サシツズマブ　ゴビテカン（遺伝子組換え）

第 2 部 CTD の概要

2.4 非臨床試験の概括評価

ギリアド・サイエンシズ株式会社

目次

頁

略号一覧表 4
1　非臨床試験計画概略 5
2　薬理試験 8
2.1　効力を裏付ける試験 8
2.1.1　In vitro 薬理試験 8
2.1.1.1　In vitro 細胞毒性及び SG を介した DNA 損傷（RR-[redacted]; RR-[redacted]; Cardillo らの報告 [1]; Goldenberg らの報告 [2]） 9
2.1.1.2　SG 及び hRS7 の Trop-2 に対する結合性（RR-[redacted], RR-[redacted], RR-[redacted] 及び RR-[redacted]） 9
2.1.1.3　SG 及び hRS7 のヒト FcRn に対する結合性（RR-[redacted]） 10
2.1.1.4　抗体依存性細胞傷害性（ADCC）（Cardillo らの報告 [3]; TR-PD-IMMU-132-[redacted]） 10
2.1.1.5　補体依存性傷害性（CDC）（TR-PD-IMMU-132-[redacted]） 10
2.1.1.6　各種ヒト癌細胞株及び腫瘍異種移植部位における Trop-2 の発現状況 10
2.1.1.7　ヒトとカニクイザルにおける hRS7 の組織交差反応性（IM1735; DMP 04_11） 10
2.1.2　In vivo 薬理試験 11
2.2　副次的薬理試験 11
2.3　安全性薬理試験 11
3　薬物動態試験 13
4　毒性試験 17
5　総括及び結論 21
6　参考文献 23

表目次

頁

表 1　SG の薬理試験の一覧.....8
表 2　生体試料中薬物濃度分析法の概要.....13
表 3　SG の薬物動態試験の概要.....14
表 4　SG の非臨床毒性試験一覧.....17

略号一覧表

略号	英語	日本語
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADC	antibody-drug conjugate	抗体薬物複合体
ADCC	antibody-dependent cellular cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害性
AUC	area under the curve	濃度-時間曲線下面積
CDC	complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害性
C_{max}	maximum observed concentration of drug	最高薬物濃度
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
dsDNA	double strand DNA	二本鎖 DNA
ELISA	enzyme-linked immuno sorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法
FcRn	neonatal Fc receptor	新生児 Fc 受容体
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
FACS	fluorescence-activated cell sorting	蛍光活性化セルソーティング
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
HED	human equivalent dose	ヒト等価用量
hRS7	humanized anti-Trop-2 monoclonal antibody	ヒト化抗Trop-2モノクローナル抗体
ICH	International Council for Harmonisation (of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use)	医薬品規制調和国際会議
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
MES	2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid	2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NaOAc	sodium acetate	酢酸ナトリウム
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development	経済協力開発機構
PE	phycoerythrin	フィコエリスリン
SG	sacituzumab govitecan	サシツズマブ　ゴビテカン
SN-38G	SN-38 glucuronide	SN-38 グルクロン酸抱合体
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TNBC	triple-negative breast cancer	トリプルネガティブ乳癌
Trop-2	trophoblast cell surface antigen 2	-
UGT1A1	uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1	UDP グルクロン酸転移酵素 1A1

1　非臨床試験計画概略

本申請に係る薬剤は、サシツズマブ　ゴビテカン（以下 SG 又は IMMU-132、hRS7-CL2A-SN-38、hRS7-CL2A-SN38、hRS7-SN-38、hRS7-SN38 と表記）であり、trophoblast cell surface antigen 2（Trop-2）を標的とする抗体とトポイソメラーゼ阻害剤の複合体である。

ヒト化モノクローナル抗体である hRS7 IgG1κ（サシツズマブ）は、トリプルネガティブ乳癌（TNBC）を含む多くの種類の上皮癌で過剰発現している Trop-2 に結合する。低分子薬である SN-38 は、トポイソメラーゼ I 阻害剤であり、加水分解可能なリンカー（CL2A）により、抗体と共有結合している。SG は抗体 1 分子当たり平均 7～8 分子の SN-38 を含有しており、分子量は約 160 kDa である。

SG は、Trop-2 を発現する癌細胞に結合して細胞内に取り込まれ、リンカーの加水分解により SN-38 が放出されることで抗腫瘍作用を発揮する。SN-38 は、トポイソメラーゼ I と相互に作用し、トポイソメラーゼ I による一本鎖切断の再ライゲーションを阻害する。その結果生じる DNA 損傷は、アポトーシスと細胞死につながる。SG から放出された遊離 SN-38 は、膜透過性により腫瘍微小環境中の近傍の癌細胞に拡散し、Trop-2 陰性腫瘍細胞の細胞死を誘発する。

SG の臨床開発は進行癌患者の治療を目的にしていることから、非臨床試験は ICH S9 及び ICH S6 ガイドラインに従って実施した。hRS7 抗体の標的であり、SG の結合部位でもある Trop-2 と交差反応性を有することから、カニクイザルが毒性試験に適する唯一の動物種として特定された。効力を裏付ける薬理試験は、ヒト Trop-2 発現腫瘍を異種移植した担癌マウスモデルで実施した。また、Trop-2 に依存しない（オフターゲット）の薬物動態、生体内分布、毒性を評価するために、マウス及び／又はウサギを用いた薬物動態試験及び毒性試験を実施した。

薬理試験は、SG の作用機序の解明と抗腫瘍活性の評価を目的として実施した。SG の薬理評価では、in vitro 細胞毒性、トポイソメラーゼ I 阻害、抗体依存性細胞傷害性（ADCC）、補体依存性細胞傷害性（CDC）の評価、ヒト新生児 Fc 受容体（FcRn）との結合性及び Trop-2 との結合性を複数の動物種で評価し、各動物種の交差反応性と特異性を評価した。ヒト癌のヌードマウス異種移植モデルにおける in vivo 活性は、種々のヒト癌細胞株を用いて評価した。オリジナル製造クローン hRS7（[redacted]）と市販用製剤 hRS7 クローン（[redacted]）の同等性／同質性試験も実施した。Ex vivo での Trop-2 発現を、ヒト上皮癌パネル及びヒト癌細胞株で評価した。さらに、正常組織での Trop-2 の発現をより明確にし、ヒトと毒性学的外挿性を有するカニクイザルとの違いを明らかにするために、正常ヒト及びサル組織のパネルを用いて医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠した組織交差反応試験を行い、hRS7 の結合性を評価した。安全性薬理に関する項目は、GLP に適合した反復投与による亜急性毒性試験及び慢性毒性試験で評価した（表 1）。

SG の非臨床薬物動態は、オフターゲット（Trop-2 交差反応なし）効果についてマウスで、Trop-2 標的介在性の効果についてカニクイザルで評価した。SG の血清中薬物動態を明らかにするために、4 種類の成分を測定した。すなわち、1）総抗体（hRS7 ＋hRS7-CL2A-SN-38）、2）遊離 SN-38（細胞傷害性ペイロード）、3）SN-38 グルクロン酸抱合体（SN-38G，SN-38 の不活性代謝物）及び 4）総 SN-38（遊離 SN-38＋hRS7-CL2A-SN-38）であった。ヒト及びカニクイザル血清中 SG の安定性を ex vivo で評価した。サルの毒性試験では、抗 hRS7-CL2A-SN-38 抗体を指標として免疫原性についても評価した。サルにおける重要な反復投与毒性試験（CTD 4.2.3.2.4、[redacted]160.25、

GLP 適合）では、トキシコキネティクス（TK）及び免疫原性の評価にバリデートされた分析法（GLP 適合）を用いた。その他の試験には、研究用の分析方法を用いた。製法 A/B 剤（第 1/2 相臨床試験用製剤）と製法 C 剤（第 3 相臨床試験用製剤［市販用製剤］）の薬物動態を 2 種の動物種で比較評価した。すなわち、オフターゲット効果（hRS7 抗体による影響のみ）は Trop-2 交差反応種ではないウサギを、Trop-2 標的介在性効果（SG による影響）はサルを用いて評価した。担癌マウスを用いて SG の生体内分布を評価し、遊離 SN-38 及び SN-38G の最高薬物濃度（C_{max}）並びに曝露量について、活性代謝物として SN-38 を放出する対照分子であるイリノテカンとの違いを明らかにした。親分子から放出された後、遊離 SN-38 及び SN-38G の分布、代謝並びに排泄は、SG とイリノテカンとで同一であると考えられる。

SG はマウスの Trop-2 相同遺伝子に結合しないため、Trop-2 に依存しない毒性を評価するためにマウスにおける毒性試験を実施した。Trop-2 交差反応種であるカニクイザルを用いて、反復投与による亜急性毒性試験及び 3 ヵ月間の慢性毒性試験（GLP 適合）を実施した。サルにおける毒性試験（GLP 適合）では、局所刺激性、生殖器官、安全性薬理、薬物動態、免疫原性を評価するための測定項目を設定した。カニクイザルとヒトは、SG の血清安定性及び細胞毒性のある SN-38 の UDP グルクロン酸転移酵素 1A1（UGT1A1）代謝が類似していることから、カニクイザルは未変化の抗体薬物複合体（ADC）及びその代謝物（SN-38 及び SN-38G）の薬物動態及び毒性を評価するのに適した動物種と言える。カニクイザルにおける 3 ヵ月間毒性試験（GLP 適合）には、被験物質として、第 3 相臨床試験に用いた市販用製剤の抗体クローンを使用した製剤（製法 C）を用いた。また、独立した毒性評価が必要となるような、被験物質に関連する不純物はなかった。

SN-38 は、変異原性、異数性誘発性、構造異常誘発性を評価した。ICH S9 ガイドラインに基づき、がん原性、生殖能、初期胚発生及び出生前後の発生に対する SG の影響は評価していない。

さらに、新規添加剤である 2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸（MES）の毒性を、臨床曝露量を超える用量での SG 単独又は併用による in vitro 細胞毒性試験（2 試験）で評価した。MES の毒性は、マウスにおける毒性試験（GLP 非適合）及び 2 つのサルにおける反復投与毒性試験（GLP 適合）で、溶媒対照群と比較して評価した。また、一連の肝代謝試験、ラットのマスバランス試験、ラット 1 ヵ月間静脈内毒性試験（最高用量：投与可能な最大容量である 1000 mg/kg、GLP 適合）、ICH S2(R1)に準拠した in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、光毒性試験も実施した。ヒトに外挿し得る用量において、MES はシトクロム P450（CYP）酵素の誘導剤及び阻害剤ではなく、基質でもなかった。MES は尿中に速やかに排泄され、尿中に回収された総量の 98.87%は投与後 24 時間までに排泄されたものであった。ラットの毒性試験において、MES の投与可能な最高用量（1000 mg/kg）が無影響量（NOEL）であり、当該用量は予定臨床用量の 250 倍以上に相当した。また、MES は in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験で陰性であった。

以上のように、非臨床試験により、作用機序が解明され、抗腫瘍活性が確認され、カニクイザルやヒトの正常組織及び様々な上皮癌における Trop-2 の発現が明らかになった。SG 及び主要代謝物である SN-38 と SN-38G の生体内分布、代謝及び薬物動態を明らかにした。毒性試験では、毒性学的に外挿性があり交差反応性動物であるカニクイザルを用いて、ヒトに外挿し得る用量での SG の静脈内投与による毒性の標的器官、発現時期及び可逆性を明らかにした。主要な毒性変化は、遊離 SN-38 による既知の毒性変化と一致した。サルにおける用量制限毒性は用量依存的かつ可逆的で、重篤な好中球減少を伴う骨髄抑制（赤血球、白血球及び血小板の減少）、雌生殖器官の変化及び消化管障害が認められた。非臨床試験は ICH S9 及び ICH S6 ガイドラインの指針に従

って実施した。

なお、本モジュールでは、hRS7 は hRS7 抗体、hRS7 IgG 又は hRS7 IgG1κ とも、SN-38 は SN38 とも hA20-CL2A-SN-38 は hA20-CL2A-SN38、hA20-SN38 又は hA20-SN-38 とも、hLL2-CL2A-SN-38 は hLL2-CL2A-SN38 又は hLL2-SN-38 とも表記した。

2　　薬理試験

非臨床薬理試験の一覧を表 1 に、試験の概要を以下に記載した。

表 1　SG の薬理試験の一覧

試験の種類	試験番号
効力を裏付ける試験	
hRS7-CL2A-SN-38のin vitro力価アッセイ開発：結合性と細胞毒性	Research Report (RR) [redacted]
表面プラズモン共鳴（BIACORE）分析によるhRS7 IgG及びhRS7-CL2A-SN-38の組換えヒトTrop-2/TACSTD2（rhTrop-2/TACSTD2）への結合性の比較	Research Report (RR) [redacted]
表面プラズモン共鳴（BIACORE）分析によるhRS7 IgG及びhRS7-CL2A-SN-38のヒト新生児受容体（FcRn）への結合性の比較	Research Report (RR) [redacted]
2種類の異なるクローンに由来するhRS7抗体（hRS7-[redacted]及びhRS7-[redacted]）とそれに対応する抗体薬物複合体（IMMU-132-[redacted]及びIMMU-132-[redacted]）の抗体依存性細胞傷害性（ADCC）の同等性／同質性	TR-PD-IMMU-132-[redacted]-017
2種類の異なるクローンに由来するhRS7抗体（hRS7-[redacted]及びhRS7-[redacted]）とそれに対応する抗体薬物複合体（IMMU-132-[redacted]及びIMMU-132-[redacted]）の補体依存性細胞傷害性（CDC）の同等性／同質性	TR-PD-IMMU-132-[redacted]-018
ヒトトリプルネガティブ乳癌（TNBC）（MDA-MB-468）を異種移植した担癌マウスにおける抗Trop-2抗体薬物複合体（IMMU-132）の治療効果	[redacted]-281
オリジナルクローンhRS7（[redacted]）又は新規クローン（[redacted]）から作製されたIMMU-132のヒトTNBCを異種移植した担癌マウス（HCC1806）における同等性／同質性	120415-337
マウスTrop-2に対するhRS7 IgGの交差反応性	Research Report (RR) [redacted]
ラットTrop-2に対するhRS7 IgGの交差反応性	Research Report (RR) [redacted]
カニクイザルTrop-2に対するhRS7 IgG及びサシツズマブ　ゴビテカンの交差反応性	(RR) [redacted]
hRS7 IgGビオチンの正常カニクイザル組織との交差反応性試験	IM1735
hRS7の正常ヒト組織との交差反応性試験	DMP 04_11
副次的薬理試験	
腎細胞癌（ACHN、CAL-54、Caki-2、A-704）、結腸直腸腺癌（HT-29）及び乳腺癌（MDA-MB-468）に対する抗CEACAM6（hMN15）及び抗Trop-2（hRS7）モノクローナル抗体のin vitro増殖阻害	Research Report (RR) [redacted]
安全性薬理試験	
安全性薬理評価、カニクイザルにおける毒性試験（GLP適合、CTD 2.6.6）の一部として実施した。	

2.1　　効力を裏付ける試験

2.1.1　　In vitro 薬理試験

SG の in vitro 薬理試験として、種々の腫瘍細胞株における in vitro 細胞毒性試験、ADCC、CDC、FcRn との結合性及び Trop-2 との結合性を評価した。さらに、hRS7 抗体は Trop-2 を標的とするこ

とから、種々のヒト腫瘍異種移植片における Trop-2 発現を評価した。

2.1.1.1 In vitro 細胞毒性及び SG を介した DNA 損傷（RR-[redacted]; RR-[redacted]; Cardillo らの報告 [1]; Goldenberg らの報告 [2]）

SG の抗腫瘍細胞毒性活性を、96 時間の増殖阻害試験と、Trop-2 陽性及び陰性 TNBC 腫瘍株における SG を介した二本鎖 DNA（dsDNA）切断の分析の、2 つの in vitro 試験により評価した。細胞毒性試験では、非結合型 hRS7 IgG 及び別の非標的抗体（hMN-14 IgG）を陰性対照とした。増殖阻害は、無処理細胞を対照とした増殖率で求めた。用量反応曲線は 3 回の測定の平均値で作成し、EC_{50} 値は [redacted] ソフトウェアを使用して算出した。SG の in vitro 細胞毒性を、代表的な上皮性腫瘍である PC-3（前立腺癌）、Calu-3（非小細胞肺癌）、COLO 205（結腸癌）、Capan-1（膵癌）、SK-MES-1（肺扁平上皮癌）及び BxPC-3（膵癌）の 6 種類の異なる上皮性腫瘍を代表する Trop-2 発現細胞株を用いて評価した。IC_{50} 値は 1.95～23.14 nmol/L の範囲であった [1]。また、非結合 hRS7 抗体には in vitro の細胞毒性がないことも確認された（CTD 4.2.1.2.1、RR-[redacted]）。

細胞毒性が dsDNA 損傷を介し、Trop-2 発現細胞に特異的であることを立証するために、SG、非標的対照 ADC（hA20-CL2A-SN-38）、又は非結合 hRS7-IgG を、2 種類の TNBC 腫瘍株（Trop-2 陽性細胞［HCC1806］及び陰性［HCC1395］細胞）と一晩インキュベートした。細胞を回収し、マウス抗γH2AXAF488 で染色し、フローサイトメトリー解析により、トポイソメラーゼ阻害と一致する dsDNA 切断を検出した。Trop-2 陽性 HCC1806 細胞では SG による処理により、細胞単独又は対照 ADC と比較して、平均蛍光強度が 2 倍以上増加した。Trop-2 陰性細胞株では、dsDNA の増加はみられなかった。総合すると、これは SG が Trop-2 依存的に dsDNA 切断を引き起こすことを示すものである [2]。

2.1.1.2 SG 及び hRS7 の Trop-2 に対する結合性（RR-[redacted], RR-[redacted], RR-[redacted]-20[redacted] 及び RR-[redacted]-20[redacted]）

hRS7 及び SG のヒト Trop-2 に対する結合親和性を表面プラズモン共鳴分析（BIACORE）により評価した。組換えヒト Trop-2 低密度チップ（密度＝1110RU）において、hRS7 の結合親和性には SG と比較して統計的な有意差が認められ、K_D 値は hRS7 で 0.51 ±0.04 nmol/L、SG で 0.26 ±0.14 nmol/L と、SN-38 と複合体を形成することにより結合親和性が向上することが示された（P=0.0398）（CTD 4.2.1.1.5、RR-[redacted]）。

別の試験（CTD 4.2.1.1.7、RR-[redacted]、CTD 4.2.1.1.11、RR-[redacted]-20[redacted]、CTD 4.2.1.1.10、RR-[redacted]-20[redacted]）では、マウス、ラット、カニクイザル及びヒトの組換え Trop-2 への hRS7 抗体の結合の種交差反応性を酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）で評価した。陽性及び陰性対照として、それぞれポリクローナルヤギ抗ヒト Trop-2 抗体及び非特異的な h679 IgG 抗体を使用した。マウス及びラットはヒト Trop-2 との配列相同性が約 81%で、カニクイザルはヒトタンパク質との配列相同性が約 98%である。hRS7 IgG は 2 回の実験でヒト Trop-2 と K_D=40 ng/mL 及び 56 ng/mL で結合し、マウス又はラット Trop-2 には結合しなかった。hRS7 及び SG は、ヒト及びサルの両方の Trop-2 にほぼ同様に結合し、両者の結合曲線に有意差はなかった（SG のヒト及びサル Trop-2 に対する K_D 値は、それぞれ 2.4 ng/mL 及び 2.7 ng/mL）。hRS7 がカニクイザル Trop-2 への結合性を示すことは、カニクイザルを薬理学的外挿性を有する種として選択したことを支持する。また、hRS7 はマウス及びラットの Trop-2 に結合しないことから、認められた毒性は Trop-2 を介したも

のではなく、細胞傷害性ペイロードである SN-38 が放出されることによるものと推察された。

2.1.1.3　SG 及び hRS7 のヒト FcRn に対する結合性（RR-[redacted]-[redacted]-[redacted]）

hRS7 及び SG のヒト FcRn に対する結合親和性を表面プラズモン共鳴分析（BIACORE）により評価した。hRS7 及び SG のヒト FcRn に対する結合親和性は両方とも低かった。しかし、結合後の SG 及び hRS7 の K_D 値は、それぞれ 191.9 ± 47.6 nmol/L 及び 92.4 ± 5.7 nmol/L であり、結合親和性の軽度な低下傾向がみられた。

2.1.1.4　抗体依存性細胞傷害性（ADCC）（Cardillo らの報告 [3]; TR-PD-IMMU-132-[redacted]-017）

hRS7 IgG 及び SG について、非結合 IgG 及び対照 ADC との比較により、複数の癌細胞株に対する ADCC 活性の媒介能を評価した [3]。SG の標的細胞に対する ADCC 活性は、hRS7 IgG と比較して、60%以上減少した。複合体形成過程で、IgG 分子の Fc 部位（ADCC に関与する免疫細胞上の Fc 受容体と結合する部位）に CL2A-SN-38 が結合する可能性が高いことから、このような結果は想定外のものではなかった。また、SG の主要な作用機序は SN-38 の送達であることから、この ADCC 活性の低下が複合体の治療効果に影響を及ぼすとは考えにくい。

別の試験では、オリジナルの抗体クローン（[redacted]）由来の hRS7 IgG と市販用製剤の抗体クローン（[redacted]）由来の hRS7 IgG について ADCC 活性を比較検討した（CTD 4.2.1.1.8、TR-PD-IMMU-132-[redacted]-017）。両抗体クローンの間に顕著な差はみられなかった。

2.1.1.5　補体依存性傷害性（CDC）（TR-PD-IMMU-132-[redacted]-018）

2 種類の Trop-2 陽性標的細胞株（MDA-MB-468 及び PC-3）における hRS7 抗体（オリジナル抗体クローン由来及び市販用製剤のクローン由来）及び、それらに対応する ADC（SG）の CDC 活性を、4 時間の比色測定で評価した。これらのアッセイでは、これらの被験薬物を介した CDC 活性は認められなかった。

2.1.1.6　各種ヒト癌細胞株及び腫瘍異種移植部位における Trop-2 の発現状況

種々のヒト固形腫瘍細胞株の細胞表面における Trop-2 の発現をフローサイトメトリーにより評価した。Trop-2 分子数を、飽和結合時の平均蛍光強度に基づいて、QuantiBRITE フィコエリスリン（PE）ビーズの平均蛍光強度から作成した標準曲線を用いて算出した。細胞表面の Trop-2 発現は、胃、膵臓、乳房、結腸及び肺を含む種々のヒト固形腫瘍株で認められ、細胞当たりの Trop-2 分子数は、最も低いもので 494 ± 19（Hs 746T）から高いもので 246,857 ± 64,651（NCI-N87）と腫瘍株間で幅がみられた。

マウス in vivo 活性試験で用いた異種移植腫瘍の組織切片における Trop-2 発現を免疫組織化学的に評価し、これらのモデルにおける Trop-2 発現レベルを明らかにした。膵癌（BxPC-3、CFPAC-1、Capan-1）、胃癌（NCI-N87）及び結腸癌（COLO 205、HT-29）では、いずれも種々のレベルで Trop-2 による染色が認められた。

2.1.1.7　ヒトとカニクイザルにおける hRS7 の組織交差反応性（IM1735; DMP 04_11）

カニクイザル及びヒトの組織パネルの凍結切片を用いて、ビオチン化 hRS7 の組織発現及び結合性を明らかにする GLP 適合試験を実施し、種間の結合の類似性／相違性を評価して、GLP 適

合毒性試験の解釈の一助とした。サル及びヒトの種々の上皮組織において、ビオチン化 hRS7 による細胞質及び細胞膜の染色が認められた。カニクイザルとヒトでは、染色パターンが類似していた。

サルにおける細胞膜 Trop-2 の発現は、乳房／乳腺、眼、消化管、腎臓、肺、卵巣、卵管、膵臓、副甲状腺、胎盤、前立腺、唾液腺、皮膚、胸腺、甲状腺、扁桃、尿管、膀胱、子宮-体部（内膜）及び子宮頸部の上皮細胞並びに消化管（食道と胃）、腎臓、卵巣、前立腺及び尿管の中皮細胞及び脱落膜細胞で確認された。

ヒトでは、膀胱、膵臓、肺気管支及び乳房の少なくとも 1 検体で細胞膜 Trop-2 の染色が観察された。脳、血液細胞、血管及び間葉系細胞では染色は認められなかった。

2.1.2　In vivo 薬理試験

SG の in vivo 非臨床試験は、非小細胞肺癌（NSCLC）、大腸癌、膵癌、胃癌、扁平上皮肺癌、TNBC などの種々のヒト癌細胞株を用いてヌードマウス-ヒト癌異種移植モデルで実施した[1, 2, 3]。扁平上皮肺癌（SK-MES-1）異種移植モデルを除き、すべての異種移植モデルで、SG による腫瘍増殖の有意な阻害が示され、顕著な抗腫瘍活性が認められた。SK-MES-1 細胞における SG の阻害活性は、生理食塩水又は非結合 hRS7 よりも強かったが、最大耐量（MTD）においては非特異的抗体又はイリノテカンより強くなかった。

ヒト胃癌の異種移植担癌マウスにおいて、SG 投与群は対照群と比較して有意な腫瘍退縮を示し、進行に要する期間及び生存期間を統計的に有意に延長させた[3]。全体として、蛍光活性化セルソーティング（FACS）染色により in vitro で測定された細胞表面の Trop-2 発現量は、異種移植腫瘍の免疫組織化学分析における染色強度と相関していた。COLO 205（ヒト結腸癌細胞株）のように、免疫組織学で明らかになった Trop-2 発現細胞が局所的にしか存在しない腫瘍においてさえ、SG が明確な腫瘍退縮を誘発することは特に興味深い。これは、腫瘍微小環境内の Trop-2 発現細胞と結合した複合体から SN-38 が放出されることにより、バイスタンダー効果が発現する可能性を示唆している[3]。

FcRn 及び Trop-2 との結合性、ADCC 及び CDC 活性、TNBC の異種移植試験、SG の 2 種類のバッチに関する薬力学的比較試験、並びにマウス、カニクイザル及びヒト組織を用いた in vitro 組織交差反応試験については、個々に試験報告書を作成した。

重要なことは、SG は、TNBC の異種移植担癌ヌードマウスにおいて、有意な腫瘍の退縮を誘導したことである。対照 ADC に反応しなかった 1.0 cm^3 超の大きな腫瘍を有するマウスにおいても、SG 投与により有意な腫瘍退縮が認められた[2]。

2.2　副次的薬理試験

副次的薬理試験として、非結合 hRS7 抗体が複数の癌細胞株に対して in vitro で細胞毒性を示すか否かを評価した。hRS7 は in vitro でいずれの癌細胞株に対しも増殖阻害作用を示さなかった。また、リンカーの添加によっても、これらの細胞株に対する増殖阻害は認められなかった。

2.3　安全性薬理試験

いわゆる安全性薬理試験は実施していないが、SG のカニクイザルにおける反復投与毒性試験で一般状態、体温、呼吸数、心電図、心拍数及び血圧の評価を行った。これらの検討では、ヒト

における SG の使用に懸念を抱かせるような所見は認められなかった。

3　　薬物動態試験

SG の非臨床薬物動態は、オフターゲット（Trop-2 交差反応性なし）効果についてマウスで、Trop-2 標的介在性効果についてカニクイザルを用いて評価した。ADC の薬物動態を明らかにするために 4 種類の成分を測定した。すなわち、1）総抗体（hRS7＋hRS7-SN-38）、2）遊離 SN-38（細胞傷害性ペイロード）、3）SN-38G（SN-38 の不活性代謝物）及び 4）総 SN-38（遊離 SN-38＋hRS7-SN-38）の 4 成分である。また、サルの試験では、抗 hRS7-SN-38 抗体を指標として免疫原性についても評価した。サルにおける重要な反復投与毒性試験（CTD 4.2.3.2.4、[redacted].160.25、GLP 適合）では、TK 及び免疫原性の評価にバリデートされた分析法（GLP 適合）を用いた。その他の試験には、研究用の分析方法を用いた。製法 A/B 剤（第 1/2 相臨床試験用製剤）と製法 C 剤（第 3 相臨床試験用製剤[市販用製剤]）の薬物動態を 2 種の動物種で比較評価した。すなわち、オフターゲット効果（抗体による影響のみ）については Trop-2 交差反応種ではないウサギを、Trop-2 標的介在性の効果（ADC による影響）についてはサルを用いて評価した。生体試料中薬物濃度分析法及び薬物動態試験の概要を、それぞれ表 2 及び表 3 に記載した。各試験に使用した被験物質の概要を、CTD 2.6.4 項に記載した。それ以外の情報は、参考文献の項に挙げた文献から得たものであり、該当する文献については本文中に引用した。

表 2　生体試料中薬物濃度分析法の概要

分析方法	GLP 適合性	試験施設	アッセイ番号
ELISAによる生体試料中のhRS7/hRS7-SN-38の定量	非適合	Immunomedics	Q931
ELISA による SN-38 と複合体を形成した hRS7 の定量	非適合	Immunomedics	Q779
インライン蛍光検出による逆相高速液体クロマトグラフィーを用いたヒト血清中の遊離及び総SN-38、並びにSN-38Gの定量分析	非適合	Immunomedics	Q973
ELISAによる生体試料中の抗hRS7/hRS7-SN-38抗体の定量	非適合	Immunomedics	Q933A
電気化学発光法によるカニクイザル血清中のhRS7 IgG及びhRS7-SN-38の定量	適合	[redacted]	VIMME1707E1
LC-MS/MSによるサル血清中の遊離SN-38及びSN-38グルクロン酸抱合体の測定	適合	[redacted]	VIMME1702E1
LC-MS/MSによるサル血清中の総SN-38の測定	適合	[redacted]	VIMME1703E1
電気化学発光(ELC)法によるサル血清中の抗hRS7-SN-38抗体の検出	適合	[redacted]	VIMME1713E1

表 3　SG の薬物動態試験の概要

試験の種類	試験系	被験物質のロット	投与方法	試験番号
吸収				
ヒト血清及びサル血清中における hRS7-CL2A-SN-38 の in vitro 安定性	カニクイザル及びヒト	[redacted]	Ex vivo	RD-CH-[redacted]-[redacted]-01
ニュージーランドホワイトウサギにおける hRS7-[redacted]、hRS7-[redacted]（IMMU）及び hRS7-[redacted]（[redacted]）の単回静脈内投与後の薬物動態試験	ニュージーランドホワイトウサギ	[redacted]	静脈内持続注入	[redacted].160.24
カニクイザルにおけるIMMU-132の反復投与毒性試験及び4週間回復性試験	カニクイザル	[redacted]	静脈内持続注入	[redacted].160.03
カニクイザルにおけるIMMU-132の毒性試験	カニクイザル	[redacted]	静脈内持続注入	[redacted].160.25
分布				
ヒト肺扁平上皮癌細胞（SK-MES-1）を異種移植した担癌無胸腺ヌードマウスにおけるIMMU-132及びhRS7 IgGの生体内分布	マウス	[redacted]	急速静脈内投与、腹腔内投与	031210-156
その他の薬物動態試験				
Capan-1担癌マウスにおけるhRS7-CL2A-SN-38及びイリノテカンの薬物動態	マウス	[redacted]	急速静脈内投与	012014-275
NCI-N87ヒト胃癌担癌マウスにおける hRS7-CL2A-SN-38及びイリノテカンの薬物動態	マウス	[redacted]	急速静脈内投与	062714-291
ヒト肝ミクロソームを用いたシトクロムP450酵素の潜在的阻害剤としての2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸（MES）のin vitro特性評価	ヒト肝ミクロソーム	[redacted]	該当なし	BBIA-0002-DV-TB
ヒト肝細胞を用いたCYP1A2、CYP2B6及びCYP3A4の誘導能に関する2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸（MES）のin vitro特性評価	ヒト肝細胞	[redacted]	該当なし	BBIA-0003-DV-DA
2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸（MES）ヒトシトクロムP450酵素反応表現型解析	プールしたヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 酵素	[redacted]	該当なし	BBIA-0004-DV-CB, BBIA-0005-DV-CB

試験の種類	試験系	被験物質のロット	投与方法	試験番号
[^{14}C]MES一水和物を単回静脈内投与した雄ラットにおける放射能の薬物動態及びマスバランス	ラット	[redacted] 及び [redacted] (^{14}C 物質)	急速静脈内投与	3277-002

SN-38 と複合体を形成した hRS7、hRS7 抗体、遊離 SN-38、総 SN-38 及び SN-38G の分析法が確立されている。これらの分析対象物の薬物動態は、血清／血液中及び担癌マウスの腫瘍組織を含む様々な組織においてその特性が明らかにされている。SG 由来の低分子ペイロードである SN-38 の薬物動態及び分布を、市販の比較分子であるイリノテカンをマウスに投与して放出された SN-38 と比較した。

さらに、カニクイザルの SG 反復投与毒性試験における免疫原性の評価をサポートするため、抗 SG 抗体の検出方法が確立されている。TK 測定の結果については、毒性試験の概要文に記載した。なお、カニクイザルの TK データは、SG の薬物動態について重要な情報であることから、薬物動態試験の概要文にも記載した。

全体として、SG の薬物動態は良好なプロファイルを示し、比較分子であるイリノテカンの直接投与と比較すると、活性代謝物である SN-38 の全身への低い曝露量でより高い腫瘍組織への曝露をもたらした。

標的である Trop-2 を発現するカニクイザルを用いた短期反復投与毒性試験における TK 測定の結果、用量依存的な曝露量の増加が認められたが、性差はみられなかった。また、サルにおける終末半減期は約 5 日であり、試験 1 日及び 4 日の投与により若干の累積が認められた。なお、本試験では、抗 SG 抗体は検出されなかった。

カニクイザルを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験における TK 測定では、総抗体、総 SN-38 及び遊離 SN-38 の用量依存的な曝露量の増加が認められた。初回投与時の C_{max} 及び 0 時間から 168 時間までの濃度-時間曲線下面積（AUC_{0-168}）は、ほぼ用量に比例して増加した。最終投与日である試験 71 日の C_{max} 及び AUC_{0-168} は、用量比を上回って増加した。概して、雌雄間の曝露量の差は 2 倍以内であった。AUC_{0-168} 及び C_{max} の値に基づくと、遊離 SN-38 の曝露量は、総 SN-38 の曝露量のそれぞれ平均 2.26%及び 1.52%であった。このデータは、SG として投与された SN-38 の大部分が、血清中では ADC として結合したままであり、細胞傷害性ペイロードである遊離 SN-38 としては循環していないことを裏付けている。不活性代謝物である SN-38G は、血清中に容易に出現し、雌雄とも最高薬物濃度到達時間（T_{max}）の平均値は試験 1 日では 4.0～12 時間、試験 71 日では 2.0～11 時間であった。また、初回及び最終投与時における SN-38G の C_{max} 及び AUC_{0-168} の増加は、厳密には用量に比例していなかった。概して、雌雄間の曝露量の差は 2 倍未満であった。総抗体、総 SN-38、遊離 SN-38 及び SN-38G の曝露量は、25 mg/kg 投与時の製法 C（第 3 相臨床試験用製剤）及び製法 A/B（第 1/2 相臨床試験用製剤）で、特に試験 1 日の初回投与後は同程度であった。抗薬物抗体（ADA）は SG を投与したすべての動物で検出されたが、総抗体、総 SN-38 及び遊離 SN-38 の血清中曝露量に対する ADA の影響は用量依存的であると考えられ、低用量では変動が大きく、試験 71 日の曝露量は試験 1 日より概して低く、高用量の試験 71 日の曝露量は ADA 形成による影響はほとんどみられなかった。

SG の代謝又は排泄に関する詳細な試験は実施していない。ADC の抗体部分の代謝は、他の IgG 抗体と同様の様式で異化されると推定される。タンパク質の代謝は十分に確立されており、SG か

ら放出された SN-38 は、イリノテカン由来の SN-38 と同様の様式で代謝・排泄されると考えられる（SN-38 の代謝に関する詳細については、Mathijssen らの報告[4]を参照）。血液中では、SN-38 の 99%が血漿タンパク質と結合している[4]。SN-38 の主な代謝経路は、UGT1A1 を介した不活性代謝物である SN-38G への肝代謝である。ヒトとカニクイザルにおける UGT1A1 代謝は類似しており、毒性がみられる動物種における SN-38 及び SN-38G の薬物動態プロファイルを裏付けている[5]。MES は臨床的に妥当な濃度において、CYP 酵素の基質、誘導剤あるいは阻害剤ではなかった。静脈内注入後、MES の血清中濃度は、最初の採血時点で C_{max} に達し、その後 2 時間まで急減し、投与後 24 時間（測定可能な放射能が検出された最後の採血時点）までより緩やかに減少した。MES はほぼ全量が尿中に排泄され、投与後 120 時間（5 日間）の平均尿中回収率は投与量の 93.23 ± 4.02%であり、そのうちの 98.87%は投与後 24 時間までに尿中から回収された。

ADC 未変化体による薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。SN-38 の薬物相互作用は十分に検討されていることから[4]、改めて検討することはしなかった。他の抗体薬と同様に、ADC である SG 未変化体は、その代謝が標準的な代謝酵素（例えば CYP）に依存しないため、典型的な薬物相互作用は起こらないと予想される。しかしながら、SN-38 は、SG から放出されると、イリノテカンから放出された SN-38 と同様の相互作用を引き起こす可能性が考えられる。

以上のように、SG の非臨床薬物動態は、進行癌患者を対象とした本剤の製造販売承認申請を支持するために、適切に特性が明らかにされていると言える。

4　　毒性試験

SG の臨床開発は進行がん患者の治療を目的としていることから、非臨床試験は ICH S9 ガイドラインに従って実施した。カニクイザルの Trop-2 は、SG の結合部位である hRS7 抗体と交差反応性を示すことから、カニクイザルが唯一の適切な動物種であることが判明した。

非臨床毒性試験に用いる動物種の選択にあたっては、非臨床動物種における SN-38 の活性及び SG が Trop-2 を標的とする能力という 2 つの主な要因を考慮した。SG は Trop-2 のマウスの相同遺伝子に結合しないことから[1]（CTD 4.2.1.1.7、RR-[redacted]）、オフターゲットの毒性評価のための毒性試験はマウスで、交差反応性が認められることから反復投与毒性試験はカニクイザルで実施した。また、SG の血清安定性及び細胞傷害性薬剤 SN-38 の UGT1A1 代謝は、カニクイザルとヒトで類似している（CTD 2.6.4 項）。カニクイザルにおける 3 ヵ月間毒性試験（GLP 適合）で使用した被験物質は、第 3 相臨床試験（製法 C 剤）にも用いたもので、新規添加剤である MES が製剤中及び溶媒対照中に配合されている。独立した毒性評価を必要とするような被験物質関連の不純物は存在しない。SG、放出薬物である SN-38 及び新規添加剤である MES についての毒性試験の概要を表 4 に示し、詳細を以下に記載した。

表 4　SG の非臨床毒性試験一覧

試験番号 GLP 適合状況	動物種／試験系 ほか	被験物質の濃度／投与量
100209-143 GLP 非適合	無処置雄 Swiss-Webster マウスにおける IMMU-132 の高用量投与による急性毒性	IMMU-132 を 2×250、2×500、2×750 mg/kg の用量で試験 0 日及び 3 日に腹腔内投与 IMMU-132 は [redacted] 緩衝液（[redacted] mmol/L [redacted] ；[redacted] mmol/L トレハロース；[redacted]% ポリソルベート 80）で調製
122109-151 GLP 非適合	無処置雄 Swiss-Webster マウスにおける IMMU-132 の高用量投与による急性毒性（100209-143 試験との違い：この試験では緩衝液を [redacted] から MES に変更）	IMMU-132 を 2×750 mg/kg の用量で試験 0 日及び 3 日に腹腔内投与 IMMU-132 は MES 緩衝液（[redacted] 及び [redacted] mmol/L MES; [redacted] mmol/L トレハロース；[redacted]% ポリソルベート 80）で調製
[redacted]160.03 GLP 適合	カニクイザルにおける IMMU-132 の反復投与毒性及び 4 週間回復性試験	IMMU-132 を 2×60 及び 2×120 mg/kg の用量で試験 1 日及び 4 日に静脈内投与；（[redacted] mmol/L MES 緩衝液で調製）

試験番号 GLP 適合状況	動物種／試験系 ほか	被験物質の濃度／投与量
[redacted]160.25 GLP 適合	カニクイザルにおける IMMU-132 の反復投与毒性及び 6 週間回復性試験	MES 緩衝液（[redacted] 及び [redacted] mmol/L MES 緩衝液；[redacted]mmol/L トレハロース；[redacted]% v/v ポリソルベート 80）又は MES 緩衝液で調製した IMMU-132 を、21 日間の処置サイクル（各サイクルの試験 1 日及び 8 日に投与）で、4 サイクル投与 用量は、製法 C 剤（第 3 相臨床試験用）については 12.5、25、50 mg/kg、製法 B 剤（第 1/2 相臨床試験用）については 25 mg/kg
[redacted]1595_R1b GLP 適合	SN-38 の遺伝毒性：哺乳類細胞を用いた in vitro 小核試験（OECD 試験ガイドライン 487）	0.02、0.06、0.2、2 μg/mL の濃度の SN-38
[redacted]1595_R1a GLP 適合	SN-38 の遺伝毒性：細菌を用いた復帰突然変異試験（OECD 試験ガイドライン 471）	0.5、1.58、5、15.8、50、158 μg/プレートの濃度の SN-38
新規添加物である MES のためのその他の毒性試験		
RR-[redacted]20[redacted] GLP 非適合	2-（N-モルホリノ）エタンスルホン酸水和物（MES）のヒト乳癌及び膀胱癌細胞株に対する細胞毒性	1.2 から 3.07×10^{-6} mol/L の濃度の MES
RR-[redacted]20[redacted] GLP 非適合	2-（N-モルホリノ）エタンスルホン酸水和物（MES）のヒト乳癌及び膀胱癌細胞株に対する細胞毒性	0.6 及び 6.0 nmol/L の濃度の MES
RR-[redacted]20[redacted] GLP 非適合	光毒性：MES の吸光スペクトル	25 mmol/L の濃度の MES
3277-001 GLP 適合	MES の Sprague Dawley ラットにおける 1 ヵ月間静脈内投与毒性並びに 1 及び 7 日間の回復性試験	MES を 250、500 及び 1000 mg/kg の用量で試験 1、8、22 及び 29 日に投与
01551001 GLP 適合	MES の細菌を用いた復帰突然変異試験	100、250、500、1000、2500 及び 5000 μg/プレートの濃度の MES
01551002 GLP 適合	培養ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験	0.387、0.773、1.55、3.09、6.19、12.4、24.8、49.5、99.0 及び 198 μg/mL を想定濃度とした MES
3277-003 GLP 適合	MES の Sprague Dawley ラットにおける in vivo 小核試験（静脈内投与）	MES を 250、500 及び 1000 mg/kg の用量で試験 1 日及び 2 日に投与

マウスにおける腫瘍異種移植試験では、SG 最高 0.5 mg の 8 回投与（4 週間）によっても毒性変化は認められなかった。

Swiss-Webster マウスにおける SG の急性毒性試験では、最高 750 mg/kg の 2 回（累積用量として 1500 mg/kg）投与により軽微な体重減少（-10%未満）が認められた。血液学的検査及び病理組織学的検査では異常所見は認められなかった。肝トランスアミナーゼの増加が一過性にみられたが、試験終了時までに正常値に回復した。

カニクイザルでは、SG 50 mg/kg（HED＝16 mg/kg）の 4 サイクル投与（1 サイクルが 21 日間；各サイクルの試験 1 日及び 8 日に投与）が無毒性量（NOAEL）とされたが，120 mg/kg の 3 日間隔での投与は致死量であった。サルにおいては雌の生殖器官、皮膚（脱毛、色素沈着）、腎臓（動脈周囲炎）、リンパ系器官（リンパ球減少）、赤血球、白血球及び血小板の減少を伴う骨髄（細胞密度減少）及び消化管（壊死、びらん、炎症、線維化、出血、浮腫）などが標的器官であった。

局所刺激性はサルにおける GLP 適合試験で評価した。注射部位に変化がみられたが、病理担当者は、認められた所見は被験物質ではなく、実験手技による外傷に関連したものであると評価した。認められた所見は、軽度から中等度の血管周囲の出血、真皮及び皮下における中等度の出血、及び軽微から軽度の血管周囲の混合細胞浸潤であった。

放出ペイロードである SN-38 及びその不活性代謝物である SN-38G の毒性は、市販されているイリノテカンの活性代謝物でもあることから、広く知られている。SN-38 に起因する最も一般的な毒性は、イリノテカン投与患者における骨髄抑制及び下痢である[6]。SN-38 は、細菌を用いた復帰突然変異試験（CTD 4.2.3.3.1.2、[redacted]1595_R1a）において変異原性は陰性であった。しかしながら、予想どおり、またイリノテカンの遺伝毒性と一致するように、SN-38 は哺乳類細胞を用いた in vitro 小核試験（CTD 4.2.3.3.1.1、[redacted]1595_R1b）において染色体異常誘発性であることが確認された。これらの遺伝毒性試験の結果に基づき、また ICH S9 ガイドラインに基づき、予定される適応症における製造販売承認申請のためには胚･胎児発生毒性試験は必要ないと判断された。

新規添加剤である MES の毒性を、臨床曝露量を超える用量で、単独（CTD 4.2.3.7.7.2、RR-[redacted]20[redacted]）又は SG との併用（CTD 4.2.3.7.7.1、RR-[redacted]20[redacted]）の 2 つの in vitro 細胞毒性試験で評価した。また、マウスにおける毒性試験（CTD 4.2.3.2.2、122109-151、GLP 非適合）及び 2 つのサルにおける反復投与毒性試験（CTD 4.2.3.2.3、[redacted].160.03 及び CTD 4.2.3.2.4、[redacted].160.25、GLP 適合）で、MES の毒性を溶媒成分として評価した。さらに、これらの試験において、ラットにおける限界用量である 1000 mg/kg までの用量では毒性は認められなかった。MES は、ICH S2（R1）ガイダンスに準拠した in vitro 及び in vivo の変異原性試験の結果、遺伝毒性陰性であることが確認された。また、最高用量（1000 mg/kg：投与可能な最大容量）の MES のラット 1 ヵ月間静脈内投与毒性試験（CTD 4.2.3.7.7.5、3277-001、GLP 適合）並びに ICH S2（R1）ガイダンスに準拠した in vitro（CTD 4.2.3.7.7.3、01551001 及び CTD 4.2.3.7.7.4、01551002）及び in vivo（CTD 4.2.3.7.7.6、3277-003）の遺伝毒性試験も実施した。これらの試験のいずれにおいても認められた毒性は MES に起因するものではなく、1000 mg/kg は推定臨床用量の 250 倍以上に相当し、NOEL と考えられた。

MES の紫外線吸光スペクトルを測定したところ（CTD 4.2.3.7.7.7、RR-[redacted]20[redacted]）、光毒性の懸念はないことが明らかになった。

ADC には、ICH S10 ガイドラインの光毒性評価は適用されない。遊離 SN-38 は可視域（約 380 nm）における光吸収を有するが、SN-38 は反応性代謝物には代謝されないことから、SN-38 は光毒性

評価の対象とはならない。さらに、イリノテカンの添付文書には、光毒性は発現の可能性のある副作用として記載されていない[6]。したがって、進行癌患者を対象とする本薬の製造販売承認申請に際して、SG の光毒性試験は不要であると考えられる。

ICH S9 ガイドラインに基づき、SG のがん原性、生殖能、初期胚発生、出生前後の発生への影響は評価していない。しかしながら、SN-38 はカンプトテシンであることから、がん原性を有する可能性が高い。SN-38 は既知の発生毒性物質である[6]。

毒性学的にヒトへの外挿性があり、交差反応性動物種であるカニクイザルを用いて、ヒトに外挿し得る用量の SG を静脈内投与した非臨床毒性試験を実施したところ、毒性の標的器官、発現時期及び可逆性が明らかになった。主要な毒性所見は、ペイロードである SN-38 の既知の毒性と一致した。用量制限毒性は、用量依存的かつ可逆性で、臨床的に重要な好中球減少を伴う骨髄抑制（赤血球数、白血球数及び血小板数の減少）及び消化管障害であった。また、雌の生殖器官にも毒性変化が認められた。さらに、非臨床毒性試験では、新規添加剤である MES は予定臨床用量の少なくとも 10 倍高い用量でも毒性が認められないことが明らかにされた。現時点で得られているデータは、進行癌患者の治療に対する本剤の製造販売承認申請の裏付けとして不足はないと考えられる。

5　総括及び結論

SG の薬力学的活性の特性について、種々の側面から検討した。まず、表面プラズモン共鳴を用いて、hRS7 IgG 及び SG のヒト FcRn 及び標的 Trop-2 との結合特性を検討した。結合ドメインである Trop-2 の発現を種々のヒト腫瘍細胞株で調べ、SG に対する感受性を確認した。次に、Trop-2 発現細胞に対する SG の細胞毒性を検討した。これらのアッセイにより、SG は Trop-2 発現腫瘍細胞株に対して顕著な細胞毒性活性を示した。この活性は、概して比較対照の遊離 SN-38 の活性よりもわずかに低かった。SG は、Trop-2 発現細胞に対して弱い ADCC 活性を示し、CDC 活性は認められなかった。

SG の in vivo での有効性を種々のマウス異種移植モデルで評価した。これらの試験の 1 つでは、2 種類の SG 製剤の同等性／同質性を評価した。ほぼすべての異種移植試験において、SG による顕著な抗腫瘍効果が認められた。現在臨床開発中の適応症にとって最も重要なことは、SG が TNBC モデルで高い有効性を示し、腫瘍の増殖を著しく抑制し、動物の生存期間を延長させたことである。

ただ 1 つの例外を除いて、すべての in vivo 異種移植試験において、SG の抗腫瘍効果は、対照抗体と結合した SN-38 やイリノテカンよりも有意に強力であった。

SG の第 1/2 相臨床試験用製剤及び第 3 相臨床試験用製剤の比較試験では、両製剤の in vivo での良好な同等性／同質性が明らかになった。

SG の Trop-2 との結合部位（すなわち、hRS7 IgG）の組織交差反応性を、ヒト及びカニクイザルの組織の標準パネルで検討した。その結果、ヒトとカニクイザルで同等の組織交差反応性が認められたことから、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ことの妥当性が裏付けられた。

副次的薬理試験では、リンカーの存在下／非存在下における非結合 hRS7 抗体の直接的な細胞毒性及び ADCC 誘導能を評価した。SG の非結合体 hRS7 抗体部分に関するこれらの試験では、CL2A リンカーの有無にかかわらず、Trop-2 発現細胞株に対する直接的な細胞毒性はみられなかったが、軽度な ADCC 活性は認められた。なお、親抗体である hRS7 抗体と比較して ADC では細胞毒性の低下がみられた。

いわゆる安全性薬理試験は実施していないが、SG のカニクイザルにおける反復投与毒性試験において、一般状態、体温、呼吸数、心電図、心拍数、血圧の評価を行った。これらの評価項目においては、ヒトにおける SG の使用に懸念を抱かせるような SG に関連した所見は認められなかった。

SG の薬物動態は、マウス及びカニクイザルを用いて評価した。同様に、SG の標的部分である hRS7 IgG（2 種類の異なるクローンに由来）の薬物動態をウサギで評価した。薬物動態の検討は、血清中薬物動態、生体内分布、腫瘍への取り込み、及び間接的な排泄評価により行った。

多くの試験においては、完全にはバリデートされていない GLP 非適合の分析法を用いた。したがって、カニクイザルを用いた短期毒性試験の TK データ及び生体内分布の全結果を含む一部のデータは探索的データとみなし、これらの試験で得られた結論はそれに応じた評価をする必要がある。

これらの試験結果は、イリノテカン投与に由来する SN-38 と比較して、SG 投与による薬物動態プロファイルが非常に良好であることを示唆するものであった。担癌マウスでは、SG 投与によ

る腫瘍組織の SN-38 曝露量は、より高用量でイリノテカンを直接投与した際に得られる SN-38 曝露量よりも高い傾向が認められた。

SG、SN-38 及び抗 SG 抗体に関して、GLP 適合下でバリデートされた生体試料中薬物濃度分析法が、カニクイザルの重要な長期反復投与毒性試験における TK 及び免疫原性の評価に用いられた。したがって、SG の薬物動態データは、進行癌患者に対する本剤の製造販売承認申請を支持するのに十分に信頼性の高いデータとして得られている。

3 ヵ月間反復投与毒性試験において、SG を投与したすべてのサルにおいて ADA が検出されたが、総抗体、総 SN-38 及び遊離 SN-38 の血清中曝露量に対する ADA の影響は用量依存的であると考えられ、低用量では変動が大きく、試験 71 日の曝露量は試験 1 日より概して低く、高用量の試験 71 日の曝露量は ADA 形成による影響はほとんどみられなかった。

毒性試験では、被験物質として市販用製剤を用いた。

添加剤の MES は、現在、欧州薬局方や FDA の添加剤リストに収載されていない。しかしながら、MES は、in vitro 細胞毒性試験、in vitro 代謝試験、ラットの排泄及びマスバランス試験、マウス及びサルの反復投与毒性試験（GLP 非適合）、カニクイザルの 3 ヵ月間反復投与毒性試験（GLP 適合）において、これらの試験で使用した対照溶媒の一成分として動静を評価した。MES の 1 ヵ月間反復静脈内投与毒性試験（投与可能な最大用量：1000 mg/kg、GLP 適合）及び ICH S2(R1)ガイダンスに準拠した in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験では、毒性が認められず（NOEL:1000 mg/kg）、遺伝毒性は陰性であった。ヒトに外挿し得る用量において、MES は CYP450 酵素の基質、誘導剤又は阻害剤ではなかった。MES は尿中に速やかに排泄され、尿から回収された全用量の 98.87%は投与後 24 時間以内に排泄されたものであった。

したがって、MES 緩衝液は、SG の予定臨床用量 10 mg/kg 中に含有される MES の 250 倍量まで毒性学的に十分な安全性が確認されており、想定されている癌患者への使用を支持するものである。

毒性試験の全体的な試験項目は、ICH S9 ガイドラインと一致していた。長期反復投与毒性試験で設けられた投与量、投与期間及び投与スケジュールは、計画された臨床使用を支持するものである。

がん原性試験は、予定される適応症での製造販売承認申請を支持するためには必要ではないと考えられ、生殖発生毒性は、SG に遺伝毒性が認められたことから評価していない。

以上のように、SG は、本製造販売承認申請を支持するために、ICH S9 ガイドラインに従って適切に試験が実施されている。非臨床試験において、予定される患者集団における SG の使用を妨げるような所見は認められなかった。

6　参考文献

1 Cardillo TM, Govindan SV, Sharkey RM, Trisal P, Goldenberg DM. Humanized anti-Trop-2 IgG-SN-38 conjugate for effective treatment of diverse epithelial cancers: preclinical studies in human cancer xenograft models and monkeys. Clin Cancer Res 2011;17 (10):3157-69.

2 Goldenberg DM, Cardillo TM, Govindan SV, Rossi EA, Sharkey RM. Trop-2 is a novel target for solid cancer therapy with sacituzumab govitecan (IMMU-132), an antibody-drug conjugate (ADC). Oncotarget 2015;6 (26):22496-512.

3 Cardillo TM, Govindan SV, Sharkey RM, Trisal P, Arrojo R, Liu D, et al. Sacituzumab Govitecan (IMMU-132), an Anti-Trop-2/SN-38 Antibody-Drug Conjugate: Characterization and Efficacy in Pancreatic, Gastric, and Other Cancers. Bioconjug Chem 2015;26 (5):919-31.

4 Mathijssen RH, van Alphen RJ, Verweij J, Loos WJ, Nooter K, Stoter G, et al. Clinical pharmacokinetics and metabolism of irinotecan (CPT-11). Clin Cancer Res 2001;7 (8):2182-94.

5 Hanioka N, Tanabe N, Jinno H, Tanaka-Kagawa T, Nagaoka K, Naito S, et al. Functional characterization of human and cynomolgus monkey UDP-glucuronosyltransferase 1A1 enzymes. Life Sci 2010;87 (7-8):261-8.

6 CAMPTOSAR, Pharmacia and Upjohn Co. CAMPTOSAR® (irinotecan) injection, for intravenous use. U.S. Prescribing Information. NY, NY. Revised January. 2020: