2.4 非臨床試験の概括評価

目次

目次 1
表目次 2
略語/略号一覧 3
2.4 非臨床試験の概括評価 7
2.4.1 非臨床試験計画の概要 7
2.4.2 薬理試験 13
2.4.2.1 効果を裏付ける試験 13
2.4.2.2 副次的薬理試験 14
2.4.2.3 安全性薬理試験 14
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 15
2.4.3 薬物動態試験 15
2.4.3.1 分析法とバリデーション 18
2.4.3.2 吸収 18
2.4.3.3 分布 19
2.4.3.4 代謝 19
2.4.3.5 排泄 20
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 20
2.4.3.6.1 CYP450 酵素の阻害 20
2.4.3.6.2 CYP450 酵素の誘導 20
2.4.3.6.3 取り込みトランスポーター評価 20
2.4.3.6.4 排出トランスポーターの評価 21
2.4.4 毒性試験 21
2.4.4.1 単回投与毒性試験 22
2.4.4.1.1 ラット単回投与毒性試験 22
2.4.4.1.2 イヌ単回投与毒性試験 22
2.4.4.2 反復投与毒性試験 22
2.4.4.2.1 ラット 28 日間反復経口投与毒性試験 24
2.4.4.2.2 イヌ 28 日間反復経口投与毒性試験 24
2.4.4.2.3 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験 24
2.4.4.2.4 イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験 24
2.4.4.3 生殖・発生毒性（EFT） 25
2.4.4.4 遺伝毒性試験 25
2.4.4.4.1 細菌復帰突然変異試験（エームズ試験） 25
2.4.4.4.2 CHL 染色体異常試験 25
2.4.4.4.3 マウス骨髄小核試験 25
2.4.4.5 光毒性 25
2.4.4.6 総合評価と結論 26

表目次

表 1 SCC244 の非臨床薬理試験一覧 7
表 2 非臨床薬物動態試験 15
表 3 SCC244 の非臨床安全性試験結果 21
表 4 ラット及びイヌの GLP 毒性試験で得られた主要な毒性学的及びトキシコキネティクス試験結果の要約 23

略語/略号一覧

略語/略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
μCi	Microcurie	マイクロキュリー
μg	Microgram	マイクログラム
A/G	Albumin/globulin ratio	アルブミン／グロブリン比
AKT	Protein kinase B	プロテインキナーゼ B
AMP	Amplification	増幅
ALB	Albumin	アルブミン
ATP	Adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
AUC	Area under the drug concentration-time curve	血中薬物濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area under the drug concentration-time curve from time 0 to the time	0 から t 時間後における血中薬物濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BDC	Bile duct cannulated	胆管カニュレーション
Caco-2	Human colon cancer cell	ヒト結腸癌由来細胞-2
CCK-8	Cell Counting Kit-8	セルカウンティングキット-8
CHL	Chinese hamster lung derived cell	チャイニーズハムスター肺由来細胞
C_{max}	Maximum blood concentration	最高血中濃度
$C_{max\ free}$	Maximum blood concentration of free drug	遊離型最高血中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CP	Cyclophosphamide monohydrate	シクロホスファミド一水和物
CPZ	Chlorpromazine hydrochloride	クロルプロマジン塩酸塩
CYP1A2, CYP3A4/5	Cytochrome P450 1A2, Cytochrome P450 3A4/5	チトクロム P450、1A サブファミリー2 酵素、3A サブファミリー4 酵素、3A サブファミリー5 酵素
CYP2B6	Cytochrome P450 2B6	チトクロム P450、2B サブファミリー6 酵素
CYP2C8, 2C9, 2C19	Cytochrome P450 2C8, Cytochrome P450 2C9, Cytochrome P450 2C19	チトクロム P450、2C サブファミリー8 酵素、2C サブファミリー9 酵素、2C サブファミリー19 酵素
CYP2D6	Cytochrome P450 2D6	チトクロム P450、2D サブファミリー6 酵素
D	Days	日数
DDI	Drug-Drug Interactions	薬物間相互作用
DMPK	Drug Metabolism and pharmacokinetics	薬物代謝と薬物動態
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
EBC-1	Human lung squamous cell carcinoma cell line	ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株
ECG	Electrocardiogram	心電図
EFT	Embryonic-Fetal Toxicity	胚・胎児発生毒性

EGFR	Epidermal growth factor receptor	上皮成長因子受容体
ELISA	Enzyme-linked immuno-sorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法
ERK	Extracellular signal-regulated kinase	細胞外シグナル制御キナーゼ
F	Female	雌
FDA	Food and drug administration	米国食品医薬品局
GD	Gestational day	妊娠日数
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
h/hr	Hours	時間
HEK	Human embryonic kidney cells	ヒト胎児由来腎臓細胞
hERG	Human Ether-a-go-go Related Gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HGF	Hepatocyte Growth Factor	肝細胞増殖因子
HNSTD	Highest Non-Severely Toxic Dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
HPLC-MS/MS	High performance liquid chromatography tandem mass spectrometry	高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析
HR	Heart rate	心拍数
Hs746T	Human gastric cancer cell line	ヒト胃癌由来細胞株
HUVEC	Human Umbilical Vein Endothelial Cell	ヒト臍帯静脈内皮細胞
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
IC_{90}	90% inhibitory concentration	90%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
ICR	Institute of Cancer Research (mouse strain)	Institute of Cancer Research（マウス動物系統）
Igut	Maximal theoretical concentration in the gut	腸管内理論上最高濃度
IL	Interleukin	インターロイキン
$I_{max,u}$	Unbound maximum plasma concentration	血漿中遊離型薬物濃度
Ki67	Ki-67 protein (cellular marker for proliferation)	Ki-67 タンパク質（細胞増殖能マーカー）
LC/HRMS	Liquid chromatography/High Resolution Mass Spectrometry	液体クロマトグラフィー・高分解能質量分析
LC/RAM	Liquid chromatography-Radio-activity monitor	液体クロマトグラフィー放射能検出器連動型質量分析計/高分解能質量分析
LE	Long-Evans (a pigmented rat strain)	ロングエバンス系（色素沈着ラットの動物系統）
LLOQ	Lower limit of quantitation	定量下限値
LSC	Liquid scintillation counting	液体シンチレーションカウンター
LYMP	Lymphocyte	リンパ球
M	Male	雄
MATE1	Multidrug and toxin compound extrusion 1	多剤・毒性化合物排出トランスポータ

		ータンパク質 1
MATE 2-K	Multidrug and toxin compound extrusion 2-K	多剤・毒性化合物排出トランスポータータンパク質 2-K
MDCK	Madin-Darby canine kidney cells	Madin-Darby イヌ腎細胞
MET	Mesenchymal epithelial transition factor	間葉上皮転換因子
min	Minute	分
MKN-45	Human gastric cancer cell lines	ヒト胃癌由来細胞株
MONO	Monocyte	単球
MPE	Mean photo effect	平均光作用
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
MRT	Mean Residence Time	平均滞留時間
$MRT_{0\text{-last}}$	Mean residence time from the start of dosing (t_0) to the time of the last detectable concentration	最終測定可能時点までの平均滞留時間
NADPH	Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
nCi	Nanocurie	ナノキュリー（nCi）
NEUT	Neutrocyte	好中球
NOAEL	No Observable Adverse Effect Level	無毒性量
NOEL	No Observable Effect Level	無影響量
NSCLC	Non-small cell lung cancer	非小細胞肺癌
OAT1	Organic anion transporter 1	有機アニオントランスポーター1
OAT3	Organic anion transporter 3	有機アニオントランスポーター3
OATP1B1	Organic anion transporting polypeptide 1B1	有機アニオントランスポーターポリペプチド 1B1
OATP1B3	Organic anion transporting polypeptide 1B3	有機アニオントランスポーターポリペプチド 1B3
OCT2	Organic cation transporter 2	有機カチオントランスポーター2
PD	Pharmacodynamics	薬力学
PDX	Patient-derived xenografts	ヒト患者由来腫瘍移植
P-gp	P-glycoprotein	P 糖蛋白
PK/PD	Pharmacokinetics/Pharmacodynamics	薬物動態/薬力学
PIF	Photo Irritation Factor	光毒性係数
PLT	Platelet	血小板
PMSF	Phenylmethyl sulfonyl fluoride	フッ化フェニルメチルスルホニル
PO	Per Os	経口
PR 間隔	representing atrioventricular conduction time	心電図 PR 間隔（房室伝導時間）
QD	Once-daily	1 日 1 回投与
QTcV	Van de Water-corrected QT interval	心電図 QT 間隔（Van de Water 補正）
QWBA	Quantitative whole body autoradiography	定量的全身 X 線オートラジオグラフィー

RDW	Red cell distribution width	赤血球分布幅
RTV	Relative tumor volume	相対的腫瘍体積
SCID	Severe combined immune deficiency	重症複合免疫不全症
SD	Sprague-Dawley (rat strain)	Sprague Dawley（ラット動物系統）
SNU-5	Human gastric cancer cell line	ヒト胃癌由来細胞株
SRB	Sulforhodamine B	スルフォホダミン B
T/C	mean RTV of the treated group / mean RTV of the control group	治療群の平均 RTV／対照群の平均 RTV の割合
$t_{1/2}$	Elimination half-life	消失半減期
TGI	Tumor growth inhibition	腫瘍増殖抑制率
T_{max}	Time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TPR-Met	Tpr-Met fusion protein	MET 融合蛋白質
U87MG	Human brain glioblastoma cell line	ヒト神経膠腫細胞株
ULOQ	Upper limit of quantification	定量上限値
UVA	Ultraviolet A	紫外線 A 波
WBC	White blood cell	白血球

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画の概要

SCC244（一般名：Gumarontinib）は経口投与可能な MET 受容体チロシンキナーゼの高選択性低分子阻害剤であり、MET キナーゼ活性を有意に阻害し（IC_{50}: 0.5 ± 0.1 nM）、MET 以外のキナーゼ 310 種類に対して 2000 倍を超える選択性を、またその他のキナーゼ 10 種類に対しては 200 倍を超える選択性を有している。MET 変異体（*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異、MET 増幅、*MET* 遺伝子再配列、HGF/MET オートクライン活性化を含む）を有する複数の腫瘍モデルに対して *in vitro* 及び *in vivo* で強力な抗腫瘍活性を示し、*MET* 遺伝子増幅が媒介するオシメルチニブ耐性を克服することができた。

現在、現行の国際ガイドライン（ICH M3（R2）及び S9）に基づき、薬理試験、薬物動態試験、安全性薬理試験及び毒性試験を実施済みである。このうち、安全性薬理試験と毒性試験は、GLP 規制の要求事項に従って実施した。

SCC244 について実施した非臨床の効力を裏付ける試験、副次的薬理試験、安全性薬理試験、薬力学的薬物相互作用試験の概要と結果を表 1 に示す。

表 1 SCC244 の非臨床薬理試験一覧

効力を裏付ける試験 - *in vitro* 試験			
試験番号（CTD 記載箇所）	**名称**	**試験方法**	**主な結果**
- (M4.2.1.1-1)	SCC244 の各種キナーゼ活性に対する分子レベルでの影響	分子レベル解析、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）	SCC244 は MET のキナーゼ活性を有意に阻害した（IC_{50}: 0.5 ± 0.1 nM）。
[redacted]-SCC244-20220817-EN (M4.2.1.1-3)	SCC244 代謝物 M199 の MET キナーゼに対する阻害活性の影響	分子レベル解析、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）	SCC244 の主な循環代謝物である M199 は、試験した濃度では MET キナーゼ活性を有意に阻害せず、IC_{50} は 10 μM より大きかった。
- (M4.2.1.1-1)	MET 阻害における SCC244 の ATP 濃度への影響	分子レベル解析、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）	SCC244 は強力な ATP 競合型チロシンキナーゼ阻害剤である。
- (M4.2.1.1-1) SCC244-Hs746T (M4.2.1.1-2)	SCC244 の MET 及びその下流のシグナル伝達経路への影響	細胞レベルの解析（プロテインブロッティングアッセイ）	SCC244 は細胞内の MET 及びその下流の主要シグナル分子である ERK1/2 と AKT のリン酸化レベルを用量依存的に阻害した。MET のリン酸化は 20 nM の SCC244 で完全に阻害された。
- (M4.2.1.1-1) SCC244-Hs746T (M4.2.1.1-2)	SCC244 の腫瘍細胞増殖への影響	細胞レベルの解析（SRB 法、MTT 法、CCK-8 セルカウンティングキット）	SCC244 は MET 依存性細胞株において IC_{50} が 0.3-7.6 nM と陽性対照としたクリゾチニブより著明に細胞増殖を抑制した。対照的に、SCC244 は MET 発現が少ないか全くない、MET 活性が低い正常細胞株と試験した約 40 の腫瘍細胞株では IC_{50} が 10 μM 又は 1 μM より大きく細胞増殖を顕著に抑制しなかった。SCC244 が高い選択性を持つ MET 阻害剤であることを示唆している。

- (M4.2.1.1-1)	SCC244 の腫瘍細胞周期への影響	細胞レベルの解析（フローサイトメトリー）	SCC244 は 5-20 nM の濃度範囲で EBC-1 の G1/S 期細胞周期停止を用量依存的に誘導したが、アポトーシスは引き起こさなかった。	
- (M4.2.1.1-1)	SCC244 の腫瘍細胞の遊走・浸潤への影響	細胞レベルの解析（トランスウェル）	SCC244 は HGF 誘導細胞の遊走及び浸潤を用量依存的に阻害し、2 nM で有意に、50 nM でほぼ完全に阻害した。	
- (M4.2.1.1-1)	HGF による MDCK 細胞の分散に対する SCC244 の効果	細胞レベルの解析（HGF による MDCK 細胞の分散増殖）	SCC244 は HGF による細胞分散効果を有意に阻害し、SCC244 の 20 nM で細胞分散表現型が大きく完全に逆転した。	
- (M4.2.1.1-1)	HGF による MDCK 細胞の浸潤増殖に対する SCC244 の効果	細胞レベルの解析（HGF 誘導下の MDCK 細胞の 3 次元培養モデル-枝分かれ形態解析）	SCC244 は HGF 誘導細胞の浸潤増殖を有意に抑制した。2 nM の濃度では、細胞の分裂構造がほぼ完全に失われ、10 nM の濃度では細胞のクローン球体量が HGF 誘導のない群に比べ有意に小さくなった。	
	SCC244 が初代ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）の HGF 誘導 MET シグナル経路及び HUVEC 細胞の増殖に与える影響について	細胞レベルの解析（プロテインブロッティング法、CCK-8 セルカウンティングキット）	SCC244 は HGF による HUVEC の MET 及びその下流のシグナル伝達経路の活性化を用量依存的に阻害し、増殖阻害の IC_{50} は 8.8 ± 0.4 nM であった。	
効力を裏付ける試験 - *in vivo* 試験				
試験番号（CTD 記載箇所）	**名称**	**動物種**	**投与量、プロトコル**	**主な結果**
- (M4.2.1.1-1)	SCC244 によるヒト胃癌 MKN-45 皮下異種移植腫瘍のヌードマウスでの増殖抑制効果	BALB/cA 雌ヌードマウス	媒体対照、SCC244 ブランク対照群、SCC244 試験群（2.5、5、10 mg/kg）の 2 つの試験を実施した。 さらに、試験 I では陽性対照としたクリゾチニブ 50 mg/kg と INCB28060（カプマチニブ） 15 mg/kg を、試験 II ではクリゾチニブ 10 mg/kg と 50 mg/kg を試験した。すべての化合物及び媒体を 1 日 1 回、21 日間経口投与した。 試験動物数は、媒体対照群 12 匹、ブランク対照群 6 匹、各投与群 6 匹であった。	SCC244（2.5、5、10 mg/kg）は用量依存的に腫瘍の増殖を有意に抑制し、T/C 値はそれぞれ 34.22–44.33%、18.25–36.46%、9.68–11.51%であった。SCC244 10 mg/kg の腫瘍抑制能は、クリゾチニブ 50 mg/kg 及び INCB28060（カプマチニブ） 15 mg/kg の腫瘍抑制能と同等であった。どのグループのマウスも、顕著な体重減少はなく、マウスの死亡もなく、良好な状

				態であった。
- (M4.2.1.1-1)	SCC244 によるヒト胃癌 SNU-5 皮下異種移植腫瘍のヌードマウスでの増殖抑制効果	BALB/cA 雌ヌードマウス	SCC244 ブランク対照群と SCC244 試験群（2.5、5、10 mg/kg）の 2 つの試験を実施した。 さらに、試験 I では陽性対照としたクリゾチニブ 50 mg/kg と INCB28060（カプマチニブ） 15 mg/kg を、試験 II ではクリゾチニブ 10 mg/kg と 50 mg/kg を試験した。すべての化合物及び媒体を 1 日 1 回、14 日間経口投与した。 試験動物数は、ブランク対照群 12 匹、投与群各 6 匹とした。	SCC244（2.5、5、10 mg/kg）は用量依存的に腫瘍の増殖を有意に抑制し、T/C 値はそれぞれ 27.08–46.79%、15.43–19.58%、3.23-6.01%であった。SCC244 10 mg/kg の腫瘍抑制能は、クリゾチニブ 50 mg/kg 及び INCB28060（カプマチニブ） 15 mg/kg の腫瘍抑制能と同等であった。全群の動物の状態は良好で、死亡したマウスはなかった。
- (M4.2.1.1-1)	SCC244 によるヒト肺癌 EBC-1 皮下異種移植腫瘍のヌードマウスでの増殖抑制効果	BALB/cA 雌ヌードマウス	2 試験は、上記の SNU-5 モデルと同じ試験グループ設定及び投与レジメンで実施した。	SCC244（2.5、5、10 mg/kg）は、T/C 値がそれぞれ 20.15–42.78%、8.39–22.13%、3.69–5.69%で、用量依存的に腫瘍の増殖を有意に阻害した。SCC244 10 mg/kg の腫瘍抑制能は、概ねクリゾチニブ 50 mg/kg と同等であり、INCB28060（カプマチニブ） 15 mg/kg よりも良好であった。全群の動物の状態は良好で、死亡したマウスはなかった。
- (M4.2.1.1-1)	SCC244 によるヒト神経膠腫 U87MG 皮下異種移植腫瘍のヌードマウスでの増殖抑制効果	BALB/cA 雌ヌードマウス	2 試験は、上記の SNU-5 モデルと同じ試験グループ設定及び投与レジメンで実施した。	SCC244（2.5、5、10 mg/kg）は T/C 値がそれぞれ 10.61–39.48%、7.34–19.23%及び 4.06–12.40%で、用量依存的に腫瘍の増殖を有意に阻害した。SCC244 10

				mg/kg の腫瘍抑制能は、クリゾチニブ 50 mg/kg 及び INCB28060（カプマチニブ） 15 mg/kg の腫瘍抑制能と同等であった。全群の動物の状態は良好で、死亡したマウスはなかった。
- (M4.2.1.1-1)	SCC244 による MET 依存性ヒト移植腫瘍のヌードマウスでの増殖及び血管新生の抑制効果	BALB/cA 雌ヌードマウス	上記の *in vivo* 薬力学的アッセイ終了時に、コントロールと薬剤処理した EBC-1 及び SNU-5 の腫瘍組織を採取し、細胞増殖の指標である Ki67 を分析した。EBC-1、SNU-5 及び U87MG 腫瘍を有するコントロールと薬剤処理したヌードマウスの血漿を採取し、血管新生促進因子である IL-8 を分析した。	SCC244 は腫瘍組織における細胞増殖のマーカーである Ki67 の発現を用量依存的に抑制することができ、移植された腫瘍細胞の増殖作用を有意に抑制することが示された。また、SCC244 は、担癌マウスの血漿中 IL-8 濃度を有意に低下させたことから、SCC244 は生体内で抗腫瘍性血管新生作用を有することが示唆された。
参考文献（Ai J et al. 2018） (M4.3)	MET 変異体を含む非小細胞肺癌及び肝細胞癌のヒト患者由来腫瘍移植（PDX）モデルにおける SCC244 の増殖阻害作用について	免疫不全マウス	SCC244 ブランク対照群及び SCC244 試験群（10 mg/kg）は、4 つの非小細胞肺癌 PDX 及び 5 つの肝細胞癌 PDX モデルで試験した。 化合物及び媒体を 1 日 1 回、18～21 日間経口投与した。 試験動物数は、1 グループあたり 5～8 匹とした。	SCC244 は 10 mg/kg で 9 つの PDX モデルにおいて、腫瘍増殖抑制率（TGI）が 87.7–115.8%と強力な抗腫瘍活性を示した。中でも SCC244 は、*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異と MET 増幅を有する非小細胞肺癌 PDX モデル LU2503 において腫瘍の一部又は完全な退縮を誘導し、動物への忍容性も良好であった。
-	ヒト肺癌 EBC-1 ヌ	雌 SCID マウス	SCC244 ブランク対照	SCC244（2.5、5、

(M4.2.1.1-1)	ードマウス皮下異種移植腫瘍モデルにおける SCC244 の PK/PD 効果		群、SCC244 試験群（2.5、5、10 mg/kg）を含み、1 群 18 匹、単回経口投与。SCC244 投与後 0.5、1、2、4、8、24 時間後に血液と脳組織を採取し、SCC244 曝露を解析し、腫瘍組織を採取して腫瘍組織の MET シグナル経路への影響を解析した。	10 mg/kg）を単回経口投与したとき、血漿、腫瘍及び脳組織における SCC244 の T_{max} は 0.5 時間であり、血漿中の曝露量（AUC_{0-t}）はそれぞれ 5000、9716 及び 16669 ng･h/mL であった。脳及び腫瘍組織における AUC_{0-t} は、それぞれ血漿中の AUC_{0-t} の約 17%及び 98%であった（3 用量群の平均値）。SCC244（2.5、5、10 mg/kg）は、単回投与後 0.5 時間で MET 及びその下流のシグナル伝達タンパク質である AKT と ERK のリン酸化を有意に低下させた。SCC244 の腫瘍における MET、AKT 、ERK のリン酸化に対する抑制効果は、投与後 8-24 時間で徐々に減少した。これらのタンパク質のリン酸化の抑制は、高用量群では低用量群よりも強く、長く持続した。これは、腫瘍内薬物曝露の変化と関連して、いくぶん用量及び時間に依存する。SCC244 のマウス血漿中薬物濃度 138.5 ng/mL で、腫瘍内の MET リン酸化を最大 90%抑制した（IC_{90}）。
副次的薬理試験				
試験番号	**名称**	**試験方法**	**主な結果**	

（CTD 記載箇所）			
- (M4.2.1.1-1)	SCC244 の各種キナーゼ活性に対する分子レベルでの影響	分子レベル解析（Eurofins 社製プロテインキナーゼプロファイリングプラットフォーム）	SCC244 は MET 以外の 322 種のプロテインキナーゼに対して弱い阻害作用を示し、1 μM（310 種）又は 100 nM（10 種）で 99%以上の試験したキナーゼの阻害率は 50%未満であり、SCC244 は MET に対して高い選択性を持つ阻害剤であることが示された。
安全性薬理試験			
試験番号 （CTD 記載箇所） (GLP 対応)	**試験の種類**	**試験方法**	**主な結果**
[redacted]167R (M4.2.1.3-2) (GLP)	中枢神経系	SD ラット	本試験条件下では、SD ラットの中枢神経系に対する SCC244 の有害作用は認められなかった。無影響量（NOEL）は 100 mg/kg であった。
[redacted]19-[redacted]101-SP (M4.2.1.3-3) (GLP)	心血管系	hERG を安定的に発現させた HEK293 細胞	SCC244 の IC_{50} 値は 3.30 μM で、hERG 電流に対する阻害効果を示した。
[redacted]150D (M4.2.1.3-1) (GLP)	心血管系	ビーグルイヌ	SCC244 を 2、8、32 mg/kg 経口投与したイヌは、いずれも被験物質に伴う心電図、血圧、体温等の心血管パラメータの変化を認めなかった。
[redacted]150D (M4.2.1.3-1) (GLP)	呼吸器系	ビーグルイヌ	SCC244 を 2、8、32 mg/kg の用量で覚醒下単回経口投与したとき、投与後 22 時間までに薬物に関連した呼吸器系の変化は認められなかった。
薬力学的薬物相互作用試験			
試験番号 （CTD 記載箇所）	**試験の種類**	**試験方法**	**投与量、プロトコル**	**主な結果**
[redacted]5232-[redacted]2001 (M4.2.1.4)	EGFR 変異及び MET 増幅を有する肺癌 PDX モデルにおける SCC244 と EGFR 阻害剤オシメルチニブとの併用による腫瘍抑制効果	BALB/c 雌ヌードマウス	媒体対照群に加え、オシメルチニブ 30 mg/kg、SCC244 5 mg/kg、SCC244 10 mg/kg、オシメルチニブ 30 mg/kg + SCC244 5 mg/kg、オシメルチニブ 30 mg/kg + SCC244 10 mg/kg の 5 群を設定した。すべての化合物及び媒体を 1 日 1 回、28 日間経口投与した。	オシメルチニブは 30 mg/kg の用量で、対照群と比較して有意な抗腫瘍効果を示さなかった。しかし、SCC244 の 5 mg/kg 又は 10 mg/kg の投与により、腫瘍の増殖が有意に抑制された。また、10 mg/kg SCC244 投与群では腫瘍の縮小が認められ、1/8 で完全な腫瘍の退縮が確認された。また、SCC244（5 mg/kg 又は 10 mg/kg）とオシメルチニブ（30 mg/kg）の併用療法

				は、対照群及び単剤療法に比べ、より強い抗腫瘍効果を示した。SCC244 の 5mg/kg とオシメルチニブの 30mg/kg の併用で 7/8 の腫瘍の完全退縮が、SCC244 の 10mg/kg とオシメルチニブの 30mg/kg の併用で 8/8 の腫瘍の完全退縮が認められた。実験動物は上記治療に対して忍容性が確認された。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効果を裏付ける試験

SCC244 は経口投与可能な ATP 競合型の MET 受容体チロシンキナーゼ阻害剤であり、MET キナーゼ活性を有意に阻害する（IC_{50}は 0.5 ± 0.1 nM）低分子化合物である。SCC244 の主な循環代謝物である M199 は、IC_{50} >10 μM で MET キナーゼ活性を有意に阻害しなかった。細胞レベルでは、SCC244 は MET 変異（*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異、MET 増幅、*MET* 遺伝子再配列、HGF/MET オートクライン活性化を含む）を有する様々なヒト由来腫瘍細胞株（EBC-1、MKN-45、U87MG、Hs746T）及び器官細胞株（BaF3/TPR-Met）において 5～20 nM で濃度依存的に MET 及びその下流の主要シグナル分子 ERK1/2 と AKT のリン酸化を阻害し、20 nM で各細胞株における MET シグナル伝達経路の活性化をほぼ完全に阻害した。また SCC244 は MET 変異ヒト腫瘍細胞株及び器官細胞株の増殖を効果的に阻害した（IC_{50} : 10 nM 以下）。一方で SCC244 は MET の発現量が少なく活性化されていない 38 の腫瘍細胞株及び正常細胞株において有意な増殖抑制活性を示さなかった（IC_{50} : 1 μM 又は 10 μM 以上）ことから、SCC244 は強力かつ選択的な MET 阻害剤であることが示された。さらに SCC244 は MET 変異細胞に対し、細胞の G1/S 期細胞周期停止を引き起こすことにより増殖抑制効果を発揮することが明らかになった。SCC244 は MET が介在する腫瘍細胞の遊走、浸潤、細胞分散効果及び浸潤性増殖を有意に抑制した。SCC244 はヒト臍帯静脈内皮細胞における HGF 誘発 MET シグナル経路の活性化及び細胞増殖を有意に抑制したことから、SCC244 は MET を介した腫瘍血管新生作用を抑制することが示唆された。

In vivo では、SCC244 は異常な MET 活性化を示すヒト由来腫瘍細胞株ヌードマウス皮下異種移植腫瘍モデル（肺癌（EBC-1）、胃癌（MKN-45 及び SNU-5）及び神経膠腫（U87MG））において強力な抗腫瘍効果を示すとともに、試験動物において SCC244 に対する忍容性が確認された。MET 増幅 MKN-45 モデルにおいて、SCC244 2.5、5、10 mg/kg を 1 日 1 回 21 日間反復経口投与したところ、治療群の平均 RTV／対照群の平均 RTV の割合（T/C 値）はそれぞれ 34.22～44.33%、18.25～36.46%、9.68～11.51%であった。MET 増幅 SNU-5 モデルにおいて、SCC244 2.5、5、10 mg/kg を 1 日 1 回 14 日間経口投与したときの T/C 値は、それぞれ 27.08～46.79%、15.43～19.58%、3.23～6.01%であった。MET 増幅 EBC-1 モデルにおいて、SCC244 2.5、5、10 mg/kg を 1 日 1 回 14 日間連日経口投与したところ、T/C 値はそれぞれ 20.15～42.78%、8.39～22.13%、3.69～5.69%であった。10 mg/kg 投与群では腫瘍は部分退縮に達し、1 匹のマウスは完全退縮した。HGF/MET オートクライン活性化モデル U87MG において、SCC244 2.5、5、10 mg/kg を 1 日 1 回 14 日間経口

投与したとき、T/C 値はそれぞれ 10.61～39.48%、7.34～19.23%、4.06～12.40%の範囲であった。これらの薬力学的試験において、SCC244 10 mg/kg の腫瘍抑制能は、クリゾチニブ 50 mg/kg と同等であり、カプマチニブ 15 mg/kg より優れているか同等であった。また SCC244 は、*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異、MET 増幅、MET 過剰発現を有する非小細胞肺癌及び肝癌の 9 つのヒト患者由来腫瘍移植モデル（PDX）で強力な抗腫瘍活性が認められた。優れた増殖抑制効果を示し、10 mg/kg で腫瘍増殖抑制率（TGI）は 87.7～115.8%であった。*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異と MET 増幅を有する非小細胞肺癌 PDX モデル LU2503 において腫瘍の退縮が認められた（腫瘍を有するマウス 8 匹中 4 匹は腫瘍の完全退縮、残りの 4 匹は部分退縮）。また SCC244 は 2.5～10 mg/kg で腫瘍組織における腫瘍の増殖に関連する核抗原 Ki67 の発現及びマウス血漿中の血管新生促進因子 IL-8 の分泌を用量依存的に抑制し、腫瘍増殖抑制及び腫瘍血管新生阻害による抗腫瘍効果を示すことが示唆された。

MET 増幅ヒト肺癌細胞株 EBC-1 をヌードマウスの皮下異種移植腫瘍モデルとして選択し、SCC244 の血漿、腫瘍、脳組織における分布、単回経口投与（2.5、5、10 mg/kg）による腫瘍の MET 及びその下流シグナル経路の阻害を検討した（M4.2.1.1-1 Chapter 4 Studies on the In-Vivo PD-PK Effect of SCC244）。その結果、血漿、脳及び腫瘍組織における SCC244 の最高血漿中濃度到達時間（T_{max}）は 0.5 時間、血漿中の最高血中濃度（C_{max}）は 1847～5967 ng/mL、0 から t 時間後における血中薬物濃度-時間曲線下面積（AUC_{0-t}）は 5000～16669 ng･h /mL であった。脳及び腫瘍組織における曝露量はそれぞれ血漿中曝露量の 17%及び 98%であった（3 つの投与群の平均値）。2.5～10 mg/kg の投与量範囲では、脳及び血漿中の SCC244 の曝露量の増加は基本的に用量の増加に比例し、腫瘍組織中の曝露量の増加は用量の比例増加よりやや少なかった。SCC244 は単回投与から 0.5 時間後に MET、AKT、ERK1/2 のリン酸化を有意に抑制した。MET とその下流のシグナル伝達経路分子である AKT 及び ERK1/2 のリン酸化の抑制は、投与 8 時間後に血漿及び皮下グラフト濃度が低下するにつれて減少し、2.5 mg/kg 投与では投与 8 時間後に腫瘍組織における MET リン酸化がほぼ完全に回復した。SCC244 のマウス血漿中の薬物濃度 138.5 ng/mL で、腫瘍内の MET リン酸化を最大 90%抑制した（IC_{90}）。これらの結果は SCC244 による MET 経路の時間的・用量依存的な阻害を反映しているものと考えられた。SCC244 は MET 経路の時間的・用量依存的な阻害効果を示し、EBC-1 モデルにおける SCC244 の用量依存的な腫瘍抑制効果がみられた。

2.4.2.2 副次的薬理試験

MET を含む 323 種のプロテインキナーゼに対する SCC244 の阻害活性は Eurofins 社のプロテインキナーゼプロファイリングプラットフォームを用いて評価した。SCC244 は MET キナーゼの酵素活性に対して有意な阻害活性（IC_{50} : 0.5 ± 0.1 nM）を示し、c-MET ファミリーメンバーの RON や相同性の高いキナーゼ Axl、Tyro3、Mer 等残りの 322 種のプロテインキナーゼに対して比較的弱い阻害作用を示したが、99%以上の試験したキナーゼの阻害率は 1 μM（310 種類のキナーゼ）又は 100 nM（10 種類のキナーゼ）で 50%未満であり、SCC244 が強力かつ高い選択性を有する MET キナーゼ阻害剤であることが示された。

2.4.2.3 安全性薬理試験

安全性薬理試験（中核となるコンビネーションアッセイ）では、SCC244 の中枢神経系（CNS）、心血管系、呼吸器系への影響を評価した。SCC244 は、SD ラットに 100 mg/kg を投与で、中枢神経系への悪影響は認められなかった。SCC244 は、HEK293 細胞において、IC_{50} : 3.30 μM（臨床用量 300 mg QD における定常状態の遊離型最高血中濃度（$C_{max\ free}$: 0.231 μM）の約 14 倍）で hERG（ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子）カリウム電流を阻害した。ビーグルイヌに SCC244 を 2、8、32 mg/kg で覚醒下単回経口投与したところ、22 時間までに血圧、心電図、呼吸及び体温に薬物投与による変化は認められなかった。また、試験動物に遅発性ジスキネジアは認められなかった。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

EGFR 変異（L858R）及び MET 増幅（コピー数 13.75）を有する LU0858 肺癌 PDX モデルにおいて、SCC244 とオシメルチニブの併用による抗腫瘍効果を評価した。オシメルチニブを 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回 28 日間反復経口投与したところ、媒体投与群と比較して有意な抗腫瘍効果は認められなかった。しかし、SCC244 の 5 mg/kg/日又は 10 mg/kg/日の投与は、媒体投与群と比較して腫瘍の増殖を有意に抑制した。また、SCC244 10 mg/kg/日投与群では腫瘍の縮小が認められ、1/8（8 個中 1 個）で完全な腫瘍の退縮が確認された。また、SCC244（5 mg/kg/日又は 10 mg/kg/日）とオシメルチニブ（30 mg/kg/日）の併用療法は、媒体投与群及び単剤療法群に比べ、より強い抗腫瘍効果を示した。SCC244 5 mg/kg/日とオシメルチニブ 30 mg/kg/日の併用群の 7/8、SCC244 10 mg/kg とオシメルチニブ 30 mg/kg 併用群の 8/8 で腫瘍の完全退縮が確認された。また、試験動物の忍容性が確認された。

2.4.3 薬物動態試験

ラット及びイヌに単回静脈内投与したとき、SCC244 は中程度から低い血漿クリアランス及び中程度から高い定常状態での分布容積を示した。SCC244 は単回経口投与後の消失半減期（$t_{1/2}$）が長く、AUC_{0-t} の増加は用量とよく相関すること、食事は SCC244 の曝露量を増加させること、ラット及びイヌにおいて中程度から高い絶対バイオアベイラビリティを示し、多回経口投与後も生体内に有意な蓄積はないことなどが確認された。SCC244 の蛋白結合率は、前臨床評価動物種及びヒト血漿中では 90%以上であった。経口投与後、ラットの眼、内分泌系、外分泌系、脂肪、皮膚、リンパ系、生殖器系、呼吸器系、消化器系、代謝・排泄系に広く分布し、中枢神経系及び骨には少ないが、SCC244 は約 10%の割合で脳に移行する。SCC244 は肝ミクロソーム中で非常に安定であり、CYP3A4 が SCC244 の主要な代謝酵素であるが、その代謝寄与率は 5%未満であり、アルデヒド酸化酵素は SCC244 の代謝に関与していないことがわかった。ラットにおける SCC244 の主な代謝経路は、1）加水分解により血漿中の主要代謝物である加水分解物 M5（すなわち M199）を形成する（SCC244 曝露量全体の 10%以上）、2）脱メチル化及びグルクロン酸への結合、あるいはさらなる脱メチル化である。SCC244 を単回経口投与した SD 系ラットでは、糞中には投与量の 79.59%（雄）及び 94.73%（雌）が主に未変化体として排泄され、尿中では 15.88%（雄）と 5.13%（雌）が代謝物として排泄された。BDC ラットの SCC244 単回経口投与した後の総胆汁排泄量は 35.15%（雄）及び 42.09%（雌）で、代謝物が大部分を占めた。

薬物相互作用については、SCC244 は CYP1A2/2B6/2C8/2C9/2C19/2D6/3A4 を阻害せず、時間依存性はなかった。SCC244 は CYP1A2 及び CYP3A4 の mRNA を誘導せず、CYP2B6 の誘導による臨床的な薬物相互作用の可能性はほとんどない。また、SCC244 は主要なトランスポーター（OAT1/OAT3/OCT2/OATP1B1/OATP1B3/MATE1/MATE2-K/P-gp/BCRP）の基質ではなく、トランスポーター5 種（OCT2/OATP1B1/OATP1B3/OAT1/OAT3）の IC_{50} は 10 μM 以上であった。SCC244 の MATE1 及び MATE2-K に対する IC_{50} はそれぞれ 1.48 μM 及び 1.85 μM であり、SCC244 の臨床曝露量を考慮すると、臨床使用においても SCC244 は MATE1 及び MATE2-K を阻害することが示唆された。SCC244 は P-gp 及び BRCP を中程度阻害したが（IC_{50} P-gp ：約 40 μM、IC_{50} BCRP：約 10 μM）、SCC244 の臨床曝露量を考慮すると、臨床で SCC244 の P-gp 及び BCRP の阻害作用により薬剤間相互作用の起こる可能性は低いと考えられる。SCC244 で行った薬物動態試験を表 2 に示す。

表 2 非臨床薬物動態試験

試験内容	投与経路	種（性別）	用量・濃度	CTD 記載箇所
分析方法とバリデーション				

試験内容	投与経路	種（性別）	用量・濃度	CTD 記載箇所
生体試料中の SCC244 の LC-MS/MS 法による定量分析	-	SD ラットとビーグルイヌ	-	M4.2.2.1-2
HPLC-MS/MS による SD ラット血漿中の SCC244 の測定	-	SD ラット	5–5000 ng/mL	M4.2.2.1-5
HPLC-MS/MS によるビーグルイヌ血漿中の SCC244 の測定	-	ビーグルイヌ	5–5000 ng/mL	M4.2.2.1-6
LC-MS/MS による細胞外液中の SCC244 の定量法バリデーション	-	-	10–200 nM	M4.2.2.1-1
SCC244 の HPLC 分析法の検証及び製剤安定性の評価	-	-	6–120 μg/mL	M4.2.2.1-3 M4.2.2.1-4
SD ラットの血漿中 SCC244（抗凝固剤としてヘパリンナトリウム）定量用 HPLC-MS/MS 法の検証	-	SD ラット	30–30000 ng/mL	M4.2.2.1-7
HPLC-MS/MS によるビーグルイヌ血漿（抗凝固剤としてヘパリンナトリウム）中の SCC244 の分析法の部分的バリデーション	-	ビーグルイヌ	5–5000 ng/mL	M4.2.2.1-8
HPLC-MS/MS による SD ラット血漿中 M278 及び M199 の分析法（抗凝固剤としてヘパリンナトリウム）の検証	-	SD ラット	M199: 0.5–500 ng/mL M278: 5–5000 ng/mL	M4.2.2.1-9
吸収				
単回及び反復投与（非 GLP）	静脈内、経口	SD ラット（雌・雄）	6 群：絶食下 2 mg/kg、6 mg/kg、18 mg/kg 単回経口投与群、非絶食下 18 mg/kg 単回経口投与群、6 mg/kg 反復経口投与群、1 mg/kg 静脈内投与群	M4.2.2.2-1
10 日間反復投与（非 GLP）	経口	SD ラット（雌・雄）	投与量：30mg/kg を 1 日 1 回、10 回連日投与	M4.2.2.2-5
単回投与後の薬物動態（非 GLP）	静脈内、経口	SD ラット（雌・雄）	2 群：絶食下、6 mg/100 μCi/kg を単回経口投与、1 mg/50 μCi/kg の [^{14}C]SCC244 を静脈内注射	M4.2.2.2-4
単回及び反復投与（非 GLP）	静脈内、経口	ビーグルイヌ（雌・雄）	A 群：SCC244 25mg 及び 150mg を非絶食下に単回経口投与、SCC244 150mg を絶食下に単回経口投与、SCC244 溶液 1 mg/kg を静脈内投与 B 群：50mg を食後に単回経口投与、SCC244 50mg を反復経口投与	M4.2.2.2-2

試験内容	投与経路	種（性別）	用量・濃度	CTD 記載箇所
細胞膜透過性（非 GLP）	*In vitro*	ヒト Caco-2 細胞	2、10、50 μM	M4.2.2.2-3
分布				
異なる動物種の血漿蛋白結合率（非 GLP）	*In vitro*	ラット、イヌ、ヒト血漿	イヌ及びヒト血漿：100、1000、8000 ng/mL ラット血漿：200、2000、10,000 ng/mL	M4.2.2.3-1
単回投与したときの組織分布（非 GLP）	経口	SD ラット（雌・雄）	単回経口投与：6.0 mg/kg	M4.2.2.3-2
単回投与したときの組織分布（非 GLP）	経口	LE ラット（雄）	単回経口投与：6 mg/100 μCi/kg [^{14}C]SCC244	M4.2.2.3-3
代謝				
肝ミクロソーム代謝安定性（非 GLP）	*In vitro*	-	3.0 μM	M4.2.2.4-1
単回投与後の代謝物（非 GLP）	経口	SD ラット（雌・雄）、ビーグルイヌ、吸収・排泄試験用試料	ラット：SCC244 6 mg/kg を単回経口投与 ビーグルイヌ：SCC244 6 mg/kg を単回経口投与	M4.2.2.5-1
単回投与後の代謝物（非 GLP）	経口	SD ラット（雌・雄）	単回経口投与：6 mg/100 μCi/kg [^{14}C]SCC244	M4.2.2.4-2
肝ミクロソームと肝 S9 の代謝動物種の比較（非 GLP）	*In vitro*	-	3.0 μM	M4.2.2.4-3
代謝酵素のフェノタイピング（非 GLP）	*In vitro*	-	3.0 μM	M4.2.2.4-4
[^{14}C]SCC244 の *in vitro* における加水分解経路（非 GLP）	*In vitro*	-	10 μM	M4.2.2.4-5
排泄				
単回投与したときの糞・尿・胆汁排泄（非 GLP）	経口	SD ラット（雌・雄）	6.0 mg/kg	M4.2.2.5-1
単回投与後の薬物動態（非 GLP）	経口	SD ラット（雌・雄）	6 mg/100 μCi/kg の[^{14}C]SCC244 を単回経口投与	M4.2.2.2-4
薬物動態学的薬物相互作用				
CYP 誘導試験（非 GLP）	*In vitro*	ヒト肝細胞	0.1–10 μM	M4.2.2.6-1
CYP 阻害作用（非 GLP)	*In vitro*	ヒト肝ミクロソーム	0.1–100 μM	M4.2.2.6-2
時間依存的な CYP 阻害作用（非 GLP)	*In vitro*	ヒト肝ミクロソーム	0.1–50 μM	M4.2.2.6-3
BCRP 及び P-gp の基質及び阻害作用（非 GLP）	*In vitro*	MDCK 細胞モデル	基質試験：10 μM 阻害剤試験：SCC244：10、40 μM	M4.2.2.6-4

試験内容	投与経路	種（性別）	用量・濃度	CTD 記載箇所
OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の基質及び阻害作用（非 GLP）	*In vitro*	HEK293 細胞	基質試験：1、10 μM 阻害剤試験：SCC244：0.3–40 μM	M4.2.2.6-5 M4.2.2.6-6
- : 該当なし、HEK: ヒト胎児由来腎細胞、MDCK: Madin-Darby イヌ腎細胞				

2.4.3.1 分析法とバリデーション

バリデートされた LC-MS/MS 法を用いて SCC244 の血漿中濃度を測定し、薬物動態及び GLP 反復投与毒性試験を実施した。血漿試料は、タンパク質沈殿法により前処理を行った。試料分析手順に従い、分析法の感度、特異性、回収率、マトリクス効果、精度及び試料の安定性を検証した。SD ラット血漿試料において、SCC244 は 3.00 ng/mL（Lower limit of quantification, LLOQ）から 1000 ng/mL（Upper limit of quantification, ULOQ）の範囲で良好な直線性を示した。ビーグルイヌ血漿試料において、SCC244 は 5.00 ng/mL (LLOQ) から 5000 ng/mL の範囲で良好な直線性を示した。

SD ラット血漿中の SCC244 主要代謝物 M199 及び M278 の濃度をバリデートされた LC-MS/MS 法を用いて測定した結果、直線範囲は M199 で 0.5～500 ng/mL、M278 で 5.00～5000 ng/mL であり、良好な直線性、精度及び正確性を示した。

細胞外溶液中の SCC244 濃度を LC-MS/MS で測定したところ、10～200 nM の線形範囲であり、直線性、精度、正確性が高いことが確認された。

製剤溶液中の SCC244 の均質性と安定性は HPLC で測定した結果、6～120 μg/mL の直線範囲において良好な精度と正確性を示した。

血漿、胆汁、尿及び糞中の[^{14}C]SCC244 の定量には、LSC 法を用いた。QWBA を用いて、ラットの様々な組織における[^{14}C]SCC244 の分布を調べ、1～8000 nCi/g の範囲の放射性試料を定量した。血漿、胆汁、尿及び糞試料中の[^{14}C]SCC244 の主要代謝物の探索と構造解析に LC-RAM/HRMS 及び LC/HRMS 法（FTMS、MS2 スキャンモード）を使用した。

また、バリデートされた LC-MS/MS 法を用いて、GLP の反復投与毒性試験から得られた血漿を用い SCC244 濃度を測定した。ヘパリンナトリウムの存在下においても 30.0～30000 ng/mL（SD ラット）及び 5.00～5000 ng/mL（ビーグルイヌ）の直線範囲で分析法の精度、正確性、直線性、感度（LLOQ）、堅牢性、特異性及び選択性を検証した。

2.4.3.2 吸収

SCC244 は、2.00～50.0 μM の濃度範囲において、Caco-2 細胞への有意な流出がなく、高い浸透性を有している。

SCC244 はラット及びイヌに静脈内投与したとき、中程度から低度の血漿クリアランス及び中程度から高度の定常分布容積を示した。SCC244 は単回経口投与したとき、消失半減期（$t_{1/2}$）が長く、用量増加に伴う $AUC_{0\text{-}t}$ の増加を示し、反復経口投与しても有意な蓄積はないことが確認された。ビーグルイヌにおいて、SCC244 を絶食下で経口投与したとき、T_{max} が約 1.3 時間遅れ、

C_{max}が 1.64 倍、血中薬物濃度-時間曲線下面積（AUC）が 2.19 倍となった。ラット（絶食）及びイヌ（非絶食）における SCC244 の経口バイオアベイラビリティは、それぞれ約 82%及び約 48%であった。SCC244 毒性試験の投与量（30 mg/kg）では、ラット血漿中の主要循環代謝物である M199 の曝露量は臨床マスバランス試験における M199 の血漿中曝露量の 50%を超えており、M199 のさらなる非臨床安全性評価の必要はないと判断した。

[^{14}C]SCC244 を単回静脈内投与したときの $t_{1/2}$ は 4.00 時間（雄）及び 4.58 時間（雌）、最終測定可能時点までの平均滞留時間（$MRT_{0\text{-}last}$）は 5.29 時間（雄）と 6.08 時間（雌）であった。[^{14}C]SCC244 をラットに単回経口投与したとき、血漿中総放射能の $AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} が高くなり、T_{max} は 4 時間であった。計算上の経口バイオアベイラビリティは 93.6%（雄）及び 80.6%（雌）であった。

2.4.3.3 分布

SCC244 のラット、イヌ及びヒト血漿蛋白結合率は、それぞれ 99.6%、92.9%、97.0%であり、濃度依存性は認められなかった。SCC244 をラットに経口投与したとき、主な分布組織は肝臓、副腎、消化管及び腎臓であり、組織内濃度は血漿中濃度の 1～4 倍であった。膵臓、心臓及び肺組織での濃度は血漿中濃度に近く、その他の組織内濃度は血漿中濃度より低い（比率 0.7 未満）ことが示された。SCC244 の組織中での最高濃度は投与後 2 時間で、その後急速に組織中で消失した。SCC244 は赤血球にほとんど取り込まれない。SCC244 は血漿中濃度の 10%が脳組織へ移行した。

LE 系雄ラットに[^{14}C]SCC244 を単回経口投与したとき、総放射能は眼、内分泌系、外分泌系、脂肪、皮膚、リンパ系、生殖系、呼吸系、消化器系、代謝・排泄系に広く分布し、中枢神経系及び骨にはほとんど分布しなかった。このうち、ブドウ膜と有色皮膚に分布していることから、[^{14}C]SCC244 はメラニンに結合する可能性が示唆された。

2.4.3.4 代謝

SCC244 は、異なる肝ミクロソームで中程度から低度のクリアランスを示し、有意な動物種差はなく、共通代謝物は主に N-脱メチル代謝物であることが確認された。

SCC244 はヒト肝ミクロソームで主に N-脱メチル代謝物 M1-1 及び M1-2 に代謝される。SCC244 代謝物の生成は主に CYP3A、CYP2C8、CYP2C9 によって代謝される。CYP3A は SCC244 の代謝に主に関与するが代謝寄与率は<5%でアルデヒド酸化酵素は SCC244 の代謝に関与していないと考えられる。

[^{14}C]SCC244 はヒト肝 S9、腸 S9（PMSF 添加及び無添加）及び腸内細菌叢において、NADPH とは独立して少量の M199 を生成し、SCC244 はヒト *in vivo* の様々な器官組織（腸管腔、小腸、肝臓など）で代謝産物を生成していると推測される。

ラット及びイヌに経口投与した結果、ラット血漿中には主に未変化体及び N-脱メチル代謝物 M1-1、M1-2 が、イヌ血漿中には主に未変化体、N-脱メチル代謝物 M1-1、M1-2、ダブル脱メチル代謝物 M2 が検出された。SCC244 のラットにおける主な代謝経路は N-脱メチル化（M1-1、M1-2）及び二重脱メチル化（M2）であり、主に未変化体又は代謝物 M1 として糞中に排泄される。

SD 系ラットに[^{14}C]SCC244 を単回経口投与した結果、血漿中では未変化体（70%以上）と加水分解物 M5（すなわち M199、20%以上）が主に検出され、未変化体（雌ラットの胆汁中に 12.55%、雄ラットの胆汁中にはマススペクトルでのみみられた）、脱メチル化代謝物 M13（雄ラットの胆汁中のみ、50.18%）、加水分解物 M5（雄ラット胆汁中 50.92%及び雌ラット胆汁中 4.36%）、構造不明代謝物 M7（雄ラット胆汁中にのみみられた、16.11%）、グルクロン酸抱合代謝物 M9（雄

ラット胆汁中に 22.57%、雌ラット胆汁中に 10.08%）、又はさらなる脱メチル化代謝物 M12（雌ラット胆汁中のみ、22.57%）が胆汁中にみられた主な生成物であった。[^{14}C]SCC244 の *in vivo* での主な代謝経路は、1）加水分解、2）脱メチル化及びグルクロン酸抱合、又はさらなる脱メチル化であった。

2.4.3.5 排泄

SCC244 をラットに経口投与したときの糞及び尿中の未変化体及び N-又は N'-脱メチル代謝物の累積排泄量は投与量の 31.5%であり、SCC244 は主に未変化体及び代謝物として糞中に排泄されたと推定された。

SD ラットにおける[^{14}C]SCC244 の単回経口投与後 168 時間以内の平均総放射能回収率は 101.31%（雄）及び 103.28%（雌）で、総尿中排泄率は投与量の 15.88%（雄）及び 5.13%（雌）で、糞中排泄率は 79.59%（雄）及び 94.73%（雌）であった。[^{14}C]SCC244 の主な排泄経路は糞であり、総放射能量及び総排泄速度は雄と雌で同程度であった。BDC ラットの単回経口投与後 72 時間における総放射能の平均回収率は 102.29%（雄）及び 102.87%（雌）であり、総胆汁排泄率は投与量の 35.15%（雄）、42.09%（雌）、尿 21.03%（雄）、12.43%（雌）、糞 42.63%（雄）、45.43%（雌）であった。

ラットにおける[^{14}C]SCC244 の主なクリアランス経路は、1）加水分解後脱メチル化、mono-oxidation 又はグルクロン酸抱合、2）脱メチル化及びグルクロン酸抱合、又はさらなる脱メチル化であり、主に肝臓及び腎臓を介して糞及び尿から排泄される。グルクロン酸抱合した脱メチル化体は糞中で脱メチル化体に戻ることがある。また、糞中の未変化体は、未吸収画分に由来する場合もある。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

2.4.3.6.1 CYP450 酵素の阻害

SCC244 は 0.10～100 μM の範囲で CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、3A4 を可逆的に阻害せず、0.10～50 μM の範囲で CYP1A2、2B6、2C8、2D6、3A4/5 に時間依存的な阻害を示さなかった。

2.4.3.6.2 CYP450 酵素の誘導

SCC244 は CYP1A2、2B6、3A4 の mRNA レベルの誘導、CYP1A2 及び 3A4 酵素活性の誘導は認められず、CYP2B6 に関しては、RMH ロットの初代培養肝細胞において、10 μM 曝露でのみ、酵素活性の誘導が陽性対照の 20%超（陽性対照の 21.7%に相当）であることが確認された。臨床推奨投与量（300 mg QD）における SCC244 の定常状態の血漿中 C_{max} は平均 2471 ng/mL、血漿蛋白結合率は約 97%、血漿中遊離 C_{max} は平均 0.161 μM であることから、CYP1A2、CYP2B6、CYP3A4 誘導による SCC244 との薬剤間相互作用（DDI）が臨床的に起こる可能性は低いことが示唆された。

2.4.3.6.3 取り込みトランスポーター評価

SCC244 は OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、MATE2-K の基質ではなかった。SCC244 による MATE1 及び MATE2-K の阻害の IC_{50} は、それぞれ 1.48 μM 及び 1.85 μM であった。臨床推奨投与量（300 mg QD）において SCC244 の定常状態における最高血漿中濃度 $C_{max,ss}$ は 3545 ng/mL であり、計算上の $C_{max,free}$ は 0.231 μM、$C_{max,free}/IC_{50}$ はそれぞれ 0.156 及び 0.125 であった。国家薬品監督管理局薬品審査センターの「薬物相互作用試験技術指針（試行）」（2021 年版）の基準によると、臨床濃度で SCC244 は MATE1 及び MATE2-K を阻害することが示唆されている。SCC244 の 5 つのトランスポーター（OCT2/OATP1B1/OATP1B3/OAT1/OAT3）

に対する IC_{50} が 10 μM 以上であることと、SCC244 の臨床曝露量を考慮すると、SCC244 臨床使用における上記トランスポーターの阻害に起因する薬物相互作用の可能性は低いと思われた。

2.4.3.6.4 排出トランスポーターの評価

SCC244 は P-gp 及び BCRP の基質ではなく、P-gp 及び BRCP に対する阻害作用を示した（IC_{50} はそれぞれ約 40 μM 及び約 10 μM であった）。SCC244 の消化管における溶解度が極めて低く、SCC244 300 mg 投与後の患者の小腸における Igut（Igut = inhibitor dose/250 mL）は約 0.131 μM で Igut/ IC_{50} <10、また、$I_{max,u}/IC_{50\,P\text{-}gp、BCRP}$<0.1 であった。上記より、臨床上、P-gp 及び BCRP の阻害による SCC の薬物間相互作用の可能性は低いことが示唆された。

2.4.4 毒性試験

SCC244 の非臨床安全性は、ラット及びイヌの単回及び反復経口投与毒性試験、*in vivo*（マウス）及び *in vitro* 遺伝毒性試験、妊娠ラットの胚・胎児発生試験、光毒性試験により検討した。SCC244 について実施した毒性試験とその GLP 準拠を表 3 に示す。

表 3 SCC244 の非臨床安全性試験結果

試験種類（GLP 対応）	投与経路	動物種／株	投与量	CTD 記載箇所
単回投与毒性試験				
単回投与-最大耐量（GLP）	経口	SD ラット	雌雄各 4 匹／群 媒体対照（0 mg/kg）、SCC244 100 mg/kg/日（50 mg/kg × 2）及び 300 mg/kg/日（150 mg/kg × 2）を経口投与	M4.2.3.1-1
単回投与-最大耐量（GLP）	経口	ビーグルイヌ	雌雄各 1 匹／群 媒体対照（0 mg/kg）、SCC244 50 mg/kg（25 mg/kg × 2）及び 100 mg/kg（50 mg/kg × 2）を、投与間隔 6 日間、24 時間に約 6 時間間隔で 2 回ずつ経口投与	M4.2.3.1-2
反復投与毒性試験				
28 日間の反復投与と 28 日間の回復期間（GLP）	経口	SD ラット	雌雄各 15 匹／群 TK サテライト群：雌雄各 3 匹／群（計 144 匹） SCC244（10、30、100 mg/kg）又は媒体対照（0 mg/kg）を 1 日 1 回、28 日間経口投与	M4.2.3.2-1
28 日間の反復投与と 28 日間の回復期間（GLP）	経口	ビーグルイヌ	雌雄各 5 匹／性別／群 SCC244 錠（5、20、60 mg/kg/日）又はブランク錠（0 mg/kg）を 1 日 1 回、28 日間経口投与	M4.2.3.2-2
26 週間反復投与と 6 週間の回復期間（GLP）	経口	SD ラット	雌雄各 20 匹／群 TK サテライト群：雌雄各 4 匹／群（計 192 匹） SCC244（10、30、100 mg/kg/日）又は媒体対照（0 mg/kg）を 1 日 1 回経口投与し、26 週間投与	M4.2.3.2-3
39 週間反復投与と 6 週間の回復期間（GLP）	経口	ビーグルイヌ	雌雄各 7 匹／群 SCC244 を錠剤（2、6、20/60* mg/kg/日）又はブランク錠（0 mg/kg）として 1 日 1 回、39 週間経口投与	M4.2.3.2-4
遺伝毒性試験				
復帰突然変異試験（Ames 試験）（GLP）	*in vitro*	サルモネラ（Salmonella typhimurium）	SCC244 50-2000 μg/plate 又は媒体対照	M4.2.3.3.1-1

試験種類（GLP 対応）	投与経路	動物種／株	投与量	CTD 記載箇所
染色体異常試験（GLP）	*in vitro*	チャイニーズハムスター肺細胞	S9 の非存在下で 4 時間作用：0, 25, 50, 100, 200 μg/mL S9 の非存在下で 24 時間作用：0, 12.5, 25, 50, 100 μg/mL S9 の存在下で 4 時間作用：0, 50, 100, 200, 300 μg/mL	M4.2.3.3.1-2
小核試験（GLP）	経口	ICR マウス	雄 6 匹/群 SCC244（50, 100, 200 mg/kg）又は媒体対照（0 mg/kg）を 1 日 1 回 2 日間経口投与し、陽性対照として 80 mg/kg のシクロホスファミドを単回経口投与	M4.2.3.3.2
胚・胎児発生毒性試験（GLP）	経口	SD ラット	妊娠ラット 23-24 匹/群 SCC244（1, 10, 100 mg/kg）又は媒体対照（0 mg/kg）を GD6 から 15 日まで 1 日 1 回経口投与	M4.2.3.5.2-1
妊娠ラットに経口投与したときの胚・胎児発生毒性のトキシコキネティックス試験（GLP）	経口	SD ラット	妊娠ラット 6 匹/群 SCC244（1、10、100 mg/kg）を GD6 から 15 日まで 1 日 1 回経口投与	M4.2.3.5.2-2
その他の毒性試験				
3T3 細胞 *in vitro* ニュートラルレッド取り込み光毒性試験（GLP）	*in vitro*	Balb/c 3T3 細胞	SCC244 （0.24, 0.51, 1.09, 2.34, 5.03, 10.82, 23.26, 50 μg/mL)、陰性対照（DMSO）及び陽性対照（CPZ）	M4.2.3.7

*：1～231 日目の投与量は 20 mg/kg/日、232～273 日目の投与量は 60 mg/kg/日

2.4.4.1 単回投与毒性試験

2.4.4.1.1 ラット単回投与毒性試験

単回投与毒性試験には SD ラットを使用した。SD ラット 24 匹（雌雄各 12 匹）を無作為に 3 群（雌雄各 4 匹／群）に分け、媒体又は SCC244 の各 100 あるいは 300 mg/kg/日を約 6 ± 0.5 時間間隔で 24 時間以内に 2 回経口投与した。その結果、100 mg/kg/日投与群のラットで良好な忍容性を示した。ラットの最大耐用量は 50 mg/kg を 1 日 2 回、すなわち合計 100 mg/kg/日と推定した。

2.4.4.1.2 イヌ単回投与毒性試験

ビーグルイヌ 2 匹（雌雄各 1 匹）に SCC244 を 50 mg/kg（25 mg/kg × 2）及び 100 mg/kg（50 mg/kg × 2）の用量で経口投与し、各用量を約 6 時間間隔で 24 時間以内に 2 回投与し、投与間に 6 日間のウォッシュアウト期間を設けた。両投与群で死亡例はなかった。イヌの最大耐量は 50 mg/kg を 1 日 2 回、すなわち合計 100 mg/kg/日と推定した。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

主な反復投与毒性試験を表 4 に示す。

表 4 ラット及びイヌの GLP 毒性試験で得られた主要な毒性学的及びトキシコキネティクス試験結果の要約

動物種	投与量 (mg/kg)	性別	初回投与			最終投与量			毒性学的所見	CTD 記載箇所
			Days	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng・h/mL)	Days	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng・h/mL)		
SD ラット	10	M	Day 1	3840	58640	Day 28	6320	79589	雄ラットにおける NOEL レベル	M4.2.3.2-1
		F	Day 1	6317	98017	Day 28	8983	115146	雌ラットの NOEL レベル	
	30	M	Day 1	8263	138831	Day 28	17200	234962	LYMP と NEUT を中心に WBC がやや増加	
		F	Day 1	11750	220267	Day 28	25967	338908		
	100	M	Day 1	18900	189038	Day 28	19200	213153		
		F	Day 1	19633	269985	Day 28	30433	338931		
	10	M	Day 1	4060	58900	Day 182	6730	83600	WBC がやや上昇、NEUT、LYMP、MONO のやや上昇を含む	M4.2.3.2-3
		F	Day 1	6220	92300	Day 182	9270	135000		
	30	M	Day 1	9530	153000	Day 182	20400	298000		
		F	Day 1	13500	206000	Day 182	26500	395000		
	100	M	Day 1	15000	155000	Day 182	13400	186000	HNSTD WBC（NEUT、LYMP、MONO）が軽微に上昇	
		F	Day 1	19800	211000	Day 182	26300	332000		
ビーグルイヌ	5	M	Day 1	345	3015	Day 28	531	3684	NOAEL	M4.2.3.2-2
		F	Day 1	360	2869	Day 28	385	2539		
	20	M	Day 1	1185	13895	Day 28	2876	23527	心拍数の増加と PR 間隔の短縮 WBC と NEUT がやや上昇、PLT と RDW がやや上昇	
		F	Day 1	1657	18203	Day 28	2423	20309	心拍数の加速と PR 間隔の短縮 WBC と NEUT がわずかに増加	
	60	M	Day 1	1822	26390	Day 28	2694	37509	心電図パラメータ（HR, PR, QTcV）の変化 胃腸反応、胸腺リンパ節萎縮 骨髄の顆粒球と巨核球が増加	
		F	Day 1	3822	51614	Day 28	4486	53343		
	2	M	Day 1	119	1160	Day 273	223	2300	異常なし	M4.2.3.2-4
		F	Day 1	105	1030	Day 273	168	1700		
	6	M	Day 1	376	3080	Day 273	646	6120	NOAEL	
		F	Day 1	208	2030	Day 273	577	4870		

（続き）

動物種	投与量(mg/kg)	性別	初回投与			最終投与量			毒性学的所見	CTD 記載箇所
			Days	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng・h/mL)	Days	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng・h/mL)		
ビーグルイヌ	20/60*	M	Day 1	677	7490	Day 273	4150	43600	HNSTD 胃腸症状 投与量調整後の体重と摂取量、体温の減少 心電図（HR 増加、PR 間隔短縮、雄 QTcV 延長） PLT、WBC、NEUT、LYMP がやや上昇 雌雄で ALB 及び A/G 比が減少し、トリグリセリド（TG）が増加	M4.2.3.2-4
		F	Day 1	472	4940	Day 273	2860	25000		

* 20 mg/kg/日で開始し、Day 232 に 60 mg/kg/日に変更し Day 273 まで投与した

2.4.4.2.1 ラット 28 日間反復経口投与毒性試験

SD ラットに SCC244（投与量 10, 30, 100 mg/kg/日）を 1 日 1 回 28 日間経口投与した。その結果、臨床観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液検査、血液凝固検査、血漿生化学検査、尿検査、剖検時肉眼観察、臓器重量、病理学的検査において、他に被験物質に起因する異常は認められなかった。SD ラットにおける SCC244 の最大耐用量は経口投与で 100 mg/kg/日以上であり、無影響量（NOEL）は 10 mg/kg/日であった。

2.4.4.2.2 イヌ 28 日間反復経口投与毒性試験

ビーグルイヌに SCC244（錠剤、投与量レベル 5, 20, 60 mg/kg/日）を 1 日 1 回 28 日間経口投与し、投与中止後 28 日目間の回復期間を設けた。NOAEL は 5 mg/kg/日、最大耐量は 60 mg/kg/日であった。主な毒性所見は心電図変化（20 及び 60 mg/kg で心拍数増加及び PR 間隔短縮、60 mg/kg で QTcV 延長）、胃腸反応、胸腺リンパ球萎縮、骨髄顆粒球、巨核球の増加であり、回復期間に回復した。

2.4.4.2.3 ラット 26 週間反復経口投与毒性試験

SD ラットに SCC244（投与量レベル 10, 30, 100 mg/kg/日）を 1 日 1 回 26 週間経口投与し、その後 6 週間の回復期間を設けた。薬剤に関連する死亡例は見られなかった。各投与量レベルで血液学的パラメータに軽微な変化が認められたが、投与中止後に回復した。重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は 100 mg/kg/日であり、この用量で 26 週間反復投与した時の SCC244 の AUC_{0-t} は雄 186000 ng･h/mL 及び雌 332000 ng･h/mL であった。

2.4.4.2.4 イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験

ビーグルイヌに SCC244 錠（投与量レベル 2, 6, 20/60 mg/kg/日）を 1 日 1 回 39 週間経口投与し、その後 6 週間の回復期間を設けた。20 mg/kg は Day 232 に 60 mg/kg に変更し Day 273 まで投与した。すべての投与群で忍容性が認められた。NOAEL は 6 mg/kg/日、HNSTD は 20/60 mg/kg/日（Day 273 の雄及び雌における平均 AUC_{0-t} はそれぞれ 43600 ng･h/mL 及び 25000 ng･h/mL）であっ

た。NOEL は ECG パラメータの変化（20/60 mg/kg 投与した際の心拍数増加、PR 間隔短縮、雄に QTcV の延長）、胃腸反応及び血液学的パラメータの変化が認められたが、回復期間に回復した。

2.4.4.3 生殖・発生毒性（EFT）

SD ラットに SCC244 を GD6～15 で経口投与した。その結果 10 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日群で胎盤重量及び胎児体重の減少、胎児の小型化、骨格成長遅延、奇形又は変異の発生率の増加がみられた。1 mg/kg/日投与群では胎児の外観、内臓、骨格に顕著な異常や変異は認められなかった。SCC244 は妊娠ラットと胚の発生に対する NOAEL は 100 mg/kg/日で、胎児の発達に対して 1 mg/kg/日と推定された。

トキシコキネティクス試験の結果、妊娠ラットの SCC244 曝露量は、1, 10, 100 mg/kg/日の SCC244 最終投与後に 11700、101000、188000 ng･h/mL（それぞれ臨床推奨投与量 300 mg/日の 0.3, 2.5, 4.7 倍）であった。代謝物 M199 の曝露量はそれぞれ 11.8、239、613 ng･h/mL であった。

2.4.4.4 遺伝毒性試験

2.4.4.4.1 細菌復帰突然変異試験（エームズ試験）

SCC244 は、50～2,000 μg/plate の曝露範囲において、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの試験菌株においてもコロニー復帰突然変異数の増加を誘導しなかった。SCC244 の細菌復帰突然変異検査は陰性であった。

2.4.4.4.2 CHL 染色体異常試験

チャイニーズハムスター肺由来細胞（CHL）を用いて SCC244 の染色体に対する変異原性を評価した。4 時間（-S9）条件では染色体の構造異常（ギャップを除く）は 25、100、200 μg/mL でそれぞれ 2.5%、4%、3.5%であり、24 時間（-S9）条件では 12.5、50、100 μg/mL でそれぞれ 2.5%、2%、3%であり、4 時間（+S9）条件では 100、200、300 μg/mL でそれぞれ 3.5%、4.5%、4.5%であった。本試験のすべての試験条件において、染色体構造異常（ギャップを除く）の発生率は 5%未満であった。SCC244 は、外因性代謝活性化系の有無にかかわらず CHL 細胞において染色体異常を誘発しなかった。

2.4.4.4.3 マウス骨髄小核試験

雄 ICR 系マウスにシクロホスファミド一水和物（CP）（80 mg/kg 単回投与）及び SCC244（50、100、200 mg/kg 1 日 1 回 2 日間反復）を経口投与した。その結果 200 mg/kg の投与で軽度又は中程度の活動性低下が認められたが、他の投与群では顕著な異常は認められなかった。媒体対照群の平均小核率は当試験施設における正常範囲内であった。陽性対照群では有意な小核の増加が認められた。以上より本試験は有効と考えられた。媒体対照群の全赤血球に対する多染性赤血球の割合（0.49）媒体と比較して、投与群に有意な変化は認められなかった。SCC244 は雄マウスの骨髄において多染性赤血球小核の増加を誘発する作用はなかった。

2.4.4.5 光毒性

In vitro Balb/c 3T3 細胞ニュートラルレッド取り込み光毒性試験を行った。SCC244 の最終最高濃度は UVA の存在下（+UVA）及び UVA の非存在下（-UVA）において 50 μg/mL（析出濃度）とし、SCC244 溶液は $\sqrt[3]{10}$（=2.15）倍数で希釈して使用した。光量が 5.0 J/cm^2 に達するまで、約 1.7 mw/cm^2 の光量で UVA を照射した後、プレートを室温で遮光して同じ時間だけ放置した。照射終了後、新鮮な培養液に交換して培養を継続した。培養終了の約 3 時間前に、ニュートラルレッドを含む無血清培養液に変更した。培養終了後、ニュートラルレッド溶出液を加え、振とう後、各ウェルの吸光度（OD540）を 540 nm で測定した。光毒性係数（PIF）や平均光作用（MPE）の算出には、Phototox ソフトウェアを用いた。本試験において、SCC244 は光照射、非光照射とも

に 50 μg/mL（析出濃度）までの濃度で細胞毒性を示さなかった。したがって、SCC244 の IC_{50} (-UVA) 及び IC_{50} (+UVA) は得られなかった。SCC244 の平均光効果（MPE）は 0.020 であり、0.1 未満であったことから光毒性がないことの基準を満たした。SCC244 は非光毒性であると考えられた。

2.4.4.6 総合評価と結論

SCC244 の薬力学的特性及び作用機序は、主に分子酵素活性化系、MET 依存性腫瘍細胞及び器官細胞アッセイ、MET 変異腫瘍細胞株由来及び患者由来異種移植腫瘍モデルを用いて系統的に解明された。SCC244 は経口で MET キナーゼ活性を有意に阻害する（IC_{50}：0.5 ± 0.1 nM）、ATP 競合型の阻害剤であり、他の 310 種のキナーゼに対して 2000 倍を超える選択性を、その他 10 種のキナーゼに対しては 200 倍を超える選択性を有している。SCC244 の主要代謝物である M199 は MET キナーゼ活性を有意に阻害しなかった。細胞レベルでは、SCC244 は濃度依存的に MET のリン酸化及びその下流の AKT と ERK1/2 のリン酸化を阻害し、MET 変異体（*MET* 遺伝子エクソン 14 スキップ変異、MET 増幅、MET 融合など）を含む細胞株では IC_{50} は 10 nM 未満で有意な増殖抑制を示し、MET の発現または活性化が低い、あるいは全くない細胞株では有意な増殖抑制は認められなかった。また SCC244 は、肝細胞増殖因子により誘導される腫瘍細胞の増殖、遊走、浸潤、血管内皮細胞の増殖を効果的に抑制した。SCC244 は、*in vivo* では、MET シグナルや腫瘍血管新生作用を阻害することにより、腫瘍の発生を多面的に拮抗する。MET 変異（例えば *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異、MET 増幅、HGF/MET オートクライン活性化、MET 過剰発現）を有する肺癌、胃癌、肝細胞癌、神経膠腫などのヒト腫瘍細胞株由来の異種移植（CDX）モデルとヒト患者由来腫瘍移植（PDX）モデルにおいて、SCC244 2.5-10 mg/kg は強力な用量依存的な抗腫瘍活性を示した。そのうち、SCC244 10 mg/kg は *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異と MET 増幅を有する非小細胞肺癌（NSCLC）PDX モデル LU2503 において一部又は完全な腫瘍退縮を誘導した。SCC244 10 mg/kg の *in vivo* での腫瘍抑制能は、クリゾチニブ 50 mg/kg と同等であり、カプマチニブ 15 mg/kg より優れているか同等であった。*In vivo* 薬物動態/薬力学試験において、SCC244 はマウスの血漿中濃度 138.5 ng/mL で腫瘍内の MET リン酸化を最大 90%抑制する（IC_{90}）ことを確認した。SCC244 は臨床推奨用量（300 mg QD）において、24 時間、腫瘍の MET リン酸化を 90%以上阻害した。さらに SCC244 と EGFR 阻害剤オシメルチニブの併用は、肺癌 PDX モデルにおいて、MET 増幅によって引き起こされるオシメルチニブへの耐性を克服することができた。これらの結果は SCC244 が *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異、*MET* 遺伝子増幅、MET 過剰発現などの異常な MET 活性化によって引き起こされる様々な腫瘍の治療に使用でき、オシメルチニブと組み合わせることによって MET 増幅によって引き起こされる EGFR 阻害剤に対する耐性を克服できることを示唆している。SCC244 は I 型 MET TKI である（Ma Y et al. 2015）。I 型 MET TKI は、MET の U 字型 ATP 結合ポケット内のヒンジ残基 M1160 と相互作用し、π-π スタッキング相互作用（To KK-W et al. 2023）を介して Tyr1230 とも相互作用する D1228 と K1110 の間の塩橋によって安定化される。D1228 残基（上記の塩橋相互作用の消失）及び Y1230 残基（π-π 相互作用の消失）における後天性 MET キナーゼドメイン変異は、薬剤と MET キナーゼドメイン間の化学結合を弱めることにより、I 型 MET TKI に対する耐性に頻繁に関与することが知られている（Bahcall M et al. 2016, Heist RS et al. 2016）。SCC244 の治療後に、このような後天性耐性のメカニズムが生じることが予想される。

安全性薬理試験において、ラットの中枢神経系への有意な影響はなく、NOEL は 100 mg/kg であった。ビーグルイヌに SCC244 を 32 mg/kg までの用量で覚醒下単回経口投与したところ、ビーグルイヌの血圧、心拍、心電図、呼吸数、呼吸振幅に大きな影響はなく、どの動物にも不整脈の兆候は観察されなかった。SCC244 の hERG に対する IC_{50} は 3.30 μM であり、臨床有効用量（300 mg QD）における定常状態の遊離型 C_{max}（0.231 μM）の約 14 倍であった。

薬物動態試験において、ラット及びイヌに SCC244 を静脈内投与したところ、中程度から低い血漿クリアランス及び中程度から高い定常状態での分布容積を示した。SCC244 は単回経口投与後、$t_{1/2}$ が長く、用量増加に伴う AUC_{0-t} の増加を示し、反復経口投与後も生体内に有意な蓄積は

ないことが確認された。ビーグルイヌにおいて SCC244 を非絶食下で経口投与したとき、絶食下で経口投与したときと比較して、T_{max} が約 1.3 時間遅れ、C_{max} が 1.64 倍、血中薬物濃度-時間曲線下面積（AUC）が 2.19 倍となった。SCC244 の経口バイオアベイラビリティは、ラット（絶食）及びイヌ（摂食）で高い値を示した。SCC244 のラット、イヌ及びヒトの血漿蛋白結合率は 90%以上であった。SCC244 は、ラットでは眼、内分泌系、外分泌系、脂肪、皮膚、リンパ系、生殖系、呼吸器系、消化器系、代謝・排泄系に広く分布し、中枢神経系や骨への分布も少ないが、脳へは血漿中濃度の約 10%が移行した。また、ブドウ膜や有色皮膚に有意に分布していることから、SCC244 はメラニンに結合する可能性が示唆された。SCC244 は、肝ミクロソーム、肝 S9、腸 S9（PMSF 添加及び無添加）、腸内細菌叢などの *in vitro* 培養系で安定であった。ラットに経口投与したところ、血漿中では未変化体（全体の 70%以上）及び加水分解物である M5（M199、全体の 20%以上）が主な検出物質となった。SCC244 の生体内での主な代謝経路は、1）加水分解、2）脱メチル化及びグルクロン酸抱合、又はさらなる脱メチル化である。主なクリアランス経路は、1）再脱メチル化、mono-oxidation、グルクロン酸抱合を伴う加水分解、2）グルクロン酸抱合を伴う脱メチル化、あるいはさらなる脱メチル化である。SD ラットは単回経口投与後、主に糞から排泄され、全体の 79.59%（雄）及び 94.73%（雌）を占め、尿中への排泄は全体の 15.88%（雄）及び 5.13%（雌）を占めた。BDC ラットの[^{14}C]SCC244 単回経口投与後の総胆汁排泄量は、35.15%（雄）及び 42.09%（雌）を占めた。

薬物相互作用に関して、SCC244 は CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 に対して阻害作用を示さなかった。ヒト初代培養肝細胞において SCC244 による CYP1A2 及び CYP3A4 mRNA の誘導は認められず、主要な CYP450 酵素の阻害又は誘導による臨床的な薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。SCC244 は、異なる肝ミクロソーム動物種で中程度から低度のクリアランスを示し、共通代謝物は主に N-脱メチル代謝物であった。SCC244 代謝物の生成は主に CYP3A、CYP2C8、CYP2C9 が関与し、うち CYP3A が SCC244 の代謝に最も関与するが代謝寄与度は 5%未満であった。アルデヒド酸化酵素は SCC244 の代謝には関与しないことが示された。また、SCC244 はヒト肝 S9、腸 S9（PMSF 添加又は無添加）及び腸内細菌叢において NADPH の有無にかかわらず M199 を生産し、SCC244 は体内の様々な器官及び組織（腸管腔、小腸、肝臓等）で代謝物 M199 を生産することが推察された。SCC244 の代謝消失過程における特定の代謝酵素（例えば CYP3A）の寄与は限定的であるため（SCC244 排泄の 25%未満）、SCC244 と併用される可能性がある CYP3A 阻害又は誘導作用を有する薬剤は臨床使用において、SCC244 の曝露に影響を与えないと考えられる。SCC244 は OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、MATE2-K の基質ではなかった。SCC244 による MATE1 及び MATE2-K の IC_{50} は、それぞれ 1.48 μM 及び 1.85 μM であり、臨床推奨用量（300 mg QD）において SCC244 の定常状態における最高血中濃度（$C_{max\ ss}$）は約 3545 ng/mL、$I_{max,u}$ は 0.231 μM、$I_{max,u}/IC_{50}$ はそれぞれ 0.156 及び 0.125 であった。国家薬品監督管理局薬品審査センターの「薬物相互作用試験技術指針（試行）」（2021 年版）の基準によると、臨床的に有効な濃度の SCC244 は MATE1 及び MATE2-K を阻害することが示唆されている。SCC244 の 5 つのトランスポーター（OCT2/OATP1B1/OATP1B3/OAT1/OAT3）の IC_{50} が 10 μM 以上であることと、SCC244 の臨床曝露量を考慮すると、SCC244 による上記トランスポーターの阻害による薬物相互作用の臨床的可能性は低いと思われる。SCC244 は P-gp 及び BCRP の基質ではなく、P-gp 及び BRCP を中程度阻害した（IC_{50} P-gp：約 40 μM、IC_{50} BCRP：約 10 μM）。SCC244 の消化管における溶解度が極めて低く、SCC244 300 mg 投与後の患者の小腸における Igut（Igut = inhibitor dose/250 mL）は約 0.131 μM で、臨床的に Igut/ IC_{50} < 10 であることから、SCC244 が腸管の P-gp 及び BCRP を阻害することによる薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられる。

単回投与毒性試験において SD ラット及びビーグルイヌにおける SCC244 の最大耐用量は 100 mg/kg であった。ラットの反復投与毒性試験（4 週及び 26 週）において、毒性反応は白血球のわずかな増加（NEUT、LYMP、MONO の上昇を含む）にとどまり、投与中止後に回復した。ラットの 4 週間反復投与における最大耐量は 100 mg/kg/日以上、NOEL は 10 mg/kg、26 週間反復投与における重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は 100 mg/kg/日であり、26 週間連続投与

後の曝露量は雄で 332000 ng･h/mL、雌で 186000 ng･h/mL であった。これは、臨床投与量として推奨される 300 mg（40088 ng･h/mL）での曝露量はそれぞれ約 8 倍、5 倍である。ビーグルイヌを用いた反復投与毒性試験（4 週及び 39 週）において、主な毒性は心電図パラメータの変化、胃腸反応、血液パラメータの変化、胸腺リンパ球の萎縮、骨髄顆粒球及び巨核球の増加であり、投与中止後に回復した。ビーグルイヌでは 4 週間の反復投与で 5 mg/kg が NOAEL、最大耐量は 60 mg/kg、39 週間の連続投与で 6 mg/kg が NOAEL であった。HNSTD は 20/60* mg/kg/日であり、Day 273 の雄及び雌における平均 $AUC_{0\text{-}t}$ はそれぞれ 43600 ng･h/mL 及び 25000 ng･h/mL であったことから、推奨臨床投与量としている 300 mg（40088 ng･h/mL）での曝露量の約 1.1 倍及び 0.6 倍であった。いずれの動物種においても、反復投与後に顕著な薬物蓄積は認められなかった。胚・胎児発生毒性（EFT）の結果、NOAEL は妊娠ラットと胚の発達について 100 mg/kg、胎児の発達について 1 mg/kg であった。毒性動態学試験の結果、SCC244 の妊娠ラットにおける本投与量での曝露量は、提案されている臨床投与量（300 mg/日）における曝露量の 0.3 倍であった。また、SCC244 は遺伝毒性を示さず、*in vitro* 光毒性試験の結果は陰性であった。
* 20 mg/kg/日で開始し、Day 232 に 60 mg/kg/日に変更し Day 273 まで投与した

臨床マスバランス試験において、ヒトにおける SCC244 の主要な循環代謝物である M199 の血漿中曝露量は 10%を超えることが示されている。SCC244 毒性試験用量（30 mg/kg）において、ラットにおける M199 の血漿中曝露量は臨床マスバランス試験における M199 の血漿中曝露量の 50%を超えており、ICH M3（R2）に基づく M199 の非臨床安全性評価は必要ないことが示唆された。

以上、SCC244 に係る包括的な薬理学的、薬物動態学的、毒性学的研究を実施した。臨床試験の結果や類似薬の文献情報等とともに、本剤の有効性及び安全性を評価する資料であると考えられる。

参考文献

Ai J, Chen Y, Peng X, et al. Preclinical evaluation of SCC244 (Glumetinib), a novel, potent and highly selective inhibitor of c-Met in MET-dependent cancer models. Mol Cancer Ther, 2018, 17(4): 751–762.

Bahcall M, Sim T, Paweletz CP, et al. Acquired MET D1228V mutation and resistance to MET inhibition in lung cancer. Cancer discovery. 2016; 6(12):1334-1341.

Heist RS, Sequist LV, Borger D, et al. Acquired resistance to crizotinib in NSCLC with MET exon 14 skipping. Journal of Thoracic Oncology. 2016; 11(8):1242-1245.

Ma Y, Sun G, Chen D, et al. Design and optimization of a series of 1-sulfonylpyrazolo [4, 3-b] pyridines as selective c-Met inhibitors. Journal of medicinal chemistry. 2015; 58(5):2513-2529.

To KK-W, Leung K-S, Cho WC-S. MET-Targeting Anticancer Drugs—De Novo Design and Identification by Drug Repurposing. Drugs and Drug Candidates. 2023; 2(3):591-623.

国家薬品監督管理局薬品審査センター 薬物相互作用試験技術指針（試行）2021.

上の文献等の写しは、M4.3 に添付した。