# 2.6.1 緒言

## 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） |
|---|---|---|
| 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 |
| BCRP | Breast cancer resistance protein | 乳癌耐性タンパク質 |
| CYP | Cytochrome P450 | チトクロム P450 |
| 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 cells | ヒト胎児由来腎細胞 |
| 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 |
| $IC_{50}$ | 50% inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| MATE | Multidrug and toxic compound extrusion | 多剤・毒性化合物排出トランスポーター |
| MET | Mesenchymal-Epithelial Transition Factor | 間葉上皮転換因子 |
| NEUT | Neutrophil | 好中球 |
| NOAEL | No observable adverse effect level | 無毒性量 |
| NSCLC | Non・small cell lung cancer | 非小細胞肺癌 |
| OAT | Organic anion transporter | 有機アニオントランスポーター |
| OATP | Organic anion transporting polypeptide | 有機アニオントランスポーターポリペプチド |
| OCT | Organic cation transporter | 有機カチオントランスポーター |
| P-gp | P-glycoprotein | P 糖蛋白 |
| PK | Pharmacokinetic | 薬物動態 |

間葉上皮転換因子（*MET*）遺伝子のエクソン 14 は、MET のユビキチン化（MET のタンパク質分解）に関わる重要な部位がコードされており（Cortot AB et al. 2017）、エクソン 14 のスキッピング変異（*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異）が生じると MET のタンパク質分解が阻害されること等により、MET の変異タンパクが細胞内に蓄積し、下流のシグナル伝達経路がリガンド非依存的に活性化され、細胞増殖の亢進等が引き起こされると考えられる（Cortot AB et al. 2017）。また、下記の点等を考慮すると、*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異は、腫瘍細胞の増殖活性の本質をなすもの（oncogene driver）であることが示唆されている。*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異は、MET を介したシグナル伝達経路を亢進させることに加え、当該変異と癌抑制遺伝子である p53 遺伝子の欠損によって肺腺癌を生じること等から、腫瘍細胞の生存・増殖に大きく寄与すると考えられている（Lu X et al. 2017）。

SCC244（一般名：Gumarontinib）、6-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル) -1-((6-(1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル）イミダゾ[1,2-a]ピリジン-3-イル)スルホニル)-1H-ピラゾロ[4,3-b]ピラジン 一水和物（分子式＝$C_{21}H_{17}N_9O_2S \cdot H_2O$、分子量＝477.50 g/mol）は、[redacted]（[redacted]）と Haihe Biopharma Co., Ltd.（上海海和薬物研究開発股份有限公司）が共同開発した高度に選択的な MET の阻害剤である。非臨床試験において、SCC244 は MET キナーゼ活性を特異的に阻害し、*in vitro* 及び *in vivo* において顕著な抗腫瘍活性を示すことが示されている。（図 1）。

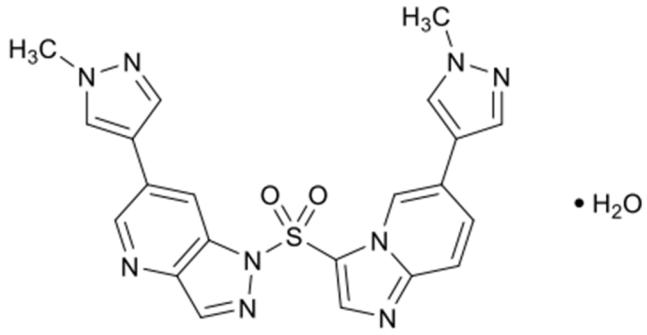


**図 1 SCC244 の構造式**

SCC244 は経口投与可能なアデノシン三リン酸（ATP）競合型の強力かつ選択的な 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し（50%阻害濃度（$IC_{50}$）：0.5±0.1 nM）、他のキナーゼ 310 種類に対して 2000 倍を超える選択性、他の 10 種類に対して 200 倍を超える選択性を有している。ヒトにおける SCC244 の主な循環代謝物である M199 の $IC_{50}$ は 10 µM より大きく、MET キナーゼ活性を有意に阻害することはなかった。SCC244 は、*in vitro* 及び *in vivo* において、MET のリン酸化及びその下流のプロテインキナーゼ B（AKT）と細胞外シグナル制御キナーゼ（ERK）1/2 のリン酸化を有意に阻害し、MET 変異体（*MET* 遺伝子エクソン 14 スキップ変異、MET 増幅、*MET* 遺伝子再配列、肝細胞増殖因子（HGF）/MET オートクライン活性化など）を有する様々な腫瘍モデルで強力な抗腫瘍活性を示した。特に *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患者由来異種移植片 LU2503 では、腫瘍の一部又は完全な退縮が認められ、*MET* 遺伝子増幅を介したオシメルチニブ耐性を克服することができた。さらに 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。。SCC244 は MET キナーゼを強力かつ高い選択性で阻害することにより、マルチターゲット阻害剤に時として見られるオフターゲットに起因する毒性の発現を避けることができると考えられる。

安全性薬理試験において、SCC244 はラットでは中枢神経系に影響は見られず、ビーグルイヌでは血圧、心拍数、心電図、呼吸数、呼吸振幅に影響は見られず、いずれの動物種でも不整脈の兆候は認められなかった。SCC244 はヒト胎児由来腎細胞（HEK）293 細胞のヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）のカリウム電流を $IC_{50}$ 3.30 μM で阻害した。

非臨床薬物動態試験により、SCC244 の薬物動態（PK）プロファイルは良好であることが確認された。ラット及びイヌに SCC244 を静脈内投与したところ、血漿クリアランスは低～中程度であり、定常状態における分布容積は中～高程度であった。ラット及びイヌに SCC244 を単回経口投与した後、SCC244 は緩やかに吸収され、用量増加に伴って曝露量は増加し、経口バイオアベイラビリティは高く、反復経口投与後も生体内に蓄積することはなかった。SCC244 の吸収は食事の影響を受け、*in vivo* で曝露量を増加させた（血中薬物濃度-時間曲線下面積（AUC）が 2 倍以上増加）。ラットに[$^{14}$C]SCC244 を経口投与した後、総放射能は眼、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、総放射能の約 10%が脳内に移行した。SCC244 は肝ミクロソーム中で非常に安定であり、SCC244 の主要な代謝酵素はチトクロム P450（CYP）3A4 であるが、その代謝寄与率は 5%未満で、アルデヒド酸化酵素は SCC244 の代謝に関与しなかった。ラットにおける SCC244 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。SCC244 をラットに経口投与した場合、主に未変化体及び代謝物として糞中に排泄され、完全に回収される。非臨床試験におけるマスバランス試験での、血漿中の主要代謝物は M5（すなわち未変化体の加水分解物である M199）で、SCC244 の曝露量全体の 10%以上を占め、後述する臨床マスバランス試験の結果と一致していた。SCC244 は、様々な CYP 酵素に対して阻害作用及び誘導作用を示さなかった。SCC244 は膜透過性が高く、排出トランスポーター（P 糖蛋白（P-gp）と乳癌耐性タンパク質（BCRP））の基質ではない。SCC244 は有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3、有機カチオントランスポーター2、有機アニオントランスポーターポリペプチド（OATP）1B1、OATP1B3、多剤・毒性化合物排出トランスポータータンパク質（MATE）1、MATE2-K の基質ではない。SCC244 の OCT2、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3 に対する $IC_{50}$ は 10 μM 超であり、SCC244 の臨床曝露量を考慮すると臨床上、上記のトランスポーター阻害による薬物間相互作用の可能性は低いと考えられた。SCC244 は、P-gp、BCRP、MATE1 及び MATE2-K を阻害し、$IC_{50}$ 値は 1.48～40 μM の範囲であった。SCC244 の臨床曝露量を考慮すると、臨床で P-gp、 BCRP、OAT3 の阻害による薬物間相互作用が起こる可能性は低いが、SCC244 は臨床濃度では MATE1 と MATE2-K を阻害することが示唆された。

SCC244 の非臨床安全性は、単回及び反復投与（28 日、26 週及び 39 週）の主要な一般毒性試

験、遺伝毒性試験（細菌復帰突然変異試験、染色体異常試験、小核試験）、胚・胎児発生毒性試験及び光毒性試験において、GLP 規制に準拠して評価された。SCC244 の最大耐量は、SD ラット及びビーグルイヌにおける単回経口投与毒性試験で 100 mg/kg/日であった。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（好中球（NEUT）、リンパ球（LYMP）及び単球（MONO）の上昇を含む）にとどまり、回復期間終了時に回復した。ラットにおける 4 週間の反復投与の最大耐量は 100 mg/kg を超え、無毒性量（NOAEL）は 10 mg/kg であった。26 週目での反復投与の重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は 100 mg/kg であった。ビーグルイヌ反復投与試験（4 週及び 39 週）における主な毒性は、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、胸腺リンパ球萎縮、骨髄顆粒球減少及び巨核球減少であり、回復期間で回復した。ビーグルにおいて、4 週間の反復投与で無毒性量（NOAEL）は 5 mg/kg、最大耐量は 60 mg/kg であり、39 週間の連続投与で NOAEL は 6 mg/kg、HNSTD は 20/60 mg/kg（注、Day 1～Day 231：20 mg/kg、Day 232～Day 273：60 mg/kg）であった。生殖・発生毒性試験（EFD）の結果、SCC244 の NOAEL は、妊娠ラット及び胚の発生に対して 100 mg/kg/日、胎児の発生に対して 1 mg/kg/日であった。SCC244 は標準的な組み合わせ試験で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。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た。SCC244 の毒性試験用量（30 mg/kg）において、ラットにおける M199 の血漿中曝露量はヒトの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。

以上のとおり、SCC244 は、ATP 競合型、強力かつ高い選択性を有する MET 受容体チロシンキナーゼ阻害剤で、*in vitro* 及び *in vivo* において MET 変異体（*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異を含む）を有する腫瘍モデルに対して有意な腫瘍抑制効果を示し、薬物動態及び代謝プロファイルが良好で、薬物間相互作用のリスクが低く、ラット及びイヌにおいて良好な安全性プロファイルが示され、遺伝毒性や光毒性は見られなかった。非臨床及び臨床試験の結果から、SCC244 を、*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異を有する局所進行性又は転移性の非小細胞肺癌（NSCLC）の治療薬として製造販売承認申請を行うことを判断した。

## 参考文献

Cortot AB, Kherrouche Z, Descarpentries C, Wislez M, Baldacci S, Furlan A, Tulasne D. Exon 14 deleted MET receptor as a new biomarker and target in cancers. JNCI: Journal of the National Cancer Institute. 2017 May 1;109(5).

Lu X, Peled N, Greer J, Wu W, Choi P, Berger AH, Wong S, Jen KY, Seo Y, Hann B, Brooks A. MET exon 14 mutation encodes an actionable therapeutic target in lung adenocarcinoma. Cancer research. 2017 Aug 15;77(16):4498–505.

上の文献等の写しは、M4.3 に添付した。

# 2.6.2 薬理試験の概要文

## 目次

目次 ..... 1
表目次 ..... 3
図目次 ..... 4
略語/略号一覧 ..... 5
2.6.2 薬理試験の概要文 ..... 7
2.6.2.1 まとめ ..... 7
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 ..... 14
2.6.2.2.1 In vitro 試験 ..... 14
2.6.2.2.1.1 SCC244 の MET に対する選択性と標的性 ..... 14
2.6.2.2.1.2 SCC244 は ATP 競合型の MET 阻害剤である ..... 14
2.6.2.2.1.3 SCC244 の主な循環代謝物である M199 は、MET キナーゼに対して有意な阻害活性を示さず ..... 15
2.6.2.2.1.4 SCC244 は細胞における MET 経路の活性化を強力に抑制する ..... 16
2.6.2.2.1.5 SCC244 の *in vitro* 抗腫瘍効果試験 ..... 17
2.6.2.2.1.5.1 SCC244 は MET を介した細胞増殖を強力かつ選択的に阻害する ..... 17
2.6.2.2.1.5.2 SCC244 は細胞周期の G1/S 期停止による細胞増殖を抑制する ..... 18
2.6.2.2.1.5.3 SCC244 は MET を介した細胞の遊走と浸潤を強力に抑制する ..... 19
2.6.2.2.1.5.4 SCC244 は MET を介した浸潤性増殖を有意に抑制した ..... 20
2.6.2.2.1.5.5 SCC244 は MET を介した初代ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）の増殖を強力に抑制する ..... 21
2.6.2.2.2 SCC244 の in vivo での抗腫瘍効果 ..... 22
2.6.2.2.2.1 SCC244 によるヒト胃癌細胞株 MKN-45 のヌードマウスの皮下異種移植腫瘍の増殖抑制効果 ..... 22
2.6.2.2.2.2 SCC244 によるヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 のヌードマウスの皮下異種移植腫瘍の増殖抑制効果 ..... 25
2.6.2.2.2.3 SCC244 によるヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウスの皮下異種移植腫瘍の増殖抑制効果 ..... 28
2.6.2.2.2.4 SCC244 によるヒト神経膠腫細胞株 U87MG 皮下異種移植腫瘍のヌードマウスにおける増殖抑制効果 ..... 31
2.6.2.2.2.5 SCC244 は、Ki67 と IL-8 分泌を標的として、抗腫瘍効果を発揮する ..... 34
2.6.2.2.2.6 MET 異常のある患者由来非小細胞肺癌及び肝癌異種移植腫瘍モデルにおける SCC244 の阻害効果 ..... 36
2.6.2.2.3 SCC244 in vivo PK-PD 効果試験 ..... 37
2.6.2.3 副次的薬理試験 ..... 39
2.6.2.4 安全性薬理試験 ..... 39
2.6.2.4.1 中枢神経系評価（modified Irwin's assay) ..... 39
2.6.2.4.2 HEK293 細胞を用いたヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネルの心血管系評価 ..... 40
2.6.2.4.3 心血管・呼吸器系評価 ..... 40
2.6.2.5 その他の安全性薬理試験 ..... 41
2.6.2.6 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 41

2.6.2.6.1 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療法の薬理作用について ..... 41
2.6.2.7 考察及び結論 ..... 42

# 表目次

表 1 SCC244 の非臨床薬理試験一覧 ..... 8
表 2 各受容体チロシンキナーゼの酵素活性に対する SCC244 の効果 ..... 14
表 3 SCC244 による異なる ATP 濃度での MET キナーゼ活性阻害の $IC_{50}$ ..... 15
表 4 各種細胞株における MET 阻害剤の細胞増殖抑制効果に関する $IC_{50}$ ..... 17
表 5 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 I ..... 23
表 6 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 II ..... 23
表 7 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 I ..... 26
表 8 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 II ..... 26
表 9 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 I ..... 29
表 10 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 II ..... 29
表 11 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 I ..... 32
表 12 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 II ..... 32
表 13 MET 異常のある患者由来異種移植腫瘍モデルにおける SCC244 の抗腫瘍活性 ..... 37
表 14 腫瘍を有するマウスに SCC244 を経口投与したときの組織及び血漿中の薬物動態パラメータ ..... 38
表 15 肺癌 PDX モデルにおける SCC244 とオシメルチニブ併用時の抗腫瘍活性 ..... 42

# 図目次

図 1 SCC244 の ATP 競合阻害作用 ..... 15
図 2 MET 変異活性化細胞における SCC244 の MET 及びその関連シグナル経路への影響..... 16
図 3 SCC244 による腫瘍細胞株、正常細胞株、器官細胞株の増殖抑制効果 ..... 18
図 4 腫瘍細胞における SCC244 の細胞周期の G1/S 期停止の誘導..... 19
図 5 SCC244 による MET を介した NCI-H441 細胞の遊走・浸潤の阻害作用..... 19
図 6 SCC244 による MET 活性化を介した MDCK 細胞分散化の阻害..... 20
図 7 SCC244 の MET を介した腫瘍細胞の浸潤性増殖抑制作用..... 21
図 8 SCC244 による HUVEC 細胞の HGF 誘導増殖及び MET シグナル経路活性化抑制作用 ..... 22
図 9 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 I . 24
図 10 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 I ..... 24
図 11 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 II ..... 25
図 12 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 II..... 25
図 13 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 I..... 27
図 14 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 I..... 27
図 15 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 II ..... 27
図 16 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 II ..... 28
図 17 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 I..... 30
図 18 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 I..... 30
図 19 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 II ..... 31
図 20 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 II..... 31
図 21 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 I..... 33
図 22 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 I..... 33
図 23 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 II ..... 34
図 24 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 II ..... 34
図 25 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 及びヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 ヌードマウス異種移植腫瘍における SCC244 の細胞増殖マーカーKi67 への影響 ..... 35
図 26 EBC-1、SNU-5 及び U87MG 腫瘍マウスにおける SCC244 の血漿中 IL-8 の分泌抑制作用... 35
図 27 MET 異常のある患者由来異種移植腫瘍モデルにおける SCC244 の抗腫瘍活性..... 36
図 28 SCC244 の腫瘍組織における MET シグナル経路の活性化抑制作用..... 38
図 29 EGFR 変異と MET 増幅を有する肺癌の PDX モデルにおける SCC244 と EGFR 阻害剤オシメルチニブの併用による抗腫瘍効果 ..... 41

## 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） |
|---|---|---|
| AKT | Protein kinase B | プロテインキナーゼ B |
| 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 |
| CCK | Cell Counting Kit | セルカウンティングキット |
| CDX | Cell line-Derived Xenograft | ヒト腫瘍細胞株由来の異種移植 |
| $C_{max}$ | Maximum blood concentration | 最高血中濃度 |
| CNS | Central nervous system | 中枢神経系 |
| 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 |
| 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 |
| FDA | Food and Drug Administration | 米国食品医薬品局 |
| G1/S 期 | G1/S transition | 細胞周期の G1/S 期 |
| GLP | Good Laboratory Practice | 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 |
| hERG | Human Ether-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 |
| 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 |
| IL8 | Interleukin-8 | インターロイキン-8 |
| IND | Investigational New Drug Application | 新薬臨床試験開始申請 |
| Ki67 | Ki-67 protein (cellular marker for proliferation) | Ki-67 タンパク質（細胞増殖能マーカー） |
| 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 |
| MKN | Human gastric cancer cell line | ヒト胃癌由来細胞株 |
| MRT | Mean Residence Time | 平均滞留時間 |
| MTT | Methyl Thiazolyl Tetrazolium assay | MTT 法 |
| NIH-3T3 | NIH/3T3 (mouse fibroblast cell line) | マウス線維芽細胞 |
| NOEL | No observable effect level | 無影響量 |
| NSCLC | Non-small cell lung cancer | 非小細胞肺癌 |

| | | |
|---|---|---|
| PD | Pharmacodynamics | 薬力学 |
| PDX | Patient-derived xenografts | ヒト患者由来腫瘍移植 |
| PK | Pharmacokinetic | 薬物動態 |
| PO | Per Os | 経口 |
| QD | Once-daily | 1 日 1 回投与 |
| 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） |
| SEM | Standard Error of the Mean | 標準誤差 |
| SNU-5 | Human gastric cancer cell line | ヒト胃癌由来細胞株 |
| SOP | Standard operating procedure | 標準作業手順書 |
| SRB | Sulforhodamine B | スルフォホダミン B |
| $t_{1/2}$ | elimination half-life | 消失半減期 |
| 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 |
| 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 |
| TV | Tumor volume | 腫瘍体積 |
| U87MG | Human brain glioblastoma cell line | ヒト神経膠腫細胞株 |

## 2.6.2 薬理試験の概要文

### 2.6.2.1 まとめ

非臨床試験において、SCC244（一般名：Gumarontinib）は、経口投与可能なATP競合型の強力かつ高選択的な間葉-上皮転換因子（MET）受容体チロシンキナーゼ阻害剤であることが示されている。

SCC244はMETキナーゼ活性を有意に阻害し、平均$IC_{50}$は0.5±0.1 nM、他の310種のキナーゼに対して2000倍を超える選択性、他の10種のキナーゼに対して200倍を超える選択性を示した。SCC244の主要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のリン酸化とその下流のAKT及びERK1/2のリン酸化を有意に阻害し、*MET*遺伝子エクソン14スキッピング変異、MET増幅、MET融合等のMET変異体を有する細胞株に対しても$IC_{50}$は10 nM未満の有意な増殖抑制効果を示した。一方、METの発現/活性化が低い、あるいは全くない細胞株では、SCC244は$IC_{50}$が1000 nM以上と弱い細胞増殖抑制作用を示した。このように、SCC244は強力かつ選択的なMET阻害剤である。またSCC244は肝細胞増殖因子（HGF、METのリガンド）により誘導される腫瘍細胞の増殖、遊走、浸潤及び血管内皮細胞の増殖を効果的に阻害した。

*In vivo*では、SCC244は、MET変異体（例：MET増幅、*MET*遺伝子エクソン14スキッピング変異、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、神経膠腫モデル等の様々な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）モデルに投与した結果、強力な抗腫瘍活性を示し、かつ動物の忍容性は良好であった。中でも、*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、SCC244は10 mg/kgで腫瘍の一部又は完全な退縮を誘導した。さらに、毎日の経口投与において、10 mg/kg SCC244の*in vivo*抗腫瘍活性は、15 mg/kgの用量のカプマチニブ及びクリゾチニブ（MET阻害作用を有するマルチキナーゼ阻害剤）より強力であった。さらなる研究により、SCC244はMETシグナル及び腫瘍の血管新生を阻害することにより、複数の方法で腫瘍の発生に拮抗することが示された。EGFR遺伝子変異及びMET増幅を有する肺癌PDXモデルにおいて、SCC244とEGFR阻害剤オシメルチニブの併用は、腫瘍の後退を有意に誘導し、併用投与群の抗腫瘍活性は単独投与群に比べ統計的に優位に改善された。*In vivo*の薬物動態/薬力学的試験では、SCC244の血漿中濃度138.5 ng/mLで腫瘍内のMETリン酸化を最大90%抑制することが示された（$IC_{90}$）。

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、及び呼吸器系への影響を評価した。SDラットにSCC244を100 mg/kgまでの用量範囲で単回経口投与したところ、中枢神経系に有意な影響は認められなかった。ビーグルイヌにSCC244を32 mg/kgまで単回投与したところ、呼吸数、呼吸振幅、血圧、心拍数、心電図に有意な影響は認められなかった。SCC244によるhERG電流阻害の$IC_{50}$は3.30 μMで、これは臨床用量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倍であった。SCC244で実施した効力を裏付ける試験、副次的薬理試験、安全性薬理試験及び薬力学的薬物相互作用試験の概要を表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** |
| -<br>(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（IC50: 0.5 ± 0.1 nM）。 |
| [redacted]-SCC244-20220817-EN<br>(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。 |
| -<br>(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。 |
| -<br>(M4.2.1.1-1)<br>SCC244-Hs746T<br>(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。 |
| -<br>(M4.2.1.1-1)<br>SCC244-Hs746T<br>(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。 |
| -<br>(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。 |
| -<br>(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。 |
| -<br>(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。 |
| -<br>(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** |
| -<br>(M4.2.1.1-1) | SCC244 によるヒト胃癌細胞株 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。<br>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。<br>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。<br>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。 |
| -<br>(M4.2.1.1-1) | SCC244 によるヒト胃癌由来細胞株 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。<br>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。<br>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。<br>試験動物数は、ブラ | 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 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | ンク対照群 12 匹、投与群各 6 匹とした。 | 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。 |
| -<br>(M4.2.1.1-1) | SCC244 によるヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 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。 |
| -<br>(M4.2.1.1-1) | SCC244 によるヒト神経膠腫細胞株 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。 |
| -<br>(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 | 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 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | 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 IL8 を分析した。 | 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）<br>(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。<br>化合物及び媒体を 1 日 1 回、18～21 日間経口投与した。<br>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。 |
| -<br>(M4.2.1.1-1) | ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株癌 EBC-1 ヌ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 | 雌 SCID マウス | SCC244 ブランク対照群、SCC244 試験群（2.5、5、10 mg/kg）を含み、1 群 18 匹、単回経口投与。<br>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。 | SCC244 2.5、5、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）。<br>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（CTD 記載箇所）** | **名称** | **試験方法** | **主な結果** | |
| -<br>(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 ステータス)** | **試験の種類** | **試験方法** | **主な結果** | |
| [redacted]167R<br>(M4.2.1.3-2)<br>(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 | 心血管系 | hERG を安定的 | SCC244 の $IC_{50}$ 値は 3.30μM で、hERG 電 | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| (M4.2.1.3-3)<br>(GLP) | | に発現させた HEK293 細胞 | 流に対する阻害効果を示した。 | |
| ■150D<br>(M4.2.1.3-1)<br>(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。 | |
| ■150D (M4.2.1.3-1)<br>(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<br>（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** |
| ■5232-■2001<br>(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 5 mg/kg とオシメルチニブの 30 mg/kg の併用で 7/8 の腫瘍の完全退縮が、SCC244 の 10 mg/kg とオシメルチニブの 30 mg/kg の併用で 8/8 の腫瘍の完全退縮が認められた。試験動物は上記治療に対して忍容性が確認された。 |

## 2.6.2.2 効力を裏付ける試験

### 2.6.2.2.1 In vitro 試験

#### 2.6.2.2.1.1 SCC244 の MET に対する選択性と標的性

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

SCC244 の MET 及びその他 322 種類のプロテインキナーゼに対する阻害作用と選択性は、それぞれ ELISA と 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によって測定された。その結果、SCC244 は MET キナーゼ活性に対して有意な阻害活性を示し（$IC_{50}$ = 0.5 ± 0.1 nM）、対照化合物のクリゾチニブ（$IC_{50}$ = 1.6 ± 0.3 nM）より優れていた（表 2）。SCC244 は 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 キナーゼ等残りの 322 種類のプロテインキナーゼを比較的弱く阻害し（表 2）、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%未満であった。このことから、SCC244 は MET ファミリーキナーゼに対して強力かつ選択的な阻害剤であることが示唆された。

**表 2 各受容体チロシンキナーゼの酵素活性に対する SCC244 の効果**

| キナーゼ | $IC_{50}$ (nM) | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | SCC244 (n=3 又は 2) | | | | クリゾチニブ (n=2) | | | カプマチニブ (n=2) | | |
| | 個別データ | | | 平均値 ±SD | 個別データ | | 平均値 ±SD | 個別データ | | 平均値 ±SD |
| c-Met[a] | 0.393 | 0.429 | 0.597 | 0.5±0.1 | 1.366 | 1.809 | 1.6±0.3 | 0.345 | 0.218 | 0.3±0.1 |
| RON | >1000 | >1000 | - | >1000 | 4.5 | 7.4 | 6.0±2.0 | >1000 | >1000 | >1000 |
| Axl | >1000 | >1000 | - | >1000 | 61.8 | 57.2 | 59.5±3.2 | >1000 | >1000 | >1000 |
| Tyro3 | >1000 | >1000 | - | >1000 | >100 | >100 | >100 | >1000 | >1000 | >1000 |
| Mer | >1000 | >1000 | - | >1000 | >100 | >100 | >100 | >1000 | >1000 | >1000 |

注：1 SCC244 によるリストアップされたキナーゼ活性の阻害の $IC_{50}$ は、2 つの独立した複製実験から得られたものであり（[a]：n=3）、結果は平均±標準偏差で示した。2.RON/Axl/Mer/Tyro3：ヒト型受容体チロシン蛋白質キナーゼ。

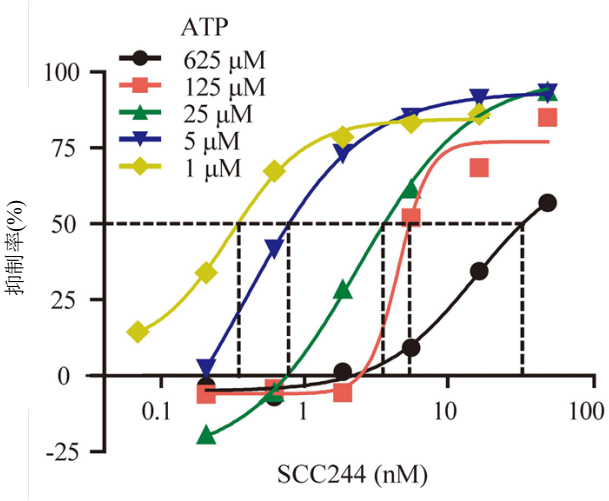
Source： Table 3-M4.2.1.1-1(平均値**±SD**)

#### 2.6.2.2.1.2 SCC244 は ATP 競合型の MET 阻害剤である

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

SCC244 が ATP と競合することによってキナーゼ阻害活性を発揮するかどうかを評価するために、SCC244 が異なる ATP 濃度で MET キナーゼ活性の阻害作用を ELISA 法で調べた。

図 1 に示す通り、SCC244 の MET キナーゼに対する阻害活性は、ATP の濃度増加に伴い有意に低下し、MET キナーゼ活性に対する $IC_{50}$ も上昇（表 3）し、SCC244 の MET キナーゼに対する阻害活性が ATP の高濃度で逆転することが示された。したがって、SCC244 は ATP 競合型の MET キナーゼ阻害剤である。




注：上記グラフは、SCC244 による MET キナーゼ活性の阻害曲線を、ATP 濃度を変えて示したものである。2 つの独立した試験では、同じ傾向の結果が得られた。

Source：Figure 1-M4.2.1.1-1.

図 1 SCC244 の ATP 競合阻害作用

表 3 SCC244 による異なる ATP 濃度での MET キナーゼ活性阻害の $IC_{50}$

| **ATP (μM)** | **$IC_{50}$ (nM) (N=2)** | | |
|---|---|---|---|
| | **個別データ** | | **平均値±SD** |
| 625 | 13.75 | 33.33 | 23.5±13.8 |
| 125 | 4.06 | 5.44 | 4.8±1.0 |
| 25 | 1.57 | 3.61 | 2.6±1.4 |
| 5 | 0.84 | 0.78 | 0.8±0.0 |
| 1 | 0.66 | 0.34 | 0.5±0.2 |

注：SCC244 による MET キナーゼが触媒するキナーゼ基質のリン酸化を異なる ATP 濃度で阻害する $IC_{50}$ は、2 回の独立した繰り返し実験によるもので、結果は平均±標準偏差で表される。

Source: Table 5-M4.2.1.1-1 (平均値±**SD**)

## 2.6.2.2.1.3 SCC244 の主な循環代謝物である M199 は、MET キナーゼに対して有意な阻害活性を示さず

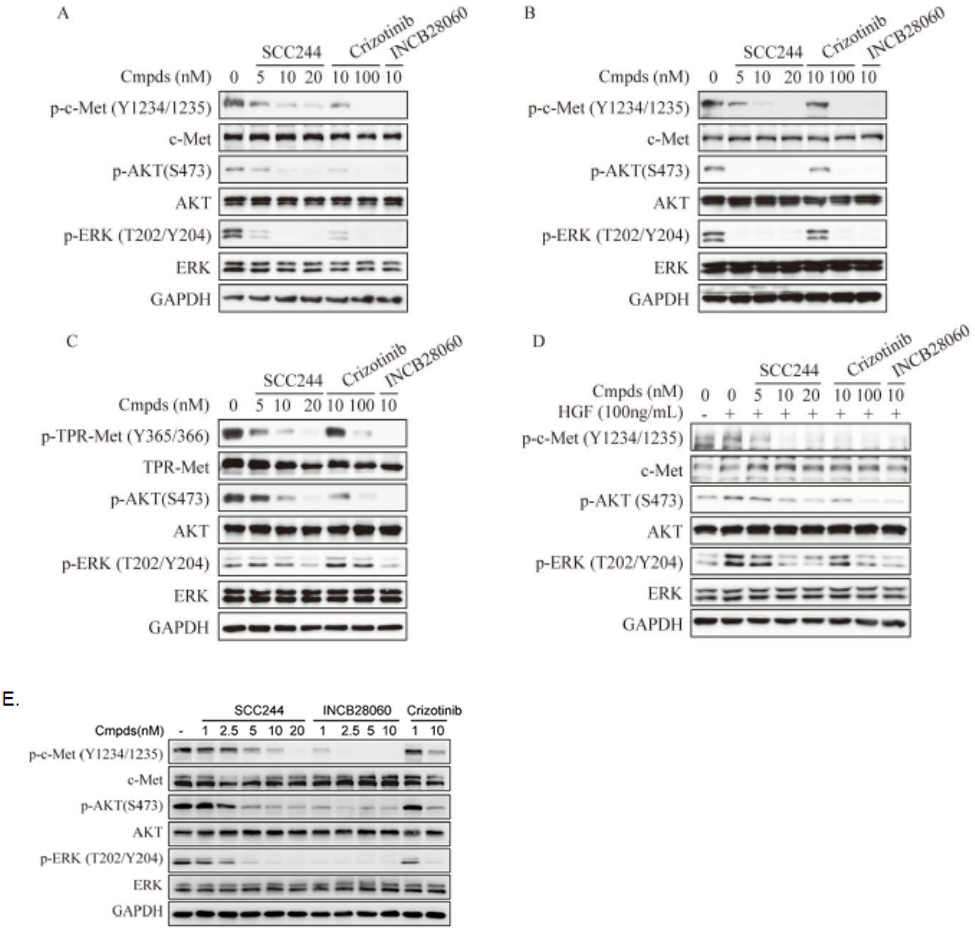
CTD 記載箇所 M4.2.1.1-3

SCC244 の主要な循環代謝物である M199 の MET に対する阻害効果を ELISA 法で測定した。その結果、M199 は試験した濃度では MET キナーゼの酵素活性に対して有意な阻害活性を示さず、$IC_{50}$ は 10 μM より大きかった。

### 2.6.2.2.1.4 SCC244 は細胞における MET 経路の活性化を強力に抑制する

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1, M4.2.1.1-2

SCC244 の MET に対する阻害効果を細胞レベルで調べるため、ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1（MET 増幅）、ヒト胃癌細胞株 MKN-45（MET 増幅）、ヒト神経膠腫細胞株 U87MG（HGF/MET オートクライン活性化）、器官細胞株 BaF3/TPR-Met（MET 遺伝子再配列）及び胃癌細胞株 Hs746T（MET 増幅を伴う *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異）を含む様々な MET を活性化した腫瘍細胞及び器官細胞株を用いた。その結果、MET の活性化が異常な細胞に SCC244 を添加すると、各細胞において MET 及びその下流の主要シグナル分子 ERK1/2、AKT のリン酸化レベルを濃度依存的に抑制し、20 nM の濃度で各細胞の MET 経路の活性化を基本的にブロックできることが明らかになった（図 2）。これらの結果から、SCC244 は、異なるメカニズムの MET 変異により活性化された細胞において、濃度依存的に MET シグナル伝達経路を阻害することが示唆された。




注：（A, B, C, E）EBC-1 (A), MKN-45 (B), BaF3/TPR-Met (C) 及び Hs746T (E) 細胞をプレート上に接種し、異なる濃度の化合物又はジメチルスルホキシド (DMSO) コントロールを添加して一晩培養した。ウエスタンブロットアッセイ用に細胞を回収した。(D) U87MG 細胞を無血清培地で 24 時間飢餓状態にした後、異なる薬剤で 1 時間処理し、最後に HGF100ng/mL を 15 分間添加して細胞を刺激した。ウエスタンブロットアッセイ用に細胞を回収した。

Source: Figure 2-M4.2.1.1-1, Figure 1-M4.2.1.1-2.

**図 2 MET 変異活性化細胞における SCC244 の MET 及びその関連シグナル経路への影響**

### 2.6.2.2.1.5 SCC244 の *in vitro* 抗腫瘍効果試験

#### 2.6.2.2.1.5.1 SCC244 は MET を介した細胞増殖を強力かつ選択的に阻害する

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1, M4.2.1.1-2

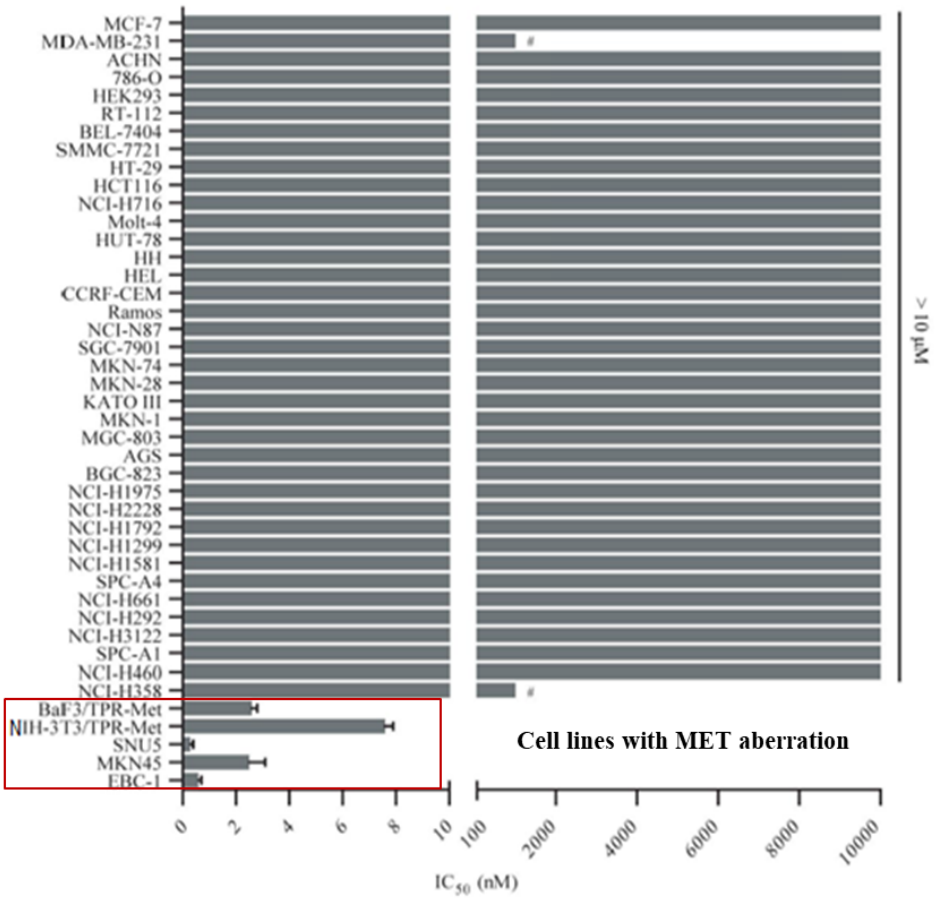
活性化機構が異なり、MET の発現量が異なるヒト由来の腫瘍細胞株、正常細胞株、器官細胞株を用いて、SCC244 及びその他の MET 阻害剤による細胞増殖阻害を検討した。その結果、SCC244 は MET 変異ヒト由来腫瘍細胞（EBC-1、MKN-45、SNU-5、Hs746T）及び器官細胞株（BaF3/TPR-Met、NIH-3T3/TPR-Met）の増殖を強力に阻害し、平均 $IC_{50}$ は 10 nM 以下であった（表 4）。SCC244 の細胞増殖抑制効果はカプマチニブと同等かやや弱いが、クリゾチニブより著明に良好であった。SCC244 は MET 増幅を伴う *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異を持つ胃癌細胞株 Hs746T の細胞増殖を有意に抑制し、$IC_{50}$ は 0.6 ± 0.1 nM（表 4）であった。一方、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、$IC_{50}$ が 1 μM 又は 10 μM 以上となり、有意な増殖抑制活性を示さなかった（図 3）。これらの結果は、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。

表 4 各種細胞株における MET 阻害剤の細胞増殖抑制効果に関する $IC_{50}$

| セルライン | MET の状態 | $IC_{50}$ (nM) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | SCC244 | クリゾチニブ | INCB28060 |
| **EBC-1** | MET 増幅 | 0.6±0.1 | 35.6±1.1 | 0.3±0.0 |
| **MKN-45** | MET 増幅 | 2.4±0.2 | 32.1±6.6 | 0.2±0.0 |
| **SNU-5** | MET 増幅 | 0.3±0.0 | 15.6±2.6 | 0.2±0.1 |
| **Hs746T** | *MET*ex14 スキッピング変異と増幅 | 0.6±0.1 | / | 0.04±0.003 |
| **NIH-3T3/TPR-Met** | MET フュージョン | 7.6±0.3 | 115.2±14.2 | 2.3±0.5 |
| **BaF3/TPR-Met** | MET フュージョン | 2.6±0.2 | 138.9±13.9 | 0.2±0.1 |

注：細胞は化合物で 72 時間処理した。表中の化合物による細胞増殖阻害の $IC_{50}$ は、3 回の独立した反復試験の結果であり、平均±標準偏差で表される。

Source: Table 1-M4.2.1.1-1, Table 1-M4.2.1.1-2




注：(#, $IC_{50}$>1 μM)、細胞を SCC244 で 72 時間処理した。グラフ中の SCC244 による細胞増殖阻害の $IC_{50}$ は、3 回の独立した反復試験の結果であり、平均±標準偏差で表される。

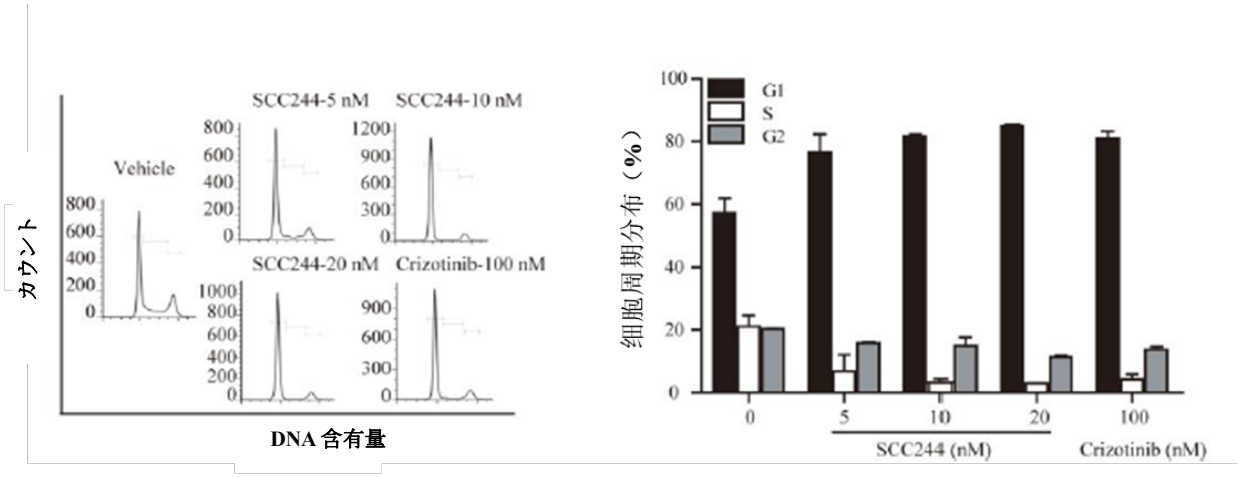
Source: Figure 3-M4.2.1.1-1.

**図 3 SCC244 による腫瘍細胞株、正常細胞株、器官細胞株の増殖抑制効果**

## 2.6.2.2.1.5.2 SCC244 は細胞周期の G1/S 期停止による細胞増殖を抑制する

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

MET 増幅ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 を用いて、SCC244 の細胞周期への影響を評価した。その結果、5-20 nM の SCC244 は EBC-1 細胞の G1/S 期細胞周期停止を引き起こすことがわかった。10 nM の SCC244 で 24 時間処理した場合、G1 期の EBC-1 細胞の割合は 53.9%から 81.4%に増加し、S 期の細胞は 23.6%から 4.2%に減少した（図 4）。一方、細胞周期分布を評価したところ、有意な sub-G1 ピークは見つからず、SCC244 はアポトーシスを誘導しないことが示唆された（図 4）。



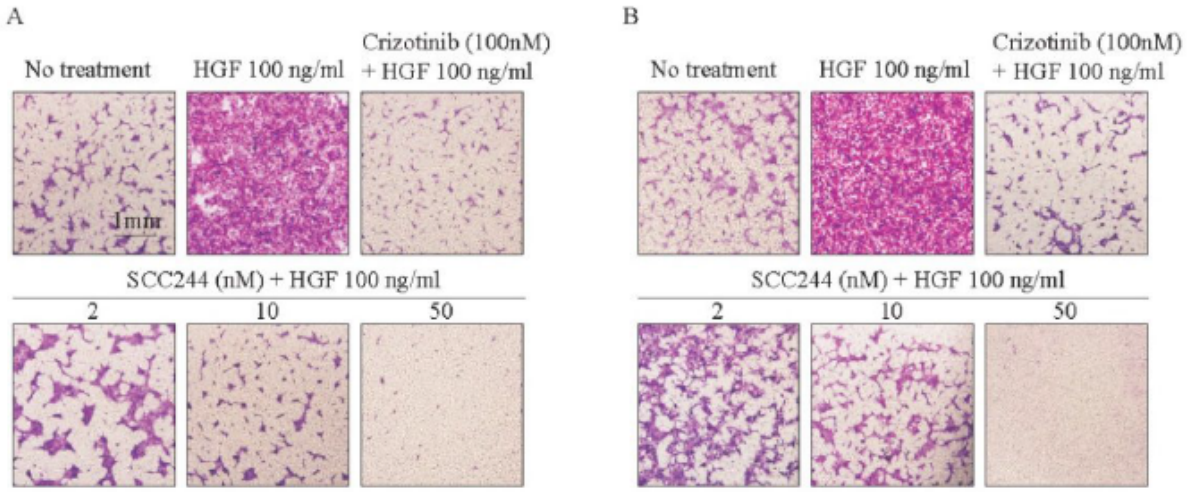

Source: Figure 4-M4.2.1.1-1.

**図 4 腫瘍細胞における SCC244 の細胞周期の G1/S 期停止の誘導**

## 2.6.2.2.1.5.3 SCC244 は MET を介した細胞の遊走と浸潤を強力に抑制する

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

HGF/MET シグナル軸の活性化は、腫瘍の転移と浸潤に重要な役割を果たす。そこでヒト由来の肺癌細胞株 NCI-H441 を用いて、HGF 誘発腫瘍細胞の遊走・浸潤に対する SCC244 の効果を検証した。試験では、100 ng/mL の HGF で 24 時間刺激した後の細胞遊走は、コントロールと比較して有意に増加した。SCC244 を添加すると、HGF 誘発細胞の遊走が濃度依存的に阻害され、2 nM で有意な遊走阻害、50 nM でほぼ完全に阻害された（図 5、A）。また、Matrigel でコーティングした Transwell チャンバーを用いて、化合物の細胞浸潤に対する効果も調べた。上記の結果と一致するように、SCC244 は 2 nM の濃度で HGF による細胞浸潤を効果的に阻害し、50 nM の濃度で細胞浸潤をほぼ完全に阻害した。（図 5、B）

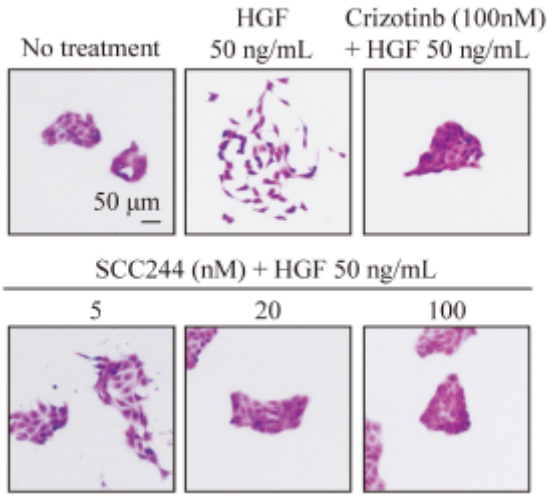



注：グラフ中のスケールバー＝1 mm。複数の独立した試験で同じ傾向の結果が得られ、そのうちの代表的な結果をここに示す。

Source: Figure 5-M4.2.1.1-1

**図 5 SCC244 による MET を介した NCI-H441 細胞の遊走・浸潤の阻害作用**

細胞の分散は、細胞の浸潤と転移の初期段階であり、HGF によって MET 経路の活性化を介して引き起こされる可能性がある。HGF による細胞分散に対する SCC244 の効果を評価するために、MDCK 細胞をモデルとして使用した。図 6 のように、HGF で刺激していない MDCK 細胞は、細胞間結合が強固なクラスターを形成して増殖した。50 ng/mL HGF 刺激で、細胞は緊密に結合したクラスターから離れ、分散したパターンで増殖した。20 nM SCC244 では、この細胞分散がほぼ完全に逆転した。以上の結果から、SCC244 は MET を介した細胞分散効果を強く阻害することができることが示された。



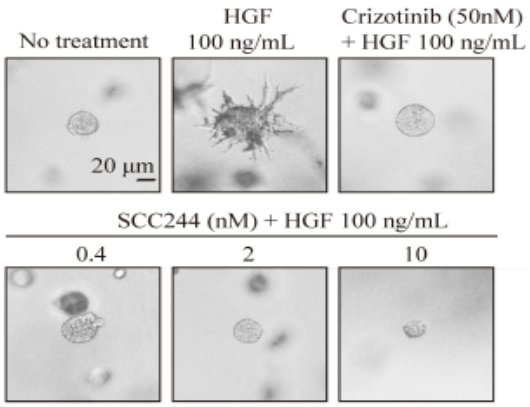

Source: Figure 6-M4.2.1.1-1.

図 6 SCC244 による MET 活性化を介した MDCK 細胞分散化の阻害

## 2.6.2.2.1.5.4 SCC244 は MET を介した浸潤性増殖を有意に抑制した

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

SCC244 による HGF 誘発腫瘍細胞の増殖、遊走性、浸潤の抑制は、古典的な三次元培養モデル-分枝形態形成試験を用いて評価した。HGF 感受性のある MDCK 細胞を使用した。細胞外マトリックスを模倣し、3 次元的な成長環境を作り出すためにコラーゲンが使用された。図 7 のように、HGF100ng/mL で刺激すると、MDCK 細胞はコラーゲンマトリックス中に分岐した管腔構造を示し、クロノスフィア体積が有意に増加した。SCC244 の濃度を変えると、分岐構造の形成が有意に抑制された。2 nM の濃度では、細胞の分岐構造が基本的に消失し、10 nM の濃度では、細胞のクローン球の体積が HGF 誘導群より有意に小さくなり、SCC244 が MET を介した腫瘍細胞の浸潤増殖を有意に阻害することが示された。




注：グラフ中のスケールバー＝20 μM。複数の独立した試験で同じ傾向の結果が得られ、そのうちの代表的な結果をここに示す。

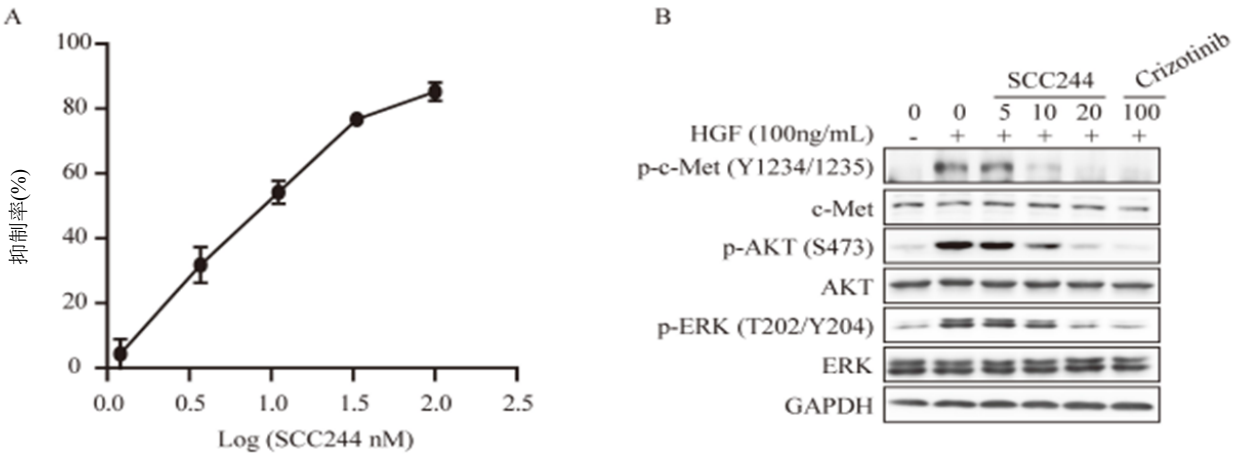
Source: Figure 7-M4.2.1.1-1.

**図 7 SCC244 の MET を介した腫瘍細胞の浸潤性増殖抑制作用**

## 2.6.2.2.1.5.5 SCC244 は MET を介した初代ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）の増殖を強力に抑制する

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

MET の活性化は、血管内皮細胞の増殖を促進し、それによって血管新生と持続的な腫瘍の増殖を促進する。SCC244 の HGF 誘導 MET 活性化及び内皮細胞増殖に対する効果を評価するため、初代ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）を試験モデルとして使用した。その結果、SCC244 は HGF 誘導 HUVEC 細胞の増殖を用量依存的に阻害し、増殖阻害の $IC_{50}$ は 2 回の独立した実験でそれぞれ 9.1 nM と 8.5 nM で、平均 $IC_{50}$ は 8.8 ± 0.4 nM（平均値±SD）であった（図 8、A）。MET 経路解析の結果、HGF 無刺激条件下の HUVEC 細胞は、MET 下流の主要シグナル伝達分子 AKT 及び ERK1/2 のリン酸化レベルが低いことから、MET シグナル伝達経路の活性化が低いことがわかった。MET のリン酸化とその下流の重要なシグナル分子である AKT と ERK1/2 の活性化レベルは、HGF 刺激を加えることで有意に上昇した。MET とその下流の両方のリン酸化レベルは、SCC244 の異なる濃度で用量依存的に有意に減少し、その抑制の程度は細胞増殖の抑制と一致した（図 8、B）。以上の結果から、SCC244 は MET を介した腫瘍の血管新生を抑制することが示唆された。




注：（A）異なる濃度の SCC244 の影響下における HUVEC 細胞の増殖抑制曲線。
（B）MET シグナル伝達経路のキナーゼのリン酸化のプロテインブロット解析結果。
Source: Figure 8-M4.2.1.1-1.

**図 8 SCC244 による HUVEC 細胞の HGF 誘導増殖及び MET シグナル経路活性化抑制作用**

### 2.6.2.2.2 SCC244 の in vivo での抗腫瘍効果

SCC244 の腫瘍増殖抑制作用を検討したすべての in vivo 試験において、対照群にも同じ溶媒を使用した。溶媒の構成は 43%（w/w）[redacted]、55%（w/w）[redacted]、及び 2%（w/w）[redacted]であった。

#### 2.6.2.2.2.1 SCC244 によるヒト胃癌細胞株 MKN-45 のヌードマウスの皮下異種移植腫瘍の増殖抑制効果

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

SCC244 の抗腫瘍効果を、MET 増幅したヌードマウスのヒト胃癌細胞株 MKN-45 の皮下異種移植腫瘍モデルで試験 I（表 5）及び実験 II（表 6）で評価した。その結果、SCC244 2.5、5、10 mg/kg を 1 日 1 回 21 日間経口投与したところ、ヒト胃癌細胞株 MKN-45 ヌードマウスの皮下異種移植腫瘍の増殖を有意に抑制し、21 日目の T/C 値はそれぞれ 34.22～44.33%、18.25～36.46%、9.68～11.51%となった。陽性対照薬であるクリゾチニブ 50 mg/kg 及び INCB28060（カプマチニブ）15 mg/kg は、21 日目にそれぞれ 10.69～12.12%及び 15.67%の T/C 値を示した（表 5、表 6、図 9、図 11）。クリゾチニブ 10 mg/kg は、21 日目の T/C 値が 81.06%であり、腫瘍増殖に対する有意な抑制効果を示さなかった（表 6、図 11）。試験中、すべてのグループのマウスは、著しい体重減少もなく（図 10、図 12）、マウスの死亡もなく、良好な状態であった。その結果、SCC244 は、MET 増幅ヒト胃癌細胞株 MKN-45 を含むヌードマウス皮下異種移植腫瘍の増殖を用量依存的に阻害した。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。

表 5 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 I

| 試験グループ | 投与量、投与方法 | | 動物数 | | 体重(g) | | TV ($mm^3$, mean±SD)) | | RTV (mean±SD) | T/C (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $d_0$ | $d_{21}$ | $d_0$ | $d_{21}$ | $d_0$ | $d_{21}$ | | |
| 媒体対照 | 0.4 mL/20g, qd×21 | po | 12 | 12 | 19.2 | 17.3 | 111±32 | 1109±340 | 10.85±5.01 | |
| ブランク対照 | 0.4 mL/20g, qd×21 | po | 6 | 6 | 19.3 | 16.7 | 111±29 | 1153±752 | 9.84±4.26 | 90.69 |
| クリゾチニブ | 50 mg/kg qd×21 | po | 6 | 6 | 18.9 | 20.3 | 115±35 | 129±23 | 1.16±0.18** | 10.69 |
| **INCB28060** | 15 mg/kg qd×21 | po | 6 | 6 | 17.9 | 17.4 | 112±31 | 193±91 | 1.70±0.79** | 15.67 |
| **SCC244** | 10 mg/kg qd×21 | po | 6 | 6 | 17.6 | 19.0 | 110±30 | 117±82 | 1.05±0.67** | 9.68 |
| | 5 mg/kg qd×21 | po | 6 | 6 | 18.7 | 18.7 | 115±37 | 229±126 | 1.98±1.09** | 18.25 |
| | 2.5 mg/kg qd×21 | po | 6 | 6 | 18.0 | 16.5 | 111±29 | 474±269 | 4.81±3.40* | 44.33 |

注）d：日、qd：1 日 1 回、po: 経口、TV: 腫瘍体積、RTV: 相対的腫瘍体積。T/C（%）＝治療群の平均 RTV／対照群の平均 RTV ×100%。データは平均値±SD で示し、統計方法は Student's t-test、媒体対照と比較して*p<0.05, **p<0.001 とした。

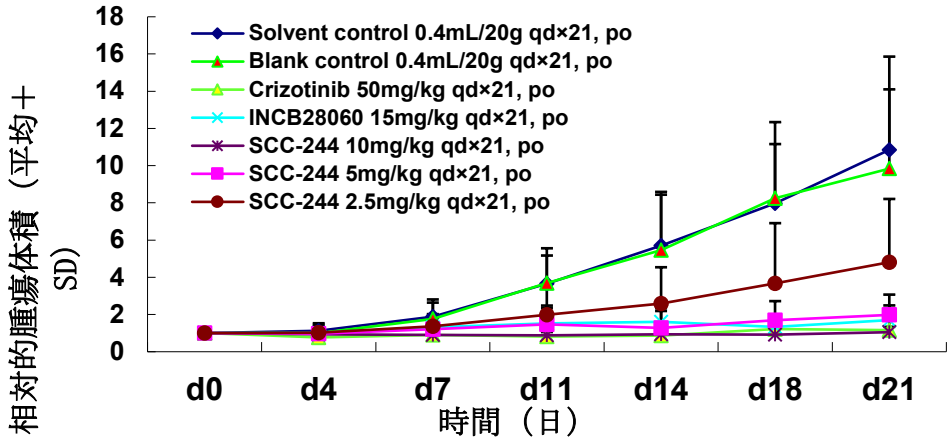
Source: Table 9-M4.2.1.1-1.

表 6 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 II

| 試験グループ | 投与量、投与方法 | | 動物数 | | 体重(g) | | TV ($mm^3$, mean±SD) | | RTV (mean±SD) | T/C (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $d_0$ | $d_{21}$ | $d_0$ | $d_{21}$ | $d_0$ | $d_{21}$ | | |
| 媒体対照 | 0.4 mL/20g, qd×21 | po | 12 | 12 | 18.7 | 17.5 | 131±42 | 1268±541 | 9.82±3.99 | |
| ブランク対照 | 0.4 mL/20g, qd×21 | po | 6 | 6 | 18.4 | 17.1 | 131±36 | 1446±518 | 11.29±3.97 | 114.97 |
| クリゾチニブ | 50 mg/kg qd×21 | po | 6 | 6 | 17.1 | 18.3 | 133±40 | 163±89 | 1.19±0.41** | 12.12 |
| | 10 mg/kg qd×21 | po | 6 | 6 | 18.5 | 16.3 | 137±51 | 1170±896 | 7.96±2.95 | 81.06 |
| **SCC244** | 10 mg/kg qd×21 | po | 6 | 6 | 18.2 | 18.5 | 131±37 | 159±111 | 1.13±0.59** | 11.51 |
| | 5 mg/kg qd×21 | po | 6 | 6 | 18.1 | 16.3 | 125±33 | 431±97 | 3.58±1.07* | 36.46 |
| | 2.5 mg/kg qd×21 | po | 6 | 6 | 18.3 | 17.1 | 128±27 | 421±219 | 3.36±1.80* | 34.22 |

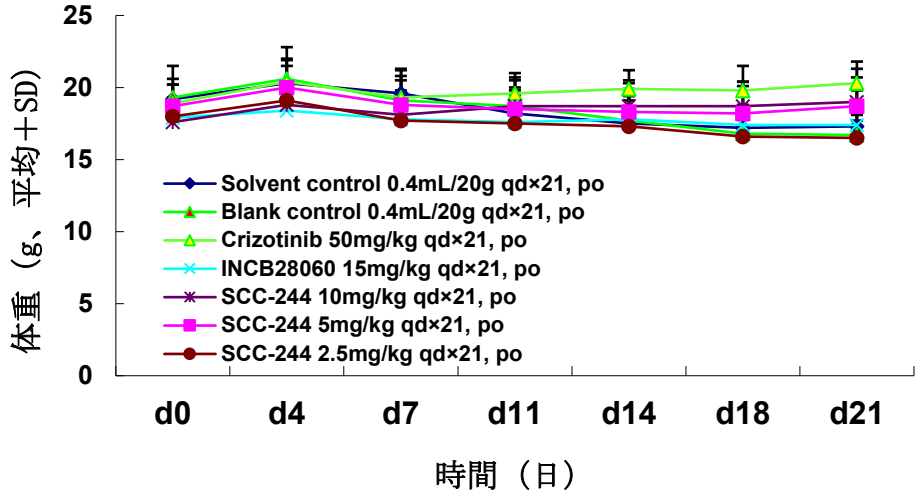
注）d：日、qd：1 日 1 回、po: 経口、TV: 腫瘍体積、RTV: 相対的腫瘍体積。T/C（%）＝治療群の平均 RTV／対照群の平均 RTV×100%。データは平均値±SD で表示、データはスチューデントの t 検定により統計、媒体対照と比較、*p<0.01, **p<0.001。

Source: Table 10-M4.2.1.1-1.



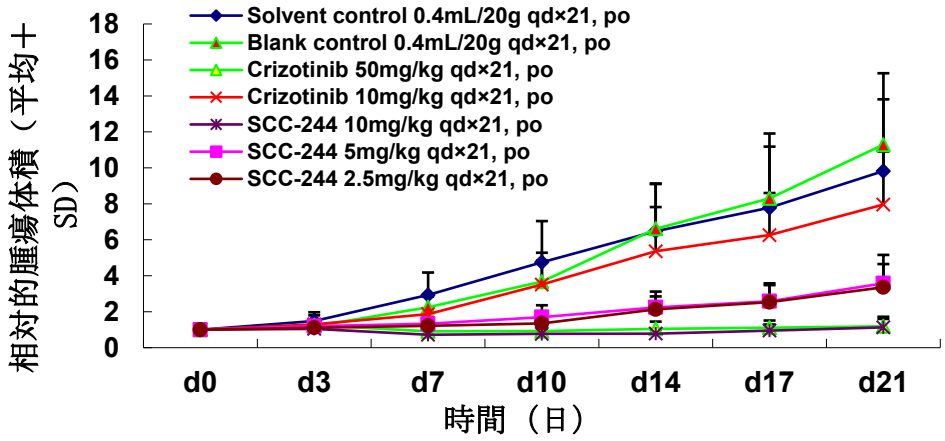

Source: Figure 9-M4.2.1.1-1.

図 9 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 I



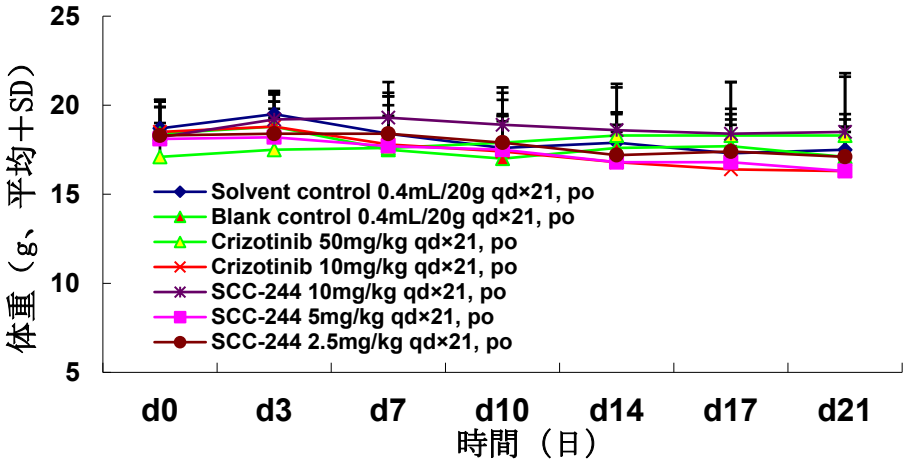

Source: Figure 10-M4.2.1.1-1.

図 10 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 I




Source: Figure 11-M4.2.1.1-1.

図 11 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 II




Source: Figure 12−M4.2.1.1-1.

図 12 ヒト胃癌細胞株 MKN-45 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 II

### 2.6.2.2.2.2 SCC244 によるヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 のヌードマウスの皮下異種移植腫瘍の増殖抑制効果

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

SCC244 の抗腫瘍効果は、MET 増幅したヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 の BALB/cA ヌードマウスの皮下異種移植腫瘍モデルにおいて、実験 I（表 7）及び II（表 8）で評価された。試験の結果、SCC244 2.5、5、10 mg/kg を 1 日 1 回 14 日間経口投与したとき、ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 ヌードマウスの皮下異種移植腫瘍の増殖に対して、14 日目の T/C 値がそれぞれ 27.08～46.79%、15.43～19.58%、3.23～6.01%と高い抑制効果が確認された（表 7、表 8）。陽性対照薬であるクリゾチニブ 50 mg/kg は、14 日目の T/C 値が 3.38～6.30%と有意に腫瘍の増殖を抑制したが、クリゾチニ

ブ 10mg/kg 群は皮下移植した腫瘍の増殖を抑制しなかった。14 日目に得られた T/C 値は、INCB28060（カプマチニブ）15 mg/kg 群で 10.01%であった（表 7、表 8、図 13、図 15）。その結果、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。試験期間中、すべてのグループのマウスの状態は良好で、顕著な体重減少（図 14、図 16）はなく、死亡したマウスもなかった。

**表 7 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 I**

| 試験グループ | 投与量<br>投与方法 | | 動物数 | | 体重(g) | | TV ($mm^3$, mean±SD) | | RTV<br>(mean±SD) | T/C<br>(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | | |
| **媒体対照** | 0.4 mL/20g qd×14 | po | 12 | 12 | 18.9 | 22.5 | 186±87 | 2649±1446 | 15.27±6.72 | |
| **クリゾチニブ** | 50 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 18.7 | 19.5 | 189±94 | 190±136 | 0.96±0.55** | 6.30 |
| **INCB28060** | 15 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 18.9 | 19.1 | 183±84 | 272±128 | 1.53±0.69** | 10.01 |
| **SCC244** | 10 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.0 | 19.6 | 196±111 | 159±80 | 0.92±0.46** | 6.01 |
| | 5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.3 | 19.1 | 177±68 | 465±332 | 2.36±1.19** | 15.43 |
| | 2.5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.6 | 19.8 | 187±77 | 1434±963 | 7.15±2.85* | 46.79 |

注）d：日、qd：1 日 1 回、po: 経口、TV: 腫瘍体積、RTV:相対的腫瘍体積。T/C (%) = 治療群の平均 RTV / 対照群の平均 RTV ×100%. データは平均±SD で表示、データはスチューデントの t 検定で算出、媒体対照と比較して *p<0.05, **p<0.001。

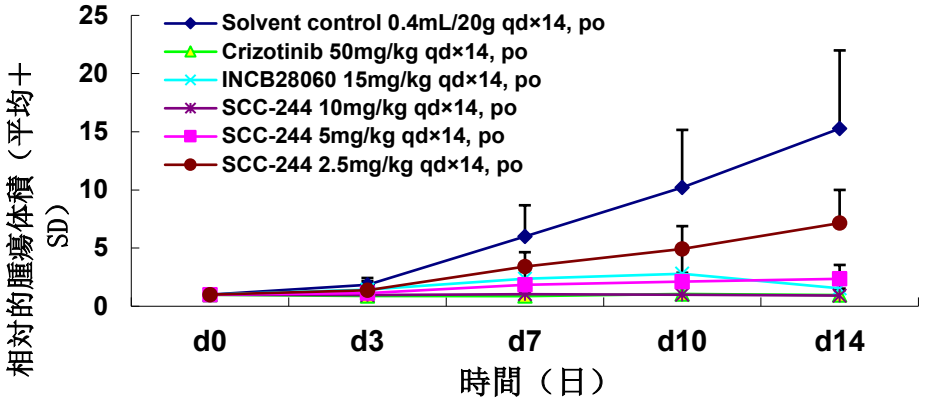
Source: Table 11-M4.2.1.1-1.

**表 8 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 II**

| 試験グループ | 投与量、投与方法 | | 動物数 | | 体重(g) | | TV ($mm^3$, mean±SD) | | RTV<br>(mean±SD) | T/C<br>(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | | |
| **媒体対照** | 0.4 mL/20g,<br>qd×14 | po | 12 | 12 | 16.4 | 22.7 | 126±30 | 3557±1813 | 27.84±10.2 | |
| **クリゾチニブ** | 50 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.4 | 19.9 | 126±33 | 105±63 | 0.94±0.69* | 3.38 |
| | 10 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.5 | 22.9 | 124±35 | 2658±747 | 22.40±6.55 | 80.46 |
| **SCC244** | 10 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.2 | 19.9 | 126±35 | 114±69 | 0.90±0.43* | 3.23 |
| | 5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.0 | 18.6 | 124±28 | 662±289 | 5.45±2.15* | 19.58 |
| | 2.5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.5 | 18.9 | 125±35 | 1029±764 | 7.54±3.80* | 27.08 |

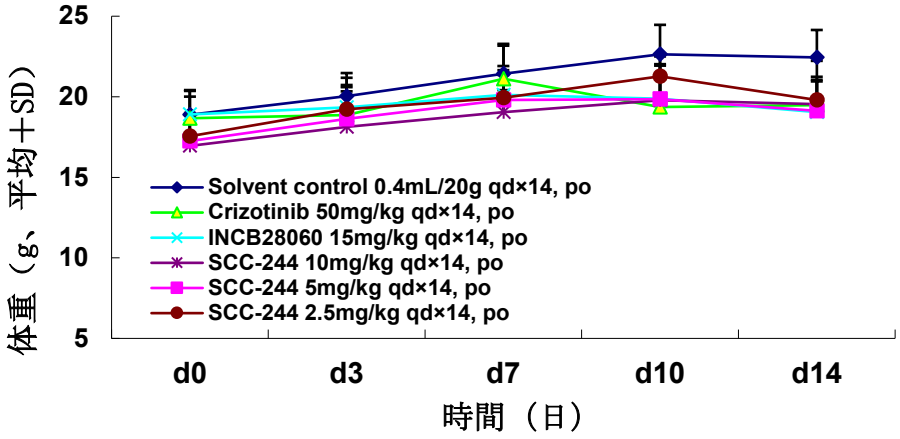
注）d：日、qd：1 日 1 回、po: 経口、TV: 腫瘍体積、RTV:相対的腫瘍体積。T/C (%) = 治療群の平均 RTV / 対照群の平均 RTV ×100%. データは平均±SD で表示、データはスチューデントの t 検定で算出、媒体対照と比較して *p<0.001。

Source: Table 12-M4.2.1.1-1.



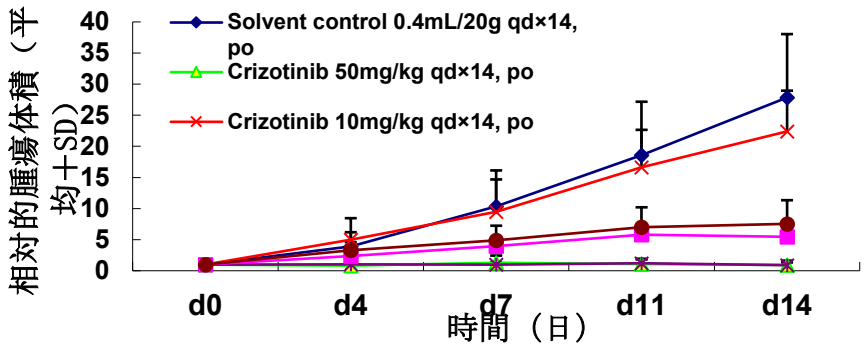

Source: Figure 13−M4.2.1.1-1.

図 13 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 I



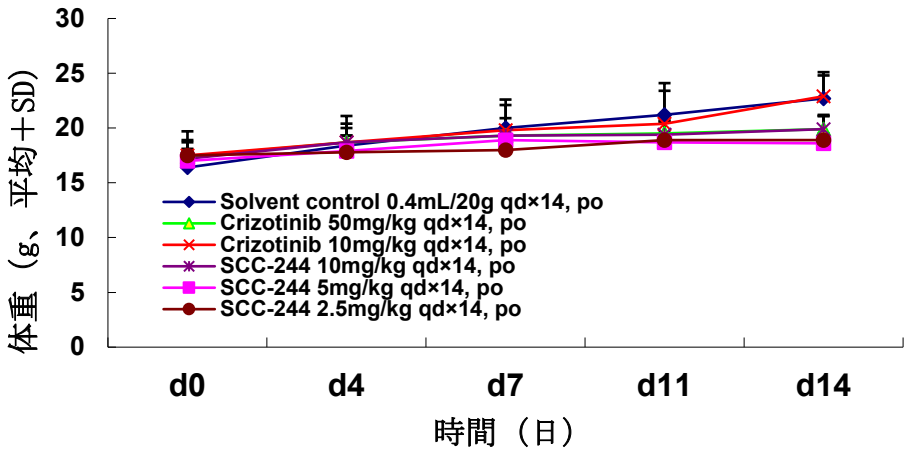

Source: Figure 14-M4.2.1.1-1.

図 14 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 I




Source: Figure 15-M4.2.1.1-1.

図 15 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 II




Source: Figure 16-M4.2.1.1-1.

図 16 ヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 II

### 2.6.2.2.2.3 SCC244 によるヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウスの皮下異種移植腫瘍の増殖抑制効果

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

MET 増幅ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 を含む BALB/cA ヌードマウス皮下異種移植腫瘍モデルを選択し、2 つの試験（I 及び II）によって SCC244 の抗腫瘍効果を評価した。試験結果は表 9、表 10、図 17～図 20 に示す。SCC244 2.5、5、10 mg/kg は、ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 ヌードマウスの皮下異種移植腫瘍の増殖に非常に顕著な阻害し、各群における 14 日目の T/C 値はそれぞれ 20.15～42.78%、8.39～22.13%、3.69～5.69%であった。かつ、高用量群の 1 匹（1/12）は、14 日目に腫瘍の完全な退縮を示した。陽性対照薬であるクリゾチニブ 50 mg/kg は、移植された腫瘍に対して非常に顕著な抑制効果を示し、T/C 値は 0.69～0.88%、14 日目に 8 匹（8/12）で腫瘍が完全に退縮していることが分かった。クリゾチニブ 10 mg/kg 群では、移植された腫瘍の部分的な抑制にとどまり、14 日目の T/C 値は 52.07%であった。INCB28060（カプマチニブ） 15 mg/kg 群でも、14 日目の T/C 値が 16.48%と、非常に顕著な異種移植腫瘍の増殖抑制効果が認められた。以上のことから、SCC244 は、MET 増幅ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウス皮下異種移植腫瘍の増殖を用量依存的に有意に阻害し、10 mg/kg での腫瘍増殖阻害能はクリゾチニブ 50 mg/kg と同等で、INCB28060（カプマチニブ）15 mg/kg より優れていることが確認された。どの群のマウスも状態は良好で、試験中に死亡したマウスはなかった。

表 9 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 I

| 試験グループ | 投与量、投与方法 | | 動物数 | | 体重(g) | | TV ($mm^3$, mean±SD) | | RTV (mean±SD) | T/C (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | | |
| **媒体対照** | 0.4 mL/20g, qd×14 | po | 12 | 12 | 18.1 | 21.2 | 136±23 | 1341±574 | 9.98±4.36 | |
| クリゾチニブ | 50 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.2 | 17.9 | 136±21 | 13±21(4) | 0.09±0.14** | 0.88 |
| **INCB28060** | 15 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.0 | 19.6 | 135±18 | 220±167 | 1.64±1.19** | 16.48 |
| **SCC244** | 10 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.2 | 19.8 | 135±20 | 76±48(1) | 0.57±0.38** | 5.69 |
| | 5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.2 | 19.5 | 135±20 | 280±212 | 2.21±1.78** | 22.13 |
| | 2.5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 18.3 | 20.0 | 135±25 | 586±249 | 4.27±1.37* | 42.78 |

注）d：日、qd：1 日 1 回、po: 経口、TV: 腫瘍体積、RTV: 相対的腫瘍体積。T/C (%) = 治療群の平均 RTV / 対照群の平均 RTV ×100%. データは平均±SD で表示、データはスチューデントの t 検定で算出、媒体対照と比較して *p<0.01, **p<0.001。

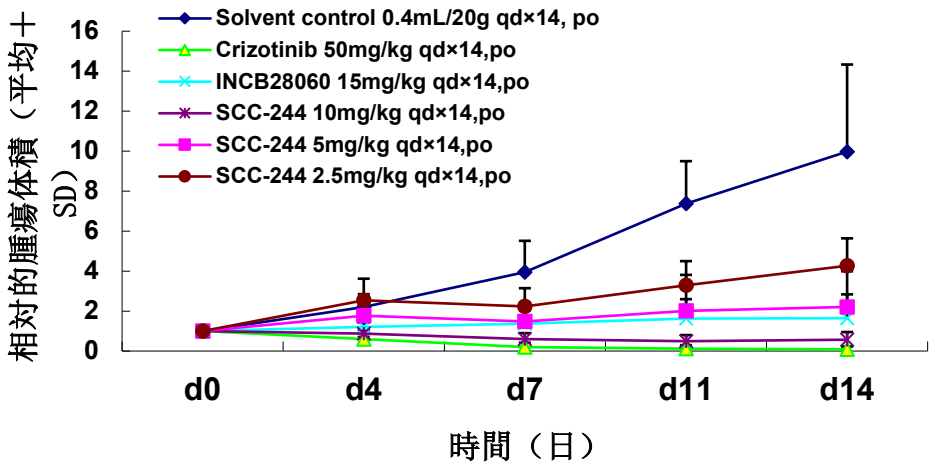
Source: Table 13-M4.2.1.1-1.

表 10 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 II

| 試験グループ | 投与量、投薬方法 | | 動物数 | | 体重(g) | | TV ($mm^3$, mean±SD) | | RTV (mean±SD) | T/C (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | | |
| **媒体対照** | 0.4 mL/20g, qd×14 | po | 12 | 12 | 17.0 | 21.6 | 135±18 | 2126±472 | 15.98±4.39 | |
| クリゾチニブ | 50 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 16.9 | 19.6 | 136±19 | 15±23(4) | 0.11±0.17** | 0.69 |
| | 10 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.9 | 22.1 | 135±16 | 1087±372 | 8.32±3.64* | 52.07 |
| **SCC244** | 10 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.5 | 20.1 | 135±19 | 79±26 | 0.59±0.20** | 3.69 |
| | 5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.3 | 19.2 | 135±16 | 187±93 | 1.34±0.53** | 8.39 |
| | 2.5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.0 | 20.8 | 135±19 | 438±218 | 3.22±1.57** | 20.15 |

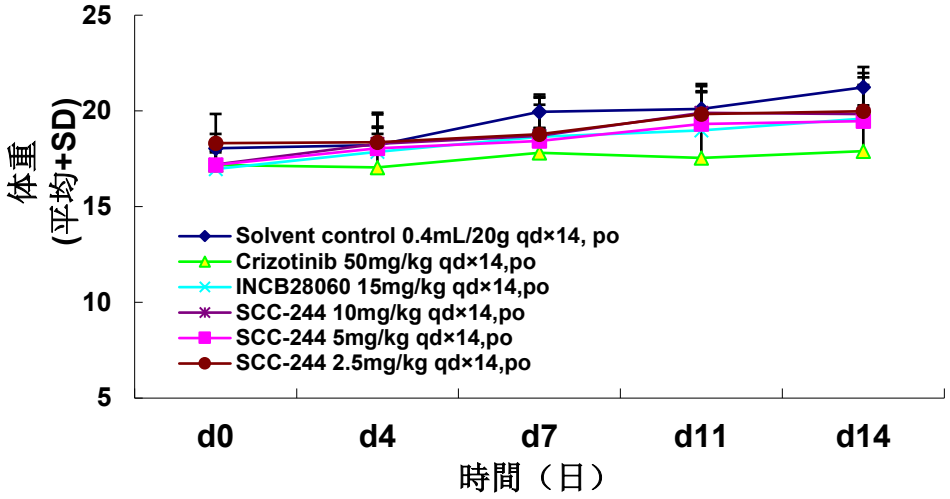
注）d：日、qd：1 日 1 回、po: 経口、TV: 腫瘍体積、RTV: 相対的腫瘍体積。T/C (%) = 治療群の平均 RTV / 対照群の平均 RTV ×100%. データは平均±SD で表示、データはスチューデントの t 検定で算出、媒体対照と比較して *p<0.01, **p<0.001。

Source: Table 14-M4.2.1.1-1.



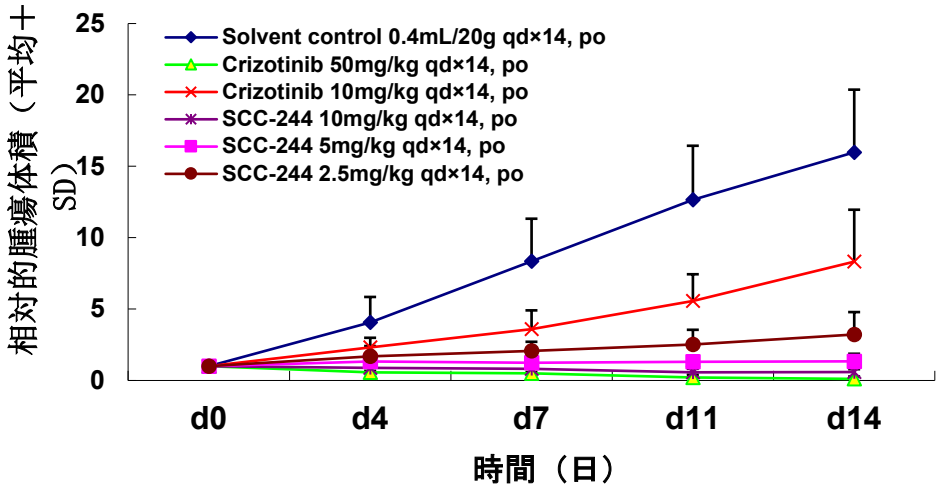

Source: Figure 17-M4.2.1.1-1.

図 17 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 I



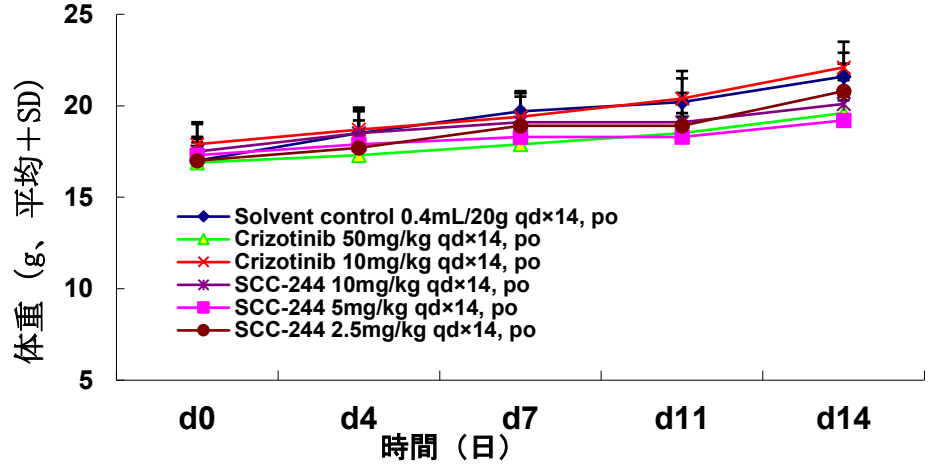

Source: Figure 18-M4.2.1.1-1.

図 18 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 I




Source: Figure 19-M4.2.1.1-1.

図 19 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 II




Source: Figure 20-M4.2.1.1-1.

図 20 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 II

### 2.6.2.2.2.4 SCC244 によるヒト神経膠腫細胞株 U87MG 皮下異種移植腫瘍のヌードマウスにおける増殖抑制効果

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

HGF/MET オートクライン活性化ヒト神経膠腫細胞株 U87MG の BALB/cA ヌードマウス皮下異種移植腫瘍モデルを選択し、SCC244 の増殖抑制効果を 2 回に分けて試験 I 及び II で評価した。試験結果は表 11、表 12、図 21～図 24 に示す。SCC244 2.5、5、10 mg/kg 群を 1 日 1 回 14 日間経口投与したところ、ヒト神経膠腫細胞株 U87MG のヌードマウス皮下異種移植腫瘍の増殖を有意

に抑制し、各群の 14 日目の T/C 値はそれぞれ 10.61～39.48%、7.34～19.23%、4.06～12.40%、陽性対照薬であるクリゾチニブ 50 mg/kg は、14 日目の T/C 値が 6.22–9.47%と有意に腫瘍の増殖を抑制したが、クリゾチニブ 10 mg/kg 群は 14 日目の T/C 値が 53.92%と異種移植腫瘍の増殖を抑制する効果はなかった。INCB28060（カプマチニブ） 15 mg/kg 群では、14 日目に得られた T/C 値は 7.36%であった。動物の状態は良好で、試験中に死亡したマウスはなかった。これらの結果から、SCC244 は、ヌードマウスにおいて、HGF/MET オートクライン活性化を含むヒト神経膠腫細胞株 U87MG の増殖を用量依存的に有意に抑制し、10 mg/kg の用量でクリゾチニブ 50 mg/kg 及び INCB28060（カプマチニブ）15 mg/kg と同等の腫瘍増殖抑制能を持つことが示された。

**表 11 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 I**

| 試験グループ | 投与量、投与方法 | | 動物数 | | 体重(g) | | TV ($mm^3$, mean±SD) | | RTV (mean±SD) | T/C (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | | |
| **媒体対照** | 0.4 mL/20g, qd×14 | po | 12 | 12 | 17.6 | 22.5 | 143±33 | 1892±913 | 13.27±6.08 | |
| **クリゾチニブ** | 50 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.8 | 20.3 | 141±40 | 114±36 | 0.83±0.21* | 6.22 |
| **INCB28060** | 15 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.1 | 19.9 | 141±40 | 129±106(1) | 0.98±0.66* | 7.36 |
| **SCC244** | 10 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.2 | 19.2 | 144±33 | 76±29 | 0.54±0.20* | 4.06 |
| | 5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.0 | 18.3 | 141±28 | 130±58 | 0.97±0.47* | 7.34 |
| | 2.5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.3 | 19.3 | 142±34 | 204±138 | 1.14±0.81* | 10.61 |

注）d：日、qd：1 日 1 回、po: 経口、TV: 腫瘍体積、RTV: 相対的腫瘍体積。T/C（%）＝治療群の平均 RTV／対照群の平均 RTV ×100%。データは平均値±SD で示し、統計はスチューデントの t 検定で求めた。媒体対照と比較して、*p<0.001 とした。

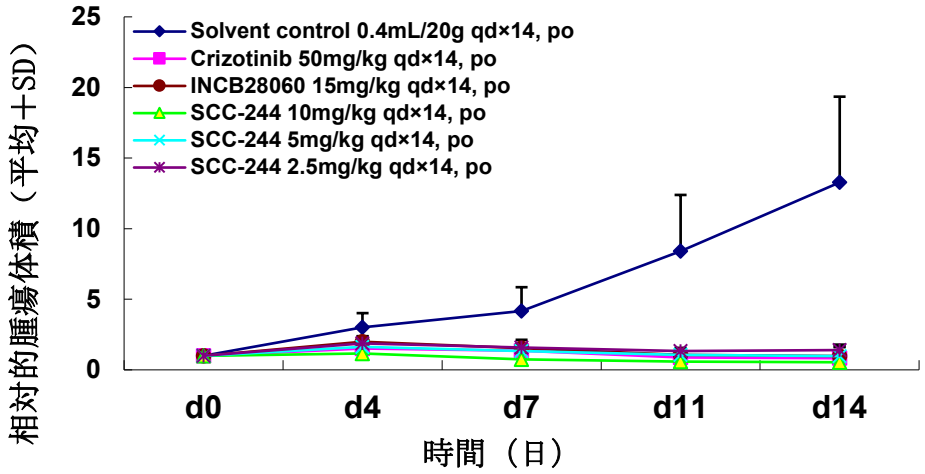
Source: Table 15-M4.2.1.1-1.

**表 12 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の試験的治療効果 II**

| 試験グループ | 投与量、投与方法 | | 動物数 | | 体重(g) | | TV ($mm^3$, mean±SD) | | RTV (mean±SD) | T/C (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | $d_0$ | $d_{14}$ | | |
| **媒体対照** | 0.4 mL/20gqd×14 | po | 12 | 12 | 18.6 | 22.9 | 157±34 | 2569±1046 | 16.69±7.52 | |
| **クリゾチニブ** | 50 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.9 | 20.2 | 155±32 | 253±136 | 1.58±0.52*** | 9.47 |
| | 10 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.7 | 21.3 | 158±29 | 1433±508 | 9.00±2.18* | 53.92 |
| **SCC244** | 10 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.7 | 19.5 | 151±28 | 301±83 | 2.07±0.71*** | 12.40 |
| | 5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 18.3 | 21.1 | 149±35 | 509±334 | 3.21±1.59*** | 19.23 |
| | 2.5 mg/kg qd×14 | po | 6 | 6 | 17.2 | 19.4 | 154±27 | 997±492 | 6.59±3.69** | 39.48 |

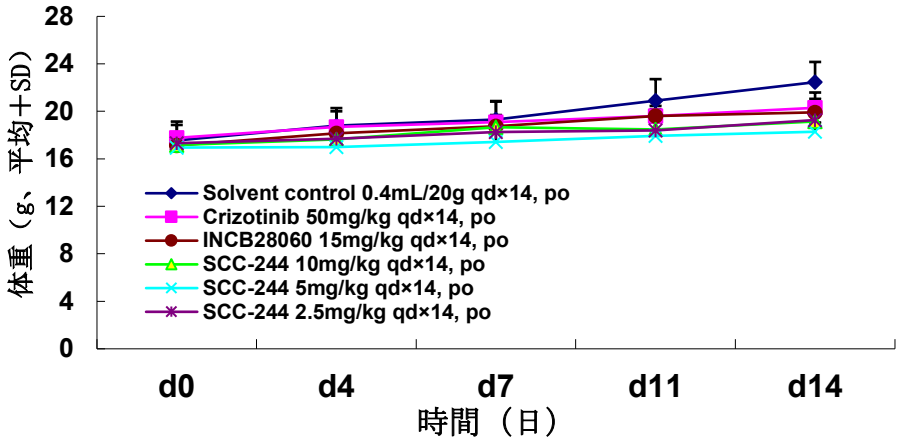
注）d：日、qd：1 日 1 回、po: 経口、TV: 腫瘍体積、RTV: 相対的腫瘍体積。T/C (%) = 治療群の平均 RTV / 対照群の平均 RTV ×100%. データは平均±SD で表示、データはスチューデントの t 検定で算出、媒体対照と比較して *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001。

Source: Table 16-M4.2.1.1-1.



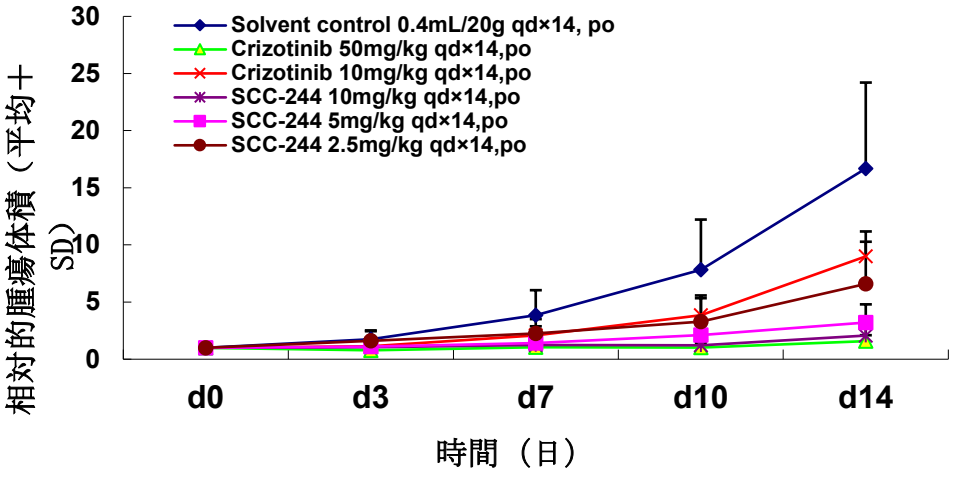

Source: Figure 21-M4.2.1.1-1.

図 21 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 I



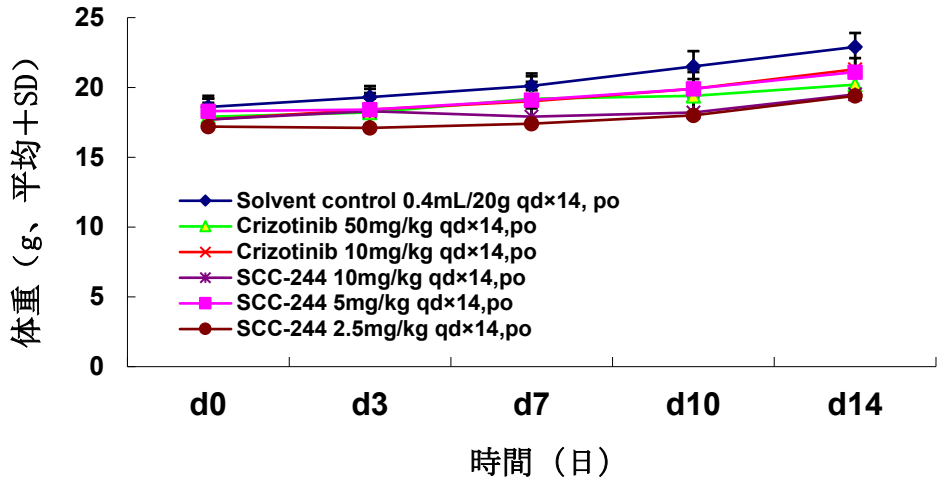

Source: Figure 22-M4.2.1.1-1.

図 22 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 I




Source: Figure 23-M4.2.1.1-1.

図 23 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG のヌードマウス異種移植腫瘍に対する SCC244 の増殖抑制効果 II




Source: Figure 24-M4.2.1.1-1.

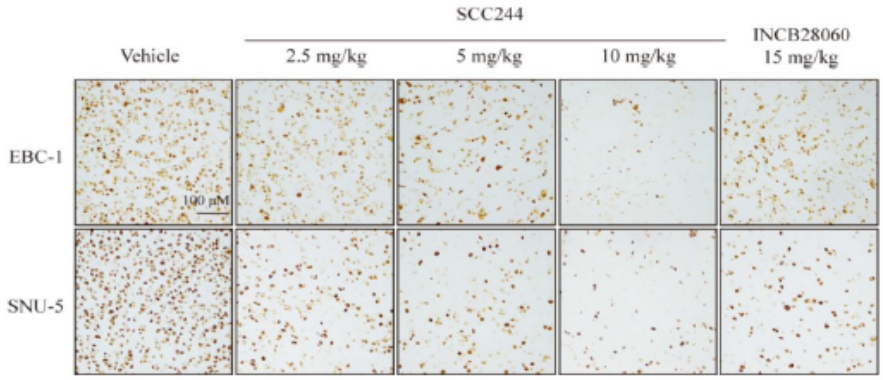
図 24 ヒト神経膠腫細胞株 U87MG 腫瘍担癌マウスの体重に対する SCC244 の影響 II

### 2.6.2.2.2.5 SCC244 は、Ki67 と IL-8 分泌を標的として、抗腫瘍効果を発揮する

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

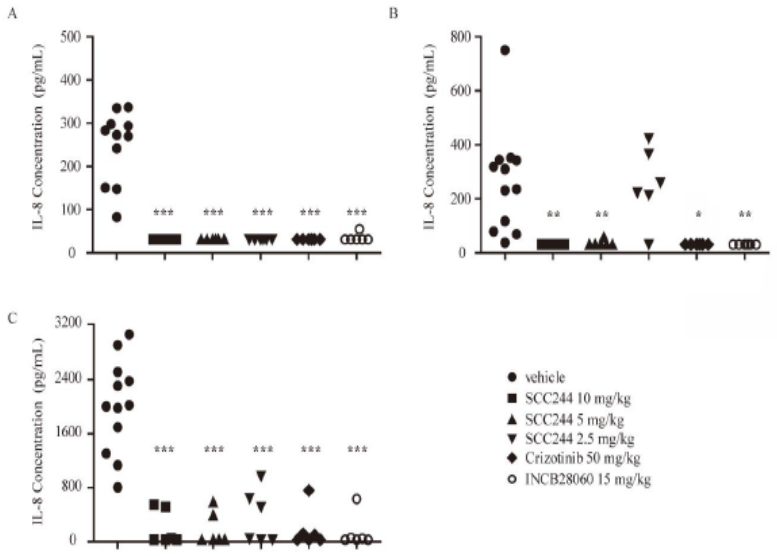
上記の薬力学的アッセイ終了時に、EBC-1 及び SNU-5 モデルから腫瘍組織を採取し、腫瘍の増殖に関連する核抗原である Ki67 の発現を免疫組織化学で分析し、EBC-1、SNU-5 及び U87MG 腫瘍保有マウスから血清を採取して MET シグナル経路下流のプロ血管形成因子である IL-8 の濃度を測定した。SCC244 は 2.5～10 mg/kg の用量依存的に腫瘍組織の Ki67 発現（図 25）とマウス血

漿中の IL-8 分泌を抑制することから（図 26 、SCC244 は腫瘍の増殖と血管新生作用に拮抗し、ヌードマウスにおける MET 依存性のグラフト腫瘍の増殖を著しく阻害することが示された。




注：複数の独立した試験から得られた結果は同じ傾向を示している。その代表的な結果をここに示す。
Source: Figure 25-M4.2.1.1-1.

**図 25 ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 及びヒト胃癌由来細胞株 SNU-5 ヌードマウス異種移植腫瘍における SCC244 の細胞増殖マーカーKi67 への影響**




注：データは t-test を用いて統計的に解析した。グラフ中の記号は：vehicle 群との比較, "***": p<0.001, "**": p<0.01, "*": p<0.05"
(A)　EBC-1 腫瘍保有マウスの血漿中の血管新生促進因子 IL-8 の分泌量（vehicle（媒体対照）、n=11、その他の群 n=6（検出下限 31.2 pg/mL でプロットした）
(B)　SNU-5 腫瘍を有するマウスにおける IL-8 の血漿分泌レベル（vehicle、n＝12；残りのグループ n＝6。SCC244 10 mg/kg 投与群 6 匹、5 mg/kg 投与群 5 匹、2.5 mg/kg 投与群 1 匹、クリゾチニブ 50 mg/kg 投与群 6 匹、INCB28060 15 mg/kg 投与群 6 匹は検出下限である 31.2 pg/mL 以下であった（検出下限 31.2pg/mL でプロットした）
(C)　U87MG 腫瘍を有するマウスにおける IL-8 の血漿分泌レベル（vehicle、n＝12；残りのグループ n＝6。(SCC244 10 mg/kg 投与群 3 匹、5 mg/kg 投与群 4 匹、2.5 mg/kg 投与群 2 匹、クリゾチニブ 50 mg/kg 投与群 3 匹、INCB28060 15 mg/kg 投与群 3 匹は検出下限である 31.2 pg/mL 以下であった（検出下限 31.2 pg/mL でプロットした）

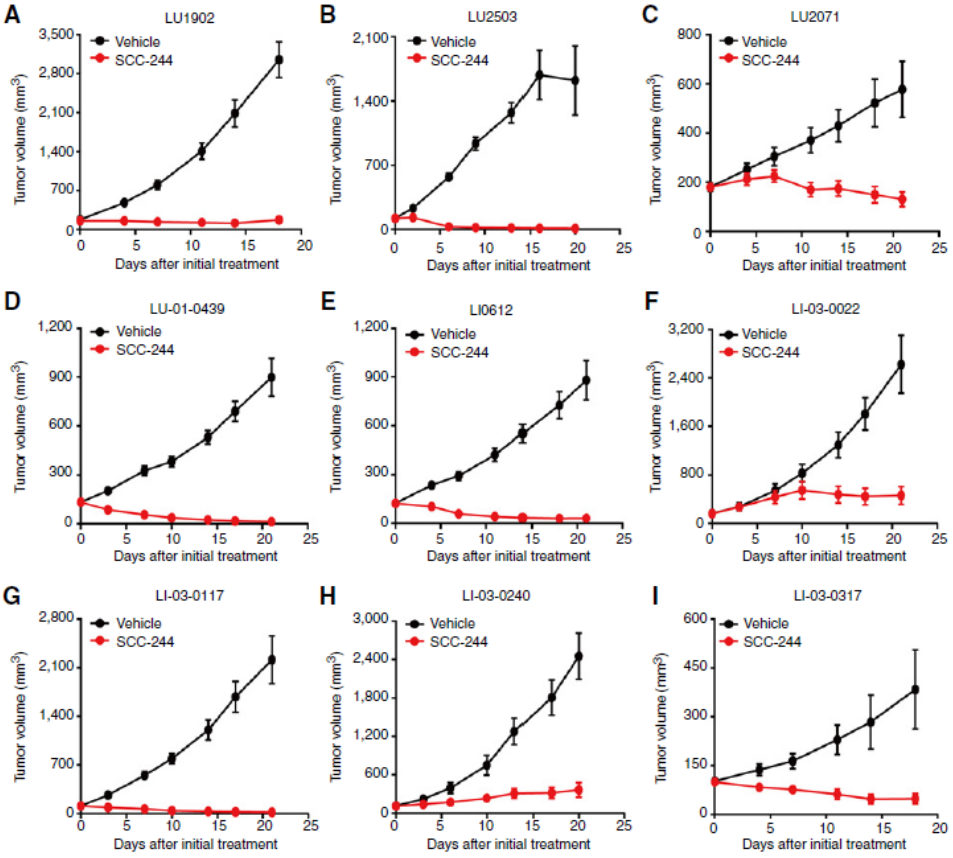
Source: Figure 26-M4.2.1.1-1.

**図 26 EBC-1、SNU-5 及び U87MG 腫瘍マウスにおける SCC244 の血漿中 IL-8 の分泌抑制作用**

## 2.6.2.2.2.6 MET 異常のある患者由来非小細胞肺癌及び肝癌異種移植腫瘍モデルにおける SCC244 の阻害効果

参考文献（Ai J et al. 2018）

ヒト患者由来腫瘍移植（PDX）モデルは、腫瘍細胞株由来異種移植腫瘍モデルよりも、患者の腫瘍に対する薬剤の抑制効果を評価・予測するのに適している。*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異、MET 増幅又は MET 過剰発現を有する 4 つの非小細胞肺癌及び 5 つの肝臓癌 PDX モデルを用いて、SCC244 の腫瘍増殖抑制効果を評価した（Ai J et al. 2018）。図 27 及び表 13 に示すように、SCC244 は 10 mg/kg で、MET 変異体を有する 9 つの PDX モデルすべてにおいて強力な抗腫瘍活性を示し、腫瘍増殖抑制率（TGI）は 87.7～115.8%の範囲であった。*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 では、移植後 13 日目に SCC244 の投与を開始し、投与開始時の平均腫瘍サイズは 121 $mm^3$ であった。SCC244 10 mg/kg を 21 日間投与したところ、腫瘍を持つマウス 8 匹のうち 4 匹は完全退縮、残りの 4 匹は部分退縮を示した。動物の状態は良好で、試験中に死亡したマウスはなかった。以上の結果から、SCC244 は、*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異、MET 増幅又は MET 過剰発現を有する非小細胞肺癌及び肝臓癌の PDX モデルにおいて、有意な抗腫瘍活性を有することが示された。




注：ブランク溶解液又は SCC244（10 mg/kg）を 1 日 1 回 18 日間又は 21 日間経口投与し、腫瘍体積を平均±SE で示した。

Source: 参考文献（Ai J et al. 2018）

図 27 MET 異常のある患者由来異種移植腫瘍モデルにおける SCC244 の抗腫瘍活性

表 13 MET 異常のある患者由来異種移植腫瘍モデルにおける SCC244 の抗腫瘍活性

| シリアルナンバー | 腫瘍の種類 | モデル名 | MET異常背景 | MET遺伝子コピー数 | TGI (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | NSCLC | LU1902 | 増幅 | 24.3 | 94.3 |
| 2 | NSCLC | LU2503 | 増幅、ex14スキッピング変異 | 15.4 | 107.3 |
| 3 | NSCLC | LU2071 | 過剰発現 | 3.4 | 112.3 |
| 4 | NSCLC | LU-01-0439 | 過剰発現 | 3.3 | 115.8 |
| 5 | HCC | LI0612 | 増幅 | 28.1 | 112.1 |
| 6 | HCC | LI-03-0022 | 増幅 | 5.3 | 87.7 |
| 7 | HCC | LI-03-0117 | 増幅 | 5.1 | 104.2 |
| 8 | HCC | LI-03-0240 | 増幅 | 5.6 | 89.2 |
| 9 | HCC | LI-03-0317 | 増幅 | 5.5 | 112.9 |

注）[redacted]社及び[redacted]社に委託した試験、NSCLC：非小細胞肺癌、HCC：肝細胞癌、TGI：腫瘍増殖抑制率。

Source: 参考文献（Ai J et al. 2018）

## 2.6.2.2.3 SCC244 in vivo PK-PD 効果試験

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

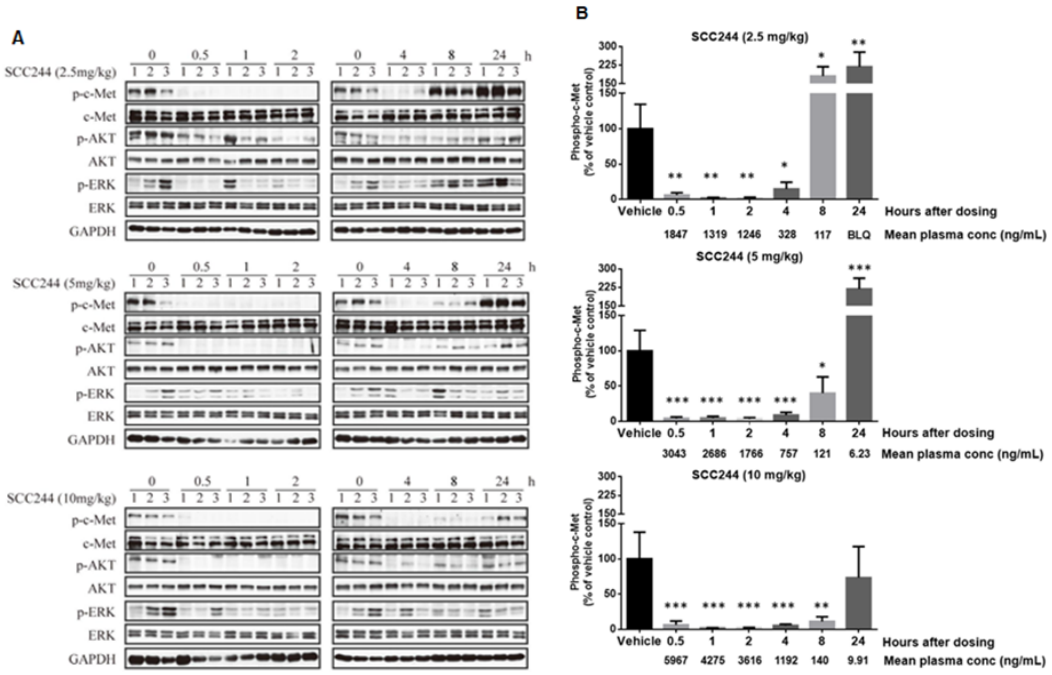
MET 増幅ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 をヌードマウスの皮下異種移植腫瘍モデルとして選択し、SCC244 を単回経口投与（2.5、5、10 mg/kg）して一定期間後のマウス血漿、腫瘍、脳組織における分布、腫瘍における MET 及びその下流のシグナル伝達経路を抑制することを検討した。組織分布測定の結果、血漿、脳及び腫瘍組織における SCC244 の最高血漿中濃度到達時間（$T_{max}$）は 0.5 時間であった。脳及び腫瘍組織における 0 から t 時間後における血中薬物濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0-t}$）は、血漿中曝露量のそれぞれ 17%及び 98%であった（3 用量群の平均値）。腫瘍組織における SCC244 の曝露量は、SCC244 2.5、5 及び 10 mg/kg 群において、それぞれ血漿曝露量の 1.21、0.91 及び 0.84 倍であり、血漿曝露量と同等であった。2.5～10 mg/kg の用量範囲では、脳及び血漿中の SCC244 への曝露量の増加は、基本的に用量の増加に比例し、腫瘍組織への曝露量の増加は、用量の比例増加よりもわずかに少なかった（表 14）。

表 14 腫瘍を有するマウスに SCC244 を経口投与したときの組織及び
血漿中の薬物動態パラメータ

| 投与量 (mg/kg) | 組織 | $T_{max}$ (h) | $C_{max}$ (ng/mL) | $AUC_{0-t}$ (ng・h/mL) | $AUC_{0-\infty}$ (ng・h/mL) | MRT (h) | $t_{1/2}$ (h) | 投与量関係 | 組織/血漿 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 脳 | 0.5 | 264* | 802** | 871** | 3.15 | 2.15 | **1.00** | 0.16 |
| **2.5** | 血漿 | 0.5 | 1847 | 5000 | 5319 | 2.71 | 1.89 | **1.00** | 1.00 |
| | 腫瘍 | 0.5 | 1247* | 6030** | 6077** | 4.6 | 3.59 | **1.00** | 1.21 |
| | 脳 | 0.5 | 543* | 1615** | 1698** | 2.85 | 1.86 | **2.02** | 0.17 |
| **5** | 血漿 | 0.5 | 3043 | 9716 | 9740 | 2.95 | 2.7 | **1.94** | 1.00 |
| | 腫瘍 | 0.5 | 1684* | 8830** | 8920** | 4.37 | 3.54 | **1.46** | 0.91 |
| | 脳 | 0.5 | 1278* | 3138** | 3224** | 2.43 | 1.56 | **3.92** | 0.19 |
| **10** | 血漿 | 0.5 | 5967 | 16669 | 16707 | 2.63 | 2.66 | **3.33** | 1.00 |
| | 腫瘍 | 0.5 | 3803* | 13938** | 14078** | 3.83 | 3.48 | **2.31** | 0.84 |

*：$C_{max}$ (ng/g)、**：$AUC_{0-t}$ (ng・h/g)、$AUC_{0-\infty}$ (ng・h/g)

Source: Table17 M4.2.1.1-1




注：ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 ヌードマウス皮下異種移植腫瘍モデルにおいて、SCC244（2.5、5、10 mg/kg）を単回経口投与後、異なる時点で腫瘍、マウス血漿及び脳組織を採取し、血漿、腫瘍及び脳組織における SCC244 の分布及び腫瘍の MET 信号伝達経路に対する SCC244 の阻害作用を解析した。(A). 同数の EBC-1 腫瘍組織タンパク質抽出物における MET、AKT、ERK タンパク質の発現とリン酸化をイムノブロット法で解析した。(B). A プロットの p-MET と MET のバンドのグレースケールを光学濃度分析で半定量し、各サンプルについて相対的 MET リン酸化値（p-MET と MET バンドのグレースケールの比）を算出し、続いて SCC244 投与群の各サンプルの相対 MET リン酸化値と同一ブロット（膜）の溶剤対照の平均相対 MET リン酸化値との比、すなわち p-c-Met(vehicle control) 値。Y 軸のデータは平均＋標準誤差で表示。X 軸の時間点の下には、対応する処置用量群のその時間点に採取したマウスの血漿中の SCC244 の平均濃度を記載した。統計方法は t-test、 vehicle 群と比較して、"***": p<0.001, "**": p<0.01, "*": p<0.05"。

Source: Figure 27-M4.2.1.1-1, Figure -M4.2.1.1-1 p90 Appendix.

図 28 SCC244 の腫瘍組織における MET シグナル経路の活性化抑制作用

次に、SCC244 の単回経口投与による腫瘍組織の MET 及びその下流のシグナル伝達経路に対する阻害効果を分子レベルで評価した。図 28 に示すように、SCC244 は 2.5、5、10 mg/kg の用量で、単回投与後 0.5 時間における MET、AKT、ERK1/2 のリン酸化レベルを有意に阻害した。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ていた。図 28、A の p-MET と MET のバンドのグレースケールと対応する時点の平均血中濃度（図 28、B）を組み合わせた半定量的解析により、SCC244 は、マウス血漿中の薬物濃度が 138.5 ng/mL（$IC_{90}$）のときに腫瘍の MET リン酸化を最大 90%抑制することが示された。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。この活性は、EBC-1 モデルにおける SCC244 の用量依存的な腫瘍抑制効果にも対応する。

### 2.6.2.3 副次的薬理試験

CTD 記載箇所 M4.2.1.1-1

SCC244 の MET を含む 323 種類のプロテインキナーゼに対する阻害活性は 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され、関連データは薬力学の主要項目で言及されている。その結果、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は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。

### 2.6.2.4 安全性薬理試験

### 2.6.2.4.1 中枢神経系評価（modified Irwin's assay)

CTD 記載箇所 M4.2.1.3-2

SCC244 の中枢神経系への影響を評価するため、SD ラットの運動機能、行動変化、協調性、感覚・運動反射、体温を評価する Irwin's assay を改良したものを使用した。また、ラットにおける SCC244 の曝露レベルをモニターするため、血液サンプルを採取して血中濃度試験を行った（試験番号：[redacted]167R）。

SD ラット 64 匹（雌雄各 32 匹）を SCC244 2.5、15、100 mg/kg 及び媒体対照（雌雄各 8 匹/群、うち TK 雌雄各 3 匹/群）の 4 群にランダムに群分けし、単回経口投与した後、SCC244 2.5、15、100 mg/kg を投与した。試験動物は投与前と投与後（24 時間）に体重を測定した。関連する標準作業手順書（SOP）に従い、ケージサイドでの観察、把持、刺激、体温の 4 つのカテゴリーで合計 37 の指標を試験した。検査時点は薬物投与前（0 時間）、投与後 15 分、30 分、1 時間、2 時間、4 時間、24 時間とし、把持力、体温は 0 時間、投与後 1 時間、24 時間のみ実施した。投与当日、毒素代用動物（雌雄各 3 匹/群）から投与前（0 時間）、4 時間及び 24 時間後に血漿を採取し（対照群は投与前と 4 時間後の時点のみ）、SCC244 への生物曝露量を検出した。

その結果、投与群及び対照群の投与前血漿中に SCC244 は検出されなかった。投与後、全投与群の動物から採取した血漿サンプルで SCC244 の全身曝露量を測定した。血中濃度は投与量の増

加とともに上昇した。投与後、雌雄ともに薬物による体重の有意な変化は認められなかった。各投与群或いは対照群の動物のケージサイドでの観察及び掴む時の反応には、試験した各時点で有意な変化は認められなかった。対照群と比較して、投与群では、掴む機能及び刺激機能に有意な変化はみられなかった。投与群では、対照群と比較して、把持力及び体温に有意な変化はみられなかった。試験中、定型行動、痙攣、振戦、立毛、異常歩行、唾液分泌、流涙、異常排便、異常排尿、異常呼吸等の異常徴候は観察されなかった。

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。無影響量レベル（NOEL）は 100 mg/kg であった。

### 2.6.2.4.2 HEK293 細胞を用いたヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネルの心血管系評価

CTD 記載箇所 M4.2.1.3-3

HEK293 細胞における hERG カリウム電流に対する SCC244 の影響を、手動パッチクランプシステムを用いて評価した。（試験番号：[redacted]19-[redacted]101-SP）。

0.1、1、3、10、15μM の被験物質 SCC244 又は 10 μM の陽性対照薬テルフェナジンを、6 チャンネル灌流システムを介してクランプされた細胞に注入した。hERG チャネルのテール電流とテール電流のピークは Clampex 10.3 で記録し、データは Clampfit 10.3 で解析した。被験物質の実濃度は 0.06、0.60、1.70、4.86、10.19 μM であった。

試験条件下では、陽性対照薬であるテルフェナジンは 10 μM で hERG のカリウム電流を阻害し、平均阻害率は 96.71%であった。SCC244 の hERG に対する $IC_{50}$ は 3.30 μM であった。

### 2.6.2.4.3 心血管・呼吸器系評価

CTD 記載箇所 M4.2.1.3-1

小型血圧テレメトリー装置を埋め込んだウエストコートを着用したビーグルイヌに SCC244 を単回経口投与し、覚醒時に考えられる心血管及び呼吸器系の影響を、ベスト型テレメトリーシステム（DSI、米国）を用いて評価した（試験番号 [redacted]150D）。本研究では、8 匹のビーグルイヌ（雌雄各 4 匹）を使用した。試験動物には、Williams Latin formula デザインに従って、4 日間にわたって投与した。各投与日に、動物に SCC244（2、8、32 mg/kg）、又は対照薬（賦形剤錠、0 mg/kg）を経口投与した。各投与は少なくとも 5 日間の間隔をあけて行われた。臨床観察、体重及び摂餌量について評価した。さらに、各投与期間の少なくとも 1.5 時間前と 24 時間後に、心血管系及び呼吸器系のデータを連続的に収集した。心電図（HR、PR 間隔、QRS、QT、QTcR）、血圧（収縮期血圧、拡張期血圧、平均動脈圧）、呼吸（呼吸数、1 回換気量、分時換気量）、体表温度を投与前（0 時間）、投与後 1、2、3、5、6、7、9、10、11、12、14、16、22 時間の予定された時間帯別に読み取り、分析した。

薬物投与後、いずれの動物群においても、対照群と比較して、収縮期血圧、拡張期血圧及び平均動脈圧、心拍数、PR 間隔、QRS、QT 及び QTcR、呼吸数、1 回換気量又は分時換気量、体表温度について、薬物投与に関連する変化は認められなかった。また、いずれの動物においても不整脈は認められなかった。

以上より、ビーグルイヌにおいて、SCC244 を 2、8 及び 32 mg/kg の用量で覚醒下単回経口投与したところ、投与後 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。

### 2.6.2.5 その他の安全性薬理試験

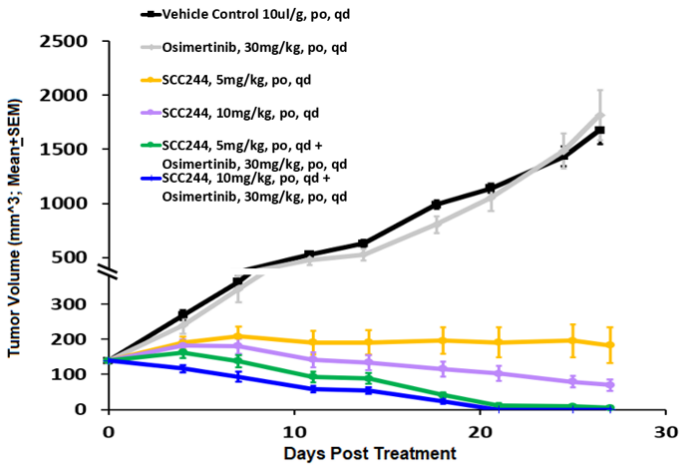
SCC244 の他の安全性薬理試験は実施していない。

### 2.6.2.6 薬力学的薬物相互作用試験

#### 2.6.2.6.1 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療法の薬理作用について

CTD 記載箇所 M4.2.1.4-1

EGFR 遺伝子変異（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（試験番号：[redacted]5232-[redacted]2001）。図 29、表 15 に示すように、雌ヌードマウスにオシメルチニブを 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回 28 日間反復経口投与しても、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（p<0.001）。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、媒体療法群及び単独療法群と比較して、より強い抗腫瘍効果を示した（p<0.001）。SCC244 の 5 mg/kg/日とオシメルチニブの 30 mg/kg/日の併用で 7/8 の腫瘍の完全退縮が、SCC244 の 10mg/kg/日とオシメルチニブの 30 mg/kg/日の併用で 8/8 の腫瘍の完全退縮が認められた。また、試験動物は上記投与に忍容性を示した。




Source: Figure 1-M4.2.1.4-1

図 29 EGFR 変異と MET 増幅を有する肺癌の PDX モデルにおける SCC244 と EGFR 阻害剤オシメルチニブの併用による抗腫瘍効果

表 15 肺癌 PDX モデルにおける SCC244 とオシメルチニブ併用時の抗腫瘍活性

| グループ番号 | 投与薬剤 | TGI (%) |
|---|---|---|
| 1 | オシメルチニブ媒体＋SCC244 媒体 | N/A |
| 2 | オシメルチニブ 30 mg/kg | -6.4 |
| 3 | SCC244 5 mg/kg | 89.5 |
| 4 | SCC244 10 mg/kg | 96.0 |
| 5 | オシメルチニブ 30 mg/kg + SCC244 5 mg/kg | 99.8 |
| 6 | オシメルチニブ 30 mg/kg + SCC244 10 mg/kg | 100.0 |

注：TGI：腫瘍増殖抑制率

Source: Table 4-M4.2.1.4-1

以上のことから、SCC244 とオシメルチニブの併用は、肺癌 PDX モデルにおいて MET 増幅による薬剤耐性を克服することができ、EGFR 活性化変異と MET 増幅を有する肺癌患者の治療に SCC244 とオシメルチニブの併用が臨床的に利用できることが示唆された。

## 2.6.2.7 考察及び結論

非臨床試験の結果、SCC244 は経口投与可能な、ATP 競合型の強力かつ選択的な MET 受容体チロシンキナーゼ阻害剤であることが示された。SCC244 は MET キナーゼ活性を有意に阻害し（$IC_{50}$: 0.5±0.1 nM）、他の 310 キナーゼに対して 2000 倍を超える選択性、他の 10 キナーゼに対して 200 倍を超える選択性を示した。SCC244 の主な循環代謝物である M199 の $IC_{50}$ は 10 μM より大きく MET キナーゼ酵素活性に対する有意な阻害活性を示さなかった。

細胞レベルでは、SCC244 は 5–20 nM で MET のリン酸化、下流シグナル伝達経路の主要分子である ERK1/2 及び AKT のリン酸化を優位に阻害し、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）を持つ様々なヒト腫瘍細胞株（EBC-1、MKN-45、U87MG、Hs746T）及び器官細胞株（BaF3/TPR）、さらにシグナル伝達下流のキー分子 ERK1/2、AKT、MET のリン酸化を濃度依存的に阻害した。20 nM の濃度で各細胞の MET シグナル伝達経路の活性化をほぼブロックした。一方 SCC244 は *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異を含む MET 異常を有するヒト由来腫瘍細胞株（EBC-1、MKN-45、SNU-5、Hs746T）及び器官細胞株（BaF3/TPR-Met、NIH-3T3/TPR-Met）においては $IC_{50}$ が 10nM 未満で効率よく細胞増殖を阻害した。しかし、MET が低発現又は発現していない、活性化の低い腫瘍細胞株や正常細胞株では、SCC244 は有意な増殖抑制活性を示さず、SCC244 が強力で選択的な MET 阻害剤であることを示している。

MET 増幅ヒト肺扁平上皮癌由来細胞株 EBC-1 において、SCC244 は有意に G1/S 期細胞周期停止を誘導した。一方、ヒト肺癌細胞株 NCI-H441 では、SCC244 は MET を介した腫瘍細胞の遊走と浸潤を有意に阻害した。一方、MDCK 細胞モデルでは、SCC244 は MET を介した細胞分散効果及び腫瘍細胞の浸潤性増殖を有意に抑制した。初代ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）において、SCC244 は、HGF による MET のリン酸化とその下流の主要シグナル分子 AKT 及び ERK1/2 を有意に抑制し、細胞増殖も抑制したことから、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。

MET の異常な活性化によって引き起こされるヒト腫瘍細胞株（肺癌（EBC-1）、胃癌（MKN-45、SNU-5）、ヒト神経膠腫細胞株（U87MG））のヌードマウス異種移植モデルでは、SCC244 は 2.5～10 mg/kg で用量依存的な強力な抗腫瘍活性を示し、SCC244 10 mg/kg の有効性は、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。SCC244 は腫瘍の増殖や血管新生を阻害し、多面的に抗腫瘍効果を発揮することが明らかになった。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臓癌の PDX モデルにおいて良好な阻害効果を示した。SCC244 の 10 mg/kg 投与は、すべてのモデルで腫瘍の増殖を有意に阻害し、*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異及び MET 増幅を有する非小細胞肺癌 PDX モデルにおいても腫瘍の部分的退縮と完全退縮が観察された。さらに、EGFR 変異及び MET 増幅を有するオシメルチニブ耐性肺癌 PDX モデルにおいて、SCC244 とオシメルチニブの併用により腫瘍の完全退縮が認められ、単独療法群よりも併用療法群の方が統計的に強い抗腫瘍活性を示した。EBC-1 マウス異種移植腫瘍モデルを用いた薬物動態/薬力学試験で、SCC244 を 2.5～10 mg/kg 単回経口投与した結果、血漿、脳及び腫瘍組織での $T_{max}$ は 0.5 時間、血漿中の $C_{max}$ は 1847～5967 ng/mL、$AUC_{0-t}$ は 5000～16669 ng･h/mL、腫瘍組織への曝露量は血漿中曝露量の 17%及び 98%であり、腫瘍における MET リン酸化の阻害は、マウス血漿中の薬物濃度 138.5 ng/mL で最大 90%であった（$IC_{90}$）。SCC244 は、臨床推奨用量（300mg、QD）において、24 時間、腫瘍内の MET リン酸化を 90%以上阻害し、抗腫瘍効果に必要な非臨床試験での曝露量に達した。

安全性薬理試験において、SCC244 はラットの中枢神経系に 100 mg/kg の無影響量レベル（NOEL）で有意な影響を与えなかった。ビーグルイヌにおいて、SCC244 を 2、8 又は 32 mg/kg の用量で覚醒下単回経口投与したところ、投与後 22 時間までに血圧、心電図、呼吸及び体温における薬物関連の変化は観察されなかった。どの動物にも不整脈の兆候は観察されなかった。SCC244 による hERG 電流阻害の $IC_{50}$ は 3.30 μM であり、これは臨床的に有効な用量（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 倍であった。

以上の非臨床試験の成績より、SCC244 は、経口投与により強力で高い選択性を有する MET 受容体チロシンキナーゼ阻害剤であることが示された。細胞レベルでは、SCC244 は *MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異を含む MET 異常を有する、ヒト腫瘍細胞株において、MET シグナル伝達経路の活性化及び腫瘍細胞の増殖を有意に抑制した。SCC244 は、*in vivo* モデルにおいて、ヌードマウス異種移植腫瘍及び患者由来腫瘍異種移植腫瘍の MET 異常活性化により誘導されたヒト腫瘍細胞株の増殖を強力に抑制した。SCC244 は、*MET* 遺伝子エクソン 14 スキッピング変異、MET 増幅、MET 過剰発現等の MET 活性化異常を原因とする様々な腫瘍の治療に使用でき、オシメルチニブとの併用により、MET 増幅による EGFR 阻害剤耐性を克服することが可能である。

## 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.

以上の文献の写しは、M4.3 に添付した。

# 2.6.3 薬理試験の概要表

## 目次

目次 ..... 1
略語/略号一覧 ..... 2
2.6.3 薬理試験の概要表 ..... 3
2.6.3.1 薬理試験の概要表 ..... 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 ..... 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 ..... 9
2.6.3.4 安全性薬理試験 ..... 10
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 11

## 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） |
|---|---|---|
| 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 |
| [redacted] | [redacted] | [redacted] |
| [redacted] | [redacted] | [redacted] |
| GLP | Good Laboratory Practice | 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 |
| hERG | Human Ether-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 |
| 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 |
| IND | Investigational New Drug Application | 新薬臨床試験開始申請 |
| MDCK | Madin-Darby canine kidney cells | Madin-Darbyイヌ腎細胞 |
| PD | Pharmacodynamics | 薬力学 |
| PK | Pharmacokinetic | 薬物動態 |
| [redacted] | [redacted] | [redacted] |
| T/C | mean Relative tumor volume of the treated group / mean RTV of the control group | 治療群の平均相対的腫瘍体積／対照群の平均相対的腫瘍体積の割合 |

## 2.6.3 薬理試験の概要表

### 2.6.3.1 薬理試験の概要表

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | CTD 記載箇所 |
|---|---|---|---|---|
| **効力を裏付ける試験** | | | | |
| - *In vitro* 薬力学的試験 | | | | |
| 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） | *In vitro* | [redacted] | M4.2.1.1-1 |
| 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） | *In vitro* | [redacted] | M4.2.1.1-3 |
| 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） | *In vitro* | [redacted] | M4.2.1.1-1 |
| 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） | *In vitro* | [redacted] | M4.2.1.1-1<br>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） | *In vitro* | [redacted] | M4.2.1.1-1<br>M4.2.1.1-2 |
| 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） | *In vitro* | [redacted] | 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） | *In vitro* | [redacted] | 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） | *In vitro* | [redacted] | 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） | *In vitro* | [redacted] | M4.2.1.1-1 |
| 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） | *In vitro* | [redacted] | M4.2.1.1-1 |
| - *In vivo* 薬力学的試験 | | | | |
| 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 | 経口投与 | [redacted] | M4.2.1.1-1 |

| 試験の種類 | 試験系 | 投与方法 | 実施施設 | CTD 記載箇所 |
|---|---|---|---|---|
| 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 | 経口投与 | [redacted] | 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 | 経口投与 | [redacted] | 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 | 経口投与 | [redacted] | 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 | - | [redacted] | M4.2.1.1-1 |
| MET 変異体を含む非小細胞肺癌及び肝細胞癌の患者由来異種移植（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 | 経口投与 | 参考文献（Ai J et al. 2018） | M4.3 |
| ヒト肺癌 EBC-1 ヌードマウス皮下移植腫瘍モデルにおける SCC244 の PK/PD 効果 | 雌 SCID マウス | 経口投与 | [redacted] | M4.2.1.1 |
| **副次的薬理試験** | | | | |
| 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） | *In vitro* | [redacted] | M4.2.1.1-1 |
| **安全性薬理試験** | | | | |
| 中枢神経系（CNS） | SD ラット | 経口投与 | [redacted] | M4.2.1.3-2 |
| 心血管系 | hERG を安定的に発現させた HEK293 細胞 | *In vitro* | [redacted] | M4.2.1.3-3 |
| 心血管系 | ビーグルイヌ | 経口投与 | [redacted] | M4.2.1.3-1 |
| 呼吸器系 | ビーグルイヌ | 経口投与 | [redacted] | M4.2.1.3-1 |
| **薬力学的薬物相互作用試験** | | | | |
| 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 | 経口投与 | [redacted] | M4.2.1.4 |

## 2.6.3.2 効力を裏付ける試験

| 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** |
| -<br>(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<br>(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。 |
| -<br>(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。 |
| -<br>(M4.2.1.1-1)<br>SCC244-Hs746T<br>(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。 |
| -<br>(M4.2.1.1-1)<br>SCC244-Hs746T<br>(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。 |
| -<br>(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。 |
| -<br>(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。 |
| -<br>(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。 |
| -<br>(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** |
| -<br>(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。<br>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。<br>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。<br>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。 |
| -<br>(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。<br>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。<br>試験動物数は、ブラ | 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 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | ンク対照群 12 匹、投与群各 6 匹とした。 | で、死亡したマウスはなかった。 |
| -<br>(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。 |
| -<br>(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。 |
| -<br>(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 | 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、 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | 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 IL8 を分析した。 | 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）<br>(M4.3) | MET 変異体を含む非小細胞肺癌及び肝細胞癌の患者由来異種移植（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。<br>化合物及び媒体を 1 日 1 回、18～21 日間経口投与した。<br>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。 |
| -<br>(M4.2.1.1-1) | ヒト肺癌 EBC-1 ヌ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 | 雌 SCID マウス | SCC244 ブランク対照群、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。 | SCC244 2.5、5、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、血中薬物濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0-t}$）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）。<br>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（$IC_{90}$）。 |

### 2.6.3.3 副次的薬理試験

| 副次的薬理試験 | | | |
|---|---|---|---|
| **試験番号（CTD記載箇所）** | **名称** | **試験方法** | **主な結果** |
| -<br>(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。 |

## 2.6.3.4 安全性薬理試験

試験薬：SCC244

| 評価対象臓器 | 動物種／株： | 投与方法 | 投与量 | グループ及び性別ごとの動物数 | 主要評価項目 | GLP 遵守 | 試験番号（CTD 記載箇所） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 中枢神経系 | SD ラット | 経口投与 | 2.5、15、100 mg/kg | 雌雄 8/群 | 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。 | 適 | [redacted]167R (M4.2.1.3-2) |
| 心血管系 | hERG を安定的に発現させた HEK293 細胞 | *in vitro* | 0.06、0.60、1.70、4.86、 10.19 μM | - | 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。 | 適 | [redacted]19-[redacted]101-SP (M4.2.1.3-3) |
| 心血管系 | ビーグルイヌ | 経口投与 | 2、8、32 mg/kg | 雌雄 4 | 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。 | 適 | [redacted]150D (M4.2.1.3-1) |
| 呼吸器系 | ビーグルイヌ | 経口投与 | 2、8、32 mg/kg | 雌雄 4 | 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。 | 適 | [redacted]150D (M4.2.1.3-1) |

HEK＝ヒト胚性腎細胞、GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

## 2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

| 薬力学的薬物相互作用試験 | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **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** | **重要な結果** |
| [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 5 mg/kg とオシメルチニブの 30 mg/kg の併用で 7/8 の腫瘍の完全退縮が、SCC244 の 10 mg/kg とオシメルチニブの 30 mg/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。 |

## 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.

以上の文献の写しは、M4.3 に添付した。