目次

2.6.1 緒言 3

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
EGFR	epidermal growth factor receptor（上皮成長因子受容体）
MET	mesenchymal-epithelial transition factor, also known as hepatocyte growth factor（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。）

2.6.1 緒言

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 G_1 二重特異性モノクローナル抗体であり，一方の抗原結合部位で上皮成長因子受容体（EGFR）と結合し，もう一方の抗原結合部位で肝細胞増殖因子受容体（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及び抗体依存性トロゴサイトーシスを誘導し，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。

アミバンタマブの医薬品製造販売承認申請における効能・効果（案）及び用法・用量（案）を以下に示す。

【効能・効果（案）】

EGFR エクソン 20 挿入変異を有する手術不能又は再発非小細胞肺癌

【用法・用量（案）】

カルボプラチン及びペメトレキセドとの併用において，1 サイクルの期間を 3 週間とし，通常，成人にはアミバンタマブ（遺伝子組換え）として，以下の通り点滴静注する。なお，患者の状態により適宜減量する。

体重	サイクル	投与日	用量
80 kg 未満	1 サイクル目	1 日目	350 mg
		2 日目	1050 mg
		8 日目，15 日目	1400 mg
	2 サイクル目	1 日目	1400 mg
	3 サイクル目以降	1 日目	1750 mg
80 kg 以上	1 サイクル目	1 日目	350 mg
		2 日目	1400 mg
		8 日目，15 日目	1750 mg
	2 サイクル目	1 日目	1750 mg
	3 サイクル目以降	1 日目	2100 mg

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1 まとめ 4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.2.3 副次的薬理試験 36
2.6.2.4 安全性薬理試験 36
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 37
2.6.2.6 考察及び結論 37
2.6.2.7 図表 40
2.6.2.8 参考文献 40
2.6.3 薬理試験概要表 1

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）
AMP	amplified（増幅）
AUC	area under the serum concentration-time curve（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）
CHO	chinese hamster ovary（チャイニーズハムスター卵巣）
CI	confidence interval（信頼区間）
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）
ECG	electrocardiogram（心電図）
EGF	epidermal growth factor（上皮成長因子）
EGFR	epidermal growth factor receptor（上皮成長因子受容体）
EGFR-TDM	a doxycycline–inducible mouse lung cancer bitransgenic model that expresses EGFR-Exon 19 del-T790M/MET（Exon 19 欠失-T790M EGFR 及び MET を発現させるドキシサイクリン誘導性 2 遺伝子組換えマウス肺癌モデル）
ERK	extracellular signal-regulated kinase（細胞外シグナル制御キナーゼ）
Fab	fragment antigen-binding（抗原結合フラグメント）
Fc	fragment crystallizable（結晶可能フラグメント）
FCM	flow cytometory（フローサイトメトリー）
GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase（グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ）
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）
Ig	immunoglobulin（免疫グロブリン）
IP	intraperitoneal（腹腔内）
IV	intravenous（静脈内）
K_D	dissociation constant（解離定数）
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。）
MSD	Meso Scale Discovery
NK	natural killer（ナチュラルキラー）
NSCLC	non-small-cell lung cancer（非小細胞肺癌）
pAKT	phosphorylated AKT（リン酸化 AKT）
PBMC	peripheral blood mononuclear cell（末梢血単核細胞）
PDX	patient-derived xenograft（患者腫瘍組織移植モデル）
pEGFR	phosphorylated EGFR（リン酸化 EGFR）
pERK	phosphorylated ERK（リン酸化 ERK）
pMET	phosphorylated MET（リン酸化 MET）
SD	standard deviation（標準偏差）
SEM	standard error（標準誤差）
SPR	surface plasmon resonance（表面プラズモン共鳴）
TGI	tumor grown inhibition（腫瘍増殖阻害）
TKI	tyrosine kinase inhibitor（チロシンキナーゼ阻害薬）

略号又は略称	名称及び内容
WT	wild type（野生型）

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

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，もう一方の抗原結合部位で肝細胞増殖因子（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 又は MET の活性化を阻害，EGFR 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 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阻止する。さらに，アミバンタマブは細胞表面に EGFR 及び 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。

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

アミバンタマブは，EGFR の細胞外領域（ECD）に 1.4 nmol/L の親和性で，MET 受容体の ECD に 40 pmol/L の親和性で結合する。アミバンタマブは，EGFR とリガンドである上皮成長因子（EGF）の結合，及び受容体である MET とそのリガンドである HGF の結合を阻害する。その結果，EGFR 及び MET のリガンドによる活性化［非小細胞肺癌（NSCLC）細胞株パネルにおける EGFR のリン酸化（pEGFR）の 50%阻害濃度（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］のほか，増殖及び生存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; AKT のリン酸化（pAKT）については 0.3～22 nmol/L］が阻害された。

また，アミバンタマブは EGFR 及び MET の分解を介して，以降のシグナル伝達を阻害する。この阻害活性は，アミバンタマブと単球又はマクロファージとの相互作用によるトロゴサイトーシスを介して増強される。EGFR 及び MET が減少すると，EGFR 及び/又は MET のシグナル伝達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的に活性化した 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。

さらに，ナチュラルキラー（NK）細胞及びマクロファージなどの免疫細胞上の Fc 受容体を介して，EGFR 又は MET を発現している腫瘍細胞に ADCC 及び ADCT を誘導し，腫瘍細胞の排除を促す。アミバンタマブは低フコシル化しているのでエフェクター細胞との結合能が増強しており，*in vitro* で強力な ADCC 活性を示す［50%有効濃度（EC_{50}），0.02～0.12 nmol/L］。

アミバンタマブは，野生型（WT）EGFR 又は変異型 EGFR を発現する腫瘍，及び 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が示されている。

以上より，アミバンタマブは EGFR 又は MET のシグナル伝達異常を有する腫瘍に対し，様々な機序で腫瘍増殖抑制効果を発揮すると考えられる。

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は，ヒトの EGFR 及び MET の EC_{50} がそれぞれ 0.38 及び 0.27 nmol/L，カニクイザルはそれぞれ 0.57 及び 0.30 nmol/L であり，同程度であった。また，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 でそれぞれ 0.15 及び 0.22 nmol/L とほぼ同程度であり，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，げっ歯類の EGFR 及び MET へのアミバンタマブの結合は低かったことから，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。

2.6.2.1.2 安全性薬理試験

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（GLP）において，アミバンタマブを 20，60 又は 120 mg/kg/週の用量で 5 及び 13 週間静脈内（IV）投与したとき，心血管系，中枢神経系（CNS）及び呼吸系に関する所見は認められなかった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

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

【4.2.1.1.1】

アミバンタマブはヒト EGFR ECD 及び MET ECD と，それぞれ解離定数（K_D）値 1.4 nmol/L 及び 40 pmol/L の親和性で結合した（表 2.6.2-1）。また，アミバンタマブは，ヒト EGF とヒト EGFR ECD 及びヒト HGF とヒト MET ECD との結合を阻害した（図 2.6.2-1）。

表 2.6.2-1 ヒト EGFR ECD 及び MET ECD に対する結合親和性

	Average $K_D \pm$ SD (nmol/L)	
アミバンタマブ	EGFR ECD binding[a]	MET ECD binding[b]
	1.43 ± 0.17	0.040 ± 0.011

EGFR ECD 又は MET ECD と抗体 Fc 領域との融合タンパク質に対するアミバンタマブの結合親和性を，ProteOn 装置による表面プラズモン共鳴（SPR）法により測定した。
[a]；独立した 2 試験の計 4 回反復実験の結果，n=4，[b]；独立した 2 試験の 7 回反復実験の結果，n=7
ECD = extracellular domain; EGFR = epidermal growth factor receptor; Fc = fragment crystallizable; K_D = dissociation constant; n = number; MET = mesenchymal-epithelial transition factor; SD = standard deviation; SPR = surface plasmon resonance.

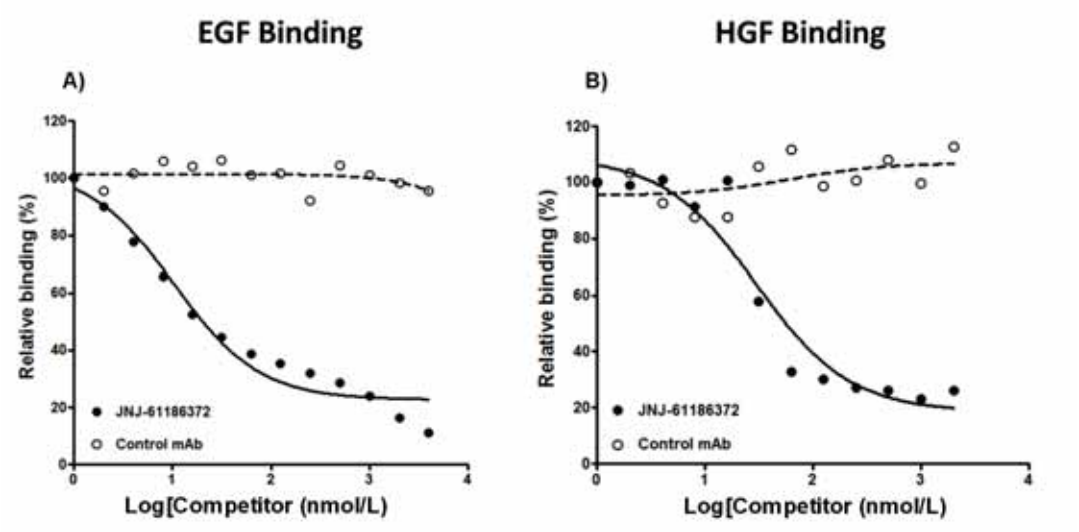


図 2.6.2-1 アミバンタマブによる EGF 及び HGF の結合阻害

A) マイクロウェルに EGFR ECD-Fc を固相化し，50 nmol/L のルテニウム標識ヒト EGF をアミバンタマブ（JNJ-61186372）又は対照 mAb（抗 MET mAb，CNTO9541）とともにインキュベートした。Meso Scale Discovery（MSD®）法により結合した EGF を測定した。B) MET ECD-Fc を抗-His mAb によって固相化し，10 nmol/L のビオチン化ヒト HGF をアミバンタマブ（JNJ-61186372）又は対照 mAb（抗 ST2 mAb）とともにインキュベートし，結合した HGF を測定した。

ECD = extracellular domain; EGF = epidermal growth factor; EGFR = epidermal growth factor receptor; Fc = fragment crystallizable; HGF = hepatocyte growth factor; MET = mesenchymal-epithelial transition factor.

2.6.2.2.2 アミバンタマブによる EGFR 及び MET 活性の阻害

【4.2.1.1.2】

アミバンタマブの *in vitro* 試験に用いたヒト肺癌細胞株を表 2.6.2-2 に示す。試験に用いた細胞株は，EGFR 活性化変異（L858R 変異，Exon 19 欠失又は EGFR 遺伝子増幅を有する細胞株），EGFR T790M 変異［EGFR 活性化変異がある場合に認められる EGFR-チロシンキナーゼ阻害剤（TKI）耐性変異］，並びに MET 遺伝子増幅及び EGFR T790M 変異を有していた。また，WT EGFR 及び遺伝子増幅のない MET を有する細胞株も用いた。これらは NSCLC 患者によく見られる EGFR 及び MET 遺伝子変異である。

表 2.6.2-2 アミバンタマブの薬理活性評価に用いたヒト肺癌細胞株の由来及び遺伝子変異

Cell line	Origin	EGFR	MET
H292	Mucoepidermoid NSCLC	WT	WT
SKMES-1	Squamous NSCLC	WT	WT
HCC827	Adenocarcinoma NSCLC	del (E746, A750)-AMP	WT
H1975	Adenocarcinoma NSCLC	L858R, T790M	WT
H3255	Adenocarcinoma NSCLC	L858R-AMP	WT
H1650	Bronchoalveolar NSCLC	del (E746, A750)	WT
HCC4006	Adenocarcinoma NSCLC	del (L747, S752)	WT
HCC2935	Adenocarcinoma NSCLC	del (E746, A750)	WT
H820	Adenocarcinoma NSCLC	del (E746, A750), T790M	WT-AMP
H1993	Adenocarcinoma NSCLC	WT	WT-AMP

L858R 及び deletion (del)変異は EGFR 活性化変異である。

AMP = amplified; del = deletion; NSCLC = non-small cell lung cancer; WT = wild-type.

2.6.2.2.2.1 EGF 及び HGF を介する EGFR 及び MET 活性化シグナル伝達のアミバンタマブによる阻害

【4.2.1.1.2，4.2.1.1.3，4.2.1.1.4，4.2.1.1.5】

EGF による pEGFR 及び HGF による pMET の誘導に対するアミバンタマブの阻害作用を，表 2.6.2-2 に示したヒト肺癌細胞株を用いて検討した。アミバンタマブは，いずれの細胞株でも，リガンド刺激下での EGFR 又は MET のリン酸化を濃度依存的に阻害した（図 2.6.2-2 及び表 2.6.2-3）（4.2.1.1.2 参照）。

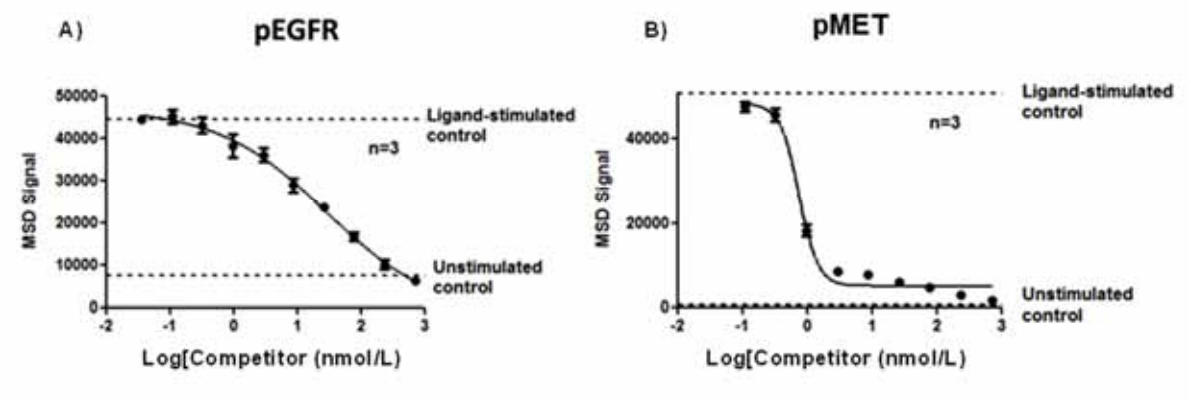


図 2.6.2-2 ヒト H292 肺癌細胞において EGF 及び HGF が誘導する EGFR 及び MET のリン酸化に対するアミバンタマブの阻害作用

H292 細胞を血清非存在下で一晩培養した後，アミバンタマブ存在下でリガンド（EGF 50 ng/mL 又は HGF 100 ng/mL）によって刺激し，各受容体のリン酸化を測定した。A)リン酸化 EGFR（pTyr1173）及び B)リン酸化 MET（pTyr1349）を MSD 法によって測定した。破線は非刺激又はリガンド刺激したときの対照を示す。結果を平均値 ± SEM で示す。
EGF = epidermal growth factor; EGFR = epidermal growth factor receptor; HGF = hepatocyte growth factor; MSD = Meso Scale Discovery; pEGFR = phosphorylated EGFR; pMET = phosphorylated MET; SEM = standard error of the mean.

表 2.6.2-3 ヒト肺癌細胞株パネルにおける EGFR 及び MET のリン酸化に対するアミバンタマブの IC_{50} 値

Cell line	pEGFR IC_{50} (nmol/L)	pMET IC_{50} (nmol/L)
H292	29	0.74
H1975	1.5	0.64
HCC827	28, 84	1.4, 1.6, 2.1
H820	2.9	3.8
H1993	4.2	13
HCC4006	13	1.7
H3255	85	1.2
H1650	NF	0.86
SKMES-1	NF	0.49
HCC2935	NF	0.97

MSD 法により，リン酸化 EGFR（pTyr1173）及びリン酸化 MET（pTyr1349）を定量した。IC_{50} 値は，GraphPad Prism ソフトウェアを用いて算出した。NF は，Prism で使われるアルゴリズムでは明確な値が得られない又は適合度が不十分な場合（95% CI の範囲が 4 倍超）を示す。表中で複数の値が示されている細胞株は反復試験の各データを表す。
CI = confidence interval; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; NF = no fit; pEGFR = phosphorylated EGFR; pMET = phosphorylated MET.

細胞表面上での EGFR と MET の発現比率が異なる細胞株を用い，二重特異性のアミバンタマブと EGFR 又は MET の各 1 価抗体の結合能を比較した。抗 EGFR 1 価抗体及び抗 MET 1 価抗体はアミバンタマブの EGFR 結合アーム又は MET 結合アームとそれぞれ非結合アーム［抗 HIV-gp120 又は抗 RSV-F の可変領域（Fv）］から構成され，非結合アームの Fv は検討した細胞に結

合しない。MET に対して EGFR の発現が高い細胞株（H292，比 5～10）では，アミバンタマブは，EGF 50 ng/mL 及び HGF 100 ng/mL の刺激により誘導される pMET に対して，抗 MET 1 価抗体よりも強力な阻害作用を示した。MET に対して EGFR の発現が低い細胞株（H1993，比 0.6）では，アミバンタマブは，抗 EGFR1 価抗体と比較して EGF 及び HGF により誘導される pEGFR をより強力に阻害した。以上より，アミバンタマブは対応する各 1 価の抗体と比較して，各細胞株で低発現の受容体のリン酸化が強く阻害されることが示された。このことは，アミバンタマブが高発現の受容体に結合すると，低発現の受容体への結合が促進され，その結果，低発現の受容体に対する阻害活性が増強されることを示唆している（4.2.1.1.3，4.2.1.1.4 参照）。アミバンタマブの MET 抗原結合フラグメント（Fab）は EGFR 結合 Fab よりも標的に対する結合親和性が高く，MET を介して腫瘍細胞表面にアミバンタマブが結合することでアミバンタマブの細胞表面の局所的濃度が上昇し，EGFR 結合 Fab の結合が促進される（クロスアーム結合効果）[1)]。その結果，EGFR のリン酸化阻害が増強されたと考えられる。

EGF 刺激による EGFR の同種二量体化（EGFR:EGFR）及び異種二量体化（EGFR:ErbB2）に対するアミバンタマブの作用を，PathHunter®アッセイを用いて検討した。Hunter 法は，各々では不活性な β-ガラクトシダーゼ（β-gal）の酵素供与体（ED）及び酵素受容体（EA）フラグメントを組み合わせて活性を有する酵素を形成させる。このアッセイでは，β-gal 活性が目的タンパク質の二量体化のレポーターとして機能する。それぞれの不活性なフラグメントを特定の受容体の融合タンパクとして作成した。EGFR がリガンドにより活性化されると 2 つの受容体が二量体を形成し，2 つの β-gal フラグメントが結合することで，活性のある酵素が形成される。この酵素活性を，化学発光シグナルとして定量する。EGF は同種二量体化及び異種二量体化を誘導するが，アミバンタマブは EGF による EGFR:EGFR の同種二量体化だけでなく，EGFR:ErbB2 の異種二量体化も阻害した（4.2.1.1.5 参照）。アミバンタマブはリガンドの結合を阻害するが（図 2.6.2-1），この結果は同種だけでなく異種二量体の形成も阻害することを示している。

2.6.2.2.2.2 ERK 及び AKT の下流リン酸化シグナルの阻害

【4.2.1.1.2，4.2.1.1.3，4.2.1.1.6】

アミバンタマブによる EGFR 及び MET のリン酸化の二重阻害が，下流シグナル伝達系へ及ぼす影響を調べるために，ERK 及び AKT のリン酸化を表 2.6.2-2 に示した細胞株で検討した。アミバンタマブは，pERK 及び pAKT とも強力に阻害し，IC_{50} 値はほとんどの細胞株で数 nmol/L 又はそれ以下であった（表 2.6.2-4 及び図 2.6.2-3）。一方，MET 遺伝子が増幅している細胞株である H820 細胞及び H1993 細胞では，pERK 及び pAKT の阻害は他の株と比較して弱いかあるいは全くみられなかった（4.2.1.1.2 参照）。

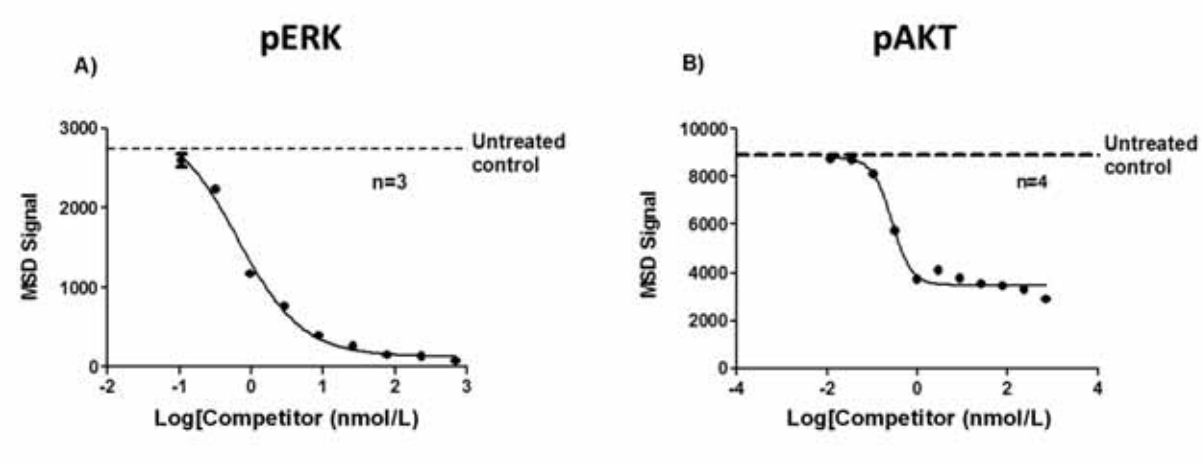


図 2.6.2-3 ヒト H292 肺癌細胞株における ERK リン酸化及び AKT リン酸化に対する アミバンタマブの阻害作用

H292 細胞を 10%の血清及び 7.5 ng/mL の HGF 存在下で培養し，A) pERK（pThr202/Tyr204；pThr185/Tyr187）及び B) pAKT（pS473）を MSD 法により測定した。破線はアミバンタマブ未処理対照を示す。
結果を平均値±SEM で示す。
HGF = hepatocyte growth factor; MSD = Meso Scale Discovery; pERK = phosphorylated ERK; pAKT = phosphorylated AKT; SEM = standard error of the mean.

表 2.6.2-4 ヒト肺癌細胞株パネルにおける pERK 及び pAKT に対する アミバンタマブの IC_{50} 値

Cell line	pERK IC_{50} (nmol/L)	pAKT IC_{50} (nmol/L)
H292	0.64	0.27
SKMES-1	0.54	ND
H1975	1.4, 1.7, 1.8	0.68, 0.87, 0.90
HCC2935	1.5	0.65
H3255	0.74	0.8
H820	76	22
H1650	0.53	0.41
HCC827	0.67, 0.90, 1.2	0.41, 0.58, 0.60
HCC4006	2.5	1.3
H1993	NF	NF

pERK（pThr202/Tyr204；pThr185/Tyr187）及び pAKT（pS473）を，MSD 法により定量した。IC_{50} 値は，GraphPad Prism ソフトウェアを用いて算出した。NF は，Prism で使われるアルゴリズムでは明確な値が得られなかった場合，又は適合度が不十分な場合（95% CI の範囲が 4 倍超）を示す。表中で複数の値が示されている細胞株は反復した試験の各データを表す。
CI = confidence interval; IC_{50} = half maximal inhibitory concentration; MSD = Meso Scale Discovery; ND = not determined; NF = no fit; pERK = phosphorylated ERK; pAKT = phosphorylated AKT.

また，アミバンタマブによる EGFR 及び MET の阻害と各 1 価抗体による EGFR 又は/及び MET の阻害を pERK 及び pAKT を指標に比較した。H292 細胞では，抗 EGFR 1 価抗体又は抗 MET 1 価抗体のいずれを用いても pERK を完全に阻害しなかったが，2 種類の 1 価抗体を併用することで pERK は完全に阻害され，IC_{50} 値は両抗体の濃度として 35 nmol/L であった。この結果から，この細胞株における pERK の完全な阻害には EGFR と MET の両方の阻害が必要であることが示された。一方，アミバンタマブにより pERK は完全に阻害され，IC_{50} 値は 0.64 nmol/L と低く，その阻害活性は 1 価抗体の併用よりも 55 倍強かった（$p<0.0001$，n=3，Extra sum-of-squares F test）。また，H292 細胞では抗 MET 1 価抗体単独で，各 1 価抗体の併用と同程度に pAKT を阻害

したことから，pAKT は EGFR シグナル伝達よりも MET シグナル伝達に依存することが示唆された。しかしながら，アミバンタマブは 1 価抗体の併用に比べて pAKT を 179 倍強く阻害したことから（p<0.0001，n=3，Extra sum-of-squares F test），アミバンタマブが 1 価抗体の併用ではみられない生物学的作用を有することが示唆された。同様に，H1975 細胞では，アミバンタマブの方が単価抗体の併用よりも pERK を 65 倍（p<0.0001，n=3，Extra sum-of-squares F test）及び pAKT を 75 倍（p<0.0001，n=3，Extra sum-of-squares F test）強力に阻害した（4.2.1.1.3，4.2.1.1.6 参照）。これらの結果は，抗 EGFR 1 価抗体又は抗 MET 1 価抗体と比較して，クロスアーム結合効果による EGFR 又は MET への結合及び受容体リン酸化阻害の増強（2.6.2.2.2.1 参照）が，下流シグナルの阻害にも寄与することを示している。

2.6.2.2.3 *In vitro* における細胞生存率に及ぼすアミバンタマブの影響

【4.2.1.1.2，4.2.1.1.7，4.2.1.1.8】

アミバンタマブは EGFR 及び MET のリン酸化，並びに pERK 及び pAKT を介した下流シグナル伝達を阻害するが，*in vitro* での細胞生存率に対する作用は部分的にしか認められなかった（4.2.1.1.2 参照）。

In vitro 肺癌細胞株パネルの通常の 2 次元培養において，エルロチニブ又は MET 阻害剤（JNJ-38877618）とアミバンタマブとの併用による細胞増殖抑制作用を検討したところ，相乗効果は認められなかった（4.2.1.1.8 参照）。別の *in vitro* 試験（4.2.1.1.7 参照）では，イソボログラムによる解析を行い，エルロチニブ，アファチニブ又は JNJ-38877618 とアミバンタマブとの併用は，それぞれの単剤よりも細胞増殖を強く阻害した。

アミバンタマブは，低接着 3 次元アッセイ法により，WT EGFR 及び変異 EGFR を有する細胞株の生存を阻害した。EGFR 活性型変異を有する細胞株を用いた低接着 3 次元アッセイでは，エルロチニブとアミバンタマブとの併用により，一次 EGFR 変異を有する肺癌細胞株 3 株中 2 株で作用の増強が認められた（4.2.1.1.2 参照）。一方，MET 遺伝子増幅を有する細胞株である SNU-5 及び H1993 に対し，いずれのアッセイ法でもアミバンタマブは *in vitro* で活性を示さなかったが，*in vivo* で SNU-5 腫瘍を完全に退縮させた（表 2.6.2-6，2.6.2.2.9 参照）（4.2.1.1.30，4.2.1.1.31 参照）ことから，腫瘍増殖抑制効果にアミバンタマブの Fc のエフェクター機能が関与している可能性が考えられた。すなわち，アミバンタマブは免疫細胞を介した作用などの別の機序を有し，免疫細胞の非存在下の *in vitro* 試験で得られた作用は，がん細胞によっては *in vivo* の活性を必ずしも反映していないと考えられる。

2.6.2.2.4 アミバンタマブの Fc 依存性の作用

【4.2.1.1.9，4.2.1.1.1，4.2.1.1.10，4.2.1.1.11，4.2.1.1.12】

腫瘍細胞表面に EGFR 及び MET 受容体が高発現すると，アミバンタマブを介して免疫エフェクター細胞の標的となり，腫瘍細胞は ADCC や ADCT などの機序を介して傷害される。アミバンタマブは，遺伝子組換えによりフコシル化を抑制したチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株から産生された抗 EGFR 及び抗 MET 抗体を用いて，低フコース量の糖鎖を有する二重特異性抗体として製造された。NK 細胞上のヒト FcγRIIIa は ADCC 活性に重要であり，低フコシル化抗体と強く結合することで標的がん細胞を強力かつ効率的に傷害する [1)]。SPR 法では，アミバン

タマブは通常のフコース量の糖鎖を有する改変抗体と比較して，ヒト FcγRIIIa に対し 4〜8 倍強い結合を示した（4.2.1.1.9 参照）。

ヒト末梢血単核細胞（PBMC）中の NK 細胞を用い，アミバンタマブ存在下で腫瘍細胞株に対する ADCC 活性を *in vitro* で検討した。さらに，遺伝子組換えを行っていない CHO 細胞で作成した通常のフコース量の EGFR-MET 二重特異性抗体及び通常のフコース量の抗 EGFR モノクローナル抗体であるセツキシマブとアミバンタマブを比較した。

低フコシル化したアミバンタマブは，通常のフコース量の EGFR-MET 二重特異性抗体に比べ，ADCC 活性が高かった（図 2.6.2-4）。WT EGFR 又は変異 EGFR を発現する細胞株，若しくは WT MET 又は MET 遺伝子が増幅した肺癌細胞株でも，同様の結果が得られた（表 2.6.2-5）。低フコシル化したアミバンタマブの ADCC 活性［EC_{50} 及び/又は最大溶解率（%）］は，セツキシマブと同程度であった。しかし，一部の細胞株では，アミバンタマブの ADCC 活性の方が高かった（4.2.1.1.1，4.2.1.1.10 参照）。

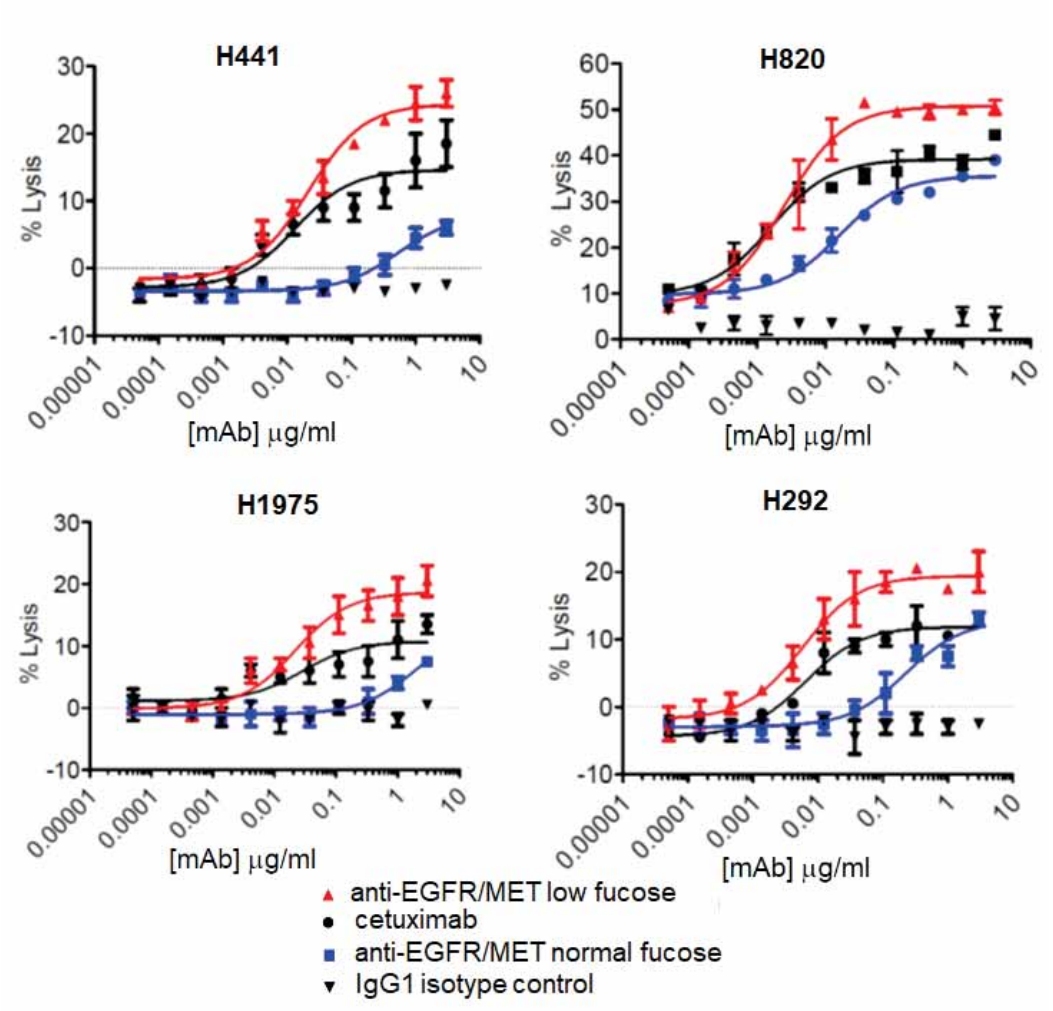


図 2.6.2-4 アミバンタマブと通常フコース量の二重特異性抗体又は
抗 EGFRmAb の抗体依存性細胞傷害活性の比較

腫瘍細胞を色素標識し，ヒト PBMC 及び希釈抗体とともに 2 時間インキュベートした。インキュベート後に腫瘍細胞から放出された色素を定量し，細胞溶解率を求め，細胞傷害活性を測定した。各シンボル及び Error bar は，それぞれ平均値及び測定値の範囲（n=2）を示す。
Ab = antibody; EGFR = epidermal growth factor receptor; Ig = immunoglobulin; mAb = monoclonal antibody; PBMC = peripheral blood mononuclear cells.

表 2.6.2-5 ヒト肺癌細胞株における ADCC 活性プロファイル

Cell line		Cetuximab (normal fucose)	Amivantamab (low fucose)	EGFR-MET bispecific (normal fucose)
H1975 EGFR: L858R; T790M MET: WT KRAS: WT	EC_{50} (nmol/L)	0.05	0.06	0.80
	Maximal lysis (%)	20	24	18
H292 EGFR: WT MET: WT KRAS: WT	EC_{50} (nmol/L)	0.04	0.03	NA
	Maximal lysis (%)	12	19	NA
H820 EGFR:Δ (E746 A750) T790M MET: AMP KRAS: WT	EC_{50} (nmol/L)	0.02	0.02	0.32
	Maximal lysis (%)	41	51	37
H441 EGFR: WT MET: WT KRAS: G12V	EC_{50} (nmol/L)	0.07	0.12	NA
	Maximal lysis (%)	5	22	NA

2 回の測定の平均を示す。
AMP = amplified; EC_{50} = 50% maximally effective concentration; EGFR = epidermal growth factor receptor; MET = mesenchymal-epithelial transition factor; NA = not applicable (data not included if R2 values were less than 90%); WT = wild-type.

PBMC を用いた別の試験系（標識腫瘍細胞の画像解析）で，腫瘍細胞生存率への影響を検討した（4.2.1.1.11，4.2.1.1.12 参照）。この試験系において，PBMC 非存在下では細胞増殖の抑制及びアポトーシスの誘導は認められなかった。PBMC を添加することでアミバンタマブは濃度依存的に腫瘍細胞の増殖を抑制し，72 時間後に最大の抑制作用が認められた（IC_{50} 値=0.005 μg/mL）。また，PBMC 存在下でアミバンタマブの濃度に依存したアポトーシスの誘導が認められた（IC_{50} 値=0.0004 μg/mL）。アミバンタマブと同じく EGFR 及び MET に結合する抗原結合領域を有するが，Fc 領域を IgG_1 の代わりに IgG_2 sigma とした抗体（EGFR/MET-IgG_2 sigma）でも検討した。IgG_2 sigma を有する抗体は，NK 細胞やマクロファージなどの免疫細胞の Fc 受容体との相互作用が低い。EGFR/MET IgG_2 sigma 抗体は，増殖又はアポトーシスに対する作用が小さかった（図 2.6.2-5）。これらの結果は，アミバンタマブの Fc 領域と免疫細胞の相互作用が腫瘍細胞傷害活性に重要であることを示唆する。

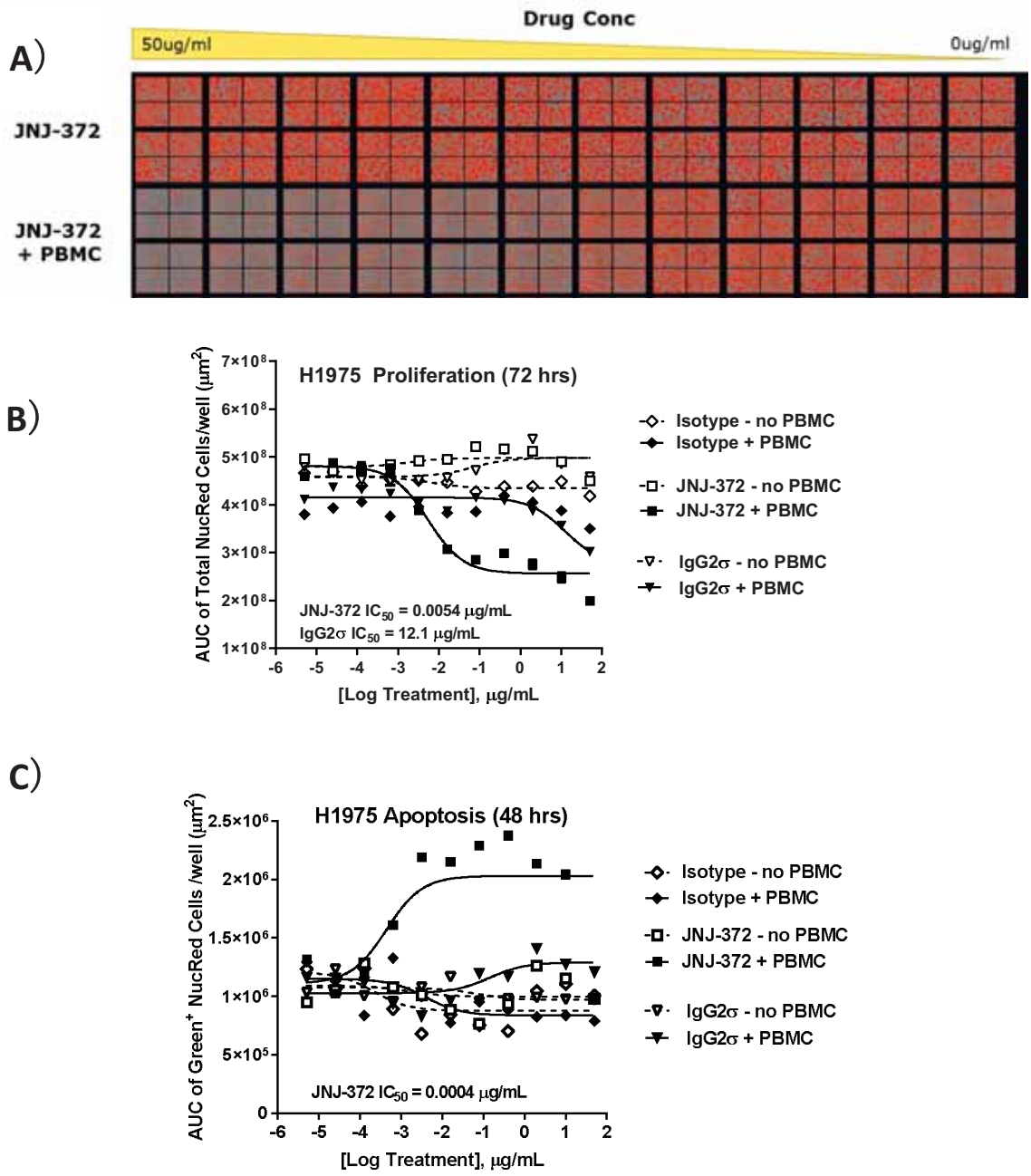


図 2.6.2-5 免疫細胞と Fc 領域との相互作用による H1975 腫瘍細胞に対する
アミバンタマブの増殖抑制作用及びアポトーシス誘導作用

A) NucLight Red 標識した H1975 細胞を PBMC 存在下（E:T 比 10:1）又は非存在下で，72 時間培養したときの生存率に及ぼすアミバンタマブ（JNJ-372）濃度依存的な作用
B) H1975 細胞を PBMC 存在下（E:T 比 10:1）又は非存在下で 72 時間培養したときの生存率（4 時間ごとに NucRed 面積/ウェルを測定し AUC を求めた。）
C) H1975 細胞を PBMC 存在下（E:T 比 10:1）又は非存在下で 48 時間後のアポトーシス（4 時間ごとにアネキシン+NucRed 面積/ウェルを測定し AUC 算出を求めた。）
IC_{50} 値は，ソフトウェアで算出可能であった検体について示した。H1975 細胞は EGFR（L858R/T790M）変異を有し，MET 遺伝子は WT を有する。試験は 3 人のボランティアの PBMC を用い 8 回試験を行った。そのうちの典型的な 1 回の結果を示した。
AUC = area under the curve; conc = concentration; EGFR = epidermal growth factor receptor;
E:T = effector to target; IC_{50} = half maximal inhibitory concentration; Ig = immunoglobulin;
Iso = huIgG1 isotype control (LF); IgG2σ = EGFR/MET IgG2 sigma; JNJ-372 = amivantamab (JNJ-61186372);
MET = mesenchymal-epithelial transition factor; PBMC = peripheral blood mononuclear cell; WT = wild type.

2.6.2.2.5 アミバンタマブの Fc 領域と単球/マクロファージとの相互作用を介したトロゴサイトーシスによる EGFR 及び MET の抑制作用

【4.2.1.1.11，4.2.1.1.12】

免疫細胞（PBMC）の存在下又は非存在下における，アミバンタマブによる EGFR 及び MET タンパク量の低下作用を，ウエスタンブロットを用いて検討した。PBMC 非存在下で H1975 細胞にアミバンタマブを添加したところ，EGFR，pEGFR 及び MET タンパク量に対する影響はほとんど認められなかった（4.2.1.1.11，4.2.1.1.12 参照）。PBMC の存在下では，アイソタイプ対照添加群と比較して，アミバンタマブは EGFR，pEGFR 及び MET のタンパク量をそれぞれ 46，67 及び 44%減少させた。PBMC 中の単球を単離して同様の検討を実施したところ，この PBMC の免疫細胞による減少は，単球を介した作用であることが確認されたことから，アミバンタマブによる EGFR 及び MET タンパクの減少には，単球が必要であることを示している。

単球を M1，M2a 及び M2c マクロファージに分化させ，アミバンタマブによる EGFR 及び MET の抑制作用を評価した。マクロファージ非存在下ではアミバンタマブによる EGFR，pEGFR 及び MET タンパク量の低下は顕著ではなかったが，M1，M2a 又は M2c マクロファージのいずれかを添加することにより顕著な低下が認められた。アイソタイプコントロール抗体又は EGFR/MET IgG_2 sigma の処理では，3 種類のマクロファージいずれも存在下又は非存在下ともに作用を示さないことから，Fc がこの抑制作用に重要であることが確認された（図 2.6.2-6）。標識したアミバンタマブによってオプソニン化された H1975 細胞とマクロファージの共培養のタイムラプス撮影では，標識物質の M1 及び M2 マクロファージへの蓄積が認められるが，標識した EGFR/MET IgG_2 sigma 処理ではマクロファージへの蓄積が認められなかった（4.2.1.1.11，4.2.1.1.12 参照）。これは，免疫細胞（単球・マクロファージ）上の Fcγ 受容体とアミバンタマブの Fc 領域との相互作用により ADCT が誘導され，EGFR 及び MET 受容体の腫瘍細胞上からの減少，並びに腫瘍細胞の増殖に必要な下流シグナル伝達が抑制されていることを示唆する。

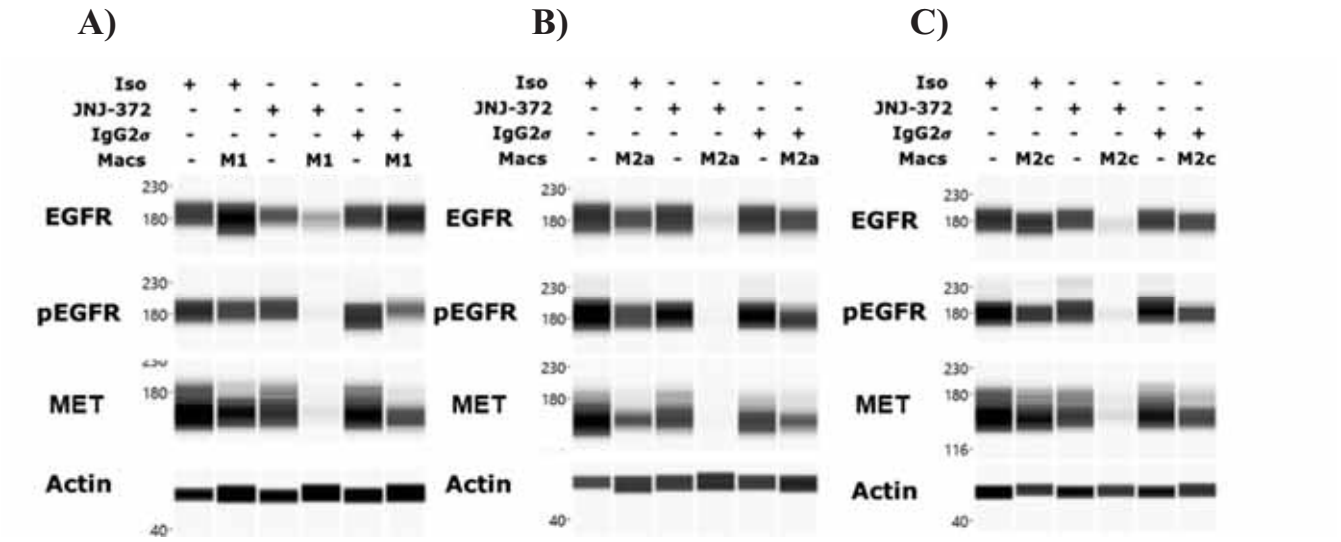


図 2.6.2-6 アミバンタマブの Fc 領域を介した EGFR 及び MET シグナル伝達阻害作用におけるマクロファージの役割

H1975 と A) M1 マクロファージ（M1），B) M2a マクロファージ（M2a）又は C) M2c マクロファージ（M2c）の存在下又は非存在下で 10 μg/mL のアイソタイプコントロール抗体（Iso），アミバンタマブ（JNJ-372）又は EGFR/MET IgG_2 sigma（IgG_2 sigma）で 48 時間処理した。癌細胞の溶解物をキャピラリー電気泳動し，EGFR，pEGFR，MET 及びアクチン（内部標準）のウエスタンブロットを行った。pEGFR は抗 Y1173 抗体で検出した。2 回実施し，そのうちの 1 試験の結果を示す。

+ = presence; - = absence; EGFR epidermal growth factor receptor; Ig = immunoglobulin; IgG2σ = EGFR/MET IgG2sigma; Iso = huIgG1 isotype control; JNJ-372 = amivantamab; Macs = macrophages; pEGFR = phosphorylated EGFR; MET = mesenchymal-epithelial transition factor.

2.6.2.2.6 H1975-HGF 異種移植モデルにおけるアミバンタマブの腫瘍増殖抑制作用

【4.2.1.1.13】

H1975 ヒト肺癌細胞株は，EGFR の活性型変異（L858R）及びエルロチニブなどの既承認の低分子 EGFR-TKI に対する耐性変異（T790M）を有する。マウス HGF はヒト MET をほとんど活性化しないため，この細胞株にヒト HGF を強制発現させ，H1975-HGF 株を作成した。免疫不全マウスに H1975-HGF 株を皮下移植し，異種移植腫瘍に対するアミバンタマブの効果を検討した。また，EGFR を標的とした治療薬であるエルロチニブ（第一世代 EGFR-TKI），アファチニブ（第二世代 EGFR-TKI）及びセツキシマブ（抗 EGFR キメラヒト/マウス mAb）の効果と比較した（図 2.6.2-7）。

アミバンタマブ投与により，投与開始後 16 日目の腫瘍増殖は対照群と比較して 89%抑制された（$p<0.05$，対数変換した腫瘍体積の Tukey-Kramer 解析）。比較に用いた薬剤と対照群との間に統計学的に有意な差は認められなかった（図 2.6.2-7，いずれも $p>0.05$）（4.2.1.1.13 参照）。H1975-HGF 株は T790M EGFR 変異を有しているため，EGFR-TKI であるエルロチニブやアファチニブでは効果がないと考えられた。また，ヒト HGF を産生しない H1975 腫瘍異種移植モデルでは，セツキシマブの効果が確認されたことから，H1975-HGF 株のセツキシマブ耐性はヒト HGF の影響によるものと考えられた。これらの結果より，既承認の EGFR-TKI に耐性を示す H1975-HGF 異種移植モデルにおけるアミバンタマブの効果が確認された。

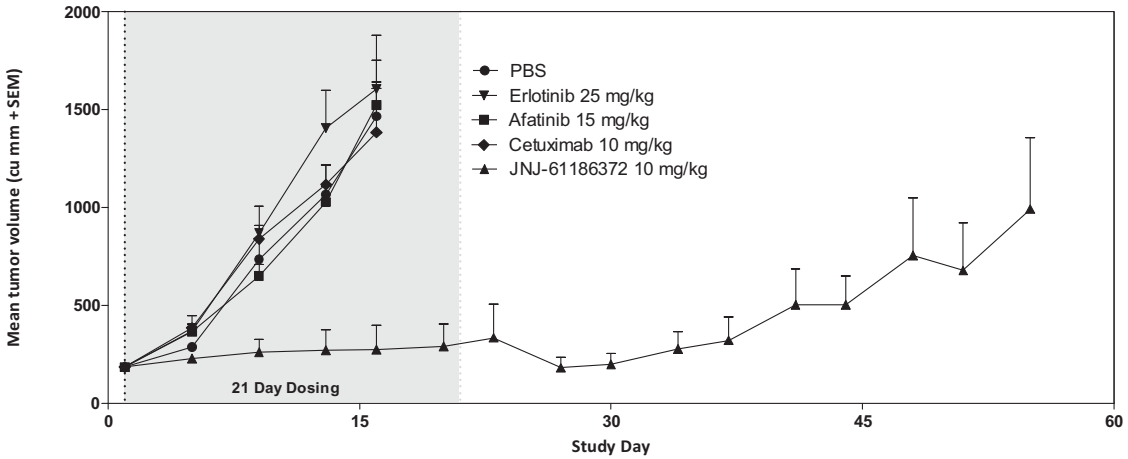


図 2.6.2-7 H1975-HGF に対するアミバンタマブ及び各種 EGFR 阻害剤の腫瘍増殖抑制作用の比較

雌ヌードマウスに H1975-HGF 腫瘍細胞（5×10^6 個）を皮下移植した。腫瘍体積を週 2 回測定し，平均腫瘍体積が約 184mm^3 に達した時点で薬剤の投与を開始し，21 日間投与した。エルロチニブ及びアファチニブは 1 日 1 回経口投与した。PBS，セツキシマブ及びアミバンタマブ（JNJ-61186372）は週 2 回腹腔内投与した。
平均腫瘍体積（mm^3）±SEM（n=9）
EGFR = epidermal growth factor receptor; HGF = hepatocyte growth factor; PBS = phosphate buffered saline.

2.6.2.2.7 アミバンタマブの *in vivo* 作用における Fc 領域とマクロファージとの相互作用の重要性

【4.2.1.1.11，4.2.1.1.12，4.2.1.1.14】

H1975-HGF 異種移植モデルを用いて，*in vivo* の腫瘍増殖抑制作用における Fc 領域のエフェクター機能の意義を検討した。皮下に腫瘍を生着させたマウスに，溶媒対照［リン酸緩衝生理食塩液（PBS）］，アミバンタマブ又は EGFR/MET-IgG_2 sigma を投与した。IgG_2 sigma 骨格を有する抗体は，NK 細胞，マクロファージなどのエフェクター細胞の Fc 受容体との相互作用が低いので，EGFR/MET-IgG_2 sigma による効果が低下すれば，アミバンタマブのエフェクター機能が腫瘍増殖抑制作用に寄与していると考えられる [3)]。

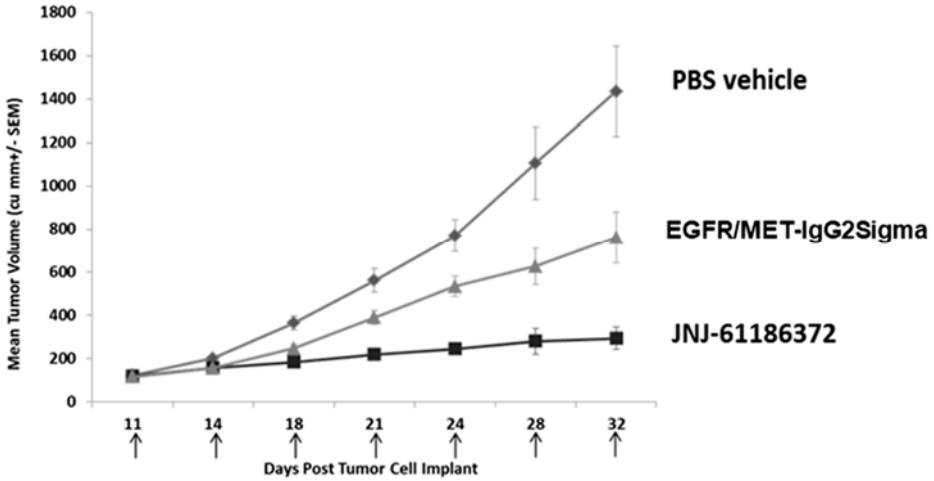


図 2.6.2-8 H1975-HGF に対するアミバンタマブ及び IgG_2 sigma 抗体の腫瘍増殖抑制効果

雌ヌードマウスに H1975-HGF 腫瘍細胞（$5x10^6$ 個）を移植し，平均腫瘍体積が約 120 mm^3 に達した時点（移植 11 日後）から，溶媒（PBS），10 mg/kg のアミバンタマブ又は 10 mg/kg の EGFR/MET-IgG_2 sigma を週 2 回，21 日間腹腔内投与し（矢印は投与日を示す），腫瘍体積を週 2 回測定した。
平均腫瘍体積（mm^3）± SEM（各群 10 例） Two-way ANOVA and Bonferroni multiple comparisons tests
MET = mesenchymal-epithelial transition factor; EGFR = epidermal growth factor receptor;
HGF = hepatocyte growth factor; Ig = immunoglobulin; PBS = phosphate buffered saline.

投与開始 21 日目のアミバンタマブ投与群の腫瘍体積は，溶媒対照群と比較して 79.5%抑制された（$p \leq 0.0001$）。EGFR/MET-IgG_2 sigma mAb（Fc のエフェクター機能が不活性）投与群では腫瘍体積が 47%抑制されたが（p=0.0232），FcR との結合能を有するアミバンタマブより腫瘍増殖抑制効果は低かった（図 2.6.2-8）（4.2.1.1.14 参照）。これらの結果より，EGFR や MET 機能を阻害することにより腫瘍増殖は部分的に抑制されるものの，*in vivo* でのアミバンタマブの完全な活性にはエフェクター機能（IgG_1 骨格）が必要であることが確認された。

In vitro においてアミバンタマブによる EGFR 及び MET の抑制作用にマクロファージの関与が示されたので（2.6.2.2.4，2.6.2.2.5 参照），*in vivo* の腫瘍増殖抑制効果におけるマクロファージの役割を検討した。H1975 細胞株を異種移植したマウスに抗 CSF 1 R 抗体を投与してマクロファージを枯渇させ，アイソタイプコントロール抗体，アミバンタマブ又は EGFR/MET-IgG_2 sigma を 3 週間投与した。抗 CSF 1 R 抗体を投与し腫瘍関連マクロファージを減少させることで，アミバンタマブの腫瘍増殖抑制効果が 72.8%から 38.5%に有意に低下（p=0.014）したことから（図 2.6.2-9），*in vivo* においてマクロファージがアミバンタマブの腫瘍増殖抑制効果に重要な役割を果たすことが示唆された（4.2.1.1.11，4.2.1.1.12 参照）。

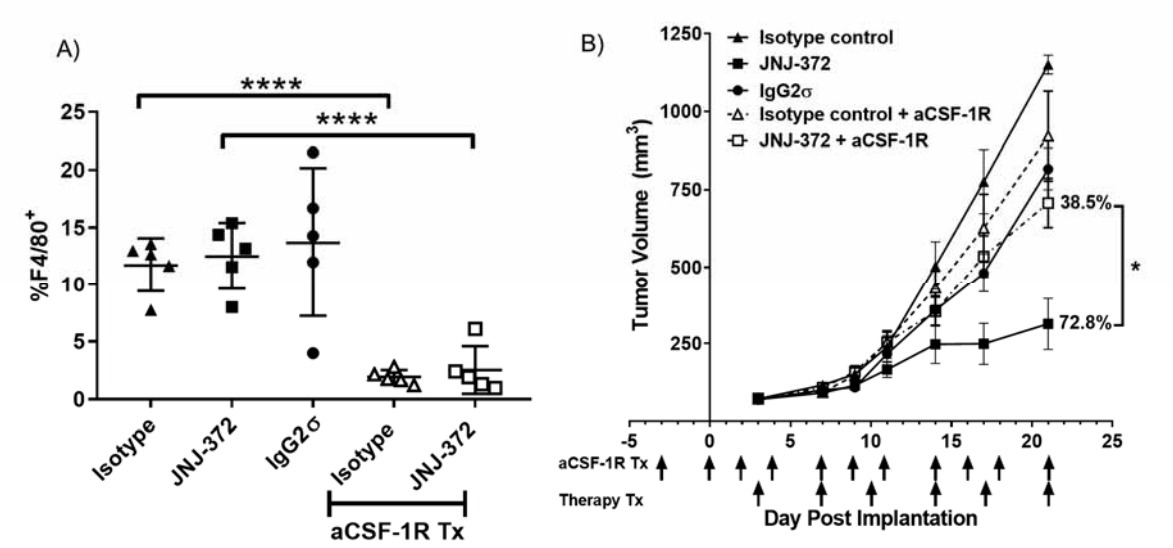


図 2.6.2-9 アミバンタマブの *in vivo* 腫瘍増殖抑制効果におけるマクロファージの重要性

A) H1975 腫瘍細胞株を異種移植したマウスに，抗マウス CSF 1 R 抗体（400 µg/mouse）を 5 回処置し（-3, 0, 2, 4 及び 7 日），10 mg/kg アイソタイプ抗体，アミバンタマブ（JNJ-372）又は EGFR/MET-IgG$_2$ sigma を 2 回投与（3 及び 7 日目）し，24 時間後に腫瘍を単離して，腫瘍中のマクロファージ（CD 45+CD 11 b+Ly 6 G-Ly 6 C-F 4/80+）の割合（%）をフローサイトメトリーで解析した。
平均（%）± SEM，各群 5 例（****p<0.0001）投与群間の差の検定には Kruskal-Wallis 検定を用いた。マクロファージ除去群との比較は one way ANOVA を用いて群間の比較を行い，特定の群間で多重性について正規分布に基づいて p 値を補正して検定した。
B) H1975 腫瘍細胞株を異種移植したマウスに 10 mg/kg アイソタイプ抗体，アミバンタマブ又は EGFR/MET-IgG$_2$ sigma を週 2 回 3 週間腹腔内投与，若しくは抗マウス CSF1R 又はそのアイソタイプ対照を週 3 回投与してマクロファージを枯渇させ，腫瘍体積を経時的に測定した。TGI（%）は 21 日目に算出した。TGI は［1-（VT/Vc）］×100（%）で算出した。Vc；対照群の腫瘍体積及び VT；投与群の腫瘍体積。
平均値±SEM，各群 10 例（*p<0.05；one Way ANOVA により群間の比較を行い，特定の群間で多重性について多変量 t 分布を用いて p 値を補正して検定した。）
aCSF-1R = anti-mouse CSF-1R depleting antibody; ANOVA = analysis of variance; CD = cluster of differentiation; CSF-1R = colony-stimulating factor-1 receptor; Ig = immunoglobulin; Isotype = huIgG1 isotype control; IgG2σ = EGFR/MET IgG2 sigma; JNJ-372 = amivantamab (JNJ-61186372); SEM = standard error of the mean; Tx = treatment.

2.6.2.2.8　*In vivo* におけるアミバンタマブによる受容体発現低下作用

【4.2.1.1.15，4.2.1.1.16，4.2.1.1.17，4.2.1.1.18，4.2.1.1.19】

アミバンタマブの *in vivo* における作用機序を明らかにするために，H1975-HGF 異種移植モデル（2.6.2.2.6 参照）を用いて，腫瘍の増殖シグナルに関与する EGFR，MET，pEGFR，pMET，pERK 及び pAKT を測定した。PBS 溶媒対照又はアミバンタマブ（10 mg/kg）を 1 及び 4 日目に投与し，5 日目に腫瘍を採取した。ウエスタンブロットにより腫瘍溶解液中の総 EGFR，総 MET，pEGFR，pMET，pERK 及び pAKT 量を測定した。アクチン及び GAPDH 量によって各タンパク量を補正した。

溶媒対照と比較してアミバンタマブでは，平均 EGFR 総量及び平均 MET 総量はそれぞれ 79%及び 57%有意に減少した。また，対照と比較してアミバンタマブでは，リン酸化された pEGFR 量及び pMET 量もそれぞれ 60 及び 85%有意に減少した。下流シグナル伝達タンパク質 AKT のリン酸化も有意に低下した（39%）（図 2.6.2-10）。しかし，下流シグナル伝達タンパク質である ERK は，減少が認められなかった（4.2.1.1.15，4.2.1.1.16 参照）。同じモデルを用いて，アミバンタマブの投与量及び腫瘍の採取時期を検討したが，同様な試験結果が得られた（4.2.1.1.17，4.2.1.1.18，4.2.1.1.19 参照）。

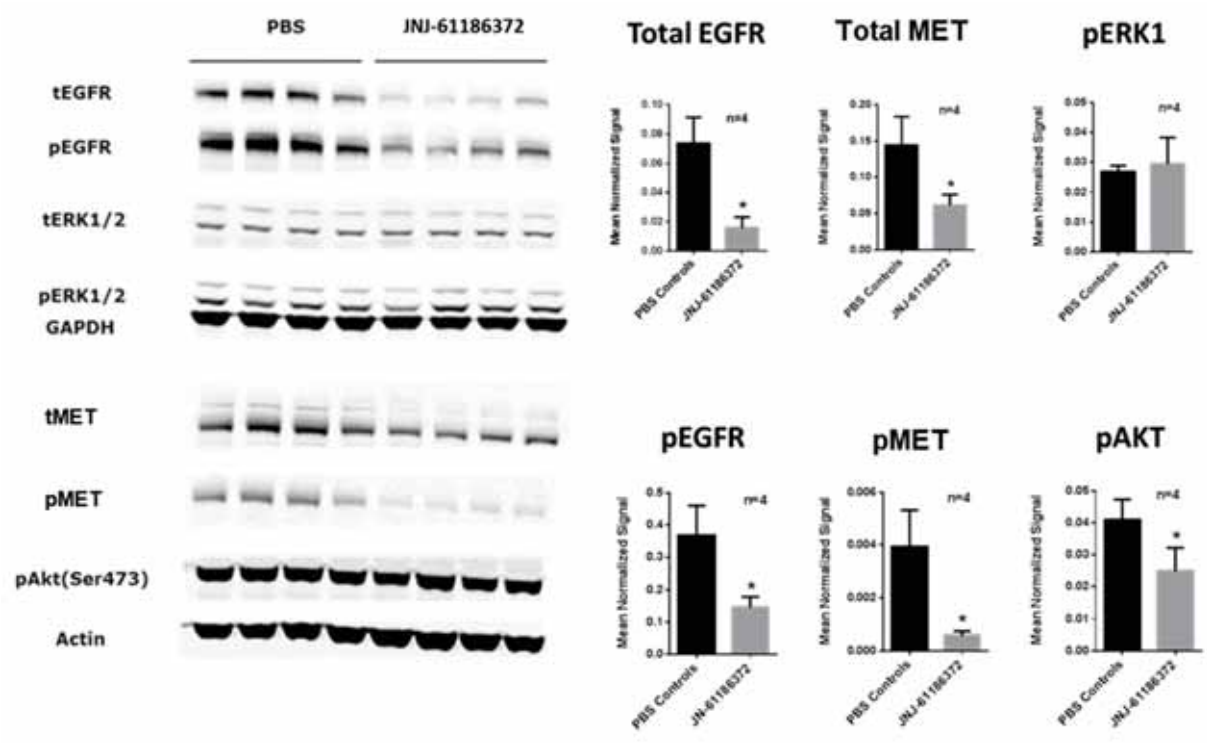


図 2.6.2-10 *In vivo* における EGFR タンパク質及び MET タンパク質の発現抑制

H1975-HGF を移植した雌ヌードマウスに，PBS 溶媒対照又はアミバンタマブ（10 mg/kg）を 1 及び 4 日目に投与し，5 日目に腫瘍を採取した。
ウエスタンブロットによる腫瘍溶解液中の総 EGFR（tEGFR），リン酸化 EGFR（pEGFR），総 ERK 1/2（tERK 1/2），pERK1/2（pThr202/Tyr204 及び pThr185/Tyr187），GAPDH，総 MET（tMET），リン酸化 MET（pMET），リン酸化 AKT［pAkt（Ser473）］及び Actin 量の測定（左）。
グラフに，Actin 又は GAPDH で補正した各タンパク質の測定結果を示す（右）。pERK1 及び pERK2 は個別に定量し，同様の結果を得たが，pERK1 のみを示す。結果を平均値±SEM で示す。* p<0.05（アミバンマブ対 PBS 対照，one-way ANOVA 及び two-sided, unpaired Sidak's multiple comparisons tests）
ANOVA = analysis of variance; EGFR = epidermal growth factor receptor; GAPDH = glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase; pEGFR = phosphorylated EGFR; MET = mesenchymal-epithelial transition factor; pAKT = phosphorylated AKT; PBS = phosphate buffered saline; pERK = phosphorylated ERK; pMET = phosphorylated MET; SEM = standard error of the mean; tEGFR = total EGFR; tERK1/2 = total ERK1/2; tMET = total MET.

別の腫瘍モデルである SNU-5 腫瘍を用いた同様の試験を実施した。この試験では，アミバンタマブの投与により EGFR，MET，pEGFR 及び pMET が，対照群との比較でそれぞれ 66%，67%，65%及び 64%減少し，明らかな腫瘍の退縮が認められた（4.2.1.1.30，4.2.1.1.31，4.2.1.1.12 参照）。この腫瘍モデルでは，アミバンタマブの Fc を介するエフェクター機能が，腫瘍増殖抑制効果及び薬力学的マーカー（EGFR，MET，pEGFR 及び pMET）の抑制に寄与することが示された。これらの結果は，*in vitro* の試験（2.6.2.2.4 参照）でアミバンタマブと骨髄系細胞の Fc を介する作用が，ADCT による EGFR 及び MET の抑制，並びに下流シグナル伝達の抑制に重要であることと一致した。

2.6.2.2.9 様々な異種移植腫瘍モデルに対するアミバンタマブの効果

【4.2.1.1.13，4.2.1.1.14，4.2.1.1.16，4.2.1.1.19，4.2.1.1.20，4.2.1.1.21，4.2.1.1.22，4.2.1.1.23，4.2.1.1.24，4.2.1.1.25，4.2.1.1.26，4.2.1.1.27，4.2.1.1.30，4.2.1.1.28，4.2.1.1.29，4.2.1.1.31，4.2.1.1.32，4.2.1.1.33，4.2.1.1.34，4.2.1.1.35】

24 種類のヒト腫瘍異種移植マウスモデルを用いてアミバンタマブの有効性を検討した。検討したモデルの癌種は，食道癌 1 種，胃癌 2 種，肝細胞癌 3 種，大腸癌 7 種及び NSCLC 11 種を含み，腫瘍細胞株又は患者腫瘍組織の移植（PDX）により作成した。アミバンタマブは，WT EGFR を有する肺腫瘍モデル，EGFR の活性型変異を有する複数の腫瘍モデル及び EGFR の活性型変異及び耐性変異を有する腫瘍モデルに対し，統計学的に有意な腫瘍増殖抑制効果を示した。また，アミバンタマブは MET 遺伝子増幅を有するモデルの約半数に対し増殖抑制効果を示した。さらに，MET リガンドの HGF を過剰発現した 3 種の肺腫瘍モデルにおいて，アミバンタマブは増殖抑制効果を示した。検討したモデル 24 種のうち，WT EGFR を有する腫瘍，EGFR 変異を有する腫瘍，HGF の過剰発現又は MET 遺伝子増幅により MET 経路が活性化された腫瘍など 14 種において，アミバンタマブの腫瘍増殖抑制効果が認められた。各移植モデルにおけるアミバンタマブの腫瘍増殖抑制効果の要約を表 2.6.2-6 に示す。

表 2.6.2-6 各種ヒト腫瘍異種移植マウスモデルにおけるアミバンタマブの有効性

モデル (試験施設)	EGFR	MET	% TGI	添付資料番号
SKMES-HGF (Janssen) NSCLC	WT	WT	100†*	4.2.1.1.20
H1975 ([redacted]) NSCLC	L858R; T790M	WT	71†*, 82†*, 79†*	4.2.1.1.21, 4.2.1.1.13, 4.2.1.1.16
H1975-HGF ([redacted]) NSCLC	L858R; T790M	WT	72†*, 89†*, 90†*	4.2.1.1.21, 4.2.1.1.13, 4.2.1.1.16
H1975-HGF (Janssen) NSCLC	L858R; T790M	WT	75*, 80*, 79*	4.2.1.1.19, 4.2.1.1.14
LU858 ([redacted]) NSCLC (PDX)	L858R	AMP	68*, 23	4.2.1.1.27
LU1901 ([redacted]) NSCLC (PDX)	G719A	AMP	42*	4.2.1.1.24, 4.2.1.1.23
LU1868 ([redacted]) NSCLC (PDX)	L858R; T790M	WT	81*	4.2.1.1.22, 4.2.1.1.23
H1993 ([redacted]) NSCLC	WT	AMP	11	4.2.1.1.30
EBC-1([redacted]) NSCLC	WT	AMP	20	4.2.1.1.30
HCC827 ([redacted]) NSCLC	del (E746, A750); AMP	WT	89†*	4.2.1.1.25
HCC827-ER1 ([redacted]) NSCLC	del (E746, A750); AMP	AMP	92†*	4.2.1.1.25
HCC827 ([redacted]) NSCLC	del (E746, A750); AMP	WT	92†*	4.2.1.1.26
HCC827-HGF ([redacted]) NSCLC	del (E746, A750); AMP	WT	100†*	4.2.1.1.26
CR0012 ([redacted]) CRC (PDX)	WT	WT	21	4.2.1.1.28
CR0029 ([redacted]) CRC (PDX)	WT	WT	-12	4.2.1.1.28
CR0146 ([redacted]) CRC (PDX)	WT	WT	8	4.2.1.1.28
CR0588 ([redacted]) CRC (PDX)	WT	WT	59*	4.2.1.1.28
CR1197 ([redacted]) CRC (PDX)	WT; AMP	WT	10	4.2.1.1.28
CR1574 ([redacted]) CRC (PDX)	R776H	WT	-10	4.2.1.1.28
GA0046 ([redacted]) Gastric (PDX)	WT	WT	67*	4.2.1.1.32, 4.2.1.1.23
SNU-5 ([redacted]) Gastric	WT	AMP	98*, 96*	4.2.1.1.30, 4.2.1.1.31
CRC0196 ([redacted]) CRC (PDX)	WT	AMP	0	4.2.1.1.29
SG16 ([redacted]) Esophageal (PDX)	WT	AMP	88*	4.2.1.1.29
MHCC97H (Janssen China) HCC	WT	ND	30	4.2.1.1.33
LI0801 (Janssen China) HCC (PDX)	WT	WT	81*	4.2.1.1.33
LI1646 (Janssen China) HCC (PDX)	WT	WT	-7, 4	4.2.1.1.33

%TGI=（1-VT/VC）×100 として算出した。VT=アミバンタマブ投与群の平均腫瘍体積，VC=対照群が所定の評価項目に達した試験日の溶媒対照投与マウスの平均腫瘍体積とした。
†一部の試験では，対数変換した腫瘍体積値を用いて%TGI を算出した。
SKMES-HGF 及び SNU-5 ではアミバンタマブを 5 mg/kg 投与した。それ以外は 10 mg/kg を週 2 回腹腔内投与した。*p<0.05，溶媒対照群と比較して統計学的に有意
AMP = amplification; CRC = colorectal cancer; del = deletion mutation; EGFR = epidermal growth factor receptor; HCC = hepatic cellular carcinoma; IP = intraperitoneal; ND = not determined; NSCLC = non-small cell lung cancer; PDX = patient derived xenograft; TGI = tumor grown inhibition; WT = wild type.

ドキシサイクリン処理により Exon 19 欠失 EGFR（EGFR del 19）を発現する遺伝子導入マウス肺癌モデル（EGFR del 19 モデル）[4),5)]，並びにドキシサイクリン処理により Exon 19 欠失-T790M EGFR 及び MET を二重発現させる組換えマウス肺癌モデル（EGFR-TDM モデル）[6)] を用いてアミバンタマブの効果を検討した。EGFR del 19 及び EGFR-EGFR-TDM モデルでは，アミバンタマブの投与によりばらつきがみられたものの中程度の増殖抑制傾向がみられたが，対照薬として用いた EGFR を標的とした薬剤（EGFR del 19 モデルではセツキシマブ，エルロチニブ，アファチニブ及びオシメルチニブ，並びに EGFR-TDM モデルではセツキシマブ及びオシメルチニブ）では顕著な腫瘍退縮が認められた（4.2.1.1.34 参照）。

アミバンタマブの薬物動態（PK）を EGFR del 19 マウスを用いて検討した。この動物モデルの抗体曝露量は，過去に担癌 SCID beige マウスを用いて測定した値（4.2.1.1.35 参照）よりも低かった。また，EGFR-TDM マウスにおいて，増殖抑制効果とアミバンタマブの血清中濃度の間に相関性は認められなかったが，アミバンタマブ投与後にアミバンタマブに対する抗薬物抗体（ADA）が検出された。PK 及び ADA 分析の結果から，EGFR del 19 及び EGFR-TDM モデルにおいてアミバンタマブの効果が顕著でなかったのは，アミバンタマブの血清中曝露が十分ではなかったことが原因と推測した。

2.6.2.2.10　EGFR の C797S 変異を有する腫瘍モデルおけるアミバンタマブの効果

【4.2.1.1.36】

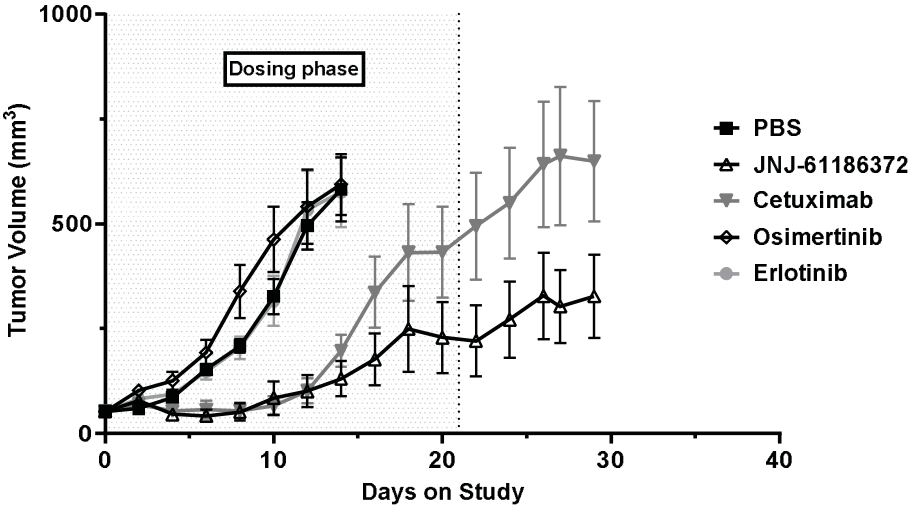
臨床でよく認められる肺癌の活性化変異（DelE746 及び A750）及び獲得耐性変異（T790M 及び C797S）を有する *EGFR* 遺伝子を導入した Ba/F3 細胞（Ba/F3-EGFR-TDC）をマウスに移植し，アミバンタマブの腫瘍増殖抑制効果を検討した。

Ba/F3-EGFR-TDC 腫瘍を皮下に生着させた SCID（SHO）マウスに，PBS，アミバンタマブ又はセツキシマブを 10 mg/kg 週 2 回 3 週間投与，若しくはエルロチニブ又はオシメルチニブを 25 mg/kg 連日 3 週間投与し，腫瘍の増殖及び生存期間を観察した。

PBS を投与した対照群と比較して，アミバンタマブ又はセツキシマブ投与群は，投与後 14 日目にそれぞれ 77.6%及び 66.3%の有意な腫瘍増殖抑制が認められた（p=0.0002，p=0.0012）（図 2.6.2-11）。一方，エルロチニブ及びオシメルチニブは，T790M 及び C797S 変異を有する腫瘍の増殖を抑制しなかった。生存期間の中央値は，PBS を投与した対照群の 15.5 日と比較して，アミバンタマブ及びセツキシマブ群ではそれぞれ 44 及び 31 日であり，有意な延長が認められた（p<0.0001）。

以上より，アミバンタマブは C797S 変異などの獲得耐性変異を有する腫瘍に効果を有することが示された。

A）



B）

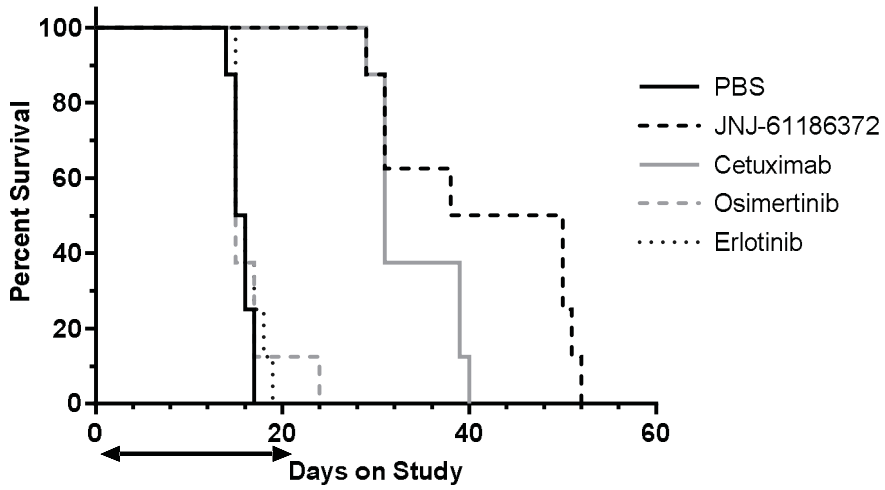


図 2.6.2-11 Ba/F3-EGFR-TDC 遺伝子組み換えマウス腫瘍担がん SHO マウスにおける，アミバンタマブ及び他の EGFR 阻害剤の腫瘍増殖抑制効果及び生存期間

Ba/F3-EGFR-TDC（T790M, DelE746_A750, C797S）細胞を SCID マウスの側腹部に移植し，平均腫瘍体積が 40～65 mm^3 の時点で投与を開始した。
A）Ba/F3-EGFR-TDC 皮下腫瘍を 2 日に 1 回測定した。結果を平均腫瘍体積（mm^3）±SEM（各群 8 例）で示し，投与 14 日目の腫瘍増殖抑制率について，one-way ANOVA による統計解析を行った。
B）矢印は投与期間を示す。生存率を Kaplan-Meier 法により示した（各群 8 例）。A Log-rank（Mantel-Cox）検定を用いて，生存期間の中央値を対照群と比較した。
ANOVA = analysis of variance; EGFR = epidermal growth factor receptor; PBS = phosphate buffered saline; SEM = standard error of the mean; SHO = SCID hairless outbred.

2.6.2.2.11 EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC に対するアミバンタマブの効果

EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC は，EGFR の細胞内ドメインの変異により，リガンド非依存性の恒常的な活性化及び下流分子の恒常的なリン酸化を誘導して癌細胞の増殖及び不死化をもたらす点において EGFR Common mutation（exon 19 欠失，exon 21 L858R 点突然変異）と同様と考えられる。アミバンタマブは，EGFR の細胞外ドメインに結合するため，EGFR Exon 20 挿入変異は

EGFR への結合に影響しないと考えられる。EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC 対するアミバンタマブの作用を *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。

2.6.2.2.11.1 EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC 細胞株 LU-0387 における EGFR 及び MET の発現，並びに HGF 存在下又は非存在下における細胞内シグナル伝達に対するアミバンタマブの作用

【4.2.1.1.37，4.2.1.1.38】

LU-0387 における EGFR 及び MET の発現を，FCM（フローサイトメトリー）及びウエスタンブロットで確認した。さらに，LU-0387 を用いて，細胞内シグナル伝達に対するアミバンタマブの作用を HGF 存在又は非存在下で検討した。

LU-0387 は，EGF 及び HGF の非存在下で EGFR の強いリン酸化が認められ，受容体の恒常的な活性化が確認された。HGF の添加により，MET，ERK 及び AKT のリン酸化の増強が認められ，下流シグナルの活性化の促進が認められた。アミバンタマブは，HGF の刺激の有無にかかわらず，EGFR，MET，ERK（別称 MAPK）及び AKT のリン酸化を抑制した（図 2.6.2-12）。一方，抗 EGFR 単腕抗体は，HGF 非存在下で EGFR，ERK（MAPK）及び AKT のリン酸化を阻害したが，HGF 存在下の MET，ERK 及び AKT のリン酸化を抑制しなかった。抗 MET 単腕抗体は，HGF 非存在下で MET のリン酸化に対する部分的アゴニスト様作用を示したが，HGF 存在下では MET 及び ERK のリン酸化を低下させアンタゴニスト作用を示した。また，各単腕抗体による AKT のリン酸化の抑制はアミバンタマブと比較して低かった（図 2.6.2-12）。一方，アミバンタマブは MET リン酸化に対するアゴニスト様作用は全く認められなかった。

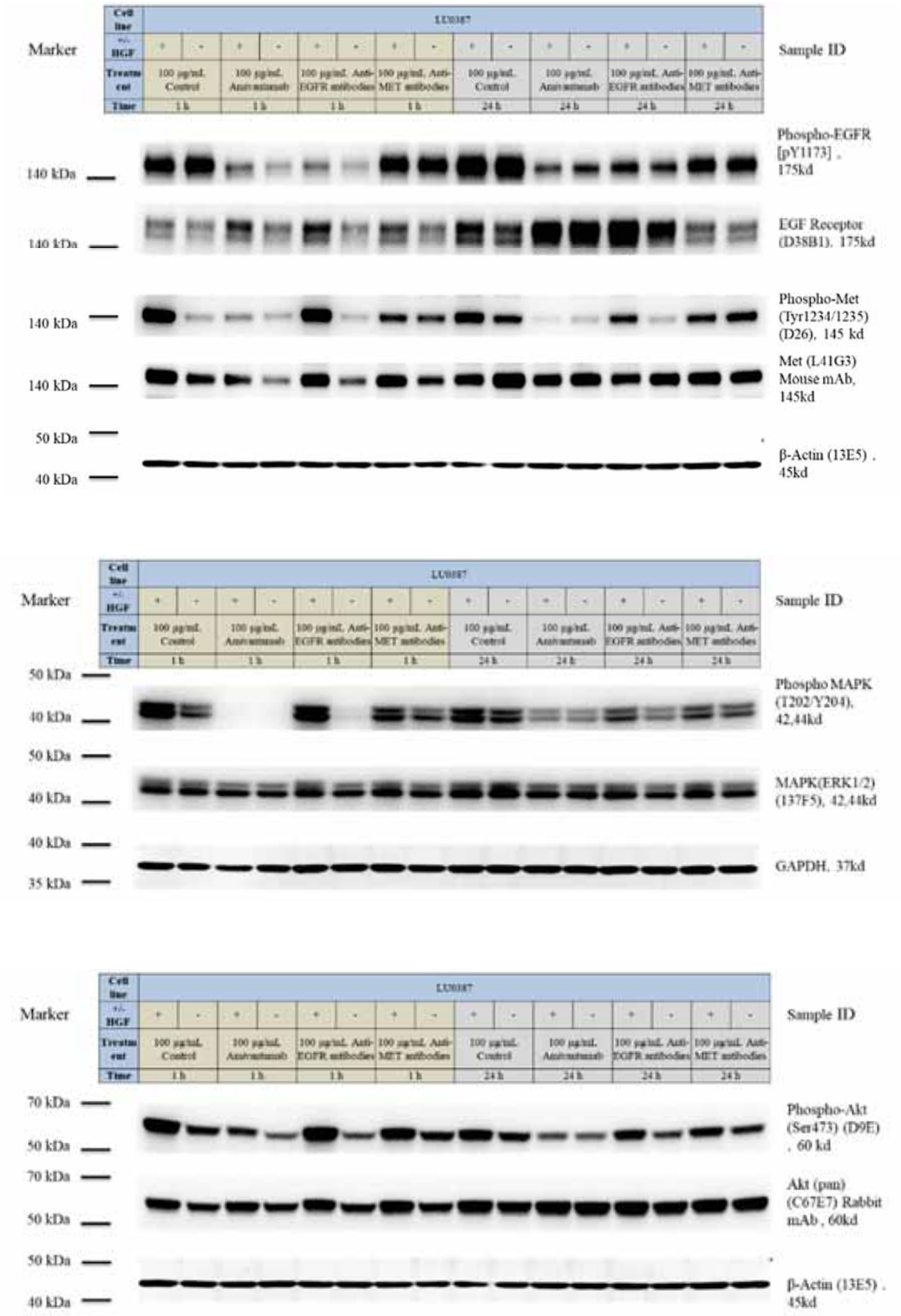


図 2.6.2-12 HGF 存在又は非存在下における LU-0387 細胞内シグナル伝達に対するアミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体，抗 MET 単腕抗体の作用

LU-0387 を，HGF（50 ng/mL）存在又は非存在下で，アミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体，抗 MET 単腕抗体又はコントロール抗体（100 μg/mL）と，1 又は 24 時間培養後，細胞を回収しウエスタンブロットによって EGFR 及び MET 並びに下流シグナルである ERK（別称 MAPK）及び AKT のリン酸化を測定した。

2.6.2.2.11.2　EGFR Exon 20 挿入 NSCLC 細胞株における EGFR 及び MET の発現及びシグナル伝達経路の活性化に及ぼすアミバンタマブの作用

【4.2.1.1.39】

EGFR Exon 20 挿入変異［P772_H773insPNP（DFCI-127），H773_V774insNPH（DFCI-58）及び S768_D770dup（YU-1163）］を有する患者から採取した肺癌細胞を用いて，アミバンタマブの抗腫瘍活性及び機序が検討された。これらの細胞では，EGFR，MET，pEGFR 及び pMET の発現が認められている。DFCI-127 及び DFCI-58 細胞では，アミバンタマブ処理により総 EGFR 及び MET の発現量が減少し，pEGFR，pMET，pAKT，pERK 及び pS6 が減少した（図 2.6.2-13A，DFCI-127 及び DFCI-58）。また，アミバンタマブは IgG1 対照と比較して腫瘍細胞の細胞生存率を濃度依存的に低下させた（図 2.6.2-13B，DFCI-127 及び DFCI-58）。なお，YU-1163 ではアミバンタマブ処理により EGFR，MET，pEGFR，pMET，pAKT 及び pS6 は減少したが，pERK の増加が認められ，アミバンタマブの 72 時間処理による生細胞数の減少は認められなかった（図 2.6.2-13，YU-1163）。この現象は p53 の R280T 変異に起因し，変異 p53 を siRNA でノックダウンすることで，アミバンタマブによる pERK の低下及び細胞の感受性が回復することが示されている。このことは，この細胞の ERK シグナルが細胞の生存に関連していることを示唆している。

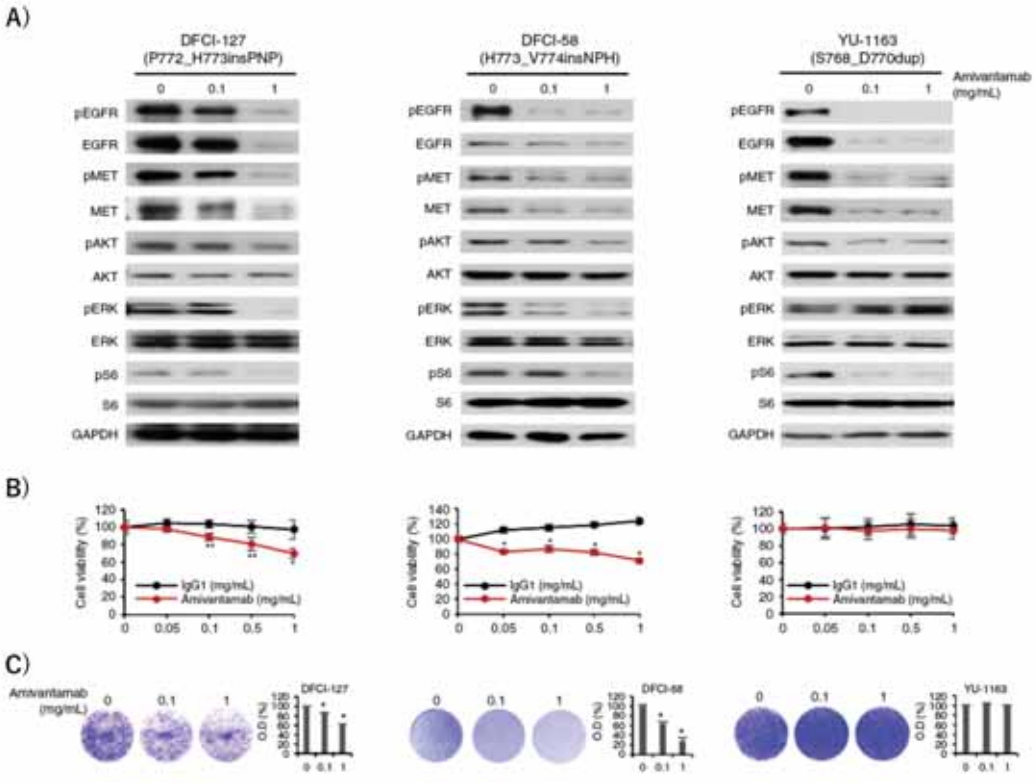


図 2.6.2-13 EGFR Exon 20 挿入変異を有する NSCLC 細胞のタンパク質リン酸化及び生細胞数に及ぼすアミバンタマブの作用

A) EGFR Exon 20 挿入変異を有する患者から採取した肺癌細胞を，0～1000 μg/mL の濃度のアミバンタマブで 72 時間処理した。ウエスタンブロットによりアミバンタマブ処理後の腫瘍溶解液中の EGFR，MET，AKT，ERK 及び S6 発現を測定した。
B) 患者から採取した肺癌細胞を 0～1000 μg/mL の濃度のアミバンタマブで 72 時間処理し，生存率を CellTiter-Glo システムで測定した。平均（%）± SD（n=3），*p<0.0001，**p<0.001，Student t test
C) 患者から採取した肺癌細胞のコロニー形成と細胞増殖に対するアミバンタマブの作用。コロニー形成測定の代表的画像及び吸光度の定量的測定結果を示す。平均（%）± SD（n=3），*p<0.0001，Student t test

2.6.2.2.11.3 EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC に対する Fc 依存性細胞傷害活性

【4.2.1.1.39，4.2.1.1.40，4.2.1.1.41，4.2.1.1.42】

EGFR Exon 20 挿入変異を有する NSCLC におけるアミバンタマブの ADCC 活性が DFCI-127 及び YU-1163 を用いて検討された。その結果，アミバンタマブは抗 EGFR 抗体であるセツキシマブよりも高い ADCC 活性を示した（図 2.6.2-14）。

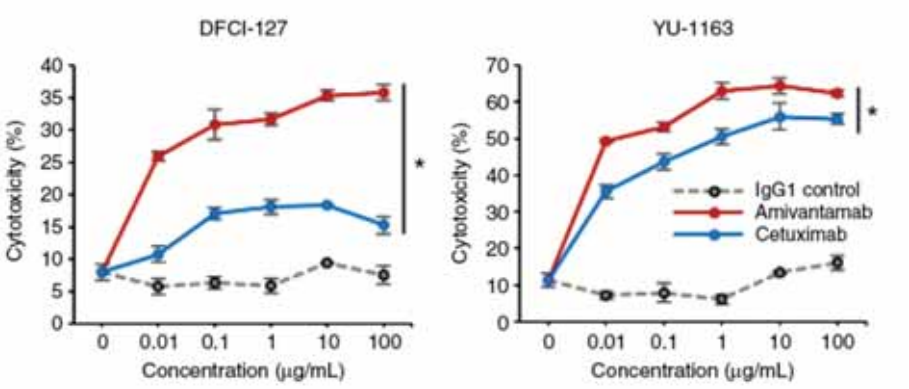


図 2.6.2-14 EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC 細胞株に対する
アミバンタマブの ADCC 活性

各濃度の対照 IgG1 抗体，アミバンタマブ又はセツキシマブの存在下で，PBMC と DFCI-127 又は YU-1163 を 4 時間共培養（E:T 比=50:1）し，ADCC 活性を測定した。平均値±SD（n=3），*; P<0.0001

アミバンタマブは二重特異性抗体であり，これらの NSCLC は EGFR Exon 20 挿入変異に加えて MET も発現していることから，アミバンタマブの ADCC 活性には MET 結合部位も関与すると考えられた（4.2.1.1.39 参照）。

EGFR Exon 20 挿入変異を有する NSCLC 細胞株（LU-0387 及び YU-1163）において，アミバンタマブの一方のアームを標的非結合アームに置換した抗 EGFR 単腕抗体及び抗 MET 単腕抗体を用い，アミバンタマブが二重特異性抗体として EGFR 及び MET の両方に結合することによる ADCC 活性への影響を検討した。

LU-0387 を用いた検討において，アミバンタマブは，検討した最低濃度（0.003 μg/mL）から濃度依存的な ADCC 活性を示し，0.1 μg/mL 以上で最大となった。一方，抗 EGFR 単腕抗体は，0.3 μg/mL 以上から濃度依存的に ADCC 活性の上昇を示した。抗 MET 単腕抗体は ADCC 活性が弱く，検討した最高濃度（3 μg/mL）においても，わずかな ADCC 活性しか認められなかった（図 2.6.2-15A）。アミバンタマブの ADCC 活性が抗 EGFR 単腕抗体よりも強い理由を検討するため，FCM を用いてアミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体及び抗 MET 単腕抗体の LU-0387 への結合量を測定した。アミバンタマブ及び抗 MET 単腕抗体の LU-0387 への結合量は同程度であり，0.01 μg/mL 以上で濃度に依存した結合が検出された。一方，抗 EGFR 単腕抗体の LU-0387 への結合量は，アミバンタマブ及び抗 MET 単腕抗体よりも少なかった（図 2.6.2-15B）。LU-0387 への結合量は抗 EGFR 単腕抗体よりも抗 MET 単腕抗体が多かったにも関わらず，ADCC 活性は抗 EGFR 単腕抗体でより高かったことから，ADCC 活性には EGFR 結合アームの寄与が大きいことが示唆された。また，アミバンタマブは EGFR よりも MET への結合親和性が高く（2.6.2.2.1 項参照），より低濃度から MET に結合し細胞表面濃度を高めることで，EGFR への結合を増強す

るクロスアーム結合効果が知られている[1)]。このクロスアーム結合効果が，抗 EGFR 単腕抗体よりもアミバンタマブでより強い ADCC 活性に寄与したことが示唆された。

A) B)

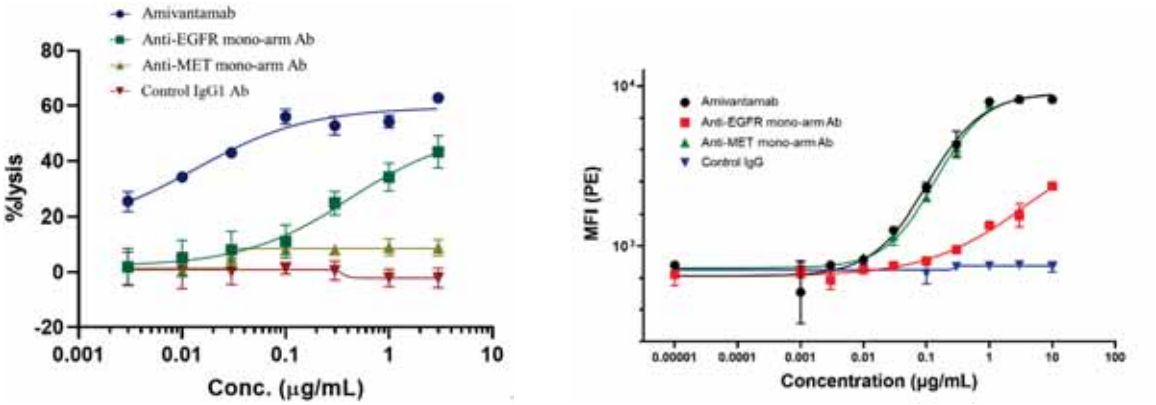


図 2.6.2-15 LU-0387 に対するアミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体及び抗 MET 単腕抗体の ADCC 活性及び結合活性

A）各濃度の抗体（アミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体，抗 MET 単腕抗体又は対照 IgG 抗体は，いずれも低フコース化されている）の存在下で PBMC と LU-0387 を 4 時間共培養（E:T 比=50:1）し，腫瘍から放出された LDH を計測することで傷害を受けた腫瘍細胞の割合を算出した。
B）各濃度の抗体（アミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体，抗 MET 単腕抗体又は対照 IgG）の LU-0387 への結合能

YU-1163 を用いた検討において，アミバンタマブ及び抗 EGFR 単腕抗体は，低濃度（0.003 μg/mL）から濃度依存的な ADCC 活性を示し，0.1 μg/mL 以上で最大となった。これらの抗体の活性は同程度であった。抗 MET 単腕抗体では，検討した最高濃度（10 μg/mL）においても，わずかな ADCC 活性しか認められなかった（図 2.6.2-16 A）。YU-1163 に対する各抗体の ADCC 活性の違いを検討するため，FCM を用いてアミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体及び抗 MET 単腕抗体の YU-1163 への結合量を測定した。アミバンタマブ及び抗 EGFR 単腕抗体の YU-1163 への結合量は同程度であり，濃度に依存した結合が検出された。一方，抗 MET 単腕抗体の YU-1163 細胞への結合量は，アミバンタマブ及び抗 EGFR 単腕抗体よりも少なかった（図 2.6.2-16 B）。アミバンタマブ及び抗 EGFR 単腕抗体は濃度依存的な ADCC 活性を示したが，LU-0387 と同様に，抗 MET 単腕抗体ではわずかな ADCC 活性しか認められなかった。

A) B)

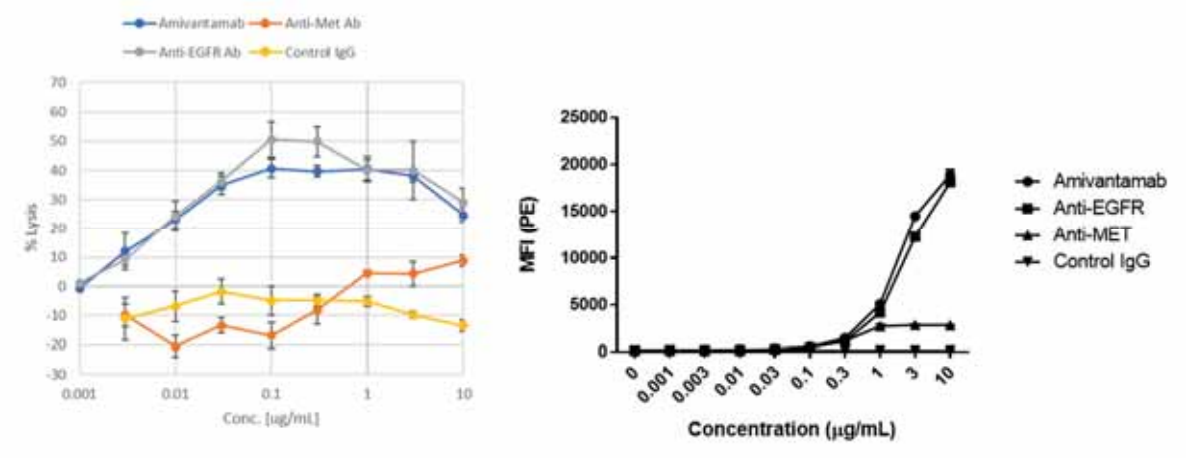


図 2.6.2-16 YU-1163 に対するアミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体及び抗 MET 単腕抗体の ADCC 活性及び結合活性

A) 各濃度の抗体（アミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体，抗 MET 単腕抗体又は対照 IgG 抗体は，いずれも低フコース化されている）の存在下で PBMC 及び YU-1163 を 4 時間共培養（E:T 比=50:1）し，腫瘍から放出された TDA を計測することで傷害を受けた腫瘍細胞の割合を算出した。
B) 各濃度の抗体（アミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体，抗 MET 単腕抗体又は対照 IgG）の YU-1163 への結合能

YU-1163 ではアミバンタマブと抗 EGFR 単腕抗体は同程度の結合量及び ADCC 活性を示した。一方，LU-0387 ではアミバンタマブと抗 MET 単腕抗体は同程度の結合量を示したにも関わらず，抗 MET 単腕抗体では，わずかな ADCC 活性しか認められなかった。また，LU-0387 ではアミバンタマブの ADCC 活性は抗 EGFR 単腕抗体よりも強かった。

以上の結果から，アミバンタマブの ADCC 活性は主に EGFR 結合アームを介して生じ，さらに，MET 結合アームを介した MET 結合及びその後のクロスアーム結合効果により EGFR 結合が促進されることで，抗 EGFR 単腕抗体よりもアミバンタマブの ADCC 活性が増強されることが示唆された。

2.6.2.2.11.4 LU-0387 における HGF 誘導細胞遊走に対するアミバンタマブの作用

【4.2.1.1.43】

HGF は，別称が細胞分散因子であり，がん細胞を含む様々な細胞に対して遊走及び浸潤を促進し，がんの浸潤及び転移に関連する因子としても知られている。EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC 細胞株である LU-0387 における，HGF による細胞遊走及び浸潤の促進及びアミバンタマブによる抑制作用を検討するために，Migration assay（Wound healing assay）を実施した。

HGF は LU-0387 の遊走を誘導し，細胞が剥離した領域への細胞の移動を促進させたが，アミバンタマブ，抗 MET 単腕抗体及び陽性対照のサイトカラシン D では，試験開始 3 時間以降の細胞遊走は認められなかった。一方，抗 EGFR 単腕抗体は，試験期間を通じて HGF 誘導性の細胞遊走を抑制しなかった（図 2.6.2-17）。

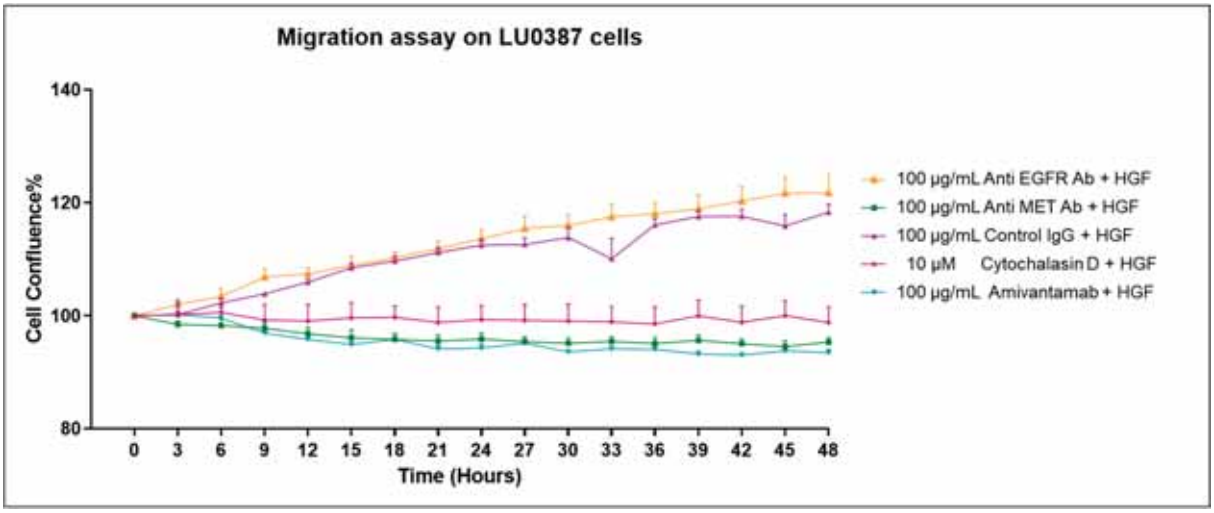


図 2.6.2-17 HGF 存在下における LU-0387 の細胞遊走能に及ぼすアミバンタマブの作用

LU-0387 細胞のコンフルエントな単層培養に機械的に細胞の剥離領域を作成し，その領域が細胞の遊走又は増殖により埋められていく様子を HGF（50 ng/mL）及びアミバンタマブ，抗 EGFR 単腕抗体，抗 MET 単腕抗体又はコントロール抗体（それぞれ 100 µg/mL）存在下で経時的に観察した。

$$\text{Cell confluence\%} = \frac{\text{各培養時点における観察領域中の細胞が存在する領域の面積}}{\text{試験開始時点における観察領域中に細胞が存在する領域の面積}} \times 100$$

2.6.2.2.11.5　EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC 移植モデルに対するアミバンタマブの効果

【4.2.1.1.44】

EGFR Exon 20 挿入変異を有する NSCLC に対するアミバンタマブの腫瘍増殖抑制効果を，異種移植モデルを用いて検討した。M766_A767insASV 変異を有する患者由来の腫瘍片（LXFE2478）を異種移植（PDX）したモデル（LXFE2478 PDX）において，アミバンタマブはアイソタイプ対照抗体と比較して有意な腫瘍増殖の抑制が認められた（図 2.6.2-18）（TGI=98%，$p<0.0001$）。しかし，LU0387（P772-H773insDNP 変異）又は LU3075（H773-V774insNPH 変異）PDX モデルでは，アミバンタマブによる腫瘍増殖の抑制は認められなかった。

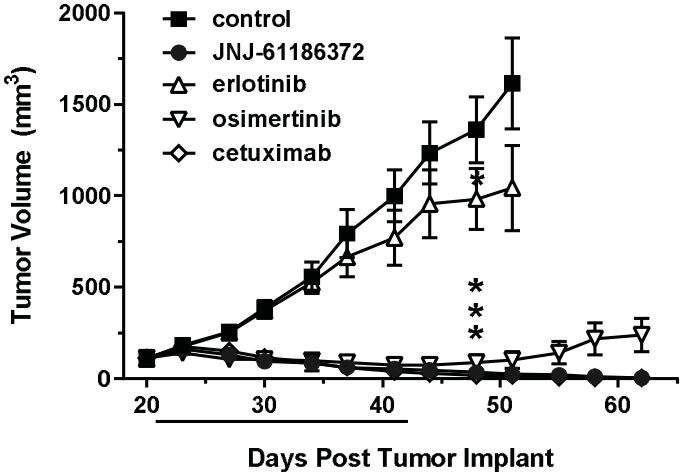


図 2.6.2-18 生着した LXFE 2478 PDX 腫瘍の増殖に対するアミバンタマブ又は他の薬剤の効果

腫瘍を Day 0 に移植し，アミバンタマブ，セツキシマブ及び対照抗体を 10 mg/kg の用量で 21, 24, 28, 31, 35, 38 及び 42 日に投与した。エルロチニブ及びオシメルチニブを 21～41 日目にそれぞれ 25 及び 30 mg/kg の用量で連日投与した（投与期間 21～42 日を図中の線で示す）。
腫瘍体積を平均値（mm^3）± SEM として示す（各群 10 例）。
* $p \leq 0.05$: 48 日までの期間における対照群との有意差を，処置及び時間を固定効果，動物を変量効果及び時間を連続変数として線形混合モデルで解析した。
control = JNJ 55983993 low fucose isotype control antibody; PDX = patient-derived xenograft;
SEM = standard error of the mean.

2.6.2.2.11.6 EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC 由来腫瘍異種移植モデルにおける MET 発現とアミバンタマブの作用

【4.2.1.1.39】

アミバンタマブは，EGFR Exon 20 挿入変異（D770delinsGY 又は H773_V774insH のいずれか）を発現する Ba/F3 腫瘍を有する異種移植モデルにおいて，腫瘍増殖抑制を示した。さらに，EGFR Exon 20 挿入変異である P772_H773insPNP 及び S768_D770dup 変異を有する患者由来の腫瘍細胞を移植したマウスモデル（それぞれ，DFCI-127 及び YU-1163），並びに D770_N771insG 変異を有する患者由来組織片を移植したマウス PDX モデル（YHIM-1029 PDX）において，アミバンタマブの作用が検討されている。DFCI-127 及び YU-1163 マウスモデルにおいて，アミバンタマブは *in vivo* で明確な腫瘍増殖抑制効果を示した。また，対照群と比較してアミバンタマブ投与群では，EGFR，MET，pEGFR 及び pMET タンパク質の減少が示されている（図 2.6.2-19C 及び F）。

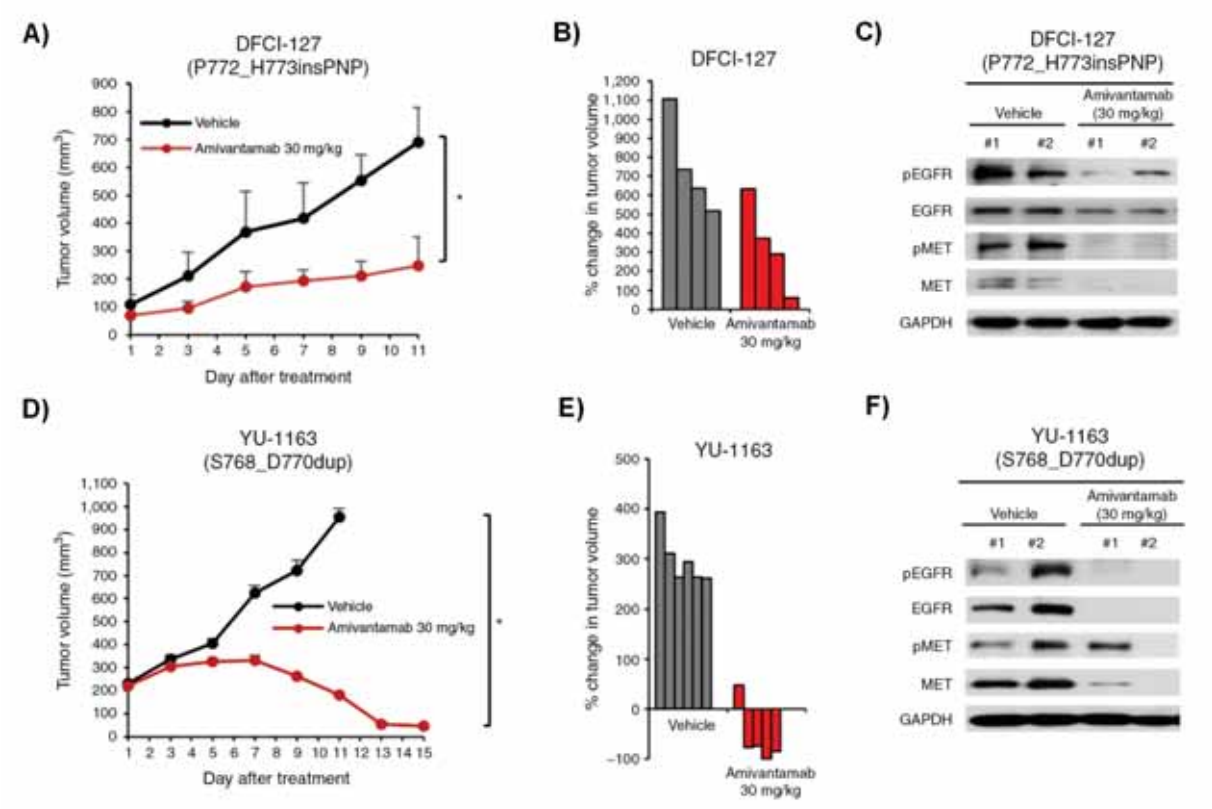


図 2.6.2-19 EGFR Exon 20 挿入変異異種移植モデルにおけるアミバンタマブの腫瘍増殖抑制作用

A) 及び B) DFCI-127 移植 NOG マウス，並びに D) 及び E) YU-1163 移植 BALB/c ヌードマウスの腫瘍増殖。マウスに溶媒又はアミバンタマブを 30 mg/kg の用量で週 2 回，腹腔内投与した。平均腫瘍体積（mm^3）± SEM（各群 5 例）*p< 0.0001，溶媒対照との比較

C) DFCI-127 及び F) YU-1163 患者由来の腫瘍細胞を異種移植し，マウスに溶媒又はアミバンタマブを投与して腫瘍を採取し，ウエスタンブロットにより腫瘍溶解液中の pEGFR（Y1068），EGFR，pMET 及び MET の発現を測定した。

また，YHIM-1029 PDX 移植マウスにおいても，アミバンタマブの投与により明確な腫瘍退縮効果が示され，抗 EGFR 抗体セツキシマブ又は EGFR Exon 20 挿入変異を標的とする EGFR-TKI の Poziotinib よりも強い腫瘍退縮効果及びアポトーシスマーカーの増加が認められている（図 2.6.2-20A，B 及び C）。アミバンタマブ，セツキシマブ及び Poziotinib による EGFR，MET，pEGFR，pMET，AKT，pAKT，ERK，pERK，S6 及び pS6 の発現が検討されており（図 2.6.2-20C 及び D），アミバンタマブの投与によって pEGFR，MET 及びその下流タンパク質のリン酸化の発現低下が認められた。一方，セツキシマブ及び Poziotinib においては pEGFR 及び pAKT の低下は認められたものの，MET 及び pERK の低下は顕著ではなかった。なお，アミバンタマブ投与では DFCI-127 及び YU-1163 での検討と異なり，ウエスタンブロットにおける pMET の低下は明確ではなかった（図 2.6.2-20C）。しかし，移植した腫瘍細胞のヘマトキシリン・エオシン染色及び免疫組織化学染色での検討において，アミバンタマブ投与によって腫瘍微小環境下の EGFR，pEGFR，MET 及び pMET の染色の低下がみられたとともに細胞増殖マーカーである Ki-67 の低下も認められた。さらに，アポトーシス（TUNEL）の顕著な誘導も認められた（図 2.6.2-20E）。

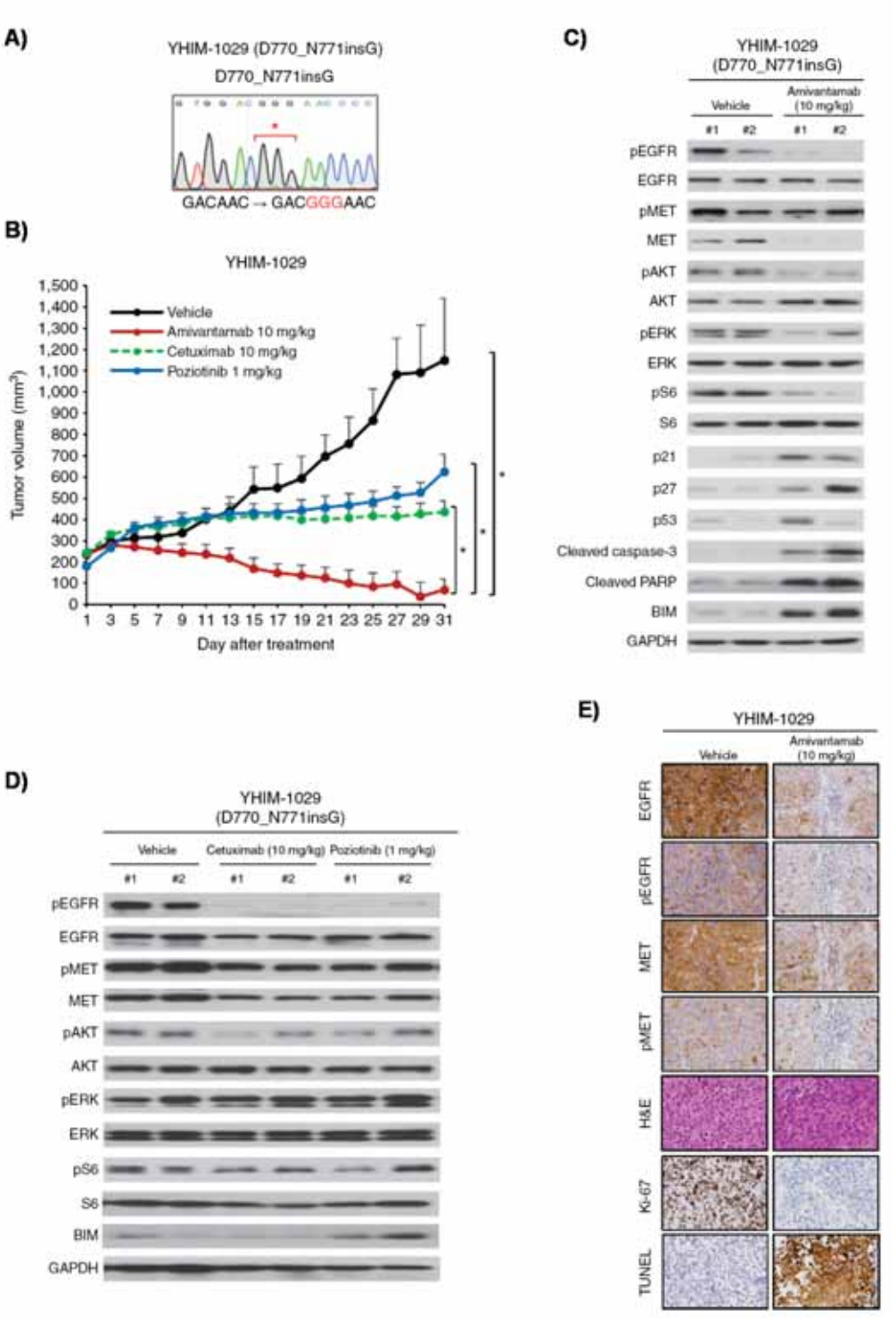


図 2.6.2-20 D770_N771insG 変異を有する PDX モデルにおける
アミバンタマブの腫瘍縮小効果

A) YHIM-1029 PDX の EGFR 遺伝子の挿入変異（D770_N771insG）を示す配列決定データ
B) 患者由来腫瘍を BALB/c ヌードマウスに移植し，溶媒，アミバンタマブ（10 mg/kg）又はセツキシマブ（10 mg/kg）を週 2 回腹腔内投与，若しくは Poziotinib（1 mg/kg）を連日投与した。平均腫瘍体積（mm^3）± SEM（各群 7 例），*p<0.0001
C) 及び D) YHIM-1029 PDX モデルに C) アミバンタマブ（10 mg/kg），D) セツキシマブ（10 mg/kg）又は Poziotinib（1 mg/kg）を投与したときの腫瘍溶解液中の EGFR，MET，アポトーシスマーカー及び下流シグナル伝達経路のウエスタンブロット解析
E) アミバンタマブ（10 mg/kg）又は溶媒投与後の PDX モデルの腫瘍切片の病理組織学的解析。EGFR，pEGFR，MET，pMET 及び Ki-67 に対するヘマトキシリン・エオシン染色及び免疫組織化学染色並びに TUNEL 染色

これらの EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC 由来の細胞又は組織（DFCI-127，DFCI-58，YU-1163 及び YHIM-1029）では，いずれも pMET が検出されている。アミバンタマブにより pMET 低下が，*in vitro* では 3 株中 3 株，*in vivo* では 3 試験中 2 試験で確認されており，MET 及び EGFR を介した細胞内の AKT 又は ERK などのシグナル伝達系への影響が認められる。アミバンタマブ処理が下流の AKT 又は ERK などのシグナル伝達系へ影響し，抗腫瘍効果に寄与する可能性が示唆される。

2.6.2.2.12 アミバンタマブの毒性試験に使用する動物種の適切性

【4.2.1.1.45，4.2.1.1.46】

アミバンタマブの非臨床安全性の評価に薬理学的に適切な動物種を選択するための検討を行った。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。げっ歯類の EGFR への交差反応性は，カニクイザルやヒトより低かった（4.2.1.1.44 参照）。SPR 法で，アミバンタマブはマウス及びラットの EGFR 又は MET に対し，ほとんど結合しないことが確認された（4.2.1.1.43 参照）。以下の結合親和性及び機能活性の結果から，アミバンタマブの非臨床安全性評価にカニクイザルを用いることが適切であることが示された。

2.6.2.2.12.1 ヒト及びカニクイザルの標的分子に対するアミバンタマブの結合能

【4.2.1.1.1】

酵素結合免疫吸着法により，カニクイザルの EGFR ECD 及び MET ECD に対するアミバンタマブの結合親和性を，ヒトの EGFR ECD 及び MET ECD の結合親和性と比較した。ヒト及びカニクイザルの EGFR ECD に対してアミバンタマブは同程度の結合親和性を示し，ヒト及びカニクイザルの MET ECD に対しても同程度の結合親和性を示した（表 2.6.2-7）（4.2.1.1.1 参照）。

表 2.6.2-7 ヒト及びカニクイザルの EGFR 及び MET の細胞外領域への アミバンタマブの結合親和性

	EC_{50} (nmol/L) EGFR ECD Fc	EC_{50} (nmol/L) MET ECD Fc
Human	0.38 ± 0.04	0.27 ± 0.04
Cynomolgus monkey	0.57 ± 0.10	0.30 ± 0.07

受容体 ECD は Fc 融合体であるため，結合試験にアミバンタマブの $F(ab')_2$ を用いた。
EC_{50} ± 95% CI (nmol/L), n=3
CI = confidence interval; EC_{50} = 50% effective concentration; ECD = tracellular domain;
EGFR = epidermal growth factor receptor; mAb = monoclonal antibody; MET = mesenchymal-epithelial transition factor;
n = number.

2.6.2.2.12.2 アミバンタマブによるヒト及びカニクイザル線維芽細胞の EGFR 及び MET のリン酸化の阻害

【4.2.1.1.47】

H292 ヒト肺癌細胞，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，各リガンドによる EGFR 及び MET のリン酸化に対するアミバンタマブの阻害作用を検討した。アミバンタマブは，HGF によるカニクイザル肺線維芽細胞及びヒト H292 細胞の MET リン酸化を同程度に阻害した。また，EGF によるカニクイザル肺線維芽細胞の EGFR リン酸化を阻害したが，その作用はヒト細胞の約 1/10 であった（表 2.6.2-8）。

表 2.6.2-8 ヒト及びカニクイザルの EGFR 及び MET のリン酸化に及ぼすアミバンタマブの作用

	IC_{50} (nmol/L) pEGFR	IC_{50} (nmol/L) pMET
Human	20.4	0.15
Cynomolgus monkey	248	0.22

pEGFR（pTyr1173）及び pMET（pTyr1349）の量を MSD により測定した。ヒト pEGFR の値は複数の種類の細胞で 7 回測定した平均値を示す。カニクイザルの pEGFR の値は肺線維芽細胞で 2 回測定した平均値を示す。
EGFR = epidermal growth factor receptor; IC_{50} = 50% inhibitory concentration;
MET = mesenchymal-epithelial transition factor; MSD = Meso Scale Discovery;
pEGFR = phosphorylated EGFR; pMET = phosphorylated MET.

2.6.2.3 副次的薬理試験

該当資料なし

2.6.2.4 安全性薬理試験

【4.2.3.2.1，4.2.3.2.2，4.2.3.2.3】

安全性薬理試験（心血管系，呼吸系及び CNS）の評価項目を，カニクイザルを用いた 1 カ月間反復 IV 投与忍容性試験（非 GLP），並びに 6 週間及び 3 カ月間反復 IV 投与毒性試験（GLP）に，組み入れて実施した（表 2.6.2-9）。

カニクイザルにアミバンタマブを 100 mg/kg/週までの用量で 4 回投与した 1 カ月間反復 IV 投与忍容性試験，並びに 120 mg/kg/週までの用量で 5 及び 13 回投与した 6 週間及び 3 カ月間反復 IV 投与毒性試験では，心血管系，呼吸系及び一般状態観察による CNS 評価に，投与に関連する有害作用を示す所見は認められなかった（4.2.3.2.1，4.2.3.2.2，4.2.3.2.3，2.6.3.4 参照）。無麻酔下のサルで実施した心電図（ECG）の評価は正常であり，ECG パラメータの変化，調律及び波形，心拍数，血圧，呼吸数及び体温にアミバンタマブに関連した影響は認められなかった。無麻酔下で実施した身体検査及び 1 日 1 回の一般状態観察，並びに麻酔下で実施した週 1 回の詳細な検査で，アミバンタマブに関連する変化は認められなかった。カニクイザルを用いた 6 週間及び 3 カ月間反復 IV 投与毒性試験の無毒性量（NOAEL）である 120 mg/kg/週（最高試験用量）では，最終投与後の C_{max} はそれぞれ 5,040 及び 5,232 μg/mL であった。

さらに，カニクイザル及びヒト組織を用いた *in vitro* 組織交差反応性試験の結果，心臓，骨格筋，肺，脳，末梢神経及び脊髄の各組織の細胞膜に対するアミバンタマブの特異的染色は認められなかった【2.6.6.8.7.1】（4.2.3.7.7.1，4.2.3.7.7.2 参照）。

表 2.6.2-9 カニクイザルにおけるアミバンタマブの安全性薬理評価

例数/性/群, 年齢	投与期間, 用量	ECG[c]	血圧, 心拍数, 呼吸数及び一般状態観察
1 カ月間反復 IV 投与忍容性試験（非 GLP）（4.2.3.2.1 参照）			
3 例/雄/群, 2.6 - 3.7 年齢	0, 3, 30, 100 mg/kg/週 4 週間 (1, 8, 15 及び 22 日) [a]	6 誘導 ECG（I, II, III, aVR, aVL 及び aVF）測定を，投与前 2 回（投与 1 日前及び 2 日以上の間隔をあけて）並びに投与後 2 回（投与後 1 及び 22 日目）行い，定性的評価を行った。	一般状態の観察を投与 7 日前から 1 日 1 回行った。身体検査は，投与前 1 回及び週 1 回行った。 血圧，心拍数（自動体外式カフ測定），呼吸数及び体温を投与前（1 週前）及び投与後 1 及び 22 日目に測定した。
6 週間反復 IV 投与毒性試験（GLP）（4.2.3.2.2 参照）			
3 例/雌雄/5 週（主試験群）+ 2 例/雌雄/11 週（休薬群） 2.6 - 4.0 年齢	0, 20, 60, 120 mg/kg/週 5 週間 (1, 8, 15, 22 及び 29 日)[a]	6 誘導 ECG（I, II, III, aVR, aVL 及び aVF）測定を，投与前 1 回（1 週前）並びに投与後 5 及び 11 週に実施し，定性的評価を行った。	一般状態の観察を投与 7 日前から 1 日 1 回を行った。詳細な状態観察を投与前 1 回及び週 1 回行った。 身体検査及び体温測定（麻酔下）を投与前及び 1，5 及び 11 週目に行った。 血圧，心拍数（自動体外式カフ測定）及び呼吸数を，投与前（1 週前）及び 1，5 及び 11 週目に測定した。
3 カ月間反復 IV 投与毒性試験（GLP）（4.2.3.2.3 参照）			
4 例/雌雄/群, 2.3 - 3.2 年齢	0, 60, 120 mg/kg/週 13 週間 (1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78 及び 85 日) [b]	7 誘導 ECG（I, II, III, aVR, aVL, aVF 及び V 2）を投与前に 1 回（1 週前），並びに投与 6 及び 13 週に実施し，定性的評価を行った。	一般状態の観察を投与 1 週前から 1 日 1 回行った。投与後の詳細な状態観察を，各投与後 2～3，5～6 及び 10～12 時間に行った。 身体検査及び体温測定（麻酔下）を投与前，投与 6 及び 13 週目に行った。 血圧，心拍数（自動体外式カフ測定）及び呼吸数（手集計）を投与前，投与 6 及び 13 週目に測定した。

[a] 1 カ月間忍容性試験及び 6 週間毒性試験では，アミバンタマブの投与液を 10 mmol/L ヒスチジン，8.5%（w/v）精製白糖及び 0.04%（w/v）ポリソルベート 80 で，pH 5.7 に調製した。対照群には生理食塩液を投与した。

[b] 3 カ月間投与毒性試験では，アミバンタマブの投与液を，10 mmol/L ヒスチジン，8.5%（w/v）精製白糖，1 mg/mL L-メチオニン，0.06%（w/v）ポリソルベート 80 及び 20 µg/mL エチレンジアミン四酢酸を添加して pH 5.7 に調製した。対照群には 5%ブドウ糖を投与した。

[c] ECG は拘束，無麻酔下で計測した。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし

2.6.2.6　考察及び結論

2.6.2.6.1　効力を裏付ける試験

ヒト IgG_1 二重特異性抗体であるアミバンタマブは EGFR の ECD と 1.4 nmol/L の親和性で結合し，MET の ECD と 40 pmol/L の親和性で結合する。また，アミバンタマブは EGFR のリガンドである EGF との結合を阻害し，MET のリガンドである HGF との結合も阻害する。

アミバンタマブは EGFR 及び MET のいずれについてもリガンド誘導性の受容体活性化を阻害することで，下流シグナル伝達を阻害するとともに，*in vivo* において両受容体の分解を誘導する。アミバンタマブを低フコシル化することで免疫エフェクター細胞との結合能が高くなり，抗

原を発現している腫瘍細胞が ADCC を介して除去される。さらに，アミバンタマブは単球及びマクロファージと相互作用し，腫瘍細胞上の ADCT を介して EGFR 及び MET を減少させ，これらの受容体を介した作用をさらに阻害する。

アミバンタマブの *in vivo* における有効性は，WT EGFR 又は EGFR 変異を有するモデル及び HGF の過剰発現又は MET 遺伝子増幅により MET 経路が活性化されたモデルにおいて認められている。また，EGFR の初期耐性変異（例:Exon 20 挿入），EGFR-TKI の治療で獲得した EGFR の二次耐性変異（例:T790M 及び/又は C797S），又は MET 経路の活性化により，他の抗 EGFR 治療薬に耐性を示す腫瘍異種移植モデルにおいても有効性が示されている。

EDI1001 試験において Exon 20 挿入変異 NSCLC 患者検体における EGFR/MET の発現を免疫組織染色で検討したところ，検討した 34 例中 33 例の腫瘍に EGFR/MET 両方，又はいずれかの受容体の発現が認められ，34 例中 30 例の腫瘍に EGFR/MET 両受容体の発現が認められた。この結果から，Exon 20 挿入変異 NSCLC 患者のほとんどにおいて，アミバンタマブの標的分子である EGFR/MET を発現していることが確認された（5.3.5.4.4）。

In vitro の試験において，アミバンタマブは Exon 20 挿入変異を含む EGFR 及び MET を発現している NSCLC あるいはそれ以外の腫瘍細胞株に対して ADCC 活性を示した。また，Exon 20 挿入変異 NSCLC の臨床腫瘍検体において，EGFR 及び MET の発現が確認されていることから，Exon 20 挿入変異 NSCLC 患者に対して ADCC 活性が期待される。さらに，*In vitro* の試験において MET 及び EGFR を発現している細胞においては，抗体の一方の結合部位が最初の標的に結合すると，もう一方の標的への結合速度が加速されることによって見かけ上の親和性が高くなるクロスアーム結合効果（2.6.2.2.2.1 参照）による ADCC 活性の増強が起こりうることが示唆された（2.6.2.2.11.3 参照）。アミバンタマブは，ADCC に加え，リガンドの結合阻害，受容体の内在化及び分解，免疫細胞を介した受容体のダウンレギュレーションにより EGFR 及び MET の発現及びシグナル伝達の抑制などの複数の機序を介して腫瘍を抑制することが示されている。MET を介したクロスアーム結合効果は，これらの作用においても寄与する可能性がある。

NSCLC において MET 及び EGFR の経路はともに，下流シグナル伝達系として PI3K-AKT 経路及び RAS-ERK/MAPK 経路を有している（図 2.6.2-21）。Exon 19 欠失又は L858R EGFR 変異を有する NSCLC において，EGFR-TKI 存在下で，HGF により ERK 及び AKT が活性化され，EGFR-TKI 耐性を生じることが示されている[7),8)]。これは，臨床において EGFR-TKI に対する耐性を生じる主要なメカニズムの一つとなることが報告されている[9)]。EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC である LU-0387 細胞でも HGF 存在下で HGF-MET 経路による ERK 及び AKT の活性化が生じることが示されたことから，EGFR Exon 20 挿入変異 NSCLC においても，アミバンタマブが HGF 存在下における ERK 及び AKT リン酸化を抑制しうることが示された。

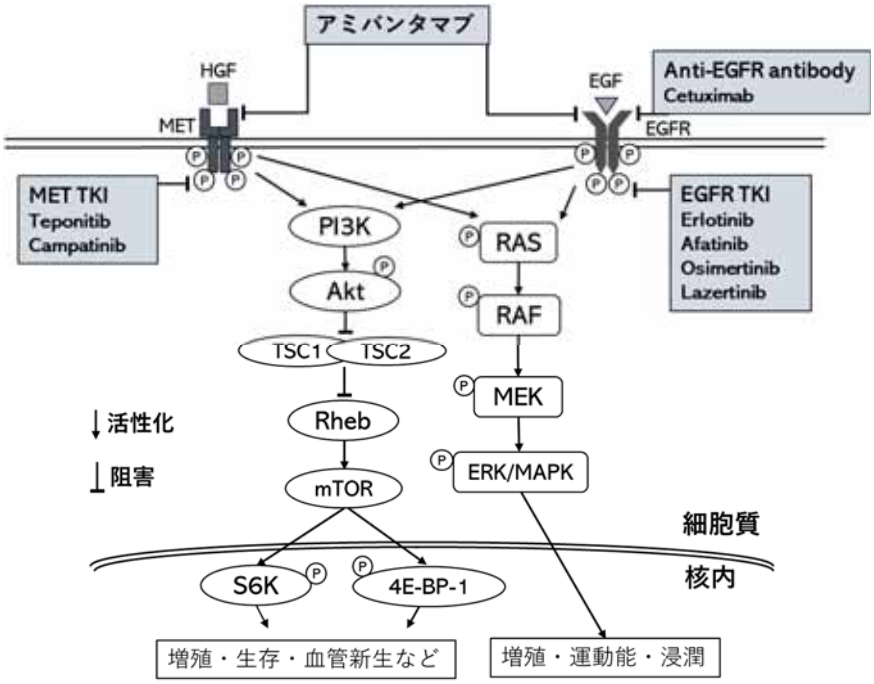


図 2.6.2-21 アミバンタマブにおける EGF/HGF シグナル伝達経路

以上より，検討した Exon 20 挿入変異 NSCLC 細胞は，EGFR 及び MET の発現が確認され，アミバンタマブは，それらのシグナル伝達経路を阻害した。さらに，アミバンタマブは EGFR 及び MET への二重特異性結合及び脱フコース化による Fc 相互作用増強により，低フコース化抗 EGFR 単腕及び MET 単腕抗体，並びに高親和性二価 EGFR 抗体であるセツキシマブと比較して，強い ADCC 活性を示した。したがって，アミバンタマブが EGFR 及び MET の細胞外ドメインに結合することにより，キナーゼ領域の活性化変異及び MET 経路活性化（NSCLC における EGFR-TKI 耐性において高頻度に認められる活性化経路）に影響されずに，異常な EGFR シグナル伝達を阻害することで，増殖抑制及び細胞傷害活性を発揮することが示された。

2.6.2.6.2 安全性薬理試験

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（GLP）において，試験した最高用量である 120 mg/kg/週までの用量でアミバンタマブを 5 及び 13 回反復 IV 投与したとき，心血管系，呼吸系及び CNS に関連した所見は認められなかった。

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 2.6.2-10）。

* 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。

表 2.6.2-10 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: 第 1 相臨床試験（61186372EDI1001 試験）で 2 サイクル目の 1 日目におけるヒト（日本人）曝露量を示す。$AUC_{0\text{-}168h}$（112,439 µg·h/mL）は 24 時間あたり（µg·day/mL）に換算した。

b: 投与終了時のサル曝露量：6 週間試験の Day 29 の C_{max} 及び $AUC_{Day\ 29\text{-}36}$（T-20[redacted]-011），並びに 3 カ月間試験の Day 85 の C_{max} 及び $AUC_{Day\ 85\text{-}92}$（最終投与日を報告書に記載されている Day 84 ではなく Day 85 と定義）（TOX14008）

BW = body weight; GLP = Good Laboratory Practice; NOAEL = no observed adverse effect level

2.6.2.7 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.2.8 参考文献

1） Zheng S, et al. Cross-arm binding efficiency of an EGFR x c-Met bispecific antibody. MAbs. 2016;8(3):551-61.

2） Satoh M, et al. Non-fucosylated therapeutic antibodies as next-generation therapeutic antibodies. Expert Opin Biol Ther. 2006;6:1161-73.

3） Vafa O, et al. An engineered Fc variant of an IgG eliminates all immune effector functions via structural perturbations. Methods. 2014;65:114-26.

4） Ji H, et al. The impact of human EGFR kinase domain mutations on lung tumorigenesis and in vivo sensitivity to EGFR-targeted therapies. Cancer cell. 2006;9:485-95.

5） Zhou W, et al. Novel mutant-selective EGFR kinase inhibitors against EGFR T790M. Nature. 2009;462:1070-4.

6） Xu L, et al. Combined EGFR/MET or EGFR/HSP90 inhibition is effective in the treatment of lung cancers co-driven by mutant EGFR containing T790M and MET. Cancer research. 2012;72:3302-11.

7） Yano S, et al. Hepatocyte growth factor induces gefitinib resistance of lung adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor-activating mutations. Cancer Res. 2008;68:9479-87.

8） Wang W, et al. Crosstalk to stromal fibroblasts induces resistance of lung cancer to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. Clin Cancer Res. 2009;15:6630-8.

9） Yano S, et al. Hepatocyte growth factor expression in EGFR mutant lung cancer with intrinsic and acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors in a Japanese cohort. J Thorac Oncol. 2011;6:2011-7.

2.6.3　薬理試験概要表

2.6.3.1　薬理試験：一覧表

Test Article：Amivantamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Primary Pharmacodynamics						
Binding affinity to human EGFR ECD	Surface Plasmon Resonance: captured amivantamab with rhEGFR ECD-Fc in solution	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD15319	4.2.1.1.1
Binding affinity to human MET ECD	Surface Plasmon Resonance: captured amivantamab with rhMET ECD-Fc in solution	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD15319	4.2.1.1.1
Blockade of human EGFR ECD binding to EGF	Recombinant human EGFR ECD-Fc captured on plates with Ru-labeled EGF in solution	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD15319	4.2.1.1.1
Blockade of human MET ECD binding to HGF	Recombinant human MET ECD-Fc captured on plates with biotinylated HGF in solution	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD15319	4.2.1.1.1
Inhibition of ligand-induced phosphorylation of EGFR and MET in cells	Human NSCLC cell lines	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD14324	4.2.1.1.2
					DD15327	4.2.1.1.3
					Jarantow SW, et al. 2015	4.2.1.1.4
Disruption of homodimerization of EGFR:EGFR and heterodimerization of EGFR:ErbB2	Engineered reporter cell lines	*In vitro*	No	[redacted], USA	DD15309	4.2.1.1.5
Inhibition of downstream ERK and AKT signaling	Human NSCLC cell lines	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD14324	4.2.1.1.2
					Moores SL, et al. 2016	4.2.1.1.6

(continued)

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article：Amivantamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation[a])	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Effects on cell viability *in vitro*	Human NSCLC cell lines	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD14324	4.2.1.1.2
In vitro cell viability assays testing combinations with anti-EGFR TKIs	Human NSCLC cell lines	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA and [redacted], USA	DD15330	4.2.1.1.7
					DD15332	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	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	BD20[redacted]ST-002	4.2.1.1.9
Enhanced ADCC activity	Human NSCLC cell lines	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD15319	4.2.1.1.1
					REStr850ks	4.2.1.1.10
					DD20150	4.2.1.1.11
					Vijayaraghavan S, et al. 2020	4.2.1.1.12
In vitro cell viability and apoptosis assays with or without PBMCs	Human NSCLC and gastric cancer cell lines	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD20150	4.2.1.1.11
					Vijayaraghavan S, et al. 2020	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	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD20150	4.2.1.1.11
					Vijayaraghavan S, et al. 2020	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; average tumor volume of approx. 184 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg), cetuximab (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week; erlotinib (25 mg/kg) dosed PO, QD; afatinib (15 mg/kg) dosed PO, QD; all for 3 weeks	No	[redacted], USA	DD15305	4.2.1.1.13

(continued)

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article：Amivantamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation[a])	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Amivantamab-IgG2sigma (silent Fc) activity in H1975-HGF xenograft tumors	Nude mice with H1975-HGF human tumor cells; average tumor volume of approx. 120 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg), amivantamab-IgG2sigma (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 3 weeks	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	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; average tumor volume of approx. 102 mm^3 at start of dosing	Isotype control IgG1, amivantamab (10 mg/kg), amivantamab-IgG2sigma (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 3 weeks; some groups treated with anti-mCSF-1R Ab (400 µg) dosed IP, 3x/weeks; 6 days prior to other treatments and continued until end of study	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD20150	4.2.1.1.11
					Vijayaraghavan S, et al. 2020	4.2.1.1.12
Induction of receptor downmodulation *in vivo*	Nude mice with H1975-HGF human tumor cells; average tumor volume of approx. 203 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg) dosed IP on Day 1 and Day 4; tumors harvested Day 5	No	[redacted] USA and Janssen Spring House, Pennsylvania, USA	DD15323	4.2.1.1.15
					DD15315	4.2.1.1.16
Induction of receptor downmodulation *in vivo*	SCID mice with H1975-HGF human tumor cells; tumor volume range of approx. 50-150 mm^3 at dosing	Vehicle, amivantamab (1, 5, 20 mg/kg) single IP dose; tumors harvested 3 hr, 24 hr, 72 hr, 1 wk post-dose	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD15318	4.2.1.1.17
					DD15321	4.2.1.1.18
					DD15317	4.2.1.1.19

(continued)

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article：Amivantamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation[a])	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Inhibition of xenograft tumor growth in NSCLC model with WT EGFR and WT MET, plus HGF	SCID mice with SKMES-HGF human tumor cells; average tumor volume of approx. 100 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (1, 5, 20 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 4 weeks	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD15314	4.2.1.1.20
Inhibition of xenograft tumor growth in NSCLC models with activating and resistance mutations in EGFR and activationof MET pathway	Nude or SCID mice with H1975-HGF human tumor cells	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 3 weeks Vehicle, amivantamab (0.3, 1, 3, 10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 2 weeks	No	[redacted], USA and Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD15303	4.2.1.1.21
					DD15305	4.2.1.1.13
					DD15315	4.2.1.1.16
					DD15317	4.2.1.1.19
					DD15325	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; average tumor volumes of approx. 165-210 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (1-10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 3 weeks	No	[redacted], USA and [redacted], China	DD15303	4.2.1.1.21
					DD15305	4.2.1.1.13
					DD15315	4.2.1.1.16
					DD15334	4.2.1.1.22
					DD15338	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; average tumor volumes of approx. 140-185 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (10 or 30 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 3 weeks	No	[redacted], China [redacted], China	DD15301	4.2.1.1.30
					DD15335	4.2.1.1.24
					DD15338	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; average tumor volumes of approx. 140-176 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 3 weeks	No	[redacted], UK and [redacted], USA	DD15310	4.2.1.1.25
					DD15329	4.2.1.1.26

(continued)

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article：Amivantamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation[a])	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
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; average tumor volumes of 140-185 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 3 weeks	No	[redacted], China and [redacted], UK and [redacted], USA	DD15311	4.2.1.1.27
					DD15310	4.2.1.1.25
					DD15329	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; average tumor volumes of 140-450 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 3 weeks (6 weeks for CRC0196)	No	[redacted], China and [redacted], Italy	DD15313	4.2.1.1.28
					DD15333	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; average tumor volumes of approx. 150-185 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (1, 5, 10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 3 or 4 weeks	No	[redacted], China, China	DD15301	4.2.1.1.30
					DD15302	4.2.1.1.31
					DD15331	4.2.1.1.32
					DD15338	4.2.1.1.23
Inhibition of tumor growth in PDX esophageal cancer model	SCID mice with SG16 (PDX) human tumor fragments; average tumor volume of approx. 264 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 6 weeks	No	[redacted], Italy	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 implanted subcutaneously; average tumor volumes of approx. 150-250 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week for 3 weeks	No	[redacted], China, China and Janssen Research & Development Shanghai, China	DD15336	4.2.1.1.33

(continued)

2.6.3.1　薬理試験：一覧表（続き）

Test Article：Amivantamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation[a])	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Efficacy in genetically-engineered mouse lung tumor models	Genetically-engineered mouse lung tumor models expressing EGFR-Exon 19 del or EGFR-Exon 19 del T790M /MET	Vehicle, amivantamab (10, 50 mg/kg) dosed IP, 2x/week; cetuximab (10 mg/kg) dosed IP, QD; erlotinib (30 mg/kg) dosed PO, QD; afatinib (15 mg/kg) dosed PO, QD; osimertinib (10 mg/kg) dosed PO, QD; all for 4 weeks	No	[redacted], USA and Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD15324	4.2.1.1.34
					DD15320	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; average tumor volumes of approx. 40-65 mm^3 at start of dosing	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg), cetuximab (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week; osimertinib (25 mg/kg), erlotinib (25 mg/kg) dosed PO, QD; all for 3 weeks	No	[redacted], USA	DD17041	4.2.1.1.36
EGFR and MET expression on the plasma membrane of LU0387 by FCM	EGFR Exon 20 Insertion NSCLC LU0387, FCM	*In vitro*	No	[redacted], China	E5980-U2101 study 1	4.2.1.1.37
Target protein expression and phosphorylation on LU0387 with or without HGF stimulation by western blotting analysis	EGFR Exon 20 Insertion NSCLC LU0387	*In vitro*	No	[redacted], China	E5980-U2101 study 2	4.2.1.1.38
Growth inhibition and suppresses EGFR and MET signaling pathways in PDCs harboring EGFR Exon20ins mutations	EGFR Exon 20 Insertion NSCLCs; DFCI-127 (P772_H773insPNP), DFCI-58 (H773_V774insNPH) and YU-1163 (S768_D770dup)	*In vitro*	No	Yonsei University College of Medicine, Seoul, South Korea	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	[redacted], Japan	E302-20002-2	4.2.1.1.40
ADCC effect against YU-1163 cells	EGFR Exon 20 Insertion NSCLC YU-1163	*In vitro*	No	[redacted], Japan	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	[redacted], China	E5980-U2101 study 5	4.2.1.1.42

(continued)

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article：Amivantamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation[a])	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Invasion and migration assay on LU0387	EGFR Exon 20 Insertion NSCLC LU0387	*In vitro*	No	[redacted], China	E5980-U2101 study 4	4.2.1.1.43
Inhibition of tumor growth in PDX models with EGFR Exon20 insertion alterations	Nude mice with LXFE2478, LU3075 or LU0387 human tumor fragments	Isotype control IgG1, amivantamab (10 mg/kg), cetuximab (10 mg/kg) dosed IP, 2x/week; osimertinib (30 mg/kg), erlotinib (25 mg/kg) dosed PO, QD; all for 3 weeks	No	[redacted], Germany and [redacted], China	DD20172	4.2.1.1.44
Inhibition of tumor growth in mouse models with EGFR Exon20 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	Vehicle, amivantamab (30 mg/kg), dosed IP, 2x/week for 3 weeks	No	Yonsei University College of Medicine, Seoul, South Korea	Yun J, et al. 2020	4.2.1.1.39
Inhibition of tumor growth in mouse models with EGFR Exon20 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	Vehicle, amivantamab (30 mg/kg), dosed IP, 2x/week for 3 weeks	No	Yonsei University College of Medicine, Seoul, South Korea	Yun J, et al. 2020	4.2.1.1.39
Inhibition of tumor growth in PDX models with EGFR Exon20 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	Vehicle, amivantamab (10 mg/kg), dosed IP, 2x/week for 3 weeks	No	Yonsei University College of Medicine, Seoul, South Korea	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	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	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	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	BD20[redacted]ST-001	4.2.1.1.45

(continued)

2.6.3.1　薬理試験：一覧表（続き）

Test Article：Amivantamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation[a])	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
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	Genmab, Utrecht, The Netherlands	GMB1006-050	4.2.1.1.46
Binding to human and cynomolgus monkey EGFR and MET ECDs	EGFR and MET ECDs Enzyme-linked immunosorbent assays using receptor ECD-Fc protein fusions and the F(ab')2 derivatives of the mAbs	*In vitro*	No	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	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	Janssen, Spring House, Pennsylvania, USA	DD15326	4.2.1.1.47
Secondary Pharmacodynamics						
No studies conducted						
Safety Pharmacology						
CV, respiratory and CNS safety assessed as part of the 1-month tolerability study	Cynomolgus monkey 3M/group	IV (slow bolus), once weekly for 4 doses 0, 3, 30, 100 mg/kg (formulation buffer[b]) Batch [redacted]	No	[redacted], USA	T-20[redacted]-005	4.2.3.2.1
CV, respiratory and CNS safety assessed as part of the pivotal 6-week repeat-dose toxicity study with a 6-week recovery period	Cynomolgus monkey 5/sex/group (dosing period) 2/sex/group (recovery period)	IV (slow bolus), once weekly for 5 doses 0, 20, 60, 120 mg/kg (formulation buffer[b]) Batch [redacted]	Yes	[redacted], USA	T-20[redacted]-011	4.2.3.2.2
CV, respiratory and CNS safety assessed as part of the 3-month repeat-dose toxicity study	Cynomolgus monkey 4/sex/group	IV (slow bolus), once weekly for 13 doses 0, 60, 120 mg/kg (formulation buffer[c]) Batch [redacted]	Yes	[redacted], USA	TOX14008	4.2.3.2.3

(continued)

2.6.3.1　薬理試験：一覧表（続き）

Test Article：Amivantamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation[a])	GLP	Test Facility	Study No.	Location in CTD
Pharmacodynamic Drug Interactions						
No studies conducted						

For *in vivo* pharmacology tumor xenograft mouse models, tumor cells or fragments were implanted in the flank (not specified in all study reports).
[a] Sterile phosphate-buffered saline (pH 7.4) used as vehicle for *in vivo* primary pharmacology studies, unless otherwise specified.
[b] Amivantamab was formulated in 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose and 0.04% (w/v) polysorbate 80 at pH 5.7. Control article was saline (steriled saline).
[c] Amivantamab was formulated in 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 1 mg/mL L-methionine, 0.06% (w/v) polysorbate 80 and 20 µg/mL EDTA at pH 5.7. Control article was 5% dextros injection.
ADCC = antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; [redacted]; [redacted]; [redacted]; CRC = colorectal cancer; CV = cardiovascular;
cyno = cynomolgus monkey; [redacted]; ECD = extracellular domain; ECG = electrocardiogram; EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid;
EGFR = epidermal growth factor receptor; F = female;; Fc = fragment crystallizable; FCM = flow cytometry; GLP = Good Laboratory Practice;
HCC = hepatocellular carcinoma; HGF = hepatocyte growth factor; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; M = male;
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; PO = oral dosing; QD = once daily; TGI = tumor growth inhibition; TKI = tyrosine kinase inhibitor;
UK = United Kingdom; USA = United States of America; WT = wild-type; w/v = weight/volume

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

概要文中に記載

2.6.3.3　副次的薬理試験

該当資料なし

2.6.3.4　安全性薬理試験

Test Article：Amivantamab

Organ Systems Evaluated	Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg/week)	Noteworthy Findings	GLP	Study No./ Location in CTD
CV, respiratory and CNS safety assessed as part of the 1-month tolerability study	Cynomolgus monkey 3M/group 2.6 - 3.7 yo	IV (slow bolus), once weekly for 4 doses (formulation buffer[a])	0, 3, 30, 100 (Days 1, 8, 15, 22)	No CV findings: qualitatively normal 6 lead ECGs, no changes in ECG parameters or abnormalities in rhythm or waveform morphology, and no HR or BP effects (automated external cuff collection) on Days 1 and 22 No effect on RR on Days 1 and 22 No observational CNS findings: no findings on daily clinical observations; no clinical observations on weekly veterinary examination; no body temperature changes on Days 1 and 22 At the highest tested dose of 100 mg/kg/week, serum exposure to amivantamab after the last dose corresponded to mean values of 3,084 µg/mL for C_{max} on Day 15 and 11,989 µg·day/mL for $AUC_{Day15-22}$	No	T-20[redacted]-005/ 4.2.3.2.1
CV, respiratory and CNS safety assessed as part of the 6-week repeat-dose toxicity study with a 6-week recovery period	Cynomolgus monkey 5/sex/group (dosing period) 2/sex/group (recovery period) 2.6 - 4.0 yo	IV (slow bolus), once weekly for 5 doses (formulation buffer[a])	0, 20, 60, 120 (Days 1, 8, 15, 22, 29)	No CV findings: qualitatively normal 6 lead ECGs, and no changes in ECG parameters or abnormalities in rhythm or waveform morphology in Weeks 5 and 11; no HR or BP effects (external automated cuff collection) in Weeks 1, 5 and 11 No effect on RR in Weeks 1, 5 and 11 No observational CNS findings: no findings on daily or detailed weekly clinical observations; no body temperature changes or clinical observations on veterinary examinations in Weeks 1, 5 and 11 At the highest tested dose of 120 mg/kg/week, serum exposure to amivantamab after the last dose corresponded to mean values of 5,040 µg/mL for C_{max} on Day 29 and 20,503 µg·day/mL for $AUC_{Day29-36}$	Yes	T-20[redacted]-011/ 4.2.3.2.2

(continued)

2.6.3.4　安全性薬理試験（続き）

Test Article：Amivantamab

Organ Systems Evaluated	Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg/week)	Noteworthy Findings	GLP	Study No./ Location in CTD
CV, respiratory and CNS safety assessed as part of the 3-month toxicity study	Cynomolgus monkey 4/sex/group 2.2 - 3.2 yo	IV (slow bolus), once weekly for 13 doses (formulation buffer[b])	0, 60, 120 (Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85)	No CV findings: qualitatively normal 7 lead ECGs, no changes in ECG parameters or abnormalities in rhythm or waveform morphology, and no effects on HR or BP (external automated cuff collection) in Weeks 6 and 13 No effect on RR in Weeks 6 and 13 No observational CNS findings: no findings on daily or detailed weekly clinical observations; no body temperature changes or clinical observations on veterinary examinations in Weeks 6 and 13 At the highest tested dose of 120 mg/kg/week, serum exposure to amivantamab after the last dose corresponded to mean values of 5,232 µg/mL for C_{max} on Day 85 and 21,936 µg·day/mL for $AUC_{Day85\text{-}92}$[c]	Yes	TOX14008/ 4.2.3.2.3

[a] Amivantamab was formulated in 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, and 0.04% (w/v) Polysorbate 80 at pH 5.7. Control article was saline (0.9% sodium chloride for injection, USP).
[b] Amivantamab was formulated in 10 mmol/L histidine, 8.5% (w/v) sucrose, 1 mg/mL L-methionine, 0.06% (w/v) Polysorbate 80, and 20 µg/mL EDTA at pH 5.7. Control article was 5% dextrose.
[c] AUC interval with last dose defined as Day 85 instead of Day 84 as in the study report.

$AUC_{t1\text{-}t2}$ = area under the serum concentration-time curve between two defined sampling time points, t1 and t2; BP = blood pressure; C_{max} = maximum serum concentration; CNS = central nervous system; CV = cardiovascular; ECG = electrocardiogram; EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; GLP = Good Laboratory Practice; HR = heart rate; IV = intravenous; M = male; No. = number; RR = respiration rate; w/v = weight/volume; yo = years old

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし