-1}s^{-1}）(SD)**	**k_d（$\times10^{-3}$s^{-1}）(SD)**	**K_D（nmol/L）(SD)**
エルラナタマブ	Human BCMA-Fc	5.3 (0.51)	0.20 (0.035)	0.038 (0.0075)
エルラナタマブ	Monkey BCMA-Fc	4.0 (0.26)	0.23 (0.037)	0.057 (0.0099)
エルラナタマブ	Mouse BCMA-Fc	2.9 (0.13)	4.3 (0.26)	1.5 (0.11)
エルラナタマブ	Rat BCMA-Fc	1.6 (0.038)	8.4 (0.30)	5.4 (0.23)
エルラナタマブのヒトおよびカニクイザル CD3εδに対する結合反応速度および結合親和性（SPR 法，37°C）				
抗体	**抗原**	**k_a（$\times10^5$ mol/L^{-1}s^{-1}）(SD)**	**k_d（$\times10^{-3}$s^{-1}）(SD)**	**K_D（nmol/L）(SD)**
エルラナタマブ	Human CD3εδ	18 (0.12)	31 (0.32)	17 (0.21)
エルラナタマブ	Monkey CD3εδ	22 (2.4)	30 (1.2)	14 (1.6)

K_D 値は各速度定数の平均値の比から算出した（K_D = kd/ka）。
human BCMA および monkey BCMA はそれぞれ N=4，mouse BCMA, rat BCMA, human CD3εδおよび monkey CD3εδはN = 3で測定した。括弧内の数値は標準偏差を示した。
報告書番号: PF-06863135_[redacted]_021407

2.1.2. FcRn および FcγR に対するエルラナタマブの結合活性

報告書番号 PF-06863135_[redacted]_021407

SPR 法を用いて，カニクイザルおよびヒト FcRn に対するエルラナタマブの結合反応速度および結合親和性を検討した。37°C 条件下で，カニクイザルの FcRn に対する IgG2 アイソタイプコントロールとして用いた抗 ErbB2 抗体（以降，Ab19_hIgG2ΔA-D265A）およびエルラナタマブの K_D 値はそれぞれ 400 nmol/L および 700 nmol/L であり，ヒト FcRn に対する Ab19_hIgG2ΔA-D265A およびエルラナタマブの K_D 値はいずれも 800 nmol/L であった（Table 2）。IgG を固定化していない陰性対照に対するヒトおよびカニクイザル FcRn の結合はみられなかった。

SPR 法を用いて，種々のヒト Fcγ受容体（FcγR）に対するエルラナタマブの結合反応速度および結合親和性を検討した。25°C 条件下で，エルラナタマブおよび Ab19_hIgG2ΔA-D265A はヒト FcγR（FcγRI，FcγRIIA-131H，FcγRIIA-131R，FcγRIIB，FcγRIIIA-158F および FcγRIIIA-158V）に結合しなかった。なお，25°C 条件下で IgG1 アイソタイプコントロールである 6058-hIgG1 はヒト FcγR（FcγRI，FcγRIIA-131H，FcγRIIA-131R，FcγRIIB，FcγRIIIA-158F および FcγRIIIA-158V）に結合し，これら FcγR が生物学的活性を有することが確認された（Table 2）。他試験においてエルラナタマブは FcγRIIA-131H に弱く結合し（K_D 値 > 2.50×10^{-6} mol/L），C1q には結合しなかった（3.2.S.3.1.10.3）。

Table 2.　エルラナタマブの FcRn および FcγR に対する結合親和性

FcRn に対するエルラナタマブの結合反応速度および結合親和性（SPR 法，37°C）				
抗原	**被験物質**			**K_D (nmol/L) (SD)**
hFcRn	エルラナタマブ			800 (25)
	Ab19_hIgG2ΔA-D265A			800 (38)
cyFcRn	エルラナタマブ			400 (62)
	Ab19_hIgG2ΔA-D265A			700 (47)
FcγR に対するエルラナタマブの結合反応速度および結合親和性（SPR 法，25°C）				
抗原	**抗体**	**k_a ($\times 10^6$ $M^{-1}s^{-1}$) (SD)**	**k_d ($\times 10^{-5}s^{-1}$) (SD)**	**K_D (mol/L) (SD)**
hFcγRI	エルラナタマブ	ND	ND	NB[a]
	Ab19_hIgG2ΔA-D265A	ND	ND	NB[a]
	6058-hIgG1	2.9 (0.23)	9.0 (0.045)	3.1×10^{-11} (2.5×10^{-12})
hFcγRIIA-131H	エルラナタマブ	ND	ND	NB[b]
	Ab19_hIgG2ΔA-D265A	ND	ND	NB[b]
	6058-hIgG1	ND	ND	1.0×10^{-6} (3.0×10^{-8})
hFcγRIIA-131R	エルラナタマブ	ND	ND	NB[b]
	Ab19_hIgG2ΔA-D265A	ND	ND	NB[b]
	6058-hIgG1	ND	ND	1.1×10^{-6} (3.0×10^{-8})
hFcγRIIB	エルラナタマブ	ND	ND	NB[b]
	Ab19_hIgG2ΔA-D265A	ND	ND	NB[b]
	6058-hIgG1	ND	ND	3.6×10^{-6} (4.4×10^{-7})
hFcγRIIIA-158F	エルラナタマブ	ND	ND	NB[b]
	Ab19_hIgG2ΔA-D265A	ND	ND	NB[b]
	6058-hIgG1	ND	ND	1.4×10^{-6} (3.6×10^{-8})
hFcγRIIIA-158V	エルラナタマブ	ND	ND	NB[b]
	Ab19_hIgG2ΔA-D265A	ND	ND	NB[b]
	6058-hIgG1	ND	ND	3.2×10^{-7} (1.6×10^{-8})

h: ヒト，ND: 未検出，NB: 結合せず
hFcγRI の K_D 値は各速度定数の比から算出した（K_D = kd/ka）。hFcγRIIA-131H，hFcγRIIA-131R，hFcγRIIB，hFcγRIIIA-158F および hFcγRIIIA-158V の K_D 値は Steady-state analysis 法により算出した。N=3 で測定し，括弧内の数値は各標準偏差を示す。
a. 1 µmol/L で結合が検出されなかったことを示す。
b. 5 µmol/L で結合が検出されなかったことを示す。
報告書番号: PF-06863135_[redacted]_021407.

2.1.3. ヒト BCMA とヒト APRIL またはヒト BAFF との相互作用に対するエルラナタマブの阻害作用

報告書番号 PF-06863135_[redacted]_021407

BCMA のリガンドとして APRIL および BAFF が知られている。これらリガンドの BCMA への結合により，細胞内シグナル伝達の促進とこれによる B 細胞の活性化と形質細胞への分化・成熟が生じ，形質細胞は長期生存する [14]。

バイオレイヤー干渉法を用いて，ヒト APRIL およびヒト BAFF のヒト BCMA との相互作用に対するエルラナタマブの阻害作用を検討した。この結果，ヒト抗 Fc 抗体上に固定されたエルラナタマブがヒト BCMA に結合した状態では，BCMA に対してヒト APRIL またはヒト BAFF は結合しなかった（N = 3）。以上より，エルラナタマブは BCMA とリガンドの相互作用を阻害することが示唆された。

2.1.4. 細胞表面上の BCMA に対するエルラナタマブの結合

報告書番号 PF 06863135_[redacted]_012102

細胞表面上の BCMA に対するエルラナタマブの結合を確認するために，フローサイトメトリーを用いて，チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株およびヒト BCMA を発現させた CHO-BCMA 細胞株に対するエルラナタマブの結合を検討した。この結果，CHO-BCMA 細胞に対するエルラナタマブの結合がみられたのに対して，CHO 細胞に対する結合はみられなかった。

抗 BCMA モノクローナル抗体を用いて 6 種類のルシフェラーゼ（Luc）を発現させたヒト骨髄腫細胞株（以下，Luc 発現骨髄腫細胞株）における BCMA の発現量を定量した。細胞表面上の BCMA の発現は細胞株間で異なり，特異的抗体結合能（SABC）は 1960～16,291 受容体/細胞であった（Table 3）。またフローサイトメトリーを用いて，これら細胞株の BCMA に対するエルラナタマブの結合を検討した結果，BCMA に対するエルラナタマブの結合は 0.1 µmol/L までに最大に達し，その結合レベルは各細胞株の BCMA 発現量と概ね相関した（Table 3）。

Table 3.　内在性 BCMA を細胞表面上に発現する細胞株におけるエルラナタマブの CTL 活性および T 細胞活性化

細胞株	SABC, BCMA mAb	EC_{50} ± SD (pmol/L)		
		CTL 活性	CD8 陽性 T 細胞上の CD69	CD8 陽性 T 細胞上の CD25
JJN3 Luc2 GFP	16291	2.1 ± 0.7	2.8 ± 0.8	9.4 ± 3.5
MM.1S Luc2 GFP	12963	56.8 ± 38.4	10.0 ± 2.53	16.6 ± 1.14
OPM2 Luc2 GFP	9428	92.0 ± 28.4	23.1 ± 11.6	22.4 ± 2.8
L363 Luc2 GFP	6088	193.0 ± 47.1	43.2 ± 17.0	115.3 ± 15.5
KMS-12-BM Luc2 GFP	5569	13.7 ± 8.6	6.4 ± 4.4	10.7 ± 4.5
MOLP8 Luc2 GFP	1960	748.2 ± 560.0	33.6 ± 1.2	50.4 ± 4.0

	各エルラナタマブ濃度における MFI (µmol/L)					
	0.00016	0.0008	0.004	0.02	0.1	0.5
JJN3 Luc2 GFP	1022	2718	7612	15312	21871	13924
MM.1S Luc2 GFP	1152	3983	10846	16535	17408	15563
OPM2 Luc2 GFP	380	1143	3731	6432	6531	4472
L363 Luc2 GFP	194	441	1186	2544	3792	2539
KMS-12-BM Luc2 GFP	576	1552	4185	6972	7579	6531
MOLP8 Luc2 GFP	212	588	1567	2905	3561	3325

CTL: 細胞傷害性 T リンパ球，MFI：蛍光強度の中央値，SABC: 特異的抗体結合能，SD: 標準偏差，mAb: モノクローナル抗体
N = 3 human donors
報告書番号: PF-06863135_[redacted]_012102

2.1.5. 細胞傷害性 T リンパ球（CTL）活性に対するエルラナタマブの作用

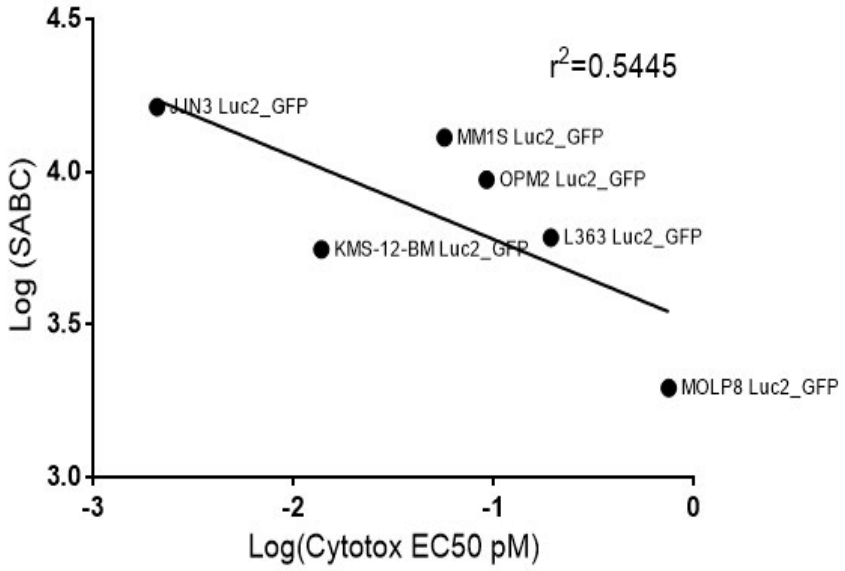
報告書番号 PF-06863135_[redacted]_012102

エルラナタマブによる CTL 活性が BCMA を介することを確認するため，エルラナタマブの細胞傷害活性を CTL アッセイにより評価した。ヒトドナー由来 CD3 陽性 T 細胞（2 例）を CHO-BCMA 細胞株または CHO 細胞株と共培養し，各濃度のエルラナタマブで処理した。処理 48 時間後に CHO 細胞の生存率を測定し，EC_{50} 値を算出した。エルラナタマブは BCMA 陽性細胞に対してのみ細胞溶解作用を示し，各ドナーにおける EC_{50} 値は 1.23 pmol/L および 1.67 pmol/L であった。

内因性 BCMA を発現する骨髄腫細胞株に対するエルラナタマブの細胞傷害活性について，CTL アッセイにより検討した。種々の Luc 発現骨髄腫細胞株（2.6.2.2.1.4 項）とヒト CD3 陽性 T 細胞を共培養し，各濃度のエルラナタマブを処理した。処理 48 時間後に骨髄腫細胞の生存率を測定し，EC_{50} 値を算出した（N = 3）。この結果，エルラナタマブはすべての BCMA 発現骨髄腫細胞株に対して細胞溶解作用を示したが，その EC_{50} 値は細胞株により異なった（2.1～748.2 pmol/L）（Table 3）。各細胞株の細胞傷害活性と細胞表面上の BCMA 発現について線形回帰分析により解析した結果，統計的有意ではないものの（p = 0.0941），EC_{50} 値と BCMA の発現に相関が認められた（r^2 = 0.5445）（Figure 1）。また再発・難治性 MM 患者（3 例）および進行期 MM 患者（1 例）由来の初代骨髄細胞（骨髄腫細胞および T 細胞が含まれる）を用いてエルラナタマブの細胞傷害活性を評価した。この結果，エルラナタマブは濃度依存的な細胞

溶解作用を示し（EC_{50} 値：20.8～276.3 pmol/L），エルラナタマブが MM 患者の T 細胞を腫瘍細胞にリダイレクトすることで CTL 活性を誘導することが示唆された。

Figure 1.　CTL 活性と各細胞株の細胞表面上の BCMA 発現量の相関性



6 種類の骨髄腫細胞株の BCMA 発現量とそれら細胞株に対する CTL 活性の相関性を評価した。

エルラナタマブによる T 細胞の活性化を検討するために，上記 CTL アッセイにおける T 細胞活性化マーカーである CD69 および CD25 の発現をフローサイトメトリーにより測定した。この結果，ヒト CD8 陽性 T 細胞での CD69 および CD25 の発現はエルラナタマブの濃度依存的に増加し，EC_{50} 値はそれぞれ 2.8～43.2 pmol/L および 9.4～115.3 pmol/L であった（Table 3）。またエルラナタマブの CTL 活性に伴うヒト T 細胞によるサイトカイン放出について，上記 CTL アッセイ終了時の培養上清を用いて評価した。この結果，TNF-α，IFN-γ，IL-2，IL-6，IL-8 および IL-10 濃度の上昇が認められた（Table 4）。

Table 4. 内在性 BCMA を細胞表面上に発現する骨髄腫細胞株存在下におけるエルラナタマブによる T 細胞のサイトカイン放出

標的細胞株	サイトカイン放出に対するエルラナタマブの EC_{50} 値(pmol/L) (サイトカイン放出濃度範囲: pg/ml)					
	IL-2	IL-6	IL-8	IL-10	TNF-α	IFN-γ
MOLP8 Luc2_GFP	429.0 (0.966~1326.9)	75.3 (0.118~39.9)	446.9 (1.85~ 110.6)	568.6 (0.0109~ 113.1)	307.1 (0.205~ 693.1)	30.5(1.25~ 41350.2)
OPM2 LUC2_GFP	34.6 (1.03~59.5)	30.6 (0.0758~17.1)	17.0 (1.20~50.7)	21.8 (0.437~ 79.8)	29.3 (0.0192~ 102.3)	23.5 (0.0551~ 7979.1)
JJN3 Luc2_GFP	52.6 (12.7~542.9)	23.5 (0.0677~8.50)	6.1 (1.14~97.7)	84.6 (125.4~ 822.9)	21.6 (1.84~ 331.0)	14.5 (38.3~ 9182.1)
KMS-12-BM Luc2_GFP	42.6 (5.30~527.9)	69.1 (0.450~15.1)	11.8 (4.79~72.8)	69.4 (0.0122~ 107.2)	56.7 (0.881~ 212.0)	142.1 (9.94~ 9916.3)
MM.1S Luc2_GFP	234.8 (2.58~702.2)	147.3 (0.0602~7.16)	65.1 (0.112~ 66.1)	38.2 (0.618~ 536.2)	49.0 (0.0260~ 256.1)	55.2 (0.382~ 15242.0)
L363 Luc2_GFP	335.3 (2.42~ 850.5)	255.6 (0.0127~7.16)	121.6 (0.196~ 63.1)	362.4 (0.0460~ 455.3)	1080.3 (0.0978~ 378.2)	405.8 (0.116~ 17048.8)

2.2. 効力を裏付ける試験（*In vivo*）

2.2.1. ヒト T 細胞を移植した同所性骨髄腫モデルにエルラナタマブを単独投与したときの抗腫瘍効果

報告書番号 PF-06863135_[redacted]_013801

エルラナタマブの CD3ε結合ドメインはマウスの CD3εに結合しないため（2.6.2.2.1.1 項），免疫不全 NSG マウスにヒト T 細胞を移植したモデルを用いて，エルラナタマブのヒト T 細胞をリダイレクトする作用に基づく抗腫瘍効果を評価した。細胞表面上の相対 BCMA 発現量が異なる 3 種類の Luc 発現骨髄腫細胞株（MM.1S 細胞，OPM2 細胞および MOLP8 細胞，2.6.2.2.1.4 項）および T 細胞を移植した同所性骨髄腫モデル（以下，MM.1S 移植モデル，OPM2 移植モデルおよび MOLP8 移植モデルと表記）を作成した。これらモデルの骨髄における Luc 活性を発光イメージング法によって測定し，腫瘍増殖の指標とした。

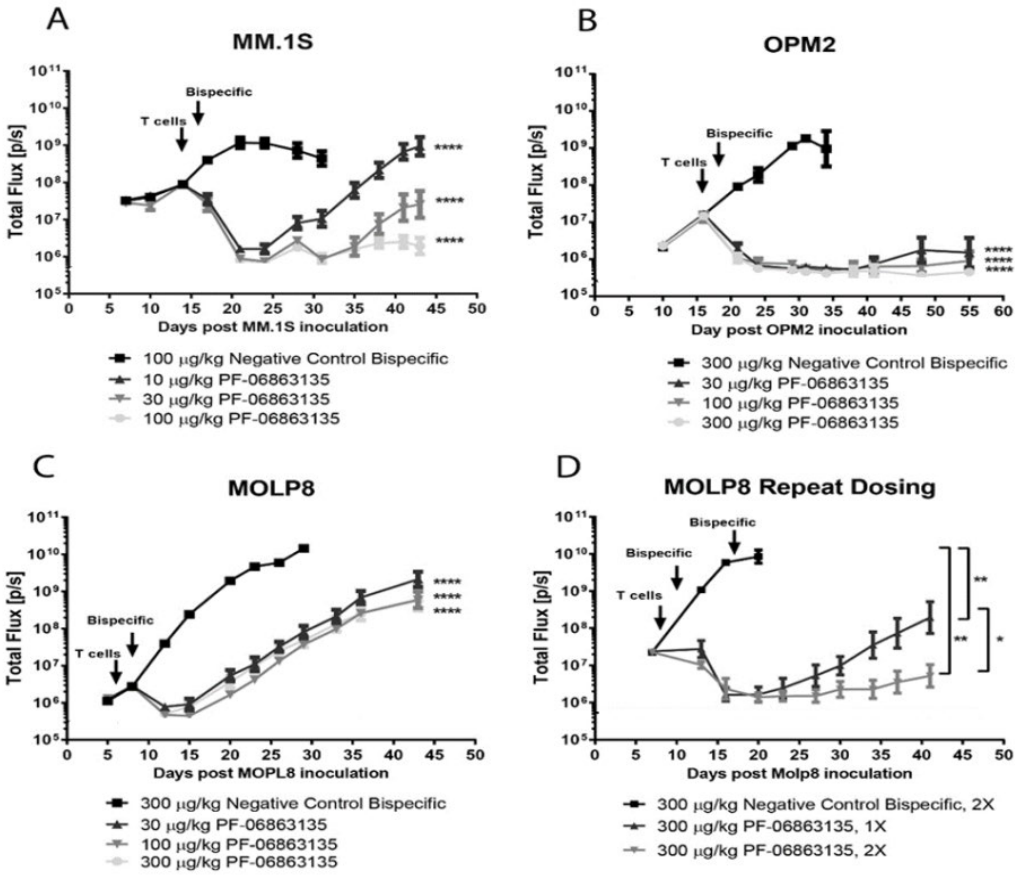
静脈内注射によって雌 NSG マウスに各骨髄腫細胞を同所性移植した。腫瘍が定着した後にマウスを各群に無作為に割り付け，拡大培養したヒト T 細胞を腹腔内投与により移植した。T 細胞移植 2 日後に，エルラナタマブまたは対照として陰性対照 bsAb を 1 回または 2 回（2 回目の投与は初回投与 1 週間後）静脈内投与した。画像測定による腫瘍容積測定は週 2 回実施した。陰性対照群については，体重減少（試験開始時の体重の 20%超），後肢麻痺または苦痛を示すその他症状が 1 例でもみられた時点で，試験計画書に従って動物を全例安楽殺し，試験結果について統計解析を実施した。

3 種の骨髄腫細胞株のなかで BCMA 発現量が最も高い MM.1S 移植モデルを用いて，エルラナタマブ単回投与（10，30 および 100 µg/kg）による抗腫瘍効果を検討した結果，すべての用量群に

おいて陰性対照群と比較して統計的有意な腫瘍退縮が認められた。この後，低用量群（10 µg/kg）では顕著な腫瘍再増殖，中用量群（30 µg/kg）では腫瘍再増殖，高用量群（100 µg/kg）では全例で部分的な腫瘍増殖が認められた（Figure 2A）。BCMA 発現量が中程度である OPM2 移植モデルを用いて，エルラナタマブ単回投与（30，100 および 300 µg/kg）による抗腫瘍効果を検討した結果，すべての用量群で陰性対照群と比較して有意かつ持続的な腫瘍退縮が認められた。腫瘍退縮後の再増殖は，低用量（30 µg/kg）では中程度であったのに対して，中用量群（100 µg/kg）および高用量群（300 µg/kg）では軽微であった（Figure 2B）。BCMA 発現量が最も低い MOLP8 移植モデルを用いて，エルラナタマブ単回投与（30，100 および 300 µg/kg）による抗腫瘍効果を検討した結果，陰性対照群と比較して有意な腫瘍退縮がみられたものの，その程度は中等度であり，その後すべての被験物質投与群において再増殖がみられた（Figure 2C）。

また BCMA 発現量が最も低い MOLP8 移植モデルにおいて，エルラナタマブ（300 µg/kg）の複数回投与による抗腫瘍効果を検討した結果，単回投与群と比較して 2 回投与群の腫瘍退縮が延長した。以上より，*in vivo* においてエルラナタマブの反復投与の有効性の向上が示唆された。（Figure 2D）。

Figure 2.　ヒト T 細胞を移植した同所性骨髄腫モデルにエルラナタマブを単独投与した際の抗腫瘍効果



p/s: 光子/秒

3 種類の骨髄腫細胞をそれぞれ同所性移植したモデルを用いて，エルラナタマブの抗腫瘍効果を *in vivo* で検討した（MM.1S 移植モデルおよび MOLP8 移植モデル：各群 N = 10，OPM2 移植モデルおよび MOLP8 移植モデルの複数回投与：各群 N = 7）。データは発光強度の平均値の対数±SEM で示した。反復測定分散分析（RMANOVA）を用いた Dunnett 検定の事後解析により陰性対照群とエルラナタマブの各用量群を比較した（****$p < 0.001$，**$p < 0.01$）。また Wilcoxon の符号順位検定により反復投与試験の単回投与群と 2 回投与群を比較した（*$p = 0.0117$）。

2.2.2. 同所性骨髄腫モデルにエルラナタマブと IMiD を併用投与したときの抗腫瘍効果

報告書番号 PF-06863135_[redacted]_093404

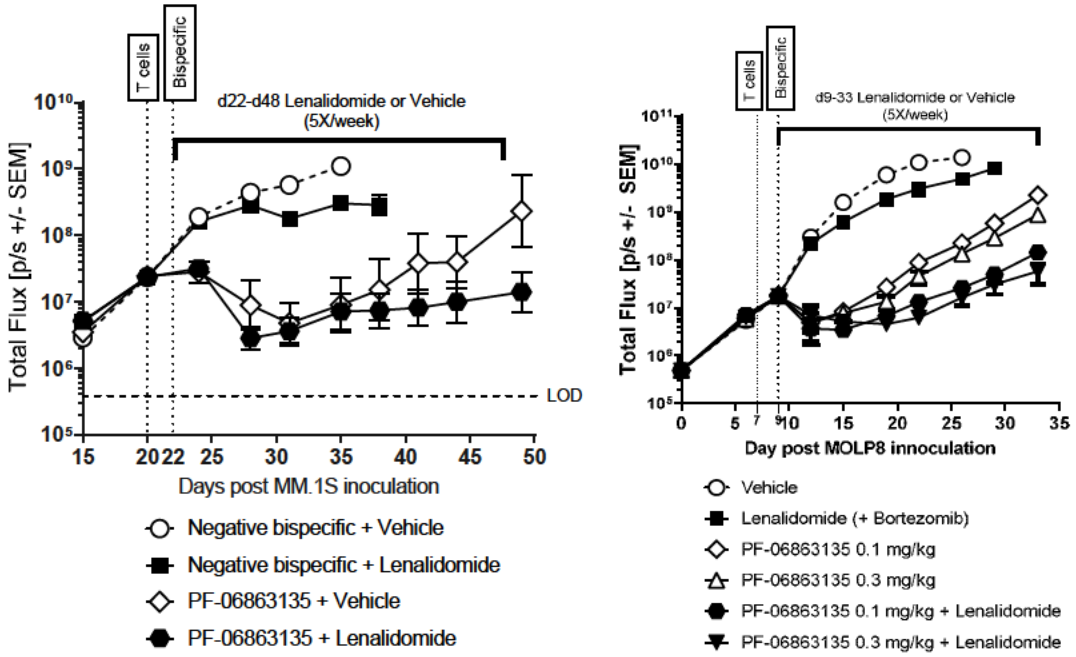
Luc 発現骨髄腫細胞株（MM.1S 細胞または MOLP8 細胞，2.6.2.2.1.4 項）およびヒト T 細胞を雌 NSG マウスに移植して作成した同所性骨髄腫モデル（MM.1S 移植モデルおよび MOLP8 移植モデル）を用いて，エルラナタマブと IMiD であるレナリドミドを併用投与したときの抗腫瘍効果を評価した。

BCMA 発現量が高い MM.1S 細胞を静脈内投与により移植し，この移植後 20 日に拡大培養した T 細胞を腹腔内投与により移植することで，MM.1S 移植モデルを作成した。MM.1S 細胞移植後 22 日よりレナリドミド（15 mg/kg）を週 5 回経口投与し，MM.1S 細胞移植後 22 日にエルラナタマブ（10 µg/kg）または対照二重特異性抗体（7 µg/kg）を単回静脈内投与した（各群 N = 9 または 10）。なお設定したエルラナタマブの用量はこれまでの検討により，至適用量以下であるものの抗腫瘍効果が一過性に認められる用量であり（2.6.2.2.2.1 項），本試験のエルラナタマブ単独投与群においても一過性の明確な腫瘍退縮がみられた（Figure 3A）。レナリドミド単独投与群での腫瘍増殖抑制はわずかであった。エルラナタマブとレナリドミドの併用投与群では，エルラナタマブ単独投与群と比較して統計的に有意ではないものの，腫瘍の再増殖抑制がみられた。

BCMA 発現量が低い MOLP8 細胞を静脈内投与により移植し，この移植後 7 日に拡大培養した T 細胞を腹腔内投与により移植することで，MOLP8 移植モデルを作成した。MOLP8 細胞移植後 9 日に，エルラナタマブ（100 µg/kg または 300 µg/kg）を単回静脈内投与した。MOLP8 細胞移植後 9 日よりレナリドミド（50 mg/kg）を週 5 回経口投与し，レナリドミドとボルテゾミブの併用投与群にはプロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブ（1 mg/kg）を週 2 回腹腔内投与した（各群 N = 6 または 7）。エルラナタマブ（100 µg/kg または 300 µg/kg）の単回投与群では，一過性ではあるが明確な腫瘍退縮がみられた（Figure 3B）。またレナリドミド（50 mg/kg）とボルテゾミブ（1 mg/kg）の併用投与群の腫瘍増殖抑制は軽微であった。エルラナタマブとレナリドミドの併用投与群では，他の群と比較して顕著な腫瘍の再増殖抑制がみられた（Figure 3B）。

Figure 3. **MM.1S 移植モデルおよび MOLP8 移植モデルにレナリドミドとエルラナタマブを併用投与した際の抗腫瘍効果**

A. MM.1S **B. MOLP8**



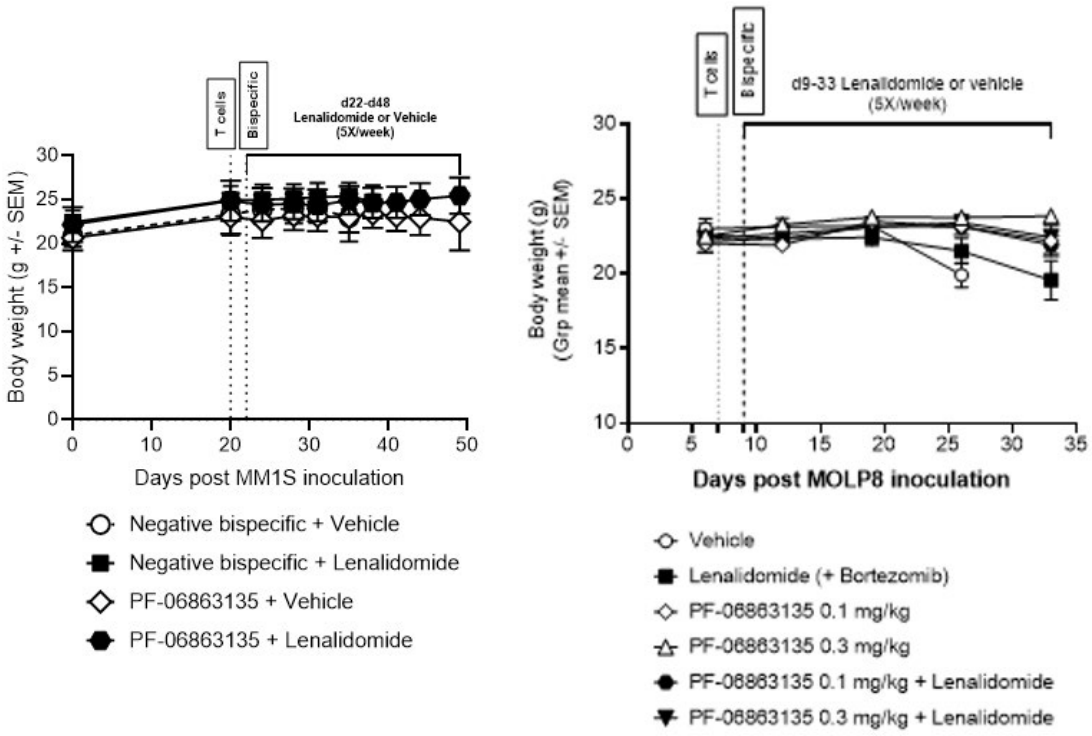
データは発光強度の平均値の対数±SEM で示した。腫瘍細胞の総発光強度を腫瘍増殖の指標として週 2 回測定した。

A. MM.1S 移植モデルを用いて，エルラナタマブとレナリドミドを併用投与したときの抗腫瘍効果を検討した（各群 N＝9 または 10）。水平破線は Luc による発光の検出下限を示す。B. MOLP8 移植モデルを用いて，エルラナタマブとレナリドミドを併用投与したときの抗腫瘍効果を検討した（各群 N＝6 または 7）。

MM.1S 移植モデルおよび MOLP8 移植モデルにおいて，毒性変化の指標として体重を評価したが，単独投与群および併用投与群のいずれも試験期間中を通して一般状態への影響を示す変化は認められなかった（Figure 4）。

Figure 4.　MM.1S 移植モデルおよび MOLP8 移植モデルにレナリドミドとエルラナタマブを併用投与したときの体重推移

A. MM.1S　　**B. MOLP8**



データは平均値（g）±SEM で示した。3 または 4 日ごとに体重を測定した。

A. MM.1S 移植モデルを用いて，エルラナタマブとレナリドミドを併用投与したときの体重を示した（各群 N = 9 または 10）。B. MOLP8 移植モデルを用いて，エルラナタマブとレナリドミドを併用投与したときの体重を示した（各群 N = 6 または 7）。

以上，ヒト T 細胞および Luc 発現骨髄腫細胞株（MM.1S 細胞および MOLP8 細胞，2.6.2.2.1.4 項）を同所性移植したモデルにおいて，エルラナタマブ単独投与は標準治療（レナリドミド単独またはレナリドミドとボルテゾミブの併用療法）と比較して高い抗腫瘍効果を示した。また至適用量以下のエルラナタマブは，レナリドミドとの併用投与により MM.1S 移植モデルにおいて抗腫瘍効果の増強傾向が，また MOLP8 移植モデルにおいて顕著な抗腫瘍効果の増強がそれぞれみられ，BCMA/CD3 bsAb であるエルラナタマブと IMiD との併用効果が示唆された。MM.1S 移植モデルにおいて，エルラナタマブとレナリドミドの併用投与による抗腫瘍効果がエルラナタマブ単独投与と比較して有意とならなかった理由として，ヒト T 細胞を移植した骨髄腫モデルではヒト免疫細胞の種類が限定されるため，レナリドミドのすべての作用機序が再現されなかった可能性があるものの，骨髄腫細胞株を移植したいずれのモデルにおいてもエルラナタマブとレナリドミドの併用による抗腫瘍効果の増強がみられ，ヒトにおける併用投与の可能性が示唆された。

2.2.3. 同所性骨髄腫モデルにγ-セクレターゼ阻害剤 Nirogacestat とエルラナタマブを併用投与したときの抗腫瘍効果

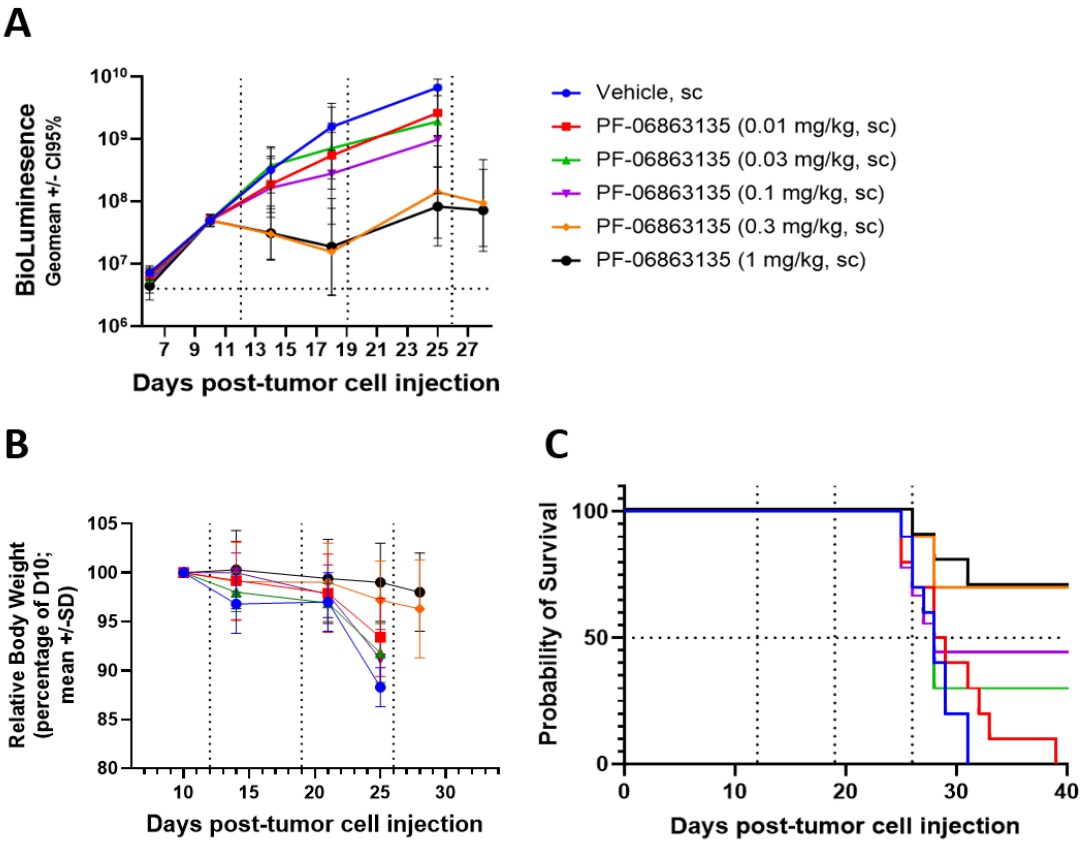
報告書番号 PF-06863135_[redacted]_015756

Luc 発現骨髄腫細胞株（MOLP8，2.6.2.2.1.4 項）およびヒト PBMC を同所性移植した雌 NSG MHC I/II ダブルノックアウトマウスを用いて，γ-セクレターゼ阻害剤（GSI）である nirogacestat とエルラナタマブを併用投与したときの抗腫瘍効果を評価した。試験 0 日に MOLP8 細胞を静脈内投与により移植し，試験 6 日にヒト PBMC を腹腔内投与により移植することで同所性骨髄腫モデル（MOLP8 移植モデル）を作成した。

併用投与試験に用いるエルラナタマブを至適用量以下に設定するために用量設定試験を実施した。試験 12，19 および 26 日に各用量（0.01，0.03，0.1，0.3 および 1 mg/kg）のエルラナタマブを皮下投与し，エルラナタマブの抗腫瘍効果および生存率を評価した（各群 N=10）。この結果，0.01 または 0.03 mg/kg のエルラナタマブを投与した動物では軽微な腫瘍増殖抑制がみられ，0.1 mg/kg のエルラナタマブを投与した動物での腫瘍増殖抑制率（以下 TGI，溶媒を投与した動物と被験物質を投与した動物における腫瘍細胞の発光強度の変化率）は試験 14 日に 49%（統計的有意差なし，以下，溶媒を投与した動物との比較），試験 18 日に 82%（$p < 0.05$）であった（Figure 5A）。0.3 mg/kg または 1 mg/kg のエルラナタマブを投与した動物の試験 14 日以降における TGI はそれぞれ 91%および 90%であった（$p < 0.001$）。

0.03 mg/kg および 0.1 mg/kg のエルラナタマブの投与により，一部の動物で生存期間の延長がみられた。0.3 mg/kg および 1 mg/kg のエルラナタマブの投与により生存率の有意な改善がみられた（それぞれ $p < 0.01$ および 0.001，以下，溶媒を投与した動物との比較）（Figure 5C）。溶媒を投与した動物では試験期間中に体重減少がみられたのに対して，0.1，0.3 および 1 mg/kg のエルラナタマブを投与した動物では統計的有意な体重減少の抑制がみられた（それぞれ $p < 0.05$，$p < 0.05$ および $p < 0.01$）（Figure 5B）。TGI および生存期間の延長作用から，nirogacestat との併用に用いるエルラナタマブの用量は至適用量以下である 0.1 mg/kg とした。

Figure 5.　MOLP8 移植モデルにおけるエルラナタマブの抗腫瘍効果，体重減少および生存曲線



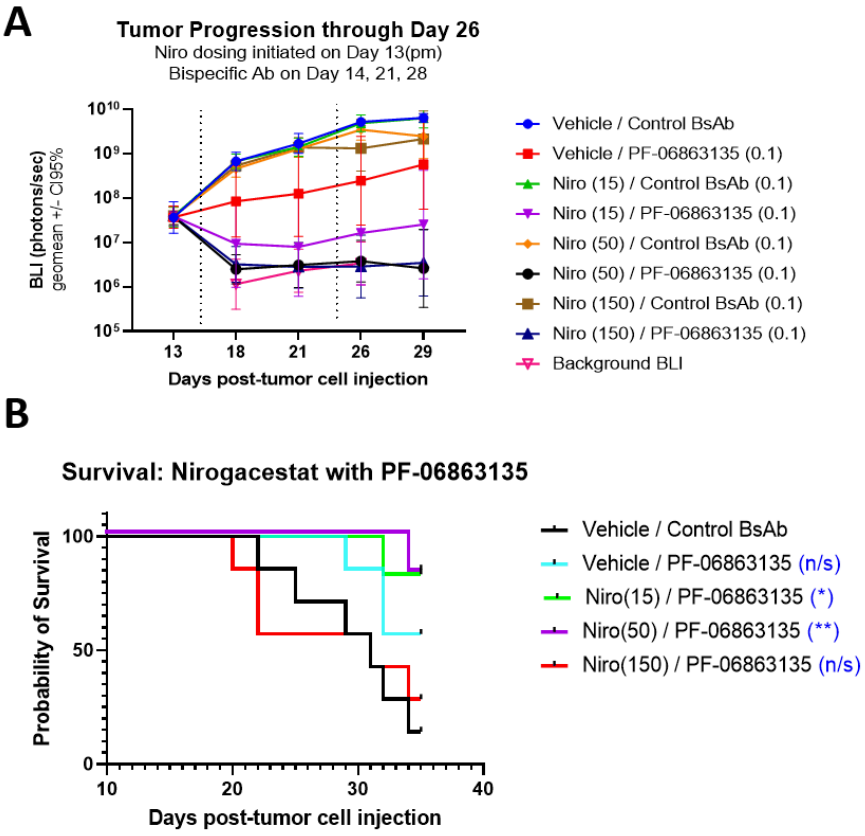
MOLP8 移植モデルに対して，試験 12，19 および 26 日にエルラナタマブを投与し，抗腫瘍効果を検討した。腫瘍増殖の指標として腫瘍細胞の発光強度を測定した（各群 N=10）。

A. データは発光強度の幾何平均値±95%信頼区間を示した。B. 体重は週 1 回測定し，試験開始時の体重の 20%超の減少がみられた時点で動物を安楽殺した。C. 試験 40 日までの生存曲線を示した。

MOLP8 移植モデルを用いて，GSI とエルラナタマブの併用投与による抗腫瘍効果を検討した。試験 14，21 および 28 日にエルラナタマブ（0.1 mg/kg）または対照二重特異性抗体（以下，対照 bsAb，抗原結合性を持たない結合アームおよび CD3 結合アームを有する二重特性抗体）を皮下投与し，試験 13 日から nirogacestat（15，50 または 150 mg/kg）を 1 日 2 回経口投与し，TGI および生存率を評価した（各群 N = 7）。Nirogacestat と対照 bsAb を投与した動物では，いずれの nirogacestat の用量においても TGI に対する影響は軽微であった（Figure 6A）。なお nirogacestat の最高用量（150 mg/kg）は MTD に達する用量と判断した。エルラナタマブ（0.1 mg/kg）を単独投与した動物の試験 18 日および試験 21 日における TGI はそれぞれ 87%および 93%であり（$p < 0.001$），用量設定試験の結果を再現したものであった。Nirogacestat とエルラナタマブを併用投与した動物での試験 21 日の TGI の比較から，いずれの nirogacestat の用量においてもエルラナタマブ単独投与と比較して作用の増強がみられた（$p < 0.001$）。

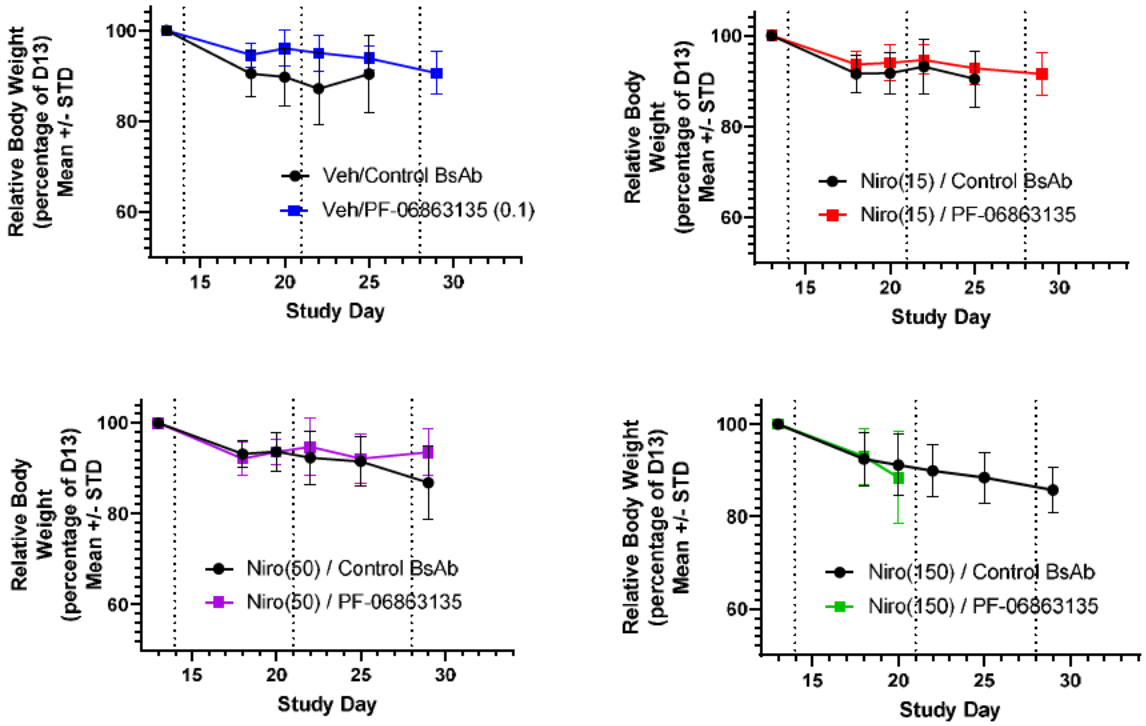
試験34日まで生存率の算出を行うことで，nirogacestatとエルラナタマブの併用投与が生存に及ぼす影響を検討した。エルラナタマブ（0.1 mg/kg）を単独投与した動物の試験終了時における生存率は，溶媒および対照bsAbを投与した動物（以下，コントロール）と同等であった（Figure 6B）。Nirogacestatを単独投与した動物において，15 mg/kgおよび50 mg/kgの投与による生存率上昇はみられなかったが，150 mg/kgの投与による生存率はコントロールと比較して有意に上昇した（$p < 0.05$）。エルラナタマブとnirogacestat（15 mg/kgまたは50 mg/kg）を併用投与した動物では試験34日における生存率はコントロールと比較して有意に上昇したが（それぞれ$p < 0.05$および$p < 0.01$），エルラナタマブとnirogacestat（150 mg/kg）を併用投与した動物では生存率上昇はみられなかった。毒性変化の指標として体重を評価した結果，エルラナタマブとnirogacestat（15 mg/kgまたは50 mg/kg）の併用投与による体重への影響は認められなかったのに対して，エルラナタマブとnirogacestat（150 mg/kg）の併用投与では，試験開始時と比較して20%超の体重減少がみられた数例を安楽殺した（Figure 7）。

Figure 6. MOLP8 移植モデルにおける nirogacestat とエルラナタマブの併用投与による抗腫瘍効果および生存率



MOLP8 移植モデルに対して，試験 14，21 および 28 日にエルラナタマブまたは陰性対照二重特異性抗体（以下，対照 bsAb）を皮下投与し，試験 13 日から nirogacestat を 1 日 2 回経口投与した（各群 N = 7）。A. 腫瘍増殖の指標として腫瘍細胞の発光強度を測定した。データは発光強度の幾何平均値±95%信頼区間を示した。括弧内の記載は用量（mg/kg）を示した。B. 試験 34 日までの生存曲線を示した。Log-rank（Mantel-Cox）検定により溶媒/対照 bsAb 投与群と比較した。n/s = 有意差なし, * = p <0.05, ** = p <0.01

Figure 7.　MOLP8 移植モデルにおける nirogacestat とエルラナタマブを併用投与したときの体重推移



週 1 回体重を測定した。データは試験 13 日に対する各時点における相対値の平均±SD を示した（各群 N=7）。

3. 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施していない。

4. 安全性薬理試験

報告書番号[redacted]GR290，[redacted]GR302，概要表 2.6.7.7B，2.6.7.7C

独立した安全性薬理試験は実施していない。

カニクイザルを用いた重要な 1 ヵ月間および 3 ヵ月間反復皮下投与毒性試験では，中枢神経系，呼吸系および心血管系においてエルラナタマブ投与に関連した影響は認められなかった。

5. 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

6. 考察及び結論

二重特異性抗体（bsAb）は，腫瘍細胞を細胞傷害性 T 細胞の直接的な標的とさせる新規免疫療法である。エルラナタマブは BCMA および CD3 を標的とするヘテロ二量体ヒト化完全長二重特異性抗体である。BCMA は B 細胞の形質芽細胞および骨髄形質細胞への分化時に発現が亢進するが，ナイーブ B 細胞や造血幹細胞に加えて心臓，肺，腎臓，扁桃等の正常組織では発現がみられない[10,12]。したがって骨髄中への悪性形質細胞（骨髄腫細胞）の蓄積を特徴とする疾患である MM において，BCMA は理想的な細胞表面標的である[12]。エルラナタマブは成人 MM 患者を対象として開発している。

BCMA および CD3εに対するエルラナタマブの結合親和性および特異性を *in vitro* で評価した。エルラナタマブはヒトおよびカニクイザルの BCMA および CD3εに対して高い親和性を示し，ヒト BCMA とリガンドであるヒト APRIL およびヒト BAFF の相互作用を阻害した。エルラナタマブはヒトおよびカニクイザルの FcRn に結合したが，FcγRIIA-131H に対する弱い結合を除いてヒト FcγR に対して結合せず，また C1q に対しても結合がみられなかった。種々の BCMA 発現量の異なる腫瘍細胞株を用いた評価において，エルラナタマブは腫瘍細胞に対する細胞傷害作用を示した。また再発・難治性 MM 患者 3 例および進行期 MM 患者 1 例由来の初代骨髄腫細胞に対してエルラナタマブは濃度依存的な細胞傷害性を示し，患者由来 T 細胞を腫瘍細胞にリダイレクトする作用が示された。3 種類の同所性骨髄腫モデルを用いた *in vivo* 評価において，エルラナタマブの単回投与による抗腫瘍効果が示され，さらに BCMA 発現量が低い骨髄腫細胞を用いたモデルでは，エルラナタマブの反復投与による腫瘍退縮の延長が認められた。また IMiD であるレナリドミドまたは GSI である nirogacestat とエルラナタマブの併用投与による抗腫瘍効果を検討した結果，レナリドミドとの併用では 2 種類の骨髄腫細胞を用いたモデルにおいて，nirogacestat との併用では 1 種類の骨髄腫細胞を用いたモデルにおいてそれぞれ併用投与による抗腫瘍効果の増強が示された。

エルラナタマブの独立した安全性薬理試験は実施していないものの，サルを用いた重要な毒性試験において中枢神経系，呼吸系および心血管系に対するエルラナタマブの影響が認められなかった。

以上の非臨床薬理試験結果から，BCMA/CD3 bsAb であるエルラナタマブは MM の治療に有効であることが期待された。また安全性薬理に関する評価においては，臨床使用上安全性に大きな問題を生じる可能性は低いと考えられた。

7. 図表

図表は，本文の適切な箇所および薬理試験の概要表（2.6.3 項）に記載した。

8. 参考文献

1. Jimenez-Zepeda VH, Reece DE, Trudel S, et al. Early relapse after single auto-SCT for multiple myeloma is a major predictor of survival in the era of novel agents. Bone Marrow Transplant 2015;50(2):204-8.

2. Lopez A, Mateos MV, Oriol A, et al. Patterns of relapse and outcome of elderly multiple myeloma patients treated as front-line therapy with novel agents combinations. Leuk Res Rep 2015;4(2):64-9.

3. Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation. Annu Rev Immunol 2009; 27:591-619.

4. Seliger B. Different regulation of MHC class I antigen processing components in human tumors. J Immunotoxicol 2008;5(4):361-7.

5. Bubenik J. MHC class I down-regulation: tumour escape from immune surveillance? (review). Int J Oncol 2004; 25(2):487-91.

6. Topp MS, Gökbuget N, Stein AS, et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. Lancet Oncol 2015;16(1):57-66.

7. Topp MS, Attal M, Langer C, et al. Phase 1 dose-escalation study of BI 836909, an anti-BCMA bi-specific T-cell engager, in relapsed and/or refractory multiple myeloma (RRMM). J Clin Oncol 2016;34(Suppl 15).

8. Bock AM, Nowakowski GS, Wang Y. Bispecific Antibodies for Non-Hodgkin Lymphoma Treatment Curr. Treat. Options in Oncol. 2022 23:155-170.

9. Webster P. A Golden Era of Cancer Clinical Trials. Nature Medicine 2002; 28: 602-5.

10. Carpenter RO, Evbuomwan MO, Pittaluga S, et al. B-cell maturation antigen is a promising target for adoptive T-cell therapy of multiple myeloma. Clin Cancer Res 2013;19(8):2048-60.

11. Laabi Y, Gras MP, Brouet JC, et al. The BCMA gene, preferentially expressed during B lymphoid maturation, is bidirectionally transcribed. Nucleic Acids Res 1994; 22(7):1147-54.

12. Lee L, Bounds D, Paterson J, et al. Evaluation of B cell maturation antigen as a target for antibody drug conjugate mediated cytotoxicity in multiple myeloma. Br J Haematol 2016;174(6):911-22.

13. Bossen C, Schneider P. BAFF, APRIL and their receptors: structure, function and signaling. Semin Immunol 2006; 18(5):263-75.

14. O'Connor BP, Raman VS, Erickson LD, et al. BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. J Exp Med 2004;199(1):91-8.

15. Moreau P, Attal M, Facon T. Frontline therapy of multiple myeloma. Blood 2015; 125(20):3076-84.

16. Nooka AK, Kastritis E, Dimopoulos MA, et al. Treatment options for relapsed and refractory multiple myeloma. Blood 2015; 125(20):3085-99.

17. Kumar SK, Lee JH, Lahuerta JJ, et al. Risk of progression and survival in multiple myeloma relapsing after therapy with IMiDs and bortezomib: a multicenter international myeloma working group study. Leukemia 2012; 26(1):149-57.

18. Moreau P, San Miguel J, Sonneveld P, et al. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol 2017;28(Suppl 4):iv52–iv61.

19. Asatsuma-Okumura T, Ito T, Handa H. Molecular mechanisms of cereblon-based drugs. Pharmacol Ther 2019;202:132-9.

20. Works M, Soni N, Hauskins C, et al. Anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor T cell function against multiple myeloma is enhanced in the presence of lenalidomide. Mol Cancer Ther 2019;18(12):2246-57.

21. Pont MJ, Hill T, Cole GO, et al. Gamma-secretase inhibition increases efficacy of BCMA-specific chimeric antigen receptor T cells in multiple myeloma. Blood 2019, 134(19):1585-1597.

TABLE OF CONTENTS

2.6.3.1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW....2
2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS....4

2.6.3.1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06863135

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number
Primary Pharmacodynamics				
Binding Affinity and Specificity of PF-06863135	Surface plasmon resonance, biolayer interferometry	In Vitro	PWRDM	PF-06863135_[redacted]_021407
Cell Binding of Elranatamab	Flow cytometry	In Vitro	PWRDM	PF-06863135_[redacted]_012102
BCMA Dependent Cytotoxic Activity of PF-06863135	Cytotoxic T lymphocyte Assay	In Vitro	PWRDM	PF-06863135_[redacted]_012102
PF-06863135 Induced T Cell Activation, and T Cell Cytokine Release	Cytokine detection; CD69 and CD25 detection	In Vitro	PWRDM	PF-06863135_[redacted]_012102
BCMA Cell Surface Expression	Flow cytometry	In Vitro	PWRDM	PF-06863135_[redacted]_012102
Single Agent Antitumor Efficacy of PF-06863135 in Orthotopic tumor cell line xenograft multiple myeloma models	MM1.S, OPM2, and MOLP8 cell lines	Intravenous	PWRDM	PF-06863135_[redacted]_013801
Anti-tumor Efficacy of PF-06863135 in Combination with the Immunomodulatory Drug Lenalidomide in Orthotopic Myeloma Models	MM1.S and MOLP8 cell lines	PF-06863135: Intravenous Lenalidomide: Oral Bortezomib: IP	PWRDM	PF-06863135_[redacted]_093404
Antitumor Efficacy of PF-06863135 in Combination with the Gamma Secretase Inhibitor Nirogacestat in the MOLP8 Orthotopic Myeloma Model	MOLP8 cell line	PF-06863135: Subcutaneous; Nirogacestat: Oral	PWRDM	PF-06863135_[redacted]_015756

2.6.3.1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06863135

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number
Secondary Pharmacodynamics				
None				
Safety Pharmacology				
None				
Pharmacodynamic Drug Interactions				
None				

BCMA = B-cell maturation antigen; IP = Intraperitoneal; PWRDM = Pfizer Worldwide Research, Development and Medicine.

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06863135

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Binding and Specificity of PF-06863135 to BCMA	Recombinant human, cynomolgus monkey, rat, and mouse bt-BCMA-Fc	In Vitro	Bt-hBCMA-Fc, bt-cyBCMA-Fc, bt-rBCMA, bt-mBCMA at 0.1 µg/mL; PF-06863135 for hBCMA/ cyBCMA: 0.12, 0.37, 1.11, 3.33, and 10 nM; PF-06863135 for mBCMA/ rBCMA: 0.08, 0.4, 2, 10, and 50 nM	hBCMA/ cyBCMA: Quadruplicate using 4 independent dilution series; mBCMA/ rBCMA: Triplicate using 3 independent dilution series	K_D values: hBCMA-Fc: 38 ± 7.5 pM cyBCMA-Fc: 57 ± 9.9 pM mBCMA-Fc: 1.5 ± 0.11 nM rBCMA-Fc: 5.4 ± 0.23 nM	No	PF-06863135_[redacted]_021407
Binding and Specificity of PF-06863135 to CD3εδ	Human and cynomolgus monkey CD3εδ	In Vitro	hCD3εδ at 0.125 µg/mL; cyCD3εδ at 4 µg/mL; PF-06863135: 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, and 100 nM	Triplicate using 3 independent dilution series (50 nM PF-06863135 run in duplicate)	K_D values: hCD3εδ: 17 ± 0.21 nM cyCD3εδ: 14 ± 1.6 nM	No	PF-06863135_[redacted]_021407
Binding to N-terminal CD3ε peptides	N-terminal human, cynomolgus monkey, mouse, and rat CD3ε peptides	In Vitro	All N-terminal CD3ε peptides: 10 µg/mL; PF-06863135 or Ab isotype control: 100 nM and 1 µM	Triplicate	PF-06863135 bound to the N-terminal hCD3ε and cyCD3ε peptides; No Binding to the N-terminal rCD3ε and mCD3ε peptides.	No	PF-06863135_[redacted]_021407

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06863135

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Binding to FcRn	Human and cynomolgus monkey FcRn	In Vitro	Bt-PF-06863135 and anti-ErbB2 Ab control at 1 µg/mL; hFcRn and cyFcRn: 61.7, 185, 556, 1667, and 5000 nM	Triplicate using 3 independent dilution series	K_D values: hFcRn for PF-06863135: 8.0×10^{-7} M hFcRn for Anti-ErbB2 Ab isotype control: 8.0×10^{-7} M cyFcRn for PF-06863135: 4.0×10^{-7} M cyFcRn for Anti-ErbB2 Ab isotype control: 7.0×10^{-7} M	No	PF-06863135_[redacted]_021407
Binding of PF-06863135 to FcγRs	Human hFcγRI, FcγRIIA-131H, FcγRIIA-131R, FcγRIIB, FcγRIIIA-158F, and FcγRIIIA-158V	In Vitro	hFcγRI: 0.12, 0.37, 1.11, 3.33, and 10 nM, or at 1.6, 8, 40, 200, and 1000 nM; All other hFcγRs: 8, 40, 200, 1000, and 5000 nM; bt-PF-06863135 and anti-ErbB2 Ab control, Bt-6058-hIgG1 positive control: 5 µg/mL	In triplicate using 3 independent dilution series	None of the hFcγRs bound to PF-06863135, nor to anti-ErbB2 Ab control. All of the hFcγRs tested were confirmed to be active since they showed binding to 6058-hIgG1 isotype control.	No	PF-06863135_[redacted]_021407
Blocking of hBCMA interaction with hAPRIL or hBAFF	hBCMA, hAPRIL, hBAFF	In Vitro	PF-06863135 and anti-ErbB2 Ab control at 10 µg/mL; hBCMA, hAPRIL,and hBAFF at 100 nM	In triplicate using 3 independent dilutions for each sample	PF-06863135 blocks the interactions of hAPRIL to hBCMA and hBAFF to hBCMA.	No	PF-06863135_[redacted]_021407
Binding to CD8+ T cells	Human, cynomolgus monkey, mouse, and rat CD8+ T cells	In Vitro	PF-06863135 0.3 µM to 0.3 nM	3 donors for each species; 1 replicate at each concentration	PF-06863135 bound to human and cynomolgus T cells; No binding to T cells from rats or mice.	No	PF-06863135_[redacted]_012102

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06863135

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Binding to cell surface BCMA and PF-06863135-induced cytotoxic T lymphocyte activity	CHO parental and CHO expressing hBCMA	In Vitro	Cell binding: PF-06863135 0.3 µM to 0.3 nM; CTL: PF-06863135 16.67 nM to 1.67 x 10^{-7} nM	2 donors, 3 replicates each	PF-06863135 bound to CHO-BCMA, but not to the CHO parental cell line. EC_{50} of 1.23 pM in CTL assay.	No	PF-06863135_[redacted]_012102
Cell surface BCMA expression/ PF-06863135-induced cytotoxic T lymphocyte activity	MOLP8 Luc2_GFP; OPM2 Luc2_GFP; JJN3 Luc2_GFP; KMS-12-BM Luc2_GFP; MM.1S Luc2_GFP; L363 Luc2_GFP	In Vitro	SABC: Anti-BCMA Ab 67 nM ; CTL: PF-06863135 16.67 nM to 1.67 x 10^{-7} nM	In CTL assay, 3 separate human donors; 3 replicates at each concentration for each donor	SABC/EC_{50} ± SD (pM): MOLP8 Luc2_GFP: 1960/ 748.2 ± 560.0; OPM2 Luc2_GFP: 9428/ 92.0 ± 28.4 JJN3 Luc2_GFP: 16291/ 2.1 ± 0.7; KMS-12-BM Luc2_GFP: 5569/ 13.7 ± 8.6; MM.1S Luc2_GFP: 12963/ 56.8 ± 38.4 L363 Luc2_GFP: 6088/ 193.0 ± 47.1	No	PF-06863135_[redacted]_012102

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06863135

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
PF-06863135 induced T-cell activation	CD8+ T cell from CTL assay to measure CD69 and CD25	In Vitro	PF-06863135 16.67 nM to 1.67 x 10^{-7} nM	3 human donors; 3 replicates at each concentration for each donor	Both CD69 and CD25 were upregulated in CD8-positive human T cells in a dose-dependent manner with average EC_{50} values ranging from 2.8 to 43.2 pM for CD69 and from 9.4 to 115.3 pM for CD25.	No	PF-06863135_[redacted]_012102
PF-06863135 induced T-cell cytokine secretion	Tissue culture supernatants from CTL assay to measure TNF-α, IFN-γ, IL-2, IL-6, IL-8 and IL-10	In Vitro	PF-06863135 16.67 nM to 1.67 x 10^{-7} nM	3 human donors; 3 replicates at each concentration for each donor	PF-06863135-mediated myeloma cell line killing was associated with a concomitant induction of cytokine release by human T cells, as represented by increased levels of TNF-α, IFN-γ, IL-2, IL-6, IL-8 and IL-10 in supernatant.	No	PF-06863135_[redacted]_012102
Single Dose PF-06863135 efficacy in orthotopic MM.1S tumor cell line xenograft model	NSG mice	MM.1S cells IV, T cells IP; PF-06863135 IV	Administered 2 x 10^7 expanded human T cells on Day 14 after tumor cell injection; PF-06863135 administered 2 days after T cells at 10, 30, and 100 µg/kg, and 100 µg/kg negative control bispecific	Female; N = 10	MM.1S was the highest expressing BCMA model tested. Single dose PF-06863135 resulted in significant tumor regression at all doses, with partial tumor outgrowth in all mice receiving the highest dose (100 µg/kg), tumor outgrowth at the intermediate dose (30 µg/kg), and pronounced outgrowth at the lowest dose (10 µg/kg).	No	PF-06863135_[redacted]_013801

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06863135

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Single Dose PF-06863135 efficacy in orthotopic OPM2 tumor cell line xenograft model	NSG mice	OPM2 cells IV, T cells IP; PF-06863135 IV	Administered 2 x 10^7 expanded human T cells on Day 15 after tumor cell injection; PF-06863135 administered on Day 17 at 30, 100, and 300 µg/kg; negative control bispecific 300 µg/kg	Female; N = 7	OPM2 cells express relatively moderate level of surface BCMA. Single dose of PF-06863135 resulted in a dose response with significant and prolonged tumor regression in mice given all 3 dose levels. All mice receiving the two highest doses (300 µg/kg and 100 µg/kg) exhibited significant tumor regression with minimal tumor outgrowth. Significant tumor regression and modest outgrowth was observed at the lowest dose (30 µg/kg).	No	PF-06863135_[redacted]_013801
Single Dose PF-06863135 efficacy in orthotopic MOLP8 tumor cell line xenograft model	NSG mice	MOLP8 cells IV, T cells IP; PF-06863135 IV	Administered 2 x 10^7 expanded human T cells on Day 6 after tumor cell injection; PF-06863135 administered on Day 8 at 30, 100, and 300 µg/kg; negative control bispecific 300 µg/kg	Female; N = 10	Lowest BCMA expressing model tested. Moderate yet significant tumor regression and eventual outgrowth in all dose groups (300 µg/kg, 100 µg/kg, and 30 µg/kg).	No	PF-06863135_[redacted]_013801

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06863135

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Repeat Dose PF-06863135 efficacy in orthotopic MOLP8 tumor cell line xenograft model	NSG mice	MOLP8 cells IV; T cells IP; PF-06863135 IV	Administered 2 x 10^7 expanded human T cells on Day 8 after tumor cell injection; PF-06863135 or negative control bispecific administered on Day 10 and Day 17 at 300 µg/kg	Female; N = 7	Administration of a second dose of 300 µg/kg PF-06863135 one week following the initial dose resulted in prolonged tumor regression in the MOPL8 model and demonstrated that repeated dosing of PF-06863135 improved in vivo efficacy.	No	PF-06863135_[redacted]_013801
Anti-tumor Efficacy of PF-06863135 in Combination with Lenalidomide in the MM.1S Model	NSG mice	MM.1S cells IV; T cells IP; PF-06863135 IV; Lenalidomide PO	Administered 2 x 10^7 expanded human T cells on Day 20 after tumor cell injection; 2 days later, single administration of 10 µg/kg PF-06863135 or 7 µg/kg negative control bispecific, with and without lenalidomide administered at 15 mg/kg 5x per week	Female; N = 9 to 10	PF-06863135 treatment resulted in superior anti-tumor response versus lenalidomide alone, and tumor growth inhibition induced by PF-06863135 was enhanced when given in combination with lenalidomide, although not statistically significant compared to single agent treatments.	No	PF-06863135_[redacted]_093404

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06863135

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Anti-tumor Efficacy of PF-06863135 in Combination with Lenalidomide in the MOLP8 Model	NSG mice	MOLP8 cells IV; T cells IP; PF-06863135 IV; Lenalidomide PO; Bortezomib IP	Administered 2 x 10^7 expanded human T cells on Day 7 after tumor cell injection; 2 days later, single administration of 100 µg/kg or 300 µg/kg PF-06863135, with and without lenalidomide administered at 50 mg/kg 5x per week; Lenalidomide was also administered in combination with bortezomib at 1 mg/kg IP 2x/week starting on Day 9 after tumor inoculation	Female; N = 6 to 7	The SOC regimen of lenalidomide plus the proteasome inhibitor bortezomib showed only minimal anti-tumor activity. Tumor growth inhibition was significantly enhanced in the PF-06863135 + lenalidomide combination compared to other treatments.	No	PF-06863135 [redacted] _09 3404

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06863135

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Anti-tumor Efficacy of Elranatamab in the MOLP8 Orthotopic Myeloma Model	NSG DKO mice	MOLP8 cells IV; T cells IP; PF-06863135 SC	Human PBMCs were administered on Day 6 and PF-06863135 was administered at 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, and 1 mg/kg on Days 12, 19, and 26	Female; N = 10	TGI was statistically significant ($p < 0.001$ vs. vehicle) in mice treated with either 0.3 or 1 mg/kg PF-06863135 from Day 14 onwards. The 0.1 mg/kg PF-06863135 dose was moderately effective, demonstrating significant TGI ($p < 0.05$) from Day 18 onwards, while 0.01, and 0.03 mg/kg dose PF-06863135 showed a minimal impact on tumor growth. PF-06863135 at 0.3 or 1 mg/kg significantly improved survival ($p < 0.01$ and $p < 0.001$ vs. control respectively).	No	PF-06863135_[redacted]_015756

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06863135

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number
Anti-tumor Efficacy of Elranatamab in Combination with the Gamma Secretase Inhibitor Nirogacestat in the MOLP8 Orthotopic Myeloma Model	NSG DKO mice	MOLP8 cells IV; human PBMCs IP; PF-06863135 SC; Nirogacestat PO	Human PBMCs were administered on Day 6 and PF-06863135 or BsAb control was administered at 0.1 mg/kg on Days 14, 21, and 28. Nirogacestat was administered BID at 15, 50, or 150 mg/kg/dose from Day 13	Female; N = 7	Combination of 0.1 mg/kg PF-06863135 with the GSI nirogacestat at 15, 50 or 150 mg/kg/dose BID showed significant TGI compared to PF-06863135 alone ($p < 0.001$ on Day 21). Compared to vehicle / control BsAb, significantly increased survival was observed with the combination treatment when nirogacestat was administered at 15 or 50 mg/kg/dose BID with no observed impact on body weights. Some animals in the 150 mg/kg combination group demonstrated body weight loss and were removed from study.	No	PF-06863135_[redacted]_015756

Ab = Antibody; APRIL = Proliferation inducing ligand; BAFF = B-cell activation factor; BCMA = B-cell maturation antigen ; BsAb = Bispecific antibody; Bt = Biotinylated; CD = Cluster of differentiation ; CHO = Chinese hamster ovary ; CTL = Cytotoxic T lymphocyte; cy = Cynomolgus monkey; DKO = MHC I/II double knockout; EC_{50} = Half maximal effective concentration; K_D = Equilibrium dissociation constant; ErbB2 = Receptor tyrosine-protein kinase; Fc = Fragment crystallizable; FcγR = Fc gamma receptors; FcRn = Neonatal Fc receptor; GFP = Green fluorescent protein; GLP = Good Laboratory Practice; GSI = Gamma-secretase inhibitor; h = Human; IFN = Interferon; IL = Interleukin; IP = Intraperitoneal; IV = Intravenous; Luc = Luciferase; m = Mouse; NSG = NOD.Cg-Prkdc^{scid} IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ; PO = Per os; r = Rat; SABC = Specific antibody binding capacity; SC = Subcutaneous; SD = Standard deviation; SOC = Standard of care; TNF = Tumor necrosis factor.