目次

2.4.1 非臨床試験計画概略 3
2.4.1.1 背景 3
2.4.1.2 非臨床試験計画 3
2.4.2 薬理試験 9
2.4.2.1 概要 9
2.4.2.2 効力を裏付ける試験 10
2.4.2.3 安全性薬理試験 12
2.4.3 薬物動態試験 14
2.4.3.1 概要 14
2.4.3.2 分析法 14
2.4.3.3 薬物動態及び免疫原性 15
2.4.4 毒性試験 19
2.4.4.1 概要 19
2.4.4.2 反復投与毒性 20
2.4.4.3 生殖発生毒性 22
2.4.4.4 局所刺激性 23
2.4.4.5 その他の毒性 24
2.4.5 総括及び結論 26
2.4.5.1 本剤の特徴 26
2.4.6 参考文献 30

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
ADA	anti-drug antibody（抗薬物抗体）
ADCC	antibody-dependent cellular cytotoxicity（抗体依存性細胞傷害）
ADCT	antibody-dependent cellular trogocytosis（抗体依存性トロゴサイトーシス）
AKT	protein kinase B（プロテインキナーゼ B）
ALT	alanine aminotransferase（アラニンアミノトランスフェラーゼ）
AST	aspartate aminotransferase（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）
AUC	area under the serum concentration-time curve（血清中濃度－時間曲線下面積）
AUC_{inf}	area under the serum concentration-time curve from time zero to infinite time（0 時間から無限大時間までの血清中濃度－時間曲線下面積）
$AUC_{t1\text{-}t2}$	area under the serum concentration-time curve from time t_1 to time t_2（t_1 時間から t_2 時間までの血清中濃度－時間曲線下面積）
CL	total body clearance（全身クリアランス）
C_{max}	maximum serum concentration（最高血清中濃度）
CNS	central nervous system（中枢神経系）
EC_{50}	50% effective concentration（50%有効濃度）
ECD	extracellular domains（細胞外領域）
ECLIA	electrochemiluminescent immunoassay（電気化学発光免疫測定）
EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid（エチレンジアミン四酢酸）
EGF	epidermal growth factor （上皮成長因子）
EGFR	epidermal growth factor receptor（上皮成長因子受容体）
ERK	extracellular signal-regulated kinase（細胞外シグナル制御キナーゼ）
Fc	fragment crystallizable（結晶可能フラグメント）
FCM	Flow Cytometry（フローサイトメトリー）
FcγR	Fcγ receptor（Fcγ 受容体）
FDA	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
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）
HGF	hepatocyte growth factor（肝細胞増殖因子）
IC_{50}	50% inhibitory concentration（50%阻害濃度）
ICH	International Council for Harmonisation（医薬品規制調和国際会議）
Ig	immunoglobulin（免疫グロブリン）
IHC	Immunohistochemistry（免疫組織染色）
mAb	monoclonal antibody（モノクローナル抗体）
MET	mesenchymal-epithelial transition factor, also known as hepatocyte growth factor receptor（間葉上皮移行因子，肝細胞増殖因子受容体として知られている。）
NK	natural killer（ナチュラルキラー）
NOAEL	no-observed-adverse-effect level（無毒性量）
NSCLC	non-small-cell lung cancer（非小細胞肺癌）
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development（経済協力開発機構）
R_{AUC}	AUC accumulation ratio（AUC の累積率）
rHuPH20	recombinant human hyaluronidase PH20（遺伝子組換えヒトヒアルロニダーゼ PH20）
SPR	surface plasmon resonance（表面プラズモン共鳴）
$T_{1/2}$	elimination half-life（消失半減期）
T_{max}	time to reach the maximum serum concentration（最高血清中濃度到達時間）
TMDD	target-mediated drug disposition（標的介在性薬物消失）
V_d	volume of distribution（分布容積）
WoE	weight of evidence（証拠の重み付け）
w/v	weight/volume

2.4.1 非臨床試験計画概略

2.4.1.1 背景

アミバンタマブ（別名，JNJ-61186372，CNTO 4424）は，低フコシル化したヒト免疫グロブリン（Ig）G_1 二重特異性モノクローナル抗体（mAb）であり，一方の抗原結合部位で上皮成長因子受容体（EGFR）と結合し，もう一方で肝細胞増殖因子（HGF）受容体（間葉上皮移行因子：MET）と結合する。

アミバンタマブは，リガンド結合による EGFR 及び/又は MET の活性化の阻害，EGFR 及び/又は MET のシグナル伝達機能の阻害，並びに受容体である EGFR 及び/又は MET の分解を誘導する。これらの機序により，がんの増殖及び進行を抑制する。さらに，アミバンタマブは細胞表面に EGFR 及び/又は MET が高発現した腫瘍に結合することで，免疫エフェクター細胞を介した抗体依存性細胞傷害（ADCC）及び抗体依存性トロゴサイトーシス（ADCT）を誘導し，EGFR 及び/又は MET が活性化している腫瘍を標的として抗腫瘍効果を発揮する。

2.4.1.2 非臨床試験計画

アミバンタマブの非臨床試験戦略は，申請する適応症［エクソン 20 挿入変異を有する非小細胞肺癌（NSCLC）］，投与経路及び投与レジメンに基づいて立案した。臨床試験を支持するためのアミバンタマブの非臨床試験として，効力を裏付ける試験，動物種選択のための薬理試験，安全性薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験を実施した。非臨床試験は医薬品規制調和国際会議（ICH）の「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」［M3（R2）］，「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス［S2（R1）］，「トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス」（S3A），「医薬品の生殖発生毒性試験ガイドライン」［S5（R3）］，「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」［S6（R1）］，「安全性薬理試験ガイドライン」（S7A）及び「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」（S9）に従って計画し，実施した。

全ての非臨床試験は，適切な科学的原則に従って実施した。重要な非臨床安全性試験は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）（21 CRF Part 58）及び経済協力開発機構（OECD）加盟国における OECD の GLP 原則を準拠して実施した。

非臨床試験の概要を表 2.4.1-1 に示す。用量/濃度及び試験施設に関する情報を含めた薬理試験，薬物動態試験及び毒性試験の一覧表をそれぞれ【2.6.3.1】，【2.6.5.1】及び【2.6.7.1】に示す。

表 2.4.1-1 アミバンタマブの非臨床試験一覧

Type of Study	Test System	Route, Dose Duration	GLP	Study Number	Location in CTD
PHARMACOLOGY					
Primary Pharmacodynamics					
Binding affinity to human EGFR ECD	Recombinant human EGFR ECD-Fc in solution	*In vitro*	No	DD15319	4.2.1.1.1
Binding affinity to human MET ECD	Recombinant human MET ECD-Fc in solution				
Blockade of human EGFR ECD binding to EGF	Recombinant human EGFR ECD-Fc captured on plates with Ru-labeled EGF in solution				
Blockade of human MET ECD binding to HGF	Recombinant human MET ECD-Fc captured on plates with biotinylated HGF in solution				
Inhibition of ligand-induced phosphorylation of EGFR and MET in cells	Human NSCLC cell lines	*In vitro*	No	DD14324 DD15327 Jarantow SW, et al. 2015	4.2.1.1.2 4.2.1.1.3 4.2.1.1.4
Disruption of homodimerization of EGFR:EGFR and heterodimerization of EGFR:ErbB2	Engineered reporter cell lines	*In vitro*	No	DD15309	4.2.1.1.5
Inhibition of downstream ERK and AKT signaling	Human NSCLC cell lines	*In vitro*	No	DD14324 Moores SL, et al. 2016	4.2.1.1.2 4.2.1.1.6
Effects on cell viability *in vitro*	Human NSCLC cell lines	*In vitro*	No	DD14324	4.2.1.1.2
In vitro cell viability assays testing combinations with anti-EGFR TKIs	Human NSCLC cell lines	*In vitro*	No	DD15330 DD15332	4.2.1.1.7 4.2.1.1.8
Binding affinity to human, cyno, and mouse FcRs	Recombinant human, cyno, and mouse FcγR ECDs in solution	*In vitro*	No	BD20[redacted]ST-002	4.2.1.1.9
Enhanced ADCC activity	Human NSCLC cell lines	*In vitro*	No	DD15319 REStr850ks DD20150 Vijayaraghavan S, et al. 2020	4.2.1.1.1 4.2.1.1.10 4.2.1.1.11 4.2.1.1.12
In vitro cell viability and apoptosis assays with and without PBMCs	Human NSCLC and gastric cancer cell lines	*In vitro*	No	DD20150 Vijayaraghavan S, et al. 2020	4.2.1.1.11 4.2.1.1.12
Downmodulation of EGFR, MET, pEGFR proteins *in vitro* with or without PBMCs	Human NSCLC and gastric cancer cell lines	*In vitro*	No	DD20150 Vijayaraghavan S, et al. 2020	4.2.1.1.11 4.2.1.1.12
Inhibition of H1975-HGF xenograft tumor growth and comparison to anti-EGFR therapeutics	Nude mice with H1975-HGF human tumor cells	IP, 2x/week for 3 weeks	No	DD15305	4.2.1.1.13
Amivantamab-IgG2sigma (silent Fc) activity in H1975-HGF xenograft tumors	Nude mice with H1975-HGF human tumor cells	IP, 2x/week for 3 weeks	No	DD15325	4.2.1.1.14
Inhibition of tumor growth in H1975 xenograft tumors with or without macrophage depletion	Nude mice with H1975 human tumor cells	IP, 2x/week for 3 weeks	No	DD20150 Vijayaraghavan S, et al. 2020	4.2.1.1.11 4.2.1.1.12
Induction of receptor downmodulation *in vivo*	Nude mice with H1975-HGF human tumor cells	IP, Days 1 & 4	No	DD15323 DD15315	4.2.1.1.15 4.2.1.1.16
Induction of receptor downmodulation *in vivo*	SCID mice with H1975-HGF human tumor cells	IP, single dose	No	DD15318 DD15321 DD15317	4.2.1.1.17 4.2.1.1.18 4.2.1.1.19
Inhibition of xenograft tumor growth in NSCLC model with WT EGFR and WT MET, plus HGF	SCID mice with SKMES-HGF human tumor cells	IP, 2x/week for 4 weeks	No	DD15314	4.2.1.1.20

Type of Study	Test System	Route, Dose Duration	GLP	Study Number	Location in CTD
Inhibition of xenograft tumor growth in NSCLC models with activating and resistance mutations in EGFR and activation of MET pathway	Nude or SCID mice with H1975-HGF human tumor cells	IP, 2x/week for 3 or 2 weeks	No	DD15303 DD15305 DD15315 DD15317 DD15325	4.2.1.1.21 4.2.1.1.13 4.2.1.1.16 4.2.1.1.19 4.2.1.1.14
Inhibition of xenograft tumor growth in NSCLC models with activating and resistance mutations in EGFR	Nude mice with H1975 or LU1868 (PDX) human tumor cells	IP, 2x/week for 3 weeks	No	DD15303 DD15305 DD15315 DD15334 DD15338	4.2.1.1.21 4.2.1.1.13 4.2.1.1.16 4.2.1.1.22 4.2.1.1.23
Inhibition of xenograft tumor growth in NSCLC models with WT EGFR and MET gene amplification	Nude mice with H1993, EBC-1, or LU1901 (PDX) human tumor cells	IP, 2x/week for 3 weeks	No	DD15301 DD15335 DD15338	4.2.1.1.30 4.2.1.1.24 4.2.1.1.23
Inhibition of xenograft tumor growth in NSCLC model with activating mutation in EGFR	SCID or nude mice with HCC827 human tumor cells	IP, 2x/week for 3 weeks	No	DD15310 DD15329	4.2.1.1.25 4.2.1.1.26
Inhibition of xenograft tumor growth in NSCLC models with activating mutation in EGFR and MET pathway activation	SCID or nude mice with HCC827-ER1, HCC827-HGF, or LU858 (PDX) human tumor cells	IP, 2x/week for 3 weeks	No	DD15311 DD15310 DD15329	4.2.1.1.27 4.2.1.1.25 4.2.1.1.26
Inhibition of tumor growth in PDX CRC models	Nude mice with CR0012, CR0029, CR0146, CR0588, CR1197, CR1574, or CRC0196 human tumor fragments	IP, 2x/week for 3 weeks (6 weeks for CRC0196)	No	DD15313 DD15333	4.2.1.1.28 4.2.1.1.29
Inhibition of xenograft tumor growth in gastric cancer models	SCID or nude mice with SNU-5 or GA0046 (PDX) human tumor cells	IP, 2x/week for 3 or 4 weeks	No	DD15301 DD15302 DD15331 DD15338	4.2.1.1.30 4.2.1.1.31 4.2.1.1.32 4.2.1.1.23
Inhibition of tumor growth in PDX esophageal cancer model	SCID mice with SG16 (PDX) human tumor fragments	IP, 2x/week for 6 weeks	No	DD15333	4.2.1.1.29
Inhibition of tumor growth in HCC models	Nude mice with MHCC97H, LI0801 (PDX) or LI1646 (PDX) human tumor fragments	IP, 2x/week for 3 weeks	No	DD15336	4.2.1.1.33
Genetically-engineered mouse lung tumor models	Genetically-engineered mouse lung tumor models expressing EGFR-Exon 19 del or EGFR-Exon 19 del/T790M/MET	IP, 2x/week for 4 weeks	No	DD15324 DD15320	4.2.1.1.34 4.2.1.1.35
Inhibition of tumor growth in mouse model with activating and resistance mutations (T790M, C797S) in EGFR	SCID hairless outbred mice with mouse Ba/F3-EGFR-TDC (T790M, DelE746_A750, C797S) cells	IP, 2x/week for 3 weeks	No	DD17041	4.2.1.1.36
EGFR and MET expression on the plasma membrane of LU0387 by cells by flow cytometory	EGFR Exon 20 Insertion NSCLC LU0387, FCM	*In vitro*	No	E5980-U2101 study 1	4.2.1.1.37
Target protein expression and phosphorylation on LU0387 cells with or without HGF stimulation by western blotting analysis	EGFR Exon 20 Insertion NSCLC LU0387	*In vitro*	No	E5980-U2101 study 2	4.2.1.1.38
Growth inhibition and suppression of EGFR and MET signaling pathways in patient derived cells harboring EGFR Exon 20ins mutations	EGFR Exon 20 Insertion NSCLCs DFCI-127 (P772_H773insPNP), DFCI-58 (H773_V774insNPH) and YU-1163 (S768_D770dup)	*In vitro*	No	Yun J, et al. 2020	4.2.1.1.39
Binding ability to YU-1163 cells	EGFR Exon 20 Insertion NSCLC YU-1163	*In vitro*	No	E302-20002-2	4.2.1.1.40
ADCC effect against YU-1163 cells	EGFR Exon 20 Insertion NSCLC YU-1163	*In vitro*	No	E302-20002-1	4.2.1.1.41
Binding ability and mediated ADCC effect against LU0387 cells	EGFR Exon 20 Insertion NSCLC LU0387	*In vitro*	No	E5980-U2101 study 5	4.2.1.1.42
Invasion and migration assay on LU0387	EGFR Exon 20 Insertion NSCLC LU0387	*In vitro*	No	E5980-U2101 study 4	4.2.1.1.43

Type of Study	Test System	Route, Dose Duration	GLP	Study Number	Location in CTD
Inhibition of tumor growth in PDX models with EGFR Exon 20 insertion alterations	Nude mice with LXFE2478, LU3075, or LU0387 human tumor fragments	IP, 2x/week for 3 weeks	No	DD20172	4.2.1.1.44
Inhibition of tumor growth in mouse models with EGFR Exon 20 insertion alterations	NOG mice with mouse Ba/F3 tumor cell lines expressing human EGFR with either D770delinsGY or H773_V774insH implanted subcutaniously; average tumor volumes of approx. 150-200 mm^3 at start of dosing	IP, 2x/week for 3 weeks	No	Yun J.et al. 2020	4.2.1.1.39
Inhibition of tumor growth in mouse models with EGFR Exon 20 insertion alterations	NOG or BALB/c nude mice with DFCI-127 (P772_H773insPNP) or YU-1163 (S768_D770dup) tumor cell lines; average tumor volumes of approx. 150-200 mm^3 at start of dosing	IP, 2x/week for 3 weeks	No	Yun J.et al. 2020	4.2.1.1.39
Inhibition of tumor growth in PDX models with EGFR Exon 20 insertion alterations	BALB/c nude mice with YHIM-1029 (D770_N771insG) specimens of the tumor tissue; average tumor volumes of approx. 150-200 mm^3 at start of dosing	IP, 2x/week for 3 weeks	No	Yun J.et al. 2020	4.2.1.1.39
Binding affinity to rodent EGFR ECD	Recombinant human, mouse and rat EGFR ECD-His in solution	*In vitro*	No	BD20[redacted]ST-001	4.2.1.1.45
Binding affinity to rodent MET ECD	Recombinant human, mouse, and rat MET ECD-Fc in solution	*In vitro*	No	BD20[redacted]ST-001	4.2.1.1.45
Cross-reactivity of [redacted] with tissues from human and standard toxicology species	Immunohistochemical study using frozen sections of tissues from human, cynomolgus monkey, dog, mouse, pig, rabbit, rat	*In vitro*	No	GMB1006-050	4.2.1.1.46
Binding to human and cynomolgus monkey EGFR and MET ECDs	Receptor ECD-Fc protein fusions and the F(ab')2 derivatives of the mAbs	*In vitro*	No	DD15319	4.2.1.1.1
Inhibition of ligand-induced phosphorylation of EGFR and MET in human and monkey cells	Human NSCLC cell line, human lung fibroblasts, cynomolgus monkey lung fibroblasts	*In vitro*	No	DD15326	4.2.1.1.47
Secondary Pharmacodynamics					
No studies conducted					
Safety Pharmacology (Assessed as part of the repeat-dose toxicity studies)					
1-Month tolerability	Monkey (cynomolgus)	IV, weekly for 4 weeks	No	T-20[redacted]-005	4.2.3.2.1
6-Week repeat-dose toxicity with 6-week recovery period	Monkey (cynomolgus)	IV, weekly for 5 weeks	Yes	T-20[redacted]-011	4.2.3.2.2
3-Month repeat-dose toxicity	Monkey (cynomolgus)	IV, weekly for 13 weeks	Yes	TOX14008	4.2.3.2.3
Pharmacodynamic Drug Interactions					
No studies conducted					
PHARMACOKINETICS					
Absorption					
PK and immunogenicity	Monkey (cynomolgus)	IV, single dose	No	CP20[redacted]PK-032	4.2.2.2.1
TK and immunogenicity	Monkey (cynomolgus)	IV, weekly for 4 weeks	No	T-20[redacted]-005	4.2.3.2.1
TK and immunogenicity	Monkey (cynomolgus)	IV, weekly for 5 weeks	Yes	T-20[redacted]-011	4.2.3.2.2

Type of Study	Test System	Route, Dose Duration	GLP	Study Number	Location in CTD
TK and immunogenicity	Monkey (cynomolgus)	IV, weekly for 13 weeks	Yes	TOX14008	4.2.3.2.3
TK	Monkey (cynomolgus)	SC, weekly for 2 weeks	Yes	T-20[redacted]-001	4.2.3.6.1
Distribution	No studies conducted				
Metabolism	No studies conducted				
Excretion	No studies conducted				
Pharmacokinetic Drug Interactions	No studies conducted				
Other					
PK/PD modeling in xenograft mouse models	PDX models for LU1868 and H1975-HGF	Not applicable	No	CP20[redacted]MS-080	4.2.2.7.1
TOXICOLOGY					
Single-Dose Toxicity	No studies conducted				
Repeat-Dose Toxicity					
1-Month tolerability	Monkey (cynomolgus)	IV, weekly for 4 weeks	No	T-20[redacted]-005	4.2.3.2.1
6-Week repeat-dose toxicity with 6-week recovery period	Monkey (cynomolgus)	IV, weekly for 5 weeks	Yes	T-20[redacted]-011	4.2.3.2.2
3-Month repeat-dose toxicity	Monkey (cynomolgus)	IV, weekly for 13 weeks	Yes	TOX14008	4.2.3.2.3
Genotoxicity	No studies conducted				
Carcinogenicity	No studies conducted				
Reproductive and Developmental Toxicity	No studies conducted				
Local Tolerance					
Local tolerance	Monkey (cynomolgus)	SC, weekly for 2 weeks	Yes	T-20[redacted]-001	4.2.3.6.1
Other Toxicity Studies					
Tissue cross reactivity	Normal human and cynomolgus monkey tissues (cryosections)	*In vitro*	No	T-20[redacted]-016	4.2.3.7.7.1
Tissue cross reactivity	Normal human tissues (cryosections)	*In vitro*	Yes	T-20[redacted]-010	4.2.3.7.7.2
Cytokine release assay	Cultured human whole blood	*In vitro*	No	T-20[redacted]-024	4.2.3.7.7.3
Serum compatibility	Cultured human serum	*In vitro*	No	T-20[redacted]-025	4.2.3.7.7.4
Hemolytic potential	Cultured human whole blood	*In vitro*	No	T-20[redacted]-026	4.2.3.7.7.5

ADCC = antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; CRC = colorectal cancer; cyno = cynomolgus monkey; ECD = extracellular domain; EGFR = epidermal growth factor receptor; Fc = fragment crystallizable; FCM = flow cytometry; GLP = Good Laboratory Practice; HCC = hepatocellular carcinoma; HGF = hepatocyte growth factor; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; MET = mesenchymal-epithelial transition factor/hepatocyte growth factor receptor; NSCLC = non-small cell lung cancer; PBMCs = peripheral blood mononuclear cells; PDX = patient-derived xenograft; pEGFR = phosphorylated EGFR; PK = pharmacokinetics; SC = subcutaneous; TKI = tyrosine kinase inhibitor; WT = wild-type

2.4.1.2.1 薬理試験

効力を裏付ける試験

アミバンタマブの薬効は，様々な *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施して検討した。*In vitro* 試験では，ヒト EGFR 及び MET への結合，EGFR 及び MET の活性化阻害，EGFR 及び MET を介する生物活性への影響，並びにヒト肺癌細胞株の細胞生存率に及ぼす影響を評価した。さらに，抗体の Fc 依存性の機能を増強し，EGFR 及び MET タンパク量の低下を介したアミバンタマブの作用を

in vitro で検討した。EGFR Exon 20 挿入変異を有する NSCLC を含むヒト肺癌異種移植マウスを用いて，アミバンタマブの作用機序及び有効性を *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。

動物種選択のための薬理試験

アミバンタマブの非臨床薬物動態及び毒性評価における薬理学的に適切な動物種として，カニクイザルを選択した。動物種の選択を裏付けるために，各動物種間でアミノ酸配列の相同性，標的分子への結合親和性及び細胞の機能活性を比較した。ヒトとカニクイザル及びチンパンジーの EGFR 細胞外領域（ECD）及び MET ECD はそれぞれ 99 及び 98%以上の高いアミノ酸配列の相同性を有していたが，ヒトとラット及びマウスの EGFR ECD 及び MET ECD の相同性はそれぞれ 88～89 及び 88%と低かった。ヒト及びカニクイザルの EGFR 及び MET へのアミバンタマブの結合の 50%有効濃度（EC_{50}）値は，ヒトの EGFR 及び MET でそれぞれ 0.38 及び 0.27 nmol/L，カニクイザルでそれぞれ 0.57 及び 0.3 nmol/L であり同程度であった。アミバンタマブの EGFR 及び MET の *in vitro* リン酸化に対するアミバンタマブの 50%阻害濃度（IC_{50}）値は，ヒト及びカニクイザルの MET ではそれぞれ 0.15 及び 0.22 nmol/L と同程度であり，EGFR ではそれぞれ 20.4 及び 248 nmol/L と，カニクイザルにおけるリン酸化の阻害活性はヒトの 1/10 程度であった。一方，表面プラズモン共鳴（SPR）法では，げっ歯類の EGFR 及び MET の ECD へのアミバンタマブの結合はほとんど認められなかった。

安全性薬理試験

安全性薬理試験は，ICH S6（R1），S7A 及び S9 のガイダンスに従い，心血管系，呼吸系及び中枢神経系（CNS）の評価項目を，6 週間及び 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験（GLP）に組み込んで実施した。アミバンタマブの静脈内投与は週 1 回，最長 3 カ月間（13 回投与）された。

2.4.1.2.2　薬物動態

薬理学的に適切な動物種であるカニクイザルを用いて，非臨床薬物動態試験を実施した。単回静脈内投与薬物動態試験，1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験，並びに 6 週間及び 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験において，薬物動態及び免疫原性［アミバンタマブに対する抗薬物抗体（ADA）の評価］を検討した。また，皮下投与での開発を検討していることから，遺伝子組換えヒトヒアルロニダーゼ PH20（rHuPH20）併用又は非併用下の 2 週間反復皮下投与局所刺激性試験を実施して薬物動態を検討した。

アミバンタマブは分子量約 148,000 Da のヒト IgG mAb であることから，一般に低分子医薬品で実施される従来の分布，代謝及び排泄を検討する試験は実施していない。しかし，その分子サイズから組織移行性は低く，標的分子の発現による分布への若干の影響が想定されるものの，主に血漿及び細胞外液に分布すると考えられる。また，ヒトでは内因性 IgG 抗体と同様にタンパク質の異化経路でペプチドやアミノ酸に分解されると考えられる。抗体医薬品の体循環からの消失には，ピノサイトーシス及びタンパク質加水分解等による非特異的な消失に加え，ADA を介した消失や，EGFR や MET といった膜結合型分子を標的とする抗体では標的介在性薬物消失（TMDD）[1)，2)] も関与する [3)]。

2.4.1.2.3 毒性

アミバンタマブを薬理学的に適切な動物種であるカニクイザルに週 1 回静脈内投与し，1 カ月間反復投与忍容性試験，並びに 6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験を実施した。6 週間反復投与毒性試験では，6 週間の休薬期間を設定し，毒性作用の可逆性及び遅発毒性を評価した。反復投与毒性試験では，一般毒性評価に加え，急性毒性（初回投与後の結果に基づく評価），投与部位の忍容性，トキシコキネティクス及び免疫原性（ADA 評価），並びに安全性薬理試験の評価項目を組み込んで評価した。*In vitro* 試験として，カニクイザル及びヒトの正常組織パネルを用いた組織交差反応性試験，ヒト血液を用いたサイトカイン放出試験，並びにヒト血液適合性試験及び溶血性試験を実施した。

アミバンタマブは抗体医薬品であり，分子量が大きいために核膜を通過せず，DNA や他の染色体成分と相互作用するとは考えにくいことから［ICH S6（R1）ガイドライン］，遺伝毒性試験は実施しなかった。また，アミバンタマブの毒性評価に適切な動物種がヒト以外の霊長類（カニクイザル）に限られていること及び進行がん患者の治療を目的とした医薬品の製造販売承認申請にがん原性試験は必要とされないことから（ICH S9 ガイドライン），がん原性試験は実施しなかった。

アミバンタマブの生殖発生毒性試験は実施しなかったが，ICH S5（R3），S6（R1）及び S9 ガイドライン，並びに米国食品医薬品局（FDA）「Oncology Pharmaceuticals: Reproductive Toxicity Testing and Labeling Recommendations Guidance for Industry」に従って，証拠の重み付け（weight of evidence: WoE）に基づいて評価した。すなわち，受胎能に及ぼす影響は反復投与毒性試験に基づいて評価し，胚・胎児発生及び母動物に及ぼす影響は，ノックアウトマウスの公表論文及び類薬の毒性試験の結果に基づいて評価した。

アミバンタマブの静脈内投与による局所忍容性は，週 1 回の静脈投与によるカニクイザルを用いた反復投与毒性試験において評価した。また，皮下投与での開発を検討していることから，アミバンタマブ単独又は rHuPH20 との併用でカニクイザルに週 1 回，計 2 回皮下投与して局所忍容性を評価した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 概要

アミバンタマブの開発は，EGFR Exon 20 挿入変異などの de novo 変異による EGFR チロシンキナーゼ阻害薬に対する初期耐性，並びに EGFR 療法に対して高頻度で生じる 1）EGFR の二次/三次変異及び 2）MET の増幅又は変異による耐性に対して，EGFR 及び MET の細胞外ドメインを標的とする二重特異性抗体が，有効であるという考えに基づいて開始された。

表 2.4.1-1 及び【2.6.3.1 参照】に示した一連の試験を実施し，アミバンタマブの薬理作用及び作用機序を評価した。

アミバンタマブは，受容体である EGFR 及び MET と各リガンドとの結合による活性化を阻害し，両受容体の分解を誘導することにより，下流シグナル伝達を阻害し，腫瘍の増殖及び進行を抑制する。また，アミバンタマブのフコシル化を低下させることでナチュラルキラー（NK）細胞，単球及びマクロファージなどの免疫エフェクター細胞との結合能を増強し，トロゴサイトー

シスを介して腫瘍細胞の EGFR 及び MET を減少させ，ADCC を介して腫瘍細胞の除去を促すことにより，EGFR 及び MET シグナル伝達の異常を伴う腫瘍の増殖を阻害すると考えられる。非臨床試験結果から，アミバンタマブは複数の機序を介して EGFR 及び MET シグナル伝達の異常を伴う腫瘍の進行を阻止する可能性がある。

異種移植マウスモデルを用いた非臨床試験から，アミバンタマブは Exon 19 欠失，L858R 変異，Exon 20 挿入変異などの EGFR の活性化変異，T790M 及び C797S などの二次/三次 EGFR 耐性変異，並びに MET 経路の活性化による耐性（HGF の過剰発現又は MET 遺伝子増幅による）を有するヒト腫瘍の増殖を阻害することが示された。

2.4.2.2 効力を裏付ける試験

2.4.2.2.1 ヒト EGFR 及び MET に対するアミバンタマブの結合能

アミバンタマブの EGFR 及び MET の ECD に対する親和性を SPR 法で測定したところ，ヒト EGFR ECD 及び MET ECD に，解離定数（K_D）値それぞれ 1.4 nmol/L 及び 40 pmol/L の親和性で結合した【2.6.2.2.1 参照】。酵素結合免疫吸着測定法による測定では，アミバンタマブは，ヒト EGFR ECD 及び MET ECD に濃度依存的に結合し，EC_{50} 値はそれぞれ 0.38 及び 0.27 nmol/L であった【2.6.2.2.12 参照】。

2.4.2.2.2 アミバンタマブの作用機序

アミバンタマブが腫瘍細胞表面の EGFR 及び/又は MET に結合することにより，リガンド誘導性シグナル伝達の阻害，EGFR 及び MET の分解，免疫エフェクター細胞が関与する複数の作用機序によって抗腫瘍効果が発揮される（図 2.4.2-1）。

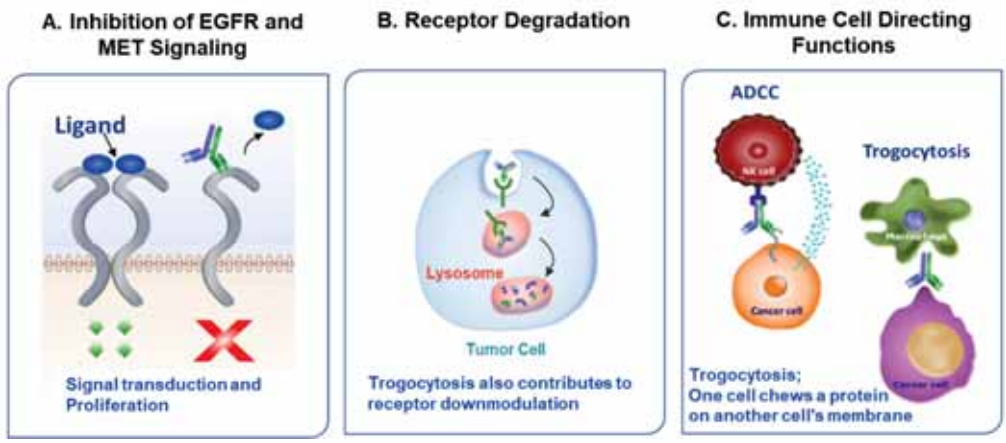


図 2.4.2-1 アミバンタマブの 3 つの抗腫瘍作用機序

トロゴサイトーシス（trogocytosis）；直接細胞同士が接触することによっておこる細胞膜の移行

アミバンタマブは，EGFR とそのリガンドである上皮成長因子（EGF）の結合，及び MET とそのリガンドである HGF の結合を阻害する（図 2.4.2-1-A）。その結果，リガンドによる EGFR 及び MET の活性化［NSCLC 細胞株パネルにおける EGFR のリン酸化（pEGFR）の IC_{50} 値は 1.5～85 nmol/L 及び MET のリン酸化（pMET）の IC_{50} 値は 0.5～13 nmol/L］，並びに増殖及び生存促進に重要なシグナル伝達経路の構成因子である細胞外シグナル制御キナーゼ（ERK）及びプロテインキナーゼ B（AKT）を介する下流シグナル伝達［NSCLC 細胞株パネルにおける ERK のリ

ン酸化（pERK）の IC_{50} 値は 0.5～76 nmol/L，及び AKT のリン酸化（pAKT）の IC_{50} 値は 0.3～22 nmol/L］が阻害された【2.6.2.2.1 及び 2.6.2.2.2 参照】。

アミバンタマブは EGFR 及び MET の分解を介して採取した腫瘍における EGFR 及び MET シグナル伝達を阻害する。両受容体の分解は免疫担当細胞の非存在下でも一部で認められたが，単球又はマクロファージの存在下で，免疫担当細胞との相互作用であるトロゴサイトーシスにより受容体の減少が増強される（図 2.4.2-1-B）。腫瘍を異種移植したマウスモデルにおいて，アミバンタマブの投与により採取した腫瘍の EGFR 及び MET は，それぞれ 66～79 及び 57～67%低下した。この低下にはアミバンタマブが免疫担当細胞上の Fc 受容体（FcR）に結合することによるトロゴサイトーシスが重要であると考えられる【2.6.2.2.5 及び 2.6.2.2.8 参照】。

アミバンタマブが，免疫細胞上に存在する Fcγ 受容体（FcγR）及び腫瘍細胞表面の EGFR 及び/又は MET に結合し，FcγR を介して ADCC，ADCT 及び腫瘍細胞のアポトーシスを誘導する（図 2.4.2-1-C）。NK 細胞上の FcγR の結合及び NK 細胞の活性化により ADCC が誘導される。また，単球及びマクロファージ上の FcγR との結合及びこれらの細胞の活性化はトロゴサイトーシスを誘導する。アミバンタマブは低フコシル化されているため，正常にフコシル化されている抗体よりも FcγRIIIa への結合が強く，免疫エフェクター細胞との Fc を介した結合が増強されているため強力な ADCC 活性を示し（EC_{50} 値 = 0.02～0.12 nmol/L），腫瘍細胞のアポトーシスが誘導される。異種移植マウスモデルにおいても，トロゴサイトーシスによる EGFR 及び MET 並びにそれらの下流シグナル伝達の低下が認められ，アミバンタマブの抗腫瘍活性にマクロファージが重要な役割を果していることが示された。EGFR 及び/又は MET のシグナル伝達の阻害は，このシグナル経路が生存に必要な細胞に細胞死を誘導する可能性があることから，アミバンタマブはリガンド非依存性の活性化変異を有する EGFR 及び MET を発現する腫瘍の増殖及び進行にも効果を示すと考えられる【2.6.2.2.4，2.6.2.2.5 及び 2.6.2.2.7 参照】。

アミバンタマブは，腫瘍細胞の EGFR 及び/又は MET と結合し，免疫エフェクター細胞の活性化を誘導することにより，複数の作用機序を介して有効性を発揮すると考えられる。しかし，アミバンタマブの全般的な臨床効果に関して，非臨床試験結果からは，それぞれの機序がどの程度寄与するかを明確にすることはできない。

2.4.2.2.3　腫瘍増殖抑制効果

アミバンタマブは，野生型又は変異型 EGFR を発現する細胞株又は患者由来腫瘍移植片の腫瘍，並びに/若しくは HGF 過剰発現又は MET 遺伝子の増幅により MET 経路が活性化された腫瘍を異種移植したマウスモデルに対して腫瘍増殖抑制効果を示した。また，他の EGFR 阻害剤に対する初期耐性に関与する遺伝子変異（例，Exon 20 挿入変異）又は獲得耐性に関与する変異（例，T790M 及び/又は C797S）を有する腫瘍，若しくは MET 経路の活性化によって耐性化した腫瘍を異種移植したモデルに対しても効果を示した【2.6.2.2.9，2.6.2.2.10，2.6.2.2.11.5 及び 2.6.2.2.11.6 参照】。

さらに，EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC に対するアミバンタマブの効果を，*in vivo* 及び *in vitro* で評価した。検討した EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC 細胞は，EGFR 及び MET を発現しており，これらの受容体のリン酸化が認められ，アミバンタマブは，これら受容体のリン酸化を減少させた。また，アミバンタマブはこれらの細胞に結合し ADCC などの免疫担当細胞を介した細

胞傷害を誘導し，EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC を異種移植したモデルにおいても腫瘍増殖抑制効果を示した。

ヒト腫瘍（LU1868 及び H1975-HGF）異種移植マウスモデルから得られた薬物動態，並びに複数の異種移植マウスモデルにおける腫瘍増殖抑制試験の結果を用いて薬物動態/薬力学モデリングを実施した。その結果を用いて，臨床において有効性を示す濃度範囲を予測した【2.6.4.8 参照】（4.2.2.7.1 参照）。

2.4.2.2.4　毒性評価の動物種の選択

アミバンタマブの非臨床安全性評価における薬理学的に適切な動物種としてカニクイザルを選択した。薬理学的に適切な動物種の選択に際し，アミノ酸配列の相同性，各動物種間で標的分子への結合親和性及び細胞の機能活性を比較した【2.6.2.2.12 参照】。

ヒト，カニクイザル及びチンパンジーの EGFR ECD は 99%以上の高いアミノ酸配列の相同性を有していたが，ヒトとラット/マウスの EGFR ECD の相同性は 88～89%と低かった。同様に，ヒト，カニクイザル及びチンパンジーの MET ECD の相同性は 98%以上と高かったが，ヒト及びラット/マウスの MET ECD の相同性は 88%と低かった［National Center for Biotechnology Information（NCBI）GenPept database：BLAST（basic local alignment search tool）analysis］。

ヒト及びカニクイザルの EGFR 及び MET へのアミバンタマブの結合（EC_{50} 値）は，ヒトの EGFR 及び MET に対しそれぞれ 0.38 及び 0.27 nmol/L，カニクイザルに対しそれぞれ 0.57 及び 0.3 nmol/L であり，同程度であった。リガンド誘導性の EGFR 及び MET のリン酸化に対するアミバンタマブの阻害能を，ヒト肺癌細胞株 H292，ヒト肺線維芽細胞及びカニクイザル肺線維芽細胞を用いて評価した。アミバンタマブの EGFR 及び MET の *in vitro* リン酸化に対する IC_{50} 値は，ヒト及びカニクイザルの MET ではそれぞれ 0.15 及び 0.22 nmol/L と同程度であり，EGFR ではそれぞれ 20.4 及び 248 nmol/L とカニクイザルにおけるリン酸化の阻害活性はヒトの 1/10 程度であった。一方，SPR 試験では，げっ歯類の EGFR 及び MET の ECD へのアミバンタマブの結合はほとんど認められなかった。

以上の結合能及び細胞機能に関する試験結果から，非臨床薬物動態及び毒性試験に用いる動物種としてカニクイザルを選択した。

2.4.2.3　安全性薬理試験

安全性薬理試験の評価項目（心血管系，呼吸系及び CNS）を，カニクイザル 6 週間及び 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験（GLP）に組み入れて実施した。6 週間投与毒性試験では投与後 1，5 及び 11 週に，3 カ月間投与毒性試験では投与後 6 及び 13 週に，血圧，心拍数及び呼吸数を評価した。6 週間投与毒性試験では，6 誘導心電図測定を投与後 5 及び 11 週に，3 カ月間投与毒性試験では，7 誘導心電図測定を投与後 6 及び 13 週に，無麻酔・拘束下で実施した。心血管系の評価では，心電図パラメータの変化，調律及び波形，血圧及び心拍数に，アミバンタマブの投与に関連した影響は認められなかった。呼吸数，体温及び 1 日 1 回の一般状態の観察，並びに麻酔下で実施した週 1 回の詳細な検査に基づく CNS 評価で，アミバンタマブ投与に関連する変化は認められなかった。3 カ月間投与毒性試験の最高試験用量で無毒性量（NOAEL）の 120 mg/kg/週では，Day 85 に投与したときのアミバンタマブの血清中曝露量の平均値は，Day 85 から Day 92 ま

での血清中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{Day\ 85\text{-}92}$）が 21,936 µg·day/mL 及び最高血清中濃度（C_{max}）が 5,232 µg/mL であった【2.6.2.4 及び 2.6.3.4 参照】。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 概要

薬理学的に適切な動物種であるカニクイザル（2.4.2.2.4 参照）を用いて，非臨床薬物動態試験を実施した。単回静脈内投与薬物動態試験（3，10 及び 30 mg/kg を投与），1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験（3，30 及び 100 mg/kg を週 1 回，計 4 回投与），6 週間反復静脈内投与毒性試験（20，60 及び 120 mg/kg を週 1 回，計 5 回投与）及び 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験（60 及び 120 mg/kg を週 1 回，計 13 回投与）において，薬物動態及び免疫原性を検討した。また，皮下投与での開発を検討していることから，rHuPH20（2,000 U/mL）併用又は非併用下の 2 週間反復皮下投与局所刺激性試験（125 mg/kg を週 1 回，計 2 回投与）を実施して薬物動態を検討した。

カニクイザルにおけるアミバンタマブの薬物動態は，膜結合型分子を標的とする他の mAb の薬物動態と同様であり，低用量で TMDD によるものと考えられる非線形の薬物動態が認められた。アミバンタマブを 3，10 及び 30 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの全身クリアランス（CL）は，それぞれ 19.93，12.67 及び 9.12 mL/day/kg であった。また，アミバンタマブを週 1 回反復静脈内投与したときの曝露量［C_{max} 及び血清中濃度－時間曲線下面積（AUC）］は，概して低用量側（3～30 mg/kg）では用量比例性を上回り，高用量側（20～120 mg/kg）では用量比例性を示した。アミバンタマブの消失半減期（$T_{1/2}$）は用量の増加とともに延長し，3 mg/kg を単回静脈内投与したときは 1.88 日であったが，120 mg/kg を週 1 回反復静脈内投与したときは 10.15 日であった。3 カ月間反復静脈内投与毒性試験において，血清中アミバンタマブ濃度は Day 57 までに定常状態に達し，最終回投与時の AUC には，初回投与時と比較して軽度（約 2 倍）の累積が認められた。アミバンタマブの薬物動態に明らかな性差は認められなかった。

カニクイザルを用いた局所刺激性試験において，rHuPH20 の併用又は非併用下，アミバンタマブを週 1 回 2 週間反復皮下投与したとき，アミバンタマブの曝露量（C_{max} 及び AUC）は，単独投与群と比較して rHuPH20 併用投与群の方がわずかに高かった。

単回静脈内投与薬物動態試験（N=12），1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験（N=9），並びに 6 週間（N=30）及び 3 カ月間（N=16）反復静脈内投与毒性試験では，アミバンタマブを投与した 67 例中 17 例のカニクイザルがアミバンタマブに対する ADA 陽性であった。また，ADA 陽性の 17 例中 5 例で，血清中アミバンタマブの消失が同じ投与群の他の動物と比較して速やかであった。なお，3 カ月間反復静脈内投与毒性試験では，アミバンタマブを投与した 16 例全例で ADA は検出されなかった。しかし，いずれの試験の ADA 陰性動物でも，血清中アミバンタマブにより ADA 検出が干渉を受けた可能性は除外できない。なお，アミバンタマブはヒト mAb であることから，動物における免疫原性はヒトにおける免疫原性【2.7.2.3.2.3 参照】を予測するものではない。

非臨床薬物動態試験の結果は以下に，各試験の詳細な情報は【2.6.5】に示す。

2.4.3.2 分析法

カニクイザルを用いた単回静脈内投与薬物動態試験，反復静脈内投与毒性試験及び反復皮下投与局所刺激性試験の血清中アミバンタマブ濃度の定量及び ADA の検出（静脈内投与試験のみ）には以下に示す電気化学発光免疫測定（ECLIA）法を用いた。

2.4.3.2.1 カニクイザル血清中アミバンタマブ濃度の定量

開発初期のカニクイザルを用いた非 GLP の単回静脈内投与薬物動態試験及び 1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験では，血清中アミバンタマブ濃度を測定するために qualified ECLIA 法を用いた。その後，GLP 準拠の 6 週間及び 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験並びに 2 週間反復皮下投与局所刺激性試験で得られたカニクイザル血清中アミバンタマブ濃度を測定するため，本分析法をバリデートした。血清中アミバンタマブの定量下限濃度はいずれも 0.20 μg/mL であった【2.6.4.2.1，2.6.5.2 A 参照】。

2.4.3.2.2 カニクイザル血清中 ADA の検出

カニクイザルを用いた非 GLP の単回静脈内投与薬物動態試験及び 1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験，並びに GLP 準拠の 6 週間及び 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験において，血清中 ADA を検出するためにバリデートされた ECLIA 法を用いた。スクリーニング評価で ADA 陽性の可能性のある試料を判定し，その後，必要に応じて特異性及び抗体価の評価を行った。ADA 陽性のカットポイントは，スクリーニング及び特異性の評価では normalized value（対照 naive 正常サル血清試料の平均測定値に対する分析対象試料の平均測定値の比）が 1.56 以上，抗体価の評価では 1.67 以上と設定した【2.6.4.2.2，2.6.5.2 B 参照】。

2.4.3.3 薬物動態及び免疫原性

2.4.3.3.1 単回静脈内投与薬物動態試験

雌雄カニクイザル（雌雄各 2 例／群）に，アミバンタマブを 3，10 及び 30 mg/kg の用量で単回静脈内投与し，薬物動態を検討した【2.6.4.3.1，2.6.5.3 参照】。血清中アミバンタマブの薬物動態パラメータを表 2.4.3-1 に示す。

単回静脈内投与後，C_{max} はおおむね用量比例性を示したが，0 時間から無限大時間までの血清中濃度－時間曲線下面積（AUC_{inf}）は用量比例性を上回って増加した。3，10 及び 30 mg/kg 投与群の CL は，それぞれ 19.93，12.67 及び 9.12 mL/day/kg と用量の増加とともに低下し，TMDD の飽和が示唆された。分布容積（V_d）は 51.51～59.27 mL/kg であった。アミバンタマブの薬物動態に明らかな性差は認められなかった。

アミバンタマブを投与した 12 例中 9 例（各群 3 例）が ADA 陽性であった。ADA 陽性動物の血清中アミバンタマブ濃度推移は，ADA 陰性動物とおおむね同様であったが，2 例で Day 22 以降低かった。

表 2.4.3-1 雌雄カニクイザルにアミバンタマブを 3，10 及び 30 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの薬物動態パラメータ［平均値（標準偏差）］

Dose (mg/kg)[a]	N	C_{max} (μg/mL)	AUC_{inf} (μg·day/mL)	CL (mL/day/kg)	V_d (mL/kg)	$T_{1/2}$[b] (day)
3	1M[c]/2F	57.55 (16.79)	150.57 (2.75)	19.93 (0.37)	54.05 (4.47)	1.88 (0.13)
10	2M/2F	212.39 (26.81)	791.42 (51.93)	12.67 (0.80)	59.27 (6.99)	3.26 (0.47)
30	2M/2F	603.14 (40.41)	3324.79 (404.84)	9.12 (1.07)	51.51 (7.55)	3.93 (0.49)

a: Vehicle: 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 0.04% (w/v) polysorbate 80, pH 5.7
b: Calculated using concentrations from Day 3 to the last quantifiable time point of each animal.
c: Result for 1 male excluded from mean calculation due to outlying serum concentration at 1-hour time point.

F = female; M = male; N = number of animals

2.4.3.3.2　反復投与

2.4.3.3.2.1　1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験（非 GLP）

雄カニクイザル（3 例／群）にアミバンタマブを 3，30 及び 100 mg/kg の用量で週 1 回計 4 回反復静脈内投与し，薬物動態を検討した【2.6.4.3.2.1，2.6.5.4 A 参照】。血清中アミバンタマブの薬物動態パラメータを表 2.4.3-2 に示す。

アミバンタマブを投与した全例で，投与期間を通して（Day 22 まで）血清中アミバンタマブが定量可能であった。初回（Day 1）及び 3 回目（Day 15）投与時のアミバンタマブの曝露量（C_{max} 及び AUC）はいずれも用量比例性を上回って増加し，また，3 回目（Day 15）投与時の曝露量には，初回（Day 1）投与時と比較して軽度の累積が認められた。

アミバンタマブを投与した 9 例中 2 例（30 及び 100 mg/kg 投与群の各 1 例）が ADA 陽性であった。ADA 陽性動物の血清中アミバンタマブ濃度推移は，同じ投与群の ADA 陰性動物と同様であった。

表 2.4.3-2 雄カニクイザルにアミバンタマブを 3，30 及び 100 mg/kg の用量で週 1 回計 4 回反復静脈内投与したときの薬物動態パラメータ［平均値（標準偏差）］

Dose (mg/kg/week)[a]	N	Following the Dose on Day 1		Following the Dose on Day 15		
		C_{max} (μg/mL)	AUC_{Day1-8} (μg·day/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{Day15-22}$ (μg·day/mL)	R_{AUC}
3	3M	53.44 (2.57)	115.92 (10.61)	69.87 (3.82)	183.29 (14.98)	1.58 (0.09)
30	3M	572.66 (65.70)	1,686.65 (145.72)	874.90 (132.59)	3,075.51 (246.09)	1.83 (0.21)
100	3M	2,250.33 (330.89)	6,801.63 (747.18)	3,083.79 (391.14)	11,988.96 (1746.51)	1.77 (0.23)

a: Vehicle: 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 0.04% (w/v) polysorbate 80, pH 5.7

F = female; M = male; N = number of animals; R_{AUC} = AUC accumulation ratio

2.4.3.3.2.2　6 週間反復静脈内投与毒性試験（GLP）

雌雄カニクイザル（雌雄各 5 例／群：主試験群は雌雄各 3 例／群，回復群は雌雄各 2 例／群）にアミバンタマブを 20，60 及び 120 mg/kg の用量で週 1 回計 5 回反復静脈内投与し，また回復群では 6 週間の回復期間を設定して薬物動態を検討した【2.6.4.3.2.2，2.6.5.4 B 参照】。血清中アミバンタマブの薬物動態パラメータを表 2.4.3-3 に示す。

アミバンタマブを投与した全例で，投与期間を通して（Day 36 まで）血清中アミバンタマブが定量可能であった。初回（Day 1）及び最終回（Day 29）投与時のアミバンタマブの曝露量（C_{max} 及び AUC）はいずれもおおむね用量比例性を示し，また，最終回（Day 29）投与時の曝露量には，初回（Day 1）投与時と比較して軽度の累積が認められた。アミバンタマブの薬物動態に明らかな性差は認められなかった。

回復群では，ほとんどの動物で回復期間を通して（20 mg/kg 投与群では Day 71 まで，その他の投与群では Day 78 まで）血清中アミバンタマブが定量可能であった。回復群の ADA 陰性動物における $T_{1/2}$ は用量増加とともに延長し，3.31～10.15 時間であった。

アミバンタマブを投与した 30 例中 6 例が ADA 陽性であった。ADA 陽性動物のうち 3 例では，同じ投与群の ADA 陰性動物と比較して，最終回投与後（20 mg/kg 投与群の 1 例）又は回復期間中（20 及び 120 mg/kg 投与群の各 1 例）の血清中アミバンタマブの消失が速やかであった。

表 2.4.3-3 雌雄カニクイザルにアミバンタマブを 20，60 及び 120 mg/kg の用量で週 1 回計 5 回反復静脈内投与したときの薬物動態パラメータ［平均値（標準偏差）］

Dose (mg/kg/week)[a]	N[b]	Following the Dose on Day 1		Following the Dose on Day 29			
		C_{max} (μg/mL)	AUC_{Day1-8} (μg·day/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{Day29-36}$ (μg·day/mL)	R_{AUC}	$T_{1/2}$[c] (day)
20	5M/5F	548.41 (92.76)	1,552.82 (275.40)	813.47 (157.71)	2,905.45 (912.61)	1.91 (0.63)	3.31 (NR[d])
60	5M/5F	1,598.61 (313.17)	5,095.43 (1,483.31)	2,582.96 (484.47)	10,386.14 (2,396.98)	2.07 (0.23)	4.50 (1.13)[e]
120	5M/5F	2,812.85 (637.07)	9,629.47 (2,063.19)	5,040.23 (1,441.22)	20,502.96 (6,806.08)	2.11 (0.43)	10.15 (1.94)[e]

a: Vehicle: 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 0.04% (w/v) polysorbate 80, pH 5.7
b: 5/sex/group (3/sex/main study group and 2/sex/recovery group).
c: Estimated during the recovery period (2M/2F).
d: Not reported since two male animals were excluded due to ADA positive.
e: One male animal was excluded due to ADA positive.

F = female; M = male; N = number of animals; NR= not reported; R_{AUC} = AUC accumulation ratio

2.4.3.3.2.3　3 カ月間反復静脈内投与毒性試験（GLP）

雌雄カニクイザル（雌雄各 4 例／群）にアミバンタマブを 60 及び 120 mg/kg の用量で週 1 回計 13 回反復静脈内投与し，薬物動態を検討した【2.6.4.3.2.3，2.6.5.4 C 参照】。血清中アミバンタマブの薬物動態パラメータを表 2.4.3-4 に示す。

アミバンタマブを投与した全例で，投与期間を通して（Day 92 まで）血清中アミバンタマブが定量可能であった。初回（Day 1）及び最終回（Day 85）投与時のアミバンタマブの曝露量（C_{max} 及び AUC）はいずれもおおむね用量に比例した。血清中アミバンタマブ濃度は Day 57 までに定常状態に達し，最終回（Day 85）投与時の曝露量には，初回（Day 1）投与時と比較して軽度の累積が認められた。アミバンタマブの薬物動態に明らかな性差は認められなかった。

本試験において，アミバンタマブを投与した 16 例全例で ADA は検出されなかった。

表 2.4.3-4 雌雄カニクイザルにアミバンタマブを 60 及び 120 mg/kg の用量で週 1 回計 13 回反復静脈内投与したときの薬物動態パラメータ［平均値（標準偏差）］

Dose (mg/kg/week)[a]	N	Following the Dose on Day 1		Following the Dose on Day 85		
		C_{max} (μg/mL)	AUC_{Day1-8} (μg·day/mL)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{Day85-92}$ (μg·day/mL)	R_{AUC}
60	4M/4F	1,469.01 (153.85)	4,836.37 (463.87)	2,609.87 (334.21)	11,337.66 (1,655.99)	2.35 (0.26)
120	4M/4F	2,701.46 (507.55)	9,429.83 (1,012.92)	5,232.33 (722.34)	21,935.86 (4,540.49)	2.33 (0.41)

a: Vehicle: 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 1 mg/mL L-methionine, 0.06% (w/v) polysorbate 80, 20 μg/mL EDTA, pH 5.7
Note: AUC_{t1-t2} interval with first and last doses identified as Days 1 and 8 or Days 85 and 92 instead of Days 0 and 7 or 84 and 91 respectively as in the study report.

F = female; M = male; N = number of animals; R_{AUC} = AUC accumulation ratio

2.4.3.3.2.4　2 週間反復皮下投与局所刺激性試験（GLP）

雄カニクイザル（4 例／群）に，rHuPH20（2,000 U/mL）併用又は非併用下，アミバンタマブを 125 mg/kg の用量で週 1 回計 2 回反復皮下投与し，薬物動態を検討した【2.6.4.3.2.4，2.6.5.4 D 参照】。血清中アミバンタマブの薬物動態パラメータを表 2.4.3-5 に示す。

アミバンタマブを投与した全例で，投与期間を通して（Day 12 まで）血清中アミバンタマブが定量可能であった。アミバンタマブ単独投与群及び rHuPH20 併用投与群の最高血清中濃度到達時間（T_{max}）は，1.50～3.00 日であった。初回（Day 1）及び 2 回目（Day 8）投与後の曝露量（C_{max} 及び AUC）は，いずれもアミバンタマブ単独投与群と比較して，rHuPH20 併用投与群の方がわずかに高かった。

表 2.4.3-5 雄カニクイザルに，rHuPH20 の併用又は非併用下，アミバンタマブを 125 mg/kg の用量で週 1 回計 2 回反復皮下投与したときの薬物動態パラメータ［平均値（標準偏差）］

Amivantamab Dose (mg/kg/week)[a]	N	Following the Dose on Day 1			Following the Dose on Day 8		
		C_{max} (μg/mL)	T_{max} (day)[b]	AUC_{Day1-8} (μg·day/mL)	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (day)[b]	$AUC_{Day8-12}$ (μg·day/mL)
125	4M	1,018.93 (123.67)	3.00 (1.15)	5,854.81 (616.50)	1,693.86 (195.93)	9.50 (1.00)	6,116.17 (698.62)
125+ rHuPH20 (2,000 U/mL)	4M	1,589.34 (286.79)	1.50 (0.58)	8,019.59 (1,065.53)	2,022.88 (264.57)	8.50 (0.58)	7,116.54 (1,166.10)

a: Vehicle: 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 1 mg/mL L-methionine, 0.06% (w/v) polysorbate 80, 20 μg/mL EDTA, pH 5.7
b: T_{max} expressed as the time elapsed from the first does.
Note: AUC_{t1-t2} interval with first and last doses identified as Days 1 and 8 or Days 8 and 12 instead of Days 0 and 7 or 7 and 11 respectively as in the study report. In addition, T_{max} following the dose on Day 8 was elapsed time from the first dose, which corresponds to 2.5 and 1.5 days for the amivantamab 125 mg/kg/week and amivantamab 125 mg/kg/week + rHuPH20 groups, respectively.

M = male; N = number of animals

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 概要

アミバンタマブの毒性試験では薬理学的に適切な動物種であるカニクイザル（2.4.2.2.4）を用いてアミバンタマブを週 1 回静脈内投与（臨床投与経路）し，1 カ月間反復投与忍容性試験（0，3，30 及び 100 mg/kg，計 4 回投与），6 週間反復投与毒性試験（0，20，60 及び 120 mg/kg，計 5 回投与）及び 3 カ月間反復投与毒性試験（0，60 及び 120 mg/kg，計 13 回）を実施した。これらの試験では，一般毒性評価に加え，急性毒性評価，トキシコキネティクス，安全性薬理評価及び ADA 評価を組み込んだ。生殖発生毒性試験は実施しなかったが，WoE に基づきアミバンタマブの生殖発生毒性を評価した。*In vitro* 試験として，カニクイザル及びヒトの正常組織パネルを用いた組織交差反応性試験，ヒト血液を用いたサイトカイン放出試験，血液適合性試験及び溶血性試験を実施した。また，皮下投与での開発を検討していることから，アミバンタマブ（125 mg/kg/日群）を単独又は rHuPH20（2,000 U/mL）との併用でカニクイザルに週 1 回，計 2 回皮下投与して局所忍容性を評価した。

アミバンタマブを最高 120 mg/kg までの用量で週 1 回，最長 3 カ月間静脈内投与（計 13 回）したときの忍容性は良好であり，毒性学的に意義のある変化は認められなかった。1 カ月間投与忍容性試験では 100 mg/kg/週群でトランスアミナーゼの軽度な増加がみられた。6 週間反復投与毒性試験では 20 mg/kg/週以上の群でトランスアミナーゼの軽微な増加（用量依存性なし）に加え，120 mg/kg/週群で好中球及び白血球の一過性で軽度な増加，並びに好酸球及びリンパ球の減少がみられたが，いずれも 3 カ月間反復投与毒性試験では認められなかった。6 週間反復投与毒性試験の雄で副腎重量の減少がみられたが，3 カ月間反復投与毒性試験では認められなかった。上記の血液学的及び血液生化学的パラメータ，並びに副腎重量に関連した病理組織学的変化は認められなかった。6 週間反復投与毒性試験で各投薬群の雌 1 例にみられたアルブミンの毒性学的に意義のない減少を除き，いずれの変化とも 6 週間の休薬後に回復性が認められた。その他の変化として，1 カ月間反復投与毒性試験のみに顔面の軽微な皮膚病変がみられた。6 週間反復投与毒性試験では病理組織学的変化は認められなかったが，3 カ月間反復投与毒性試験では 60 mg/kg/週以上の群で腎臓及び肝臓に病理組織学的変化がみられた。腎臓では間質性混合細胞浸潤を伴う尿細管再生がみられたが，関連する血液学的及び血液生化学的パラメータはみられず，これらの変化は損傷の修復を示唆する変化であると考えられた。肝臓では軽微から軽度のクッパー細胞肥大及び細胞質色素沈着がみられたが，これらの変化はアミバンタマブ由来免疫複合体のクリアランスに関連した変化であると考えられた。以上の結果に基づき，NOAEL は各試験ともに最高用量であり，1 カ月反復投与忍容性試験では 100 mg/kg/週，6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験ではいずれも 120 mg/kg/週であった。

ノックアウトマウスなどの公表論文，並びに類薬である EGFR 及び MET 阻害剤の生殖発生毒性試験結果に基づく WoE 評価では，EGFR 及び MET 経路の阻害により，胎盤，肺，皮膚，心臓及び神経系などの発生及び発達が損なわれ，胚・胎児の発生，出生後の発達及び生存に対して有害な影響を及ぼす可能性が示された。さらに，ラット及びヒト以外の霊長類を用いた生殖発生毒性試験では，EGFR 又は MET シグナル伝達阻害によって胚致死又は流産が生じることが示された。

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験において，120 mg/kg までの用量を週 1 回，最長 3 カ月間（計 13 回）静脈内投与したところ，アミバンタマブの局所忍容性は良好であった。さらに，皮下投与による局所刺激性試験では，投与容量を 2.5 mL として，アミバンタマブを 125 mg/kg の用量で単独，又は rHuPH20 の 2,000 U/mL との併用でカニクイザルに週 1 回，計 2 回皮下投与したところ，投与部位の忍容性は良好であった。

In vitro 試験では，アミバンタマブはヒトの血液及び血清と適合性があり，サイトカイン放出症候群のリスクが低いことが示された。サル及びヒトの組織交差反応性試験では，膜染色が複数組織の上皮及び神経鞘細胞，並びにヒト胎盤脱落膜細胞に認められた。

毒性試験の結果は以下に，各試験の詳細な情報は【2.6.7】に示す。

2.4.4.2 反復投与毒性

2.4.4.2.1 カニクイザル 1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験（非 GLP）

雄カニクイザル（1 群各 3 例，2.6～3.7 歳）にアミバンタマブを 0（生理食塩液），3，30 及び 100 mg/kg の用量で週 1 回，計 4 回（Day 1，8，15 及び 22）静脈内投与し，最終投与翌日に全例を剖検した【2.6.6.3.1，2.6.7.6 参照】。

アミバンタマブを 100 mg/kg/週までの用量で週 1 回，計 4 回投与したときの忍容性は良好であった。全例が計画剖検時まで生存した。一般状態，体重，摂餌状態，獣医師による身体検査，6 誘導心電図，体温，血圧，心拍数，呼吸数，血液学的検査，血液凝固検査，尿検査及び器官重量では，アミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。血液生化学的検査では，溶媒対照群と比較して，100 mg/kg/週群で Day 2 及び 23 にアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の軽度増加（3.06 及び 2.28 倍），Day 23 にアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の軽度増加（2.46 倍）がみられたのみであった。肝臓に関連する病理組織学的所見がみられなかったことから，これらは毒性学的に意義のない変化であると考えられた。

剖検及び病理組織学的検査では軽微な皮膚所見が数例の動物に認められた。これらは顔面の皮膚病変であり，暗赤色病巣が 30 及び 100 mg/kg/週群の各 3 例中 1 例，痂疲が 100 mg/kg/週群の 3 例中 1 例に認められた。病理組織学的検査では，100 mg/kg/週群で皮膚に潰瘍及び好中球性炎症が認められた。全群で投与部位の伏在静脈に軽微から中等度の急性出血，3 及び 100 mg/kg/週群で血管周囲の混合細胞浸潤がみられた。

アミバンタマブを 3，30 及び 100 mg/kg の用量で雄カニクイザルに週 1 回，計 4 回静脈内投与したときの忍容性は良好であった。本試験では，100 mg/kg/週群で病理組織学的変化を伴わない肝酵素の軽度増加及び数例に軽微な顔面の皮膚病変がみられたのみであった。これらの結果に基づき，NOAEL は 100 mg/kg/週と判断された。この用量における $AUC_{Day15\text{-}22}$ は 11,989 μg·day/mL，Day 15 投与時の C_{max} は 3,084 μg/mL であった。

2.4.4.2.2 カニクイザル 6 週間反復静脈内投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（GLP）

雌雄カニクイザル（1 群雌雄各 5 例，2.6～4.0 歳）にアミバンタマブを 0（生理食塩液），20，60 及び 120 mg/kg の用量で週 1 回，計 5 回（Day 1，8，15，22 及び 29）静脈内投与した。投与

終了後 6 週間の休薬期間（1 群雌雄各 2 例）を設定し，回復性を検討した。主試験群の動物は Day 36（最終投与 7 日後）に，回復群の動物は Day 78 に剖検した【2.6.6.3.2，2.6.7.7A 参照】。

投与期間中，アミバンタマブの忍容性は良好であった。死亡例は認められなかった。一般状態，体重，摂餌量，獣医師による身体的検査，眼科学的検査，6 誘導心電図，血圧，心拍数，呼吸数，血液凝固検査，尿検査，剖検及び病理組織学的検査では，アミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。投与期間終了時に 20，60 及び 120 mg/kg/週群の雄で副腎重量の減少がみられたが，用量依存的な変化ではなく，副腎に病理組織学的変化は認められなかった。

血液学的及び血液生化学的検査では，溶媒対照群と比較し，アミバンタマブ投与群で用量依存的ではない変化が認められた。120 mg/kg/週群では Day 2 に好中球（雄：1.75 倍，雌：2.63 倍）及び白血球（雌雄：1.48 倍）の増加，並びにリンパ球（雌：0.55 倍）及び好酸球の減少（雄：0.86 倍，雌：0.1 倍）がみられ，これらは生理学的ストレスに関連している変化であると考えられた。全投薬群で Day 2 に ALT の一過性で軽微な増加（1.71～3.21 倍）がみられた。20 及び 120 mg/kg/週の雌で Day 2（2.79 及び 1.42 倍），並びに全投薬群の雌で Day 30（1.87～2.10 倍）に AST の軽微な増加がみられた。肝臓に病理組織学的変化がみられなかったことから，ALT 及び AST の増加は毒性学的に意義のない変化であると考えられた。全投薬群で Day 30 にアルブミンの減少（0.81～0.90 倍），60 mg/kg/週以上の群で Day 2（1.21～1.25 倍）及び Day 30（1.27～1.39 倍）にグロブリンの増加がみられ，これに伴ってアルブミン:グロブリン比の減少も認められた。60 mg/kg/週以上の群で Day 30 にカルシウムの減少がみられたが，循環血中のカルシウムの大部分はアルブミンと結合していることから，カルシウムの減少はアルブミンの減少に関連した変化と考えられた。これらの変化は，各投薬群の雌 1 例でアルブミンの毒性学的に意義のない減少がみられたことを除き，6 週間の休薬期間終了時までに回復性が認められた。

以上の結果に基づき，NOAEL は 120 mg/kg/週と判断された。この用量における $AUC_{Day29\text{-}36}$ は 20,503 μg·day/mL，Day 29 投与時の C_{max} は 5,040 μg/mL であった。

2.4.4.2.3 カニクイザル 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験（GLP）

雌雄カニクイザル（1 群雌雄各 4 例，2.3～3.2 歳）にアミバンタマブを 0（5%ブドウ糖），60 及び 120 mg/kg の用量で週 1 回，計 13 回（Day 1，8，15，22，29，36，43，50，57，64，71，78 及び 85）静脈内投与した。Day 92（最終投与 7 日後）に全例を剖検した【2.6.6.3.3，2.6.7.7B 参照】。

投与期間中，アミバンタマブの忍容性は良好であった。死亡例は認められなかった。体重，摂餌状態，獣医師による身体検査，7 誘導心電図記録，血圧，心拍数，呼吸数，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固検査，尿検査，剖検及び器官重量では，アミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。

120 mg/kg/週群の雌 4 例に液状便がみられた。その他にアミバンタマブ投与に関連する一般状態及び体重の変化はみられず，雌 2 例では試験開始前にもみられたことから，液状便は毒性学的に意義のない変化であると判断された。

血液生化学的検査では，全投薬群の全測定時点でアルブミンの軽微な減少（雄：0.89～0.94 倍，雌：0.90～0.81 倍）及びグロブリンの軽微な増加（雄：1.07～1.15 倍，雌：1.06～1.23 倍）がみられたのみであった。これらの変化は軽度の急性期反応と一致していた。

60 mg/kg 以上の群で腎臓及び肝臓にアミバンタマブ投与に関連した変化がみられたが，血液学的及び血液生化学的パラメータの変化を伴っていなかった。腎臓では 60 及び 120 mg/kg/週群で軽微な尿細管再生がみられたが，両群間の発現頻度及び重篤度は同等であった。120 mg/kg/週群の雄 2 例では尿細管再生とともに軽微な間質性混合細胞浸潤が認められた。尿細管の変化は損傷の修復を示唆するものであった。肝臓では 60 及び 120 mg/kg/週群で軽微から軽度のクッパー細胞肥大及び細胞質色素沈着がみられたが，両群間の発現頻度及び重篤度は同等であった。この所見は，アミバンタマブ由来免疫複合体のクリアランスと関連していると考えられた。

以上の結果に基づき，NOAEL は 120 mg/kg/週と判断された。この用量における $AUC_{Day\ 85\text{-}92}$ は 21,936 μg·day/mL，Day 85 投与時の C_{max} は 5,232 μg/mL であった。

2.4.4.2.4　反復投与毒性試験における安全域

カニクイザルを用いた 6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験の NOAEL は最高用量の 120 mg/kg/週であり，この用量における血清中曝露量は，本剤の用法及び用量*を日本人被験者に静脈内投与したときの最も高い曝露量（2 サイクル目の 1 日目に本剤を投与後の曝露量，【2.7.2-付録-3 参照】）よりも高かった（表 2.4.4-1）。

表 2.4.4-1 アミバンタマブのカニクイザルを用いた反復投与毒性試験（GLP）における NOAEL での曝露量に対する安全域（動物/ヒト比）

Species	NOAEL (mg/kg/week)	C_{max} (μg/mL)	AUC (μg·day/mL)	Safety Margin	
				C_{max}	AUC
Human exposure [a] Japanese, Chemotherapy Combination Cohort Cycle 2 Day 1		956	4,685		
Monkey exposure[b]					
6-week study	120	5,040	20,503	5.3	4.4
3-month study	120	5,232	21,936	5.5	4.7

a: Human exposure values (Japanese) on Day 1 in Cycle 2 in the Phase 1 clinical trial (61186372EDI1001) is presented. $AUC_{0\text{-}168h}$ (112,439 μg·h/mL) was converted to μg·day/mL as the unit by dividing the value by 24 hours.
b: Monkey exposure values at the end of treatment: 6-week study - C_{max} on Day 29 and $AUC_{Day29\text{-}36}$ (T-20[redacted]011); 3-month study - C_{max} on Day 85 and $AUC_{Day85\text{-}92}$ (interval with last dose defined as Day 85 instead of Day 84 as in the study report) (TOX14008)
BW = body weight; GLP = Good Laboratory Practice; NOAEL = no observed adverse effect level

2.4.4.3　生殖発生毒性

アミバンタマブは進行がん患者への使用を目的としたバイオ医薬品であり，適切な動物種がヒト以外の霊長類（カニクイザル）に限られていることから，ICH S5（R3），S6（R1）及び S9 ガイドライン，並びに FDA「Oncology Pharmaceuticals: Reproductive Toxicity Testing and Labeling Recommendations Guidance for Industry」に従って生殖発生毒性試験は実施せずに，WoE に基づいて評価した。

---

* 本剤の用法及び用量：1サイクルの期間を3週間とし，体重80 kg未満の場合は1サイクル目の1日目に350 mg，2日目に1050 mg，8日目，15日目，2サイクル目の1日目に1400 mg，3サイクル目以降は1日目に1750 mgを，体重80 kg以上の場合は1サイクル目の1日目に350 mg，2日目に1400 mg，8日目，15日目，2サイクル目の1日目に1750 mg，3サイクル目以降は1日目に2100 mgを，カルボプラチン及びペメトレキセドと併用して点滴静注した。

アミバンタマブの受胎能は反復投与毒性試験の結果に基づいて評価した。アミバンタマブを120 mg/kg までの用量で週 1 回，最長 3 カ月間反復静脈内投与したところ，生殖器官に有害な影響は認められなかった（2.4.4.2 参照）。さらに，雄性生殖器への Ig の到達は限られていることが報告されており，雄性生殖器に影響を及ぼさないと考えられる[4)，5)，6)，7)]。

アミバンタマブの胚・胎児発生毒性試験，並びに出生前及び出生後の発生に関する試験は実施しなかったが，ノックアウトマウスの公表論文，並びに EGFR 及び MET 阻害剤の生殖発生毒性試験に関する公表論文及び社内資料に基づき WoE 評価を実施した[8)]。ノックアウトマウス及び類薬の生殖発生毒性試験結果に基づくと，EGFR 及び MET 経路の阻害により，胎盤，肺，皮膚，心臓及び神経系などの発生及び発達が損なわれ，胚・胎児発生，出生後の発達及び生存に対して有害な影響を及ぼす可能性が考えられる。ラット及びヒト以外の霊長類を用いて実施した生殖発生毒性試験では，EGFR 又は MET シグナル伝達阻害によって胚致死又は流産が起こることが示されている【2.6.6.6.2】。一般に，妊娠期間中に胎児への曝露が増加するときの発生段階に一致した妊娠及び胎児への影響がみられた。一方，EGFR シグナル伝達を阻害する mAb の [redacted] では，胚・胎児発生に関する所見が認められなかったが【2.6.6.6.2】，これは器官形成期において十分な胎児曝露を達成することに限界があることによるものと考えられた。

2.4.4.4 局所刺激性

アミバンタマブの静脈内投与による局所刺激性試験は実施せず，アミバンタマブの静脈内投与による局所忍容性は，カニクイザルを用いた週 1 回の静脈内投与による反復投与毒性試験において評価した【2.6.6.7.1 参照】。1 カ月間反復投与忍容性試験（非 GLP）では，投与部位の病理組織学的検査において，全投薬群（3，30 及び 100 mg/kg/週）で出血，3 及び 100 mg/kg/群で血管周囲の混合細胞浸潤がみられた。しかしながら，6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験（GLP）では 120 mg/kg/週までの用量をそれぞれ 5 及び 13 回静脈内投与したが，一般状態観察及び病理組織学的検査において投与部位にアミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。

カニクイザルを用いた局所刺激性試験（GLP）は，臨床使用時におけるアミバンタマブの皮下投与を支持するために実施した。雄カニクイザル（1 群 4 例，2.8～4.3 歳）に 0 及び 125 mg/kg のアミバンタマブと rHuPH20（2,000 U/mL）の併用，又は 125 mg/kg のアミバンタマブを単独で Day 1 及び 8 に皮下投与した。Day 12（最終投与 4 日後）に全例を剖検した【2.6.6.7.2，2.6.7.16 参照】。アミバンタマブ単独又は rHuPH20 との併用で雄カニクイザルに週 1 回，計 2 回皮下投与したときの忍容性は良好であった。死亡例は認められなかった。アミバンタマブ投与に関連性のある一般状態の変化として，アミバンタマブ単独投与群及び rHuPH20 との併用投与群のいずれの群においても液状便が 1～2 回みられ，アミバンタマブ単独投与群で褐色の粘液物質がみられたのみであった。これらの一般状態の変化は，発現頻度が低く，持続期間が短かった（1～2 日）ことから有害な影響ではなく，毒性学的意義のない変化であると考えられた。体重，体重増加量，摂餌量，剖検及び病理組織学的検査では，アミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。アミバンタマブの単独投与群及び rHuPH20 との併用投与群ともに皮膚の Draize スコアは 0（浮腫又は紅斑なし）であり，投与部位にアミバンタマブ投与に関連した影響は認められなかった。

2.4.4.5 その他の毒性

2.4.4.5.1 免疫原性

カニクイザルにおけるアミバンタマブに対する ADA の産生は，1 カ月間反復投与忍容性試験，6 週間反復投与毒性試験及び 3 カ月間反復投与毒性試験で評価した【2.6.6.8.1 参照】。アミバンタマブを週 1 回静脈内投与したカニクイザルの 55 例中 8 例が ADA 陽性であった。その内訳は，1 カ月間反復投与忍容性試験で 9 例中 2 例（30 及び 100 mg/kg/週で各 1 例）及び 6 週間反復投与毒性試験で 30 例中 6 例（20，60 及び 120 mg/kg/週群でそれぞれ 3，2 及び 1 例）であった。3 カ月間反復投与毒性試験では，アミバンタマブを投与した 16 例全例で ADA は検出されなかった。しかし，これらの試験の ADA 陰性動物では，血清中アミバンタマブにより ADA 検出が干渉を受けた可能性は除外できない。動物とヒトの抗原性/免疫原性の関連性は十分に証明されておらず，動物で得られた免疫原性に関する結果はヒトでの免疫原性反応を予測するものではない[9)]。

2.4.4.5.2 免疫毒性

カニクイザルを用いた反復静脈内投与毒性試験では免疫毒性は認められなかった【2.6.6.8.2 参照】。カニクイザルを用いた 1 カ月間反復投与忍容性試験，6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験では，リンパ組織（胸腺，下顎及び腸間膜リンパ節，扁桃，脾臓，腸管関連リンパ組織）にアミバンタマブ投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。血液学的検査でみられた唯一の変化は，6 週間反復投与毒性試験の 120 mg/kg/週群で Day 2 にみられた好中球数の軽度増加，並びにリンパ球数及び好酸球数の減少であった。これらの血液学的変化は高用量の 120 mg/kg/週でのみ認められたことから，アミバンタマブとの関連性は否定できなかったが，生理的ストレスに関連した変化と類似していた。

2.4.4.5.3 組織交差反応性

アミバンタマブがオフターゲットと交差反応する可能性を評価するために，*in vitro* 組織交差反応性試験を 2 試験（非 GLP 及び GLP）実施した。カニクイザル及びヒトの組織パネルは，欧州医薬品審査庁「Guideline on development, production, characterisation and specifications for monoclonal antibodies and related products」の Annex 及び FDA/Center for Biologics Evaluation and Research「Points to Consider in the Manufacture and Testing of Monoclonal Antibody Products for Human Use」に基づいて選択した。

カニクイザル及びヒトの組織パネルを用いた組織交差反応性試験（非 GLP）では，正常カニクイザル及びヒト組織（ドナー1 例/組織）の凍結切片を 5 及び 25 μg/mL のアミバンタマブと反応させて評価した【2.6.6.8.7.1，2.6.7.17 参照】。アミバンタマブによる膜染色は上皮で認められた。末梢神経及び/又は腸筋神経叢の神経周囲鞘細胞にも限定的な膜染色が認められた。カニクイザル及びヒトの組織に対するアミバンタマブの結合プロファイルはおおむね同様であった。

ヒトの組織パネルを用いた組織交差反応性試験（GLP）では，正常ヒト組織（ドナー3 例/組織）の凍結切片を 5 及び 25 μg/mL のアミバンタマブと反応させて評価した【2.6.6.8.7.1，2.6.7.17 参照】。アミバンタマブによる膜染色は，先に実施した非 GLP の組織交差反応性試験と同様に複数組織の上皮及び神経周囲鞘細胞のみに認められた。これらの上皮組織では EGFR 及び/又は

MET が発現することが報告[10)，11)，12)，13)，14)，15)，16)，17)]されており，この試験で予想される標的組織であった。また，アミバンタマブによる限定的な膜染色は，EGFR 発現が報告されている胎盤脱落膜細胞[17)]にも認められた。アミバンタマブは，複数組織の細胞質，細胞質突起，細胞質顆粒及び/又は細胞質小球とも交差反応性を示した。高分子は細胞内に拡散して細胞質や細胞質成分に到達することができないため，一般に，抗体の細胞質部位への結合に毒性学的意義はないと考えられている［ICH S6（R1）ガイドライン］。

2.4.4.5.4　サイトカイン放出

プロテイン A コーティングしたポリスチレンビーズにアミバンタマブを固相化（約 148.3 μg/mL）し，16 例のドナーから採取した希釈ヒト全血と 48 時間インキュベートして，サイトカイン放出［IL-1β，IL-2，IL-4，IL-6，IL-8，IL-10，IL-12p70，IL-17，IL-18，IFN-γ，TNF-α（単量体及び三量体）］を刺激する可能性について評価した【2.6.6.8.7.2，2.6.7.17 参照】。

階層的クラスター分析及び予測モデルアルゴリズムから，アミバンタマブの反応性は，サイトカイン放出症候群のリスクが低い陰性対照（リン酸緩衝生理食塩液及び自己血漿）と同様であることが示された。陽性対照である抗 CD28 スーパーアゴニストでは，11 種類のサイトカインのうち，8 種類のサイトカイン［IL-2，IL-4，IL-6，IL-10，IL-12p70，IL-17，IFN-γ，TNF-α（単量体及び三量体）］が有意に増加した。

これらの結果に基づき，アミバンタマブがサイトカイン放出症候群を引き起こす可能性は低いと判断された。

2.4.4.5.5　血液適合性及び溶血性

アミバンタマブ（0.025～25 mg/mL）及び対照を希釈ヒト血清及び血液と 37°C で 40 分間インキュベートし，アミバンタマブの血清適合性及び溶血性を評価した【2.6.6.8.7.3，2.6.6.8.7.4，2.6.7.17 参照】。アミバンタマブによる血清中の沈殿及び毒性学的に意義のある溶血は認められなかった。これらの結果に基づき，アミバンタマブは検討した濃度範囲でヒト血液と適合すると判断された。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 本剤の特徴

アミバンタマブは，EGFR 及び MET を標的とする低フコシル化ヒト IgG_1 二重特異性 mAb であり，EGFR Exon 20 挿入変異を含む活性化 EGFR 変異，EGFR 耐性変異（T790M 及び C797S），野生型 EGFR の過剰発現及び/又は MET 経路の活性化を有する腫瘍に対して有効性を示す。アミバンタマブは EGFR 及び MET の ECD とそれぞれ 1.4 nmol/L 及び 40 pmol/L の親和性で結合する。EGFR 及び MET のリガンドによる活性化を阻害し，受容体の分解を誘導することにより，腫瘍細胞のシグナル伝達経路を阻害し，腫瘍の増殖及び進行を抑制すると考えられる。さらに，EGFR 及び MET が高発現した腫瘍細胞の表面にアミバンタマブは結合することで，免疫エフェクター細胞の ADCC 及びトロゴサイトーシスを介して腫瘍細胞を破壊する。アミバンタマブは，細胞株又は患者由来の腫瘍片を移植して作成した異種移植マウスモデルにおいて，腫瘍の増殖を阻害した。野生型 EGFR 又は変異型 EGFR（例，Exon 20 挿入，T790M，C797S）を有するモデル，並びに HGF の過剰発現又は MET 遺伝子増幅により MET 経路が活性化したモデルにおいて，アミバンタマブの有効性が認められている。これは，アミバンタマブが，複数の作用機序を有しており，異常な EGFR 及び/又は MET シグナル伝達に起因する様々な腫瘍に対し抗腫瘍活性を発揮する可能性を示している。また，EDI1001 試験において EGFR Exon 20 挿入変異を有する NSCLC 患者の多くの検体で IHC によって EGFR 及び MET の発現が確認されたことから【5.3.5.4.4】，上述の複数の作用機序が，EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC に対するアミバンタマブの抗腫瘍活性に寄与すると考えられる。

カニクイザルの EGFR 及び MET に対するアミバンタマブの結合がヒトと同程度であること，アミバンタマブの *in vitro* での細胞を用いた機能活性で IC_{50} 値が MET は同程度，EGFR はヒトの約 10 倍程度であること，及びげっ歯類に対する交差反応性を示さないことに基づき，アミバンタマブの非臨床薬物動態及び毒性評価に薬理学的に適切な動物種としてカニクイザルを選択した。

カニクイザルにおけるアミバンタマブの薬物動態は，膜結合型分子を標的とする他の mAb の薬物動態と同様であり，低用量で TMDD によるものと考えられる非線形の薬物動態が認められた。アミバンタマブを静脈内投与したときの CL は用量増加に伴い低下し，$T_{1/2}$ は用量増加に伴い延長した。カニクイザルにアミバンタマブを週 1 回反復静脈内又は皮下投与した試験では，アミバンタマブを投与した全例で投与期間を通して血清中にアミバンタマブが認められた。3 カ月間反復静脈内投与毒性試験において，血清中アミバンタマブ濃度は Day 57 までに定常状態に達し，最終回投与時の AUC には，初回投与時と比較して軽度（約 2 倍）の累積が認められた。アミバンタマブの薬物動態に明らかな性差は認められなかった。

単回静脈内投与薬物動態試験，1 カ月間反復静脈内投与忍容性試験，並びに 6 週間及び 3 カ月間反復静脈内投与毒性試験では，アミバンタマブを投与した 67 例中 17 例（約 25%）のカニクイザルが ADA 陽性であった。しかし，いずれの試験の ADA 陰性動物でも，血清中アミバンタマブにより ADA 検出が干渉を受けた可能性は除外できない。なお，アミバンタマブはヒト mAb であることから，動物における免疫原性はヒトにおける免疫原性を予測するものではなく，臨床第 1 相試験（61186372EDI1001 試験）における ADA 陽性率は約 1%であった【2.7.2.3.2.3 参照】。

アミバンタマブの安全性は，安全性薬理評価項目を組み込んだ反復投与毒性試験，生殖発生毒性の WoE 評価，皮下投与による局所刺激性試験，ヒト血液を用いたサイトカイン放出試験，血液適合性試験及び溶血性試験によって評価した。

反復投与毒性試験として，カニクイザルを用いた 1 カ月間反復投与忍容性試験（0，3，30 及び 100 mg/kg，計 4 回投与），6 週間反復投与毒性試験（0，20，60 及び 120 mg/kg，計 5 回投与）及び 3 カ月間反復投与毒性試験（0，60 及び 120 mg/kg，計 13 回）を実施した。いずれの試験においてもアミバンタマブを週 1 回静脈内投与したときの忍容性は良好であった。これらの試験では，心血管系，呼吸系及び CNS に影響はみられなかった。一方，以下の所見がみられたが，いずれも毒性学的意義のある変化ではないと判断された。

- 1 カ月間反復投与忍容性試験のみで軽微な顔面皮膚病変が 30 及び 100 mg/kg/週群で認められた。
- 1 カ月間反復投与忍容性試験の 100 mg/kg/週群及び 6 週間反復投与毒性試験の 20 mg/kg/週以上の群で ALT 及び AST の軽微又は軽度な増加がみられたが，肝臓に関連する病理組織学的変化はみられなかった。ALT 及び AST の増加は，6 週間反復投与毒性試験において 6 週間の休後により回復した。これらトランスアミナーゼの増加は 3 カ月間反復投与毒性試験では認められなかった。
- 6 週間反復投与毒性試験のみで，好中球数増加による一過性（Day 2）で軽度な白血球数増加，並びにリンパ球数及び好酸球数の減少が認められた。
- 6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験では全投薬群でアルブミンの減少，60 mg/kg/週以上の群でグロブリンの増加がみられたが，これは軽度な急性期反応と一致した変化であった。6 週間投与毒性試験において，各投薬群各雌 1 例にみられたアルブミンの減少を除き，これらの変化は 6 週間の休薬により回復性が認められた。
- 6 週間反復投与毒性試験の雄のみで副腎重量の減少がみられたが，副腎に関連する病理組織学的変化は認められず，休薬により回復性が認められた。
- 3 カ月間反復投与毒性試験のみで腎臓に間質性混合細胞浸潤を伴う尿細管再生がみられたが，関連する血液学的及び血液生化学的パラメータの変化はみられず，腎臓の所見は損傷の修復を示唆する変化であると考えられた。
- 3 カ月間反復投与毒性試験のみで肝臓にクッパー細胞肥大及び細胞質色素沈着がみられたが，関連する血液学的及び血液生化学的パラメータの変化はみられず，肝臓の所見はアミバンタマブ由来免疫複合体のクリアランスに関連している可能性が高いと考えられた。

以上の結果に基づき，カニクイザルを用いた 6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験の NOAEL は最高用量の 120 mg/kg/週であると判断された。この用量における血清中曝露量は，本剤の用法及び用量を日本人被験者に静脈内投与したときの最も高い曝露量（2 サイクル目の 1 日目に本剤を投与後の曝露量，【2.7.2-付録-3 参照】）よりも高かった（表 2.4.4-1）。

EGFR 及び MET の特性は明らかにされており，これらの阻害の標的は上皮由来の一次組織及び生殖器系であることが示されている。皮膚毒性は，抗 EGFR 治療と関連する最もよくみられる副作用であり，発疹，ざ瘡様皮膚炎，粘膜炎症，皮膚潰瘍及び亀裂のように多様な症状を示す。

消化器系の事象もよくみられ，口内炎，悪心，下痢，嘔吐及び食欲減退などがあり，下痢が最もよくみられる事象である。低分子医薬品である EGFR チロシンキナーゼ阻害薬治療では，反応性代謝物の生成を介した肝毒性が最も多く報告されている[18)，19)，20)]。また，EGFR は肺傷害の修復において肺細胞にとって重要であることが報告されている[21)]。発熱，咳嗽，呼吸困難及び低酸素血症などの非特異的症状を示す間質性肺疾患は，EGFR 療法において最も重篤で致死的な有害事象と考えられている[22)]。MET 阻害では，粘膜炎，発疹，下痢及びざ瘡様皮膚炎などの類似した有害事象がみられるが，特有な有害事象として末梢性浮腫，好中球減少症，呼吸困難及び低アルブミン血症が報告されている[23)，24)，25)，26)，27)]。アミバンタマブの単剤投与で高頻度（30%以上）に報告されたアミバンタマブの主な有害事象は，注入に伴う反応，EGFR 阻害作用に関連する爪囲炎・ざ瘡様皮膚炎・発疹，MET 阻害作用に関連する低アルブミン血症であった【2.5.5.2.1 参照】。カニクイザルを用いた毒性試験では，アミバンタマブの臨床試験でも報告された所見として ALT，AST 及びアルブミンの変化のみがみられたが，いずれも用量依存性がない，又は一過性の変化であり，毒性学的意義のないものと考えられた。

反復静脈内投与毒性試験において局所忍容性を評価した結果，アミバンタマブの静脈内投与による忍容性は良好であった。1 カ月間反復投与忍容性試験では，投与部位の病理組織学的検査において，全投薬群（3，30 及び 100 mg/kg/週）で出血，3 及び 100 mg/kg/群で血管周囲の混合細胞浸潤がみられた。しかしながら，6 週間及び 3 カ月間反復投与毒性試験では 120 mg/kg/週までの用量をそれぞれ 5 及び 13 回静脈内投与したが，一般状態観察及び病理組織学的検査において投与部位にアミバンタマブ投与に関連した変化は認められなかった。皮下投与による局所刺激性試験では，アミバンタマブ単独投与及び rHuPH20 との併用投与ともに，忍容性は良好であった。

In vitro 組織交差反応性試験（非 GLP：サル及びヒト，GLP：ヒト）では，EGFR 及び MET の予想される発現と一致し，アミバンタマブによる膜染色がカニクイザル及びヒトの複数組織の上皮及び末梢神経鞘細胞，並びにヒト胎盤脱落膜細胞に認められた。*In vitro* のヒト血液適合性及び溶血性試験では，25 mg/mL までの濃度でアミバンタマブはヒト血液及び血清と適合性を示した。ヒト血液を用いたサイトカイン放出試験では，アミバンタマブのサイトカイン放出プロファイルは陰性対照と同様であり，サイトカイン放出症候群のリスクは低いことが示唆された。

アミバンタマブの生殖発生毒性試験は実施していない。カニクイザルを用いた反復静脈内投与毒性試験では，生殖器官及び組織に有害な影響は認められなかった。ノックアウトマウス及び類薬を用いた発生毒性試験の結果に基づき，EGFR 又は MET 経路阻害は胚・胎児の発生，並びに出生後の発達及び生存に対して有害な影響を及ぼす可能性があることが示された。

アミバンタマブは抗体医薬品であり，分子量が大きいために核膜を通過せず，DNA や他の染色体成分と相互作用するとは考えられないことから，遺伝毒性試験は実施しなかった。ICH S6（R1）ガイドラインでは，通常実施されてきた遺伝毒性試験は，バイオテクノロジー応用医薬品に対しては適切なものではないとされている。また，アミバンタマブはラット及びマウスに交差反応性（結合活性及び/又は機能活性）を示さないことから，がん原性試験は実施しなかった。ICH S6（R1）ガイドラインでは，標準的な非げっ歯類のがん原性試験はバイオテクノロジー応用医薬品に対しては一般的に不適当とされている。さらに，ICH S9 ガイドラインでは，がん原性試験は進行がん患者の治療を目的とした医薬品の製造販売承認申請には必要とされないことが示されている。

以上より，非臨床薬理，薬物動態及び毒性試験の結果から，Exon 20 挿入変異を有する転移性非小細胞肺癌患者の化学療法後の治療として，アミバンタマブを投与することの適切性が裏付けられた。

2.4.6 参考文献

1) Cao Y, et al. Incorporating target-mediated drug disposition in a minimal physiologically-based pharmacokinetic model for monoclonal antibodies. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2014;41:375-87.

2) Mager DE. Target-mediated drug disposition and dynamics. Biochem Pharmacol. 2006;72:1-10.

3) Ryman JT, et al. Pharmacokinetics of monoclonal antibodies. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol. 2017;6:576-88.

4) Pöllänen PP, et al. Microvascular permeability to IgG in the rat testis at puberty. Int J Androl. 1989;12:206-18.

5) Pöllänen P, et al. Vascular permeability to effectors of the immune system in the male rat reproductive tract at puberty. J Reprod Immunol. 1995;28:85-109.

6) Kaur G, et al. Sertoli cells--immunological sentinels of spermatogenesis. Semin Cell Dev Biol. 2014;30:36-44.

7) Johnson MH, et al. Protein and immunoglobulin content of rete testis fluid of rams. J Reprod Fertil. 1968;17:403-6.

8) [redacted]20[redacted]

9) Bugelski P, et al. Predictive power of preclinical studies in animals for the immunogenicity of recombinant therapeutic proteins in humans. Curr Opin Mol Ther. 2004;6:10-6.

10) Kajikawa K, et al. Expression of epidermal growth factor in human tissues. Immunohistochemical and biochemical analysis. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1991;418:27-32.

11) Fukuyama R, et al. Expression of epidermal growth factor (EGF) and the EGF receptor in human tissues. J Exp Zool. 1991;258:336-43.

12) Di Renzo MF, et al. Expression of the Met/HGF receptor in normal and neoplastic human tissues. Oncogene. 1991;6:1997-2003.

13) Uhlén M, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. Science. 2015;347:1260419.

14) Vega JA, et al. Expression of epidermal growth factor receptor (EGFr) immunoreactivity in human cutaneous nerves and sensory corpuscles. Anat Rec. 1994;240:125-30.

15) Ariza A, et al. Immunohistochemical detection of epithelial membrane antigen in normal perineurial cells and perineurioma. Am J Surg Pathol. 1988;12:678-83.

16) Wu J, et al. EGFR-Stat3 signalling in nerve glial cells modifies neurofibroma initiation. Oncogene. 2017;36:1669-77.

17） Zhang L, et al. Expression of epidermal growth factor receptor in human endometrium, decidua and trophoblast cells. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. 1999;34:357-9.

18） Li X, et al. Bioactivation of the epidermal growth factor receptor inhibitor gefitinib: implications for pulmonary and hepatic toxicities. Chem Res Toxicol. 2009;22:1736-42.

19） Li X, et al. Cytochrome P450-mediated bioactivation of the epidermal growth factor receptor inhibitor erlotinib to a reactive electrophile. Drug Metab Dispos. 2010;38:1238-45.

20） Teng WC, et al. Mechanism-based inactivation of cytochrome P450 3A4 by lapatinib. Mol Pharmacol. 2010;78:693-703.

21） Aoe K, et al. Sudden onset of interstitial lung disease induced by gefitinib in a lung cancer patient with multiple drug allergy. Anticancer Res. 2005:25:415-8.

22） Böhm R, et al. OpenVigil FDA - Inspection of U.S. American Adverse Drug Events Pharmacovigilance Data and Novel Clinical Applications. PLoS One. 2016;11:e0157753.

23） Scagliotti G, et al. Phase III multinational, randomized, double-blind, placebo-controlled study of tivantinib (ARQ 197) plus erlotinib versus erlotinib alone in previously treated patients with locally advanced or metastatic nonsquamous non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol. 2015;33:2667-74.

24） Scagliotti GV, et al. Tivantinib in combination with erlotinib versus erlotinib alone for EGFR-mutant NSCLC: An exploratory analysis of the phase 3 MARQUEE study. J Thorac Oncol. 2018;13:849-54.

25） Scagliotti G, et al. A randomized-controlled phase 2 study of the MET antibody emibetuzumab in combination with erlotinib as first-line treatment for EGFR mutation-positive NSCLC patients. J Thorac Oncol. 2020;15:80-90.

26） Hirsch FR, et al. Efficacy and safety results from a phase II, placebo-controlled study of onartuzumab plus first-line platinum-doublet chemotherapy for advanced squamous cell non-small-cell lung cancer. Clin Lung Cancer. 2017;18:43-9.

27） Spigel DR, et al. Results from the phase III randomized trial of onartuzumab plus erlotinib versus erlotinib in previously treated stage IIIB or IV non-small-cell lung cancer: METLung. J Clin Oncol. 2017;35:412-20.