目次

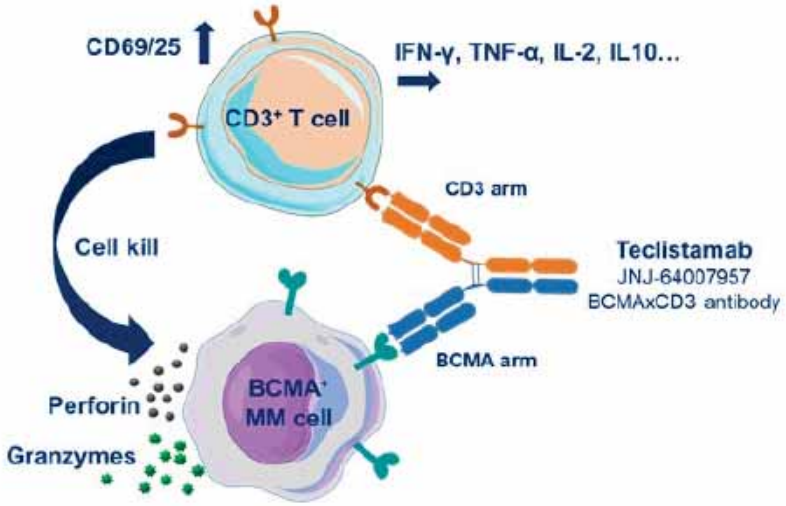
2.6.1 緒言 3

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
BCMA	B cell maturation antigen（B 細胞成熟抗原）
CD3	cluster of differentiation 3
IgG	immunoglobulin G（免疫グロブリン G）
MHC	major histocompatibility complex（主要組織適合遺伝子複合体）
PAA	proline, alanine, alanine（プロリン，アラニン，アラニン）

2.6.1 緒言

JNJ-64007957（以下，テクリスタマブ）は，多発性骨髄腫，後期 B 細胞及び形質細胞上に発現する BCMA，並びに T 細胞上に発現する CD3 を標的とする完全長 IgG4-PAA 二重特異性抗体である（図 2.6.1-1）。テクリスタマブは，CD3 陽性 T 細胞を BCMA 発現細胞近傍に動員することで T 細胞を活性化する。その結果，細胞傷害性 T 細胞の分泌小胞に貯蔵されていたパーフォリン及び種々のグランザイムが放出され，近傍の BCMA 発現細胞に対する傷害を誘導する。テクリスタマブによる T 細胞活性化は，T 細胞上の T 細胞受容体の抗原特異性に依存せず，抗原提示細胞上の MHC クラス 1 分子非拘束的に誘導される。BCMA は多発性骨髄腫細胞を含む B 細胞系列に限定して発現することから，テクリスタマブは多発性骨髄腫細胞を特異的に標的とすることが可能であり，腫瘍細胞以外に対するオンターゲット毒性リスクが低いと考えられる。

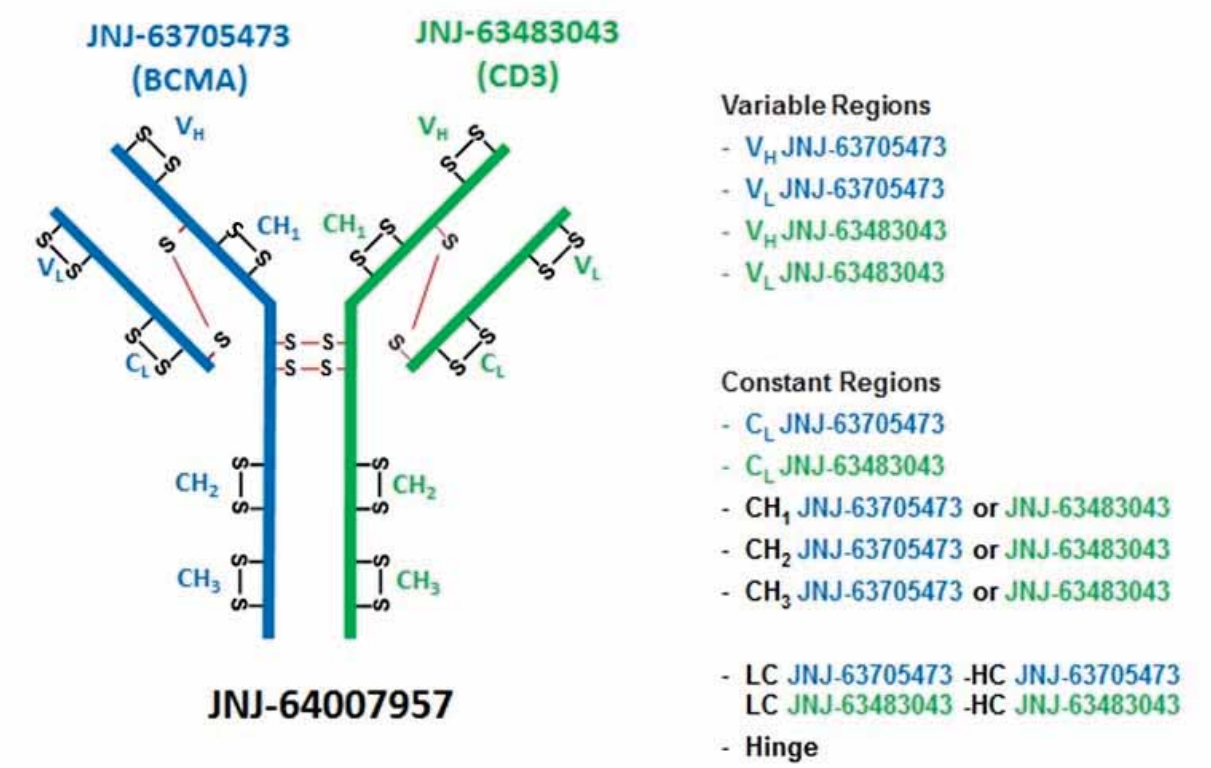


+ = positive; BCMA = B cell maturation antigen; CD3 = cluster of differentiation 3; IFN-γ = interferon-gamma; IL = interleukin; MM = multiple myeloma; TNF-α = tumor necrosis factor-alpha

図 2.6.1-1 テクリスタマブの作用機序の概略図

構造

テクリスタマブは，BCMA 結合アーム（抗 BCMA 抗体の重鎖及び軽鎖）と CD3 結合アーム（抗 CD3 抗体の重鎖及び軽鎖）が 2 つの鎖間ジスルフィド結合により架橋された構造を有している（図 2.6.1-2）。テクリスタマブの Fc 領域には，二重特異性抗体を安定化させるために導入したプロリン置換変異（BCMA 結合アームにおける S229P 及び CD3 結合アームにおける S233P），及び Fc 受容体に対する相互作用を減弱させる（意図しないエフェクター作用を抑制する）ために導入した 2 つのアラニン置換変異（BCMA 結合アームにおける F235A 及び L236A 並びに CD3 結合アームにおける F239A 及び L240A）が含まれる（PAA 変異）。テクリスタマブの [redacted] グリコフォームの分子量は約 146 kD である。280 nm での吸光係数は理論的に [redacted] $(mg/mL)^{-1}cm^{-1}$ と決定した。



Teclistamab utilizes an IgG4-PAA scaffold containing Pro mutations (S229P in JNJ-63705473 and S233P in JNJ-63483043) that stabilize the hinge region and Ala/Ala mutations (F235A, L236A in JNJ-63705473 and F239A and L240A in JNJ-63483043) that suppress FcγR binding.
BCMA = B cell maturation antigen; CD3 = cluster of differentiation 3; JNJ-64007957 = teclistamab

図 2.6.1-2 テクリスタマブの鎖間ジスルフィド結合

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 3
2.6.2.1 まとめ 3
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 18
2.6.2.4 安全性薬理試験 18
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 18
2.6.2.6 考察及び結論 19
2.6.2.7 図表 20
2.6.2.8 参考文献 21
2.6.3 薬理試験概要表 1

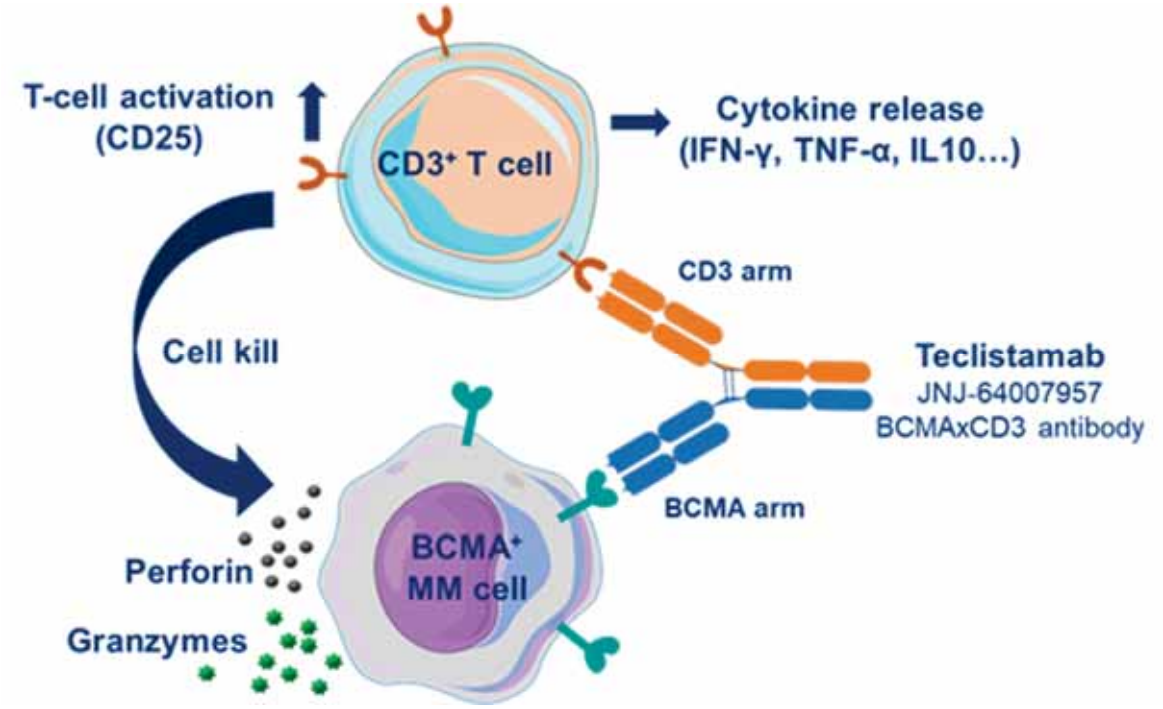
略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
APRIL	a proliferation inducing ligand（増殖誘導リガンド）
AUC	area under the serum concentration versus time curve（血清中濃度－時間曲線下面積）
BAFF	B cell activating factor（B 細胞活性化因子）
BCMA	B cell maturation antigen（B 細胞成熟抗原）
cBCMA	cynomolgus BCMA（カニクイザル BCMA）
cCD3	cynomolgus CD3（カニクイザル CD3）
CD3	cluster of differentiation 3
CHO	Chinese hamster ovary（チャイニーズハムスター卵巣）
C_{max}	maximum observed serum concentration（最高血漿中濃度）
CNS	central nervous system（中枢神経系）
EC_{50}	half-maximal effective concentration（50%有効濃度）
EC_{90}	90% maximal effective concentration（90%有効濃度）
ECD	extracellular domain（細胞外ドメイン）
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）
hBCMA	human BCMA（ヒト BCMA）
ICH	International Council for Harmonization（医薬品規制調和国際会議）
IFN	interferon（インターフェロン）
IgG	immunoglobulin G（免疫グロブリン G）
IHC	immunohistochemistry（免疫組織化学）
IL	interleukin（インターロイキン）
K_d	dissociation constant（解離定数）
NCBI BLAST	National Center for Biotechnology Information Basic Local Alignment Search Tool
NSG	NOD/scidγc-/-
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development（経済協力開発機構）
PAA	proline, alanine, alanine（プロリン，アラニン，アラニン）
PBMC	peripheral blood mononuclear cell（末梢血単核球）
PBS	phosphate buffered saline（リン酸緩衝生理食塩液）
sBCMA	soluble BCMA（可溶性 BCMA）
SPR	surface plasma resonance（表面プラズモン共鳴法）
TNF	tumor necrosis factor（腫瘍壊死因子）

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

テクリスタマブは，多発性骨髄腫，後期 B 細胞及び形質細胞上に発現する BCMA，並びに T 細胞上に発現する CD3 を標的とする完全長 IgG4-PAA 二重特異性抗体である。テクリスタマブは，CD3 陽性 T 細胞を BCMA 発現細胞の近傍に動員することで T 細胞を活性化し，BCMA 発現細胞の細胞死を誘導する（図 2.6.2-1）。



+ = positive; BCMA = B cell maturation antigen; CD3 = cluster of differentiation 3; CD25 = cluster of differentiation 25; IFN = interferon; IL = interleukin; MM = multiple myeloma; TNF = tumor necrosis factor

図 2.6.2-1 テクリスタマブの作用機序

全ての非臨床試験は，最良の科学的原則に従い実施された。重要な安全性試験は，米国食品医薬品局の GLP 規制 21 CFR Part 58 及び OECD 加盟国における GLP 原則を遵守して実施した。GLP 適用及び試験施設の場所についての情報を含む薬理試験の概要は，非臨床薬理試験の概要表【2.6.3.1】に示す。

薬理試験は，以下を目的として計画した。

① テクリスタマブの作用機序及び薬理作用を明らかにすること

② BCMA に対する標的特異性を確認すること

③ 毒性試験を実施する上で薬理学的に適切な動物種を同定すること

上記を検討するために，*in vitro* 標的結合及び機能活性試験，ヒト組織における BCMA の発現解析，並びに多発性骨髄腫マウスモデル（予防及び治療モデル）を用いた *in vivo* 抗腫瘍試験を実施した。*In vitro* 標的結合及び機能活性試験，並びに *in vivo* 抗腫瘍試験では，テクリスタマブに加え，null×CD3（テクリスタマブと同一の CD3 結合アームと非結合 null アームを有する抗体）及び/又は BCMA×null（テクリスタマブと同一の BCMA 結合アームと非結合 null アームを有する

抗体）を対照抗体として使用した。薬理学的に適切な動物種としてカニクイザルを選択し，5 週間反復投与毒性試験（GLP）に心血管系，呼吸系及び中枢神経系に関する評価項目を組み込んでテクリスタマブの安全性薬理パラメータを評価した。

結果の要約

In vitro 及び *in vivo* 薬理試験の結果から，テクリスタマブはヒト BCMA 発現細胞及び腫瘍特異的に T 細胞介在性の細胞傷害及び抗腫瘍効果を誘導する二重特異性抗体であることが示された。*In vitro* 試験においてテクリスタマブは，BCMA を発現する多発性骨髄腫細胞株に特異的に結合し，当該細胞株に対して T 細胞介在性の細胞傷害を誘導した。*In vivo* 試験において，BCMA 発現 H929 細胞株を用いたマウス異種移植モデルにテクリスタマブを予防的に投与したところ，腫瘍の発生及び増殖が完全に抑制された。また，BCMA 発現 RPMI 8226 異種移植モデルにテクリスタマブを治療的に投与したところ，顕著な抗腫瘍効果（腫瘍退縮）が認められた。

CD3 結合アームを有する二重特異性抗体が薬理活性を発揮するには，当該二重特異性抗体が T 細胞上の CD3 及び標的細胞上の抗原（BCMA）に結合して三分子複合体を形成する必要がある（図 2.6.2-1）。以下に示す理由から，毒性試験を実施する上で薬理学的に適切な動物種として，カニクイザルを選択した。

① cBCMA と hBCMA の ECD の配列相同性が高い（>90%）こと
② テクリスタマブは cBCMA 及び cCD3 に結合したこと
③ テクリスタマブは cBCMA を強制発現させた細胞株に対して機能活性（細胞傷害活性及び T 細胞活性化）を示したこと
④ テクリスタマブはげっ歯類の CD3 には結合せず，げっ歯類の BCMA に対する結合親和性も弱いため，げっ歯類は薬理学的に適切な動物種ではないと考えられたこと

薬理学的に適切な動物種としてカニクイザルを選択したが，cBCMA に対するテクリスタマブの *in vitro* 結合親和性及び機能活性は，hBCMA よりもそれぞれ約 36 倍及び 2～20 倍低かった。このことと関連して，カニクイザルを用いた反復投与毒性試験では薬理活性が期待される曝露量は達成されたものの，テクリスタマブの薬理活性の徴候は認められなかった【2.6.6.3】。以上のことに加えて，正常カニクイザルにおいて BCMA を発現する形質細胞は，多発性骨髄腫患者に比べて著しく少ないことを考慮すると，ヒトにおけるリスクを評価する上で，カニクイザルを用いた *in vivo* 毒性試験データは慎重に解釈する必要がある。

カニクイザルを用いた 5 週間反復静脈内投与毒性試験（GLP）で安全性薬理パラメータを評価した結果，最高用量の 30 mg/kg/週まで，心血管系，呼吸系及び CNS に及ぼすテクリスタマブの影響は認められなかった。カニクイザルにテクリスタマブを 30 mg/kg/週で静脈内投与したときの曝露量（C_{max} 及び AUC）は，臨床推奨用量（1.5 mg/kg のテクリスタマブを週 1 回皮下投与）における C_{max} 及び AUC と比較して，それぞれ 43 及び 22 倍（非日本人），並びに 57 及び 31 倍（日本人）高かった（表 2.6.2-1）。また，ビオチン標識テクリスタマブを用いた *in vitro* 組織交差反応性試験では，カニクイザルの心臓及び肺，並びにヒトの心臓，肺及び神経組織に対する特異的な結合は認められなかった。

表 2.6.2-1 カニクイザル 5 週間反復投与毒性試験（GLP）の NOEL における
テクリスタマブの曝露量比（サル/ヒト比）

Species	Teclistamab Dose Regimen	C_{max} (µg/mL)	AUC (µg·day/mL)	Exposure Margin C_{max} (µg/mL)	Exposure Margin AUC (µg·day/mL)
Human exposure (non-Japanese) [a]	1.5 mg/kg SC weekly [c]	25.3	162.71		
Human exposure (Japanese)[b]	1.5 mg/kg SC weekly [c]	19.1	116.33		
Monkey exposure [d]	30 mg/kg IV weekly (NOEL)	1084.01	3549.19	42.85 (non-Japanese) 56.75 (Japanese)	21.81 (non-Japanese) 30.51 (Japanese)

[a] Human exposure values following 1.5 mg/kg teclistamab SC weekly on Cycle 3 Day 1 in Phase 1 of MajesTEC-1, a Phase 1/2, open-label, multicenter study of teclistamab IV and SC in adults with relapsed or refractory multiple myeloma (2.7.2.2.1). The C_{max} value is for 15 participants. The AUC_{tau} value (3905 µg.h/mL) is for 13 participants and was converted (divided by 24 hours) to µg·day/mL.

[b] Human exposure values following 1.5 mg/kg teclistamab SC weekly on Cycle 3 Day 1 in MMY1002 study in Japanese subjects with relapsed or refractory multiple myeloma (2.7.2.2.4). The C_{max} value is for 4 participants. The AUC_{tau} value (2792 µg.h/mL) is for 4 participants and was converted (divided by 24 hours) to µg·day/mL.

[c] Dose was converted from 1500 µg/kg to 1.5 mg/kg to reflect intended labelling.

[d] Monkey exposure values after 4 weekly IV doses in the pivotal 5-week study (T-20[redacted]-030): Day 22 C_{max} and $AUC_{Day22-29}$ values.

AUC = area under the serum concentration versus time curve; AUC_{t1-t2} = AUC between two defined sampling time points, t1 and t2; AUC_{tau} = AUC during a dose interval time period (tau) at steady-state; C_{max} = maximum observed serum concentration; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; NOEL = no observed effect level; SC = subcutaneous

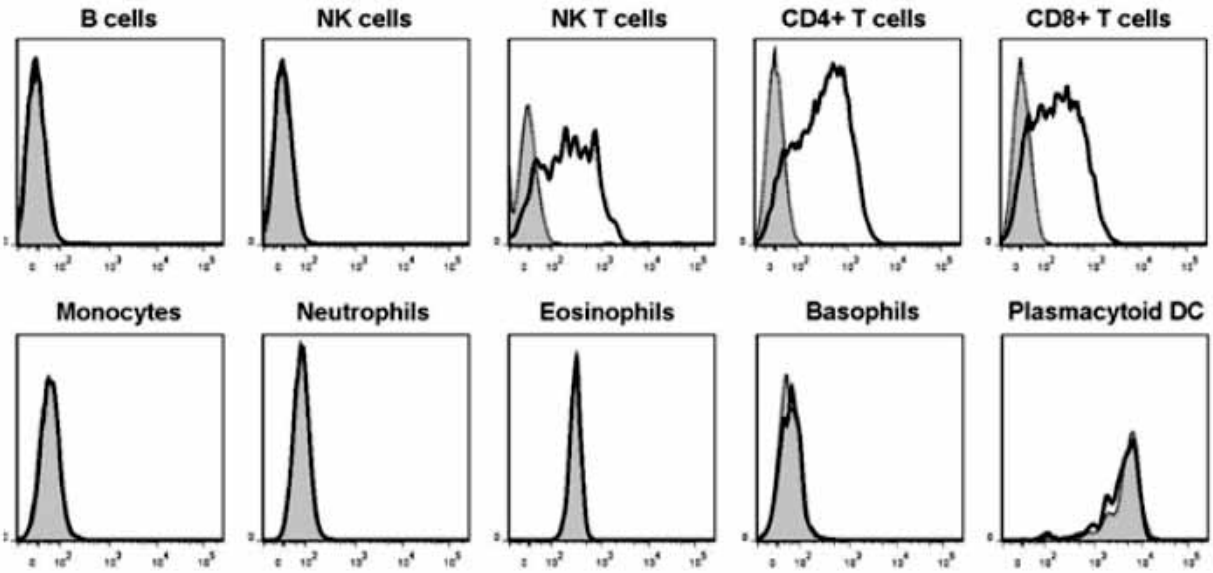
2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vitro* 薬理試験

2.6.2.2.1.1 血球細胞における BCMA の発現

資料番号 4.2.1.1.1

血球細胞における BCMA 及び CD3 の発現を評価するため，健康ドナー由来の全血及び多発性骨髄腫患者由来の骨髄単核細胞に対するテクリスタマブの結合を評価した。各血球サブタイプに対する特異的マーカーを用いてゲーティングによる解析を実施したところ，テクリスタマブは，好塩基球，形質細胞様樹状細胞，単球，好中球及び好酸球のいずれに対しても結合せず，これらの細胞に BCMA 及び CD3 は発現しないことが示唆された（4.2.1.1.1/DD[redacted]322，図 2.6.2-2）。一方，テクリスタマブは全血中の T 細胞（CD3 陽性）及び多発性骨髄腫患者由来の骨髄単核細胞（BCMA 陽性）に結合した（図 2.6.2-2 及び図 2.6.2-7）。



Whole blood from 3 healthy human donors was stained with teclistamab antibody against BCMA. Gating analysis was performed to identify lymphocytes in the leukocyte population using standard cell specific markers. Staining intensity for 1 representative donor is shown in the panels, where solid black lines represent teclistamab and dotted lines with filled gray are the corresponding isotype. No BCMA expression was observed on lymphocytes (B cells were gated using CD19 marker), monocytes, granulocytes or plasmacytoid dendritic cells in 3 healthy donors. The parental BCMA antibody showed binding to $CD3^+$ T cells in all 3 donors with varying intensity between donors.
BCMA = B cell maturation antigen; CD = cluster of differentiation; DC = dendritic cells; NK = natural killer
Source: DD[redacted]322

図 2.6.2-2 健康ドナー由来の全血におけるテクリスタマブの結合プロファイル

2.6.2.2.1.2 正常組織及び血液組織における BCMA の発現

資料番号 4.2.1.1.2，4.2.1.1.3

正常組織における BCMA の発現プロファイルは十分に解析されており，成熟 B 細胞及び形質細胞に限定して発現することが報告されている（O'Connor 2004; Bu 2018）。Carpenter（2013）らは，フローサイトメトリー，qPCR 及び IHC 法を用いて，正常組織及び多発性骨髄腫細胞の BCMA 発現を解析した。市販の抗ヒト BCMA 抗体を用いたフローサイトメトリー解析では，初代 CD34 陽性造血細胞上に BCMA の発現は認められなかった。qPCR を用いて，44 種のヒト組織パネルにおける BCMA の cDNA コピー数を解析した結果，造血組織中に BCMA の発現が認められ，低レベルであるが，精巣，気管及び消化管でも発現が認められた。33 種の組織については，上記の市販抗 BCMA 抗体を用いた IHC 解析により，BCMA タンパク質の発現を解析した。その結果，BCMA タンパク質は形質細胞のみで認められ，精巣，気管及び消化管組織を含むいずれの組織においても，形質細胞以外の細胞で発現は認められなかった。腫瘍性形質細胞の表面では BCMA タンパク質の発現が認められた。これらのことから，消化管における BCMA の発現は，腸管関連リンパ組織の一部を形成する常在性 B 細胞及び形質細胞に由来すると考えられる。その他の報告でも，腫瘍細胞以外では BCMA は主として形質細胞及び成熟 B 細胞サブセットに発現することが報告されており，上記データと一致している（Laabi 1992, 1994; Kalled 2005; O'Connor 2004; Ng 2004）。

3 つのヒト正常組織マイクロアレイ（[redacted]）に対して市販の抗 BCMA 抗体を用いた IHC 解析を実施したところ，副腎及び脳の細胞質において弱い染色が認められた（3 つの組

織アレイ全て）。胃，胃の陰窩底部，食道（食道腺含む），回腸，盲腸，結腸及び直腸にも同様の弱い細胞質染色が認められた（3 つの組織アレイのうち 1 又は 2 つ）（4.2.1.1.2/DD[redacted]320）。BCMA は膜タンパク質であること，Carpenter（2013）及び Bu（2018）らの報告では，常在性形質細胞を除き，これらの組織において BCMA タンパク質の発現は認められなかったこと，及び公開されている RNA-seq データベース（GTEx Project）によると，脳及び副腎の BCMA RNA 発現量は無視できるレベルであったことから，当該染色は非特異的な反応に起因すると考えられる。加えて，ホルマリン固定パラフィン包埋ヒト脳に対する IHC 及び *in situ* ハイブリダイゼーションを実施した結果，BCMA はヒト正常脳に発現しないことが示唆された（4.2.1.1.3/Histo-060920[redacted]）。

2.6.2.2.1.3 ヒト及び動物の標的に対する結合プロファイル及び機能活性

資料番号 4.2.1.1.4，4.2.1.1.5，4.2.1.1.6，4.2.1.1.7

ヒト，カニクイザル及びマウスの BCMA 及び CD3 タンパク質に対するテクリスタマブの結合プロファイルを評価した。フローサイトメトリーを用いて，cBCMA を強制発現させた CHO 細胞株（以下，cBCMA 発現 CHO 細胞株）に対するテクリスタマブの結合を測定した結果，テクリスタマブは cBCMA 発現 CHO 細胞株に対して濃度依存的に結合したが，親細胞である BCMA 陰性 CHO 細胞株には結合しなかった（4.2.1.1.4/DD[redacted]323）。続いて，表面プラズモン共鳴法（SPR）を用いて，遺伝子組換え BCMA に対するテクリスタマブの結合親和性を測定した結果，ヒト，カニクイザル及びマウス BCMA に対する K_d 値は，それぞれ 0.18，6.5 及び 72.4 nmol/L であった（4.2.1.1.5/DS-TEC-72238，表 2.6.2-2）。

CD3 に対するテクリスタマブの結合プロファイルは，テクリスタマブ又はテクリスタマブの作製に用いられた抗 CD3 親抗体（CD3[redacted]）を用いて評価した。フローサイトメトリーを用いて，ヒト及び NHP の PBMC（CD3 陽性 T 細胞が含まれる）に対する CD3[redacted] の結合を測定した結果，CD3[redacted] はヒト及び NHP の PBMC に強い結合を示した（DD[redacted]323）。一方，CD3[redacted] は，マウスの CD3 陽性 T 細胞には結合しなかった（4.2.1.1.6/DS-TEC-102635）。続いて，フローサイトメトリーを用いて，ヒト及びカニクイザルの T 細胞に対するテクリスタマブの結合親和性を測定した結果，ヒト及びカニクイザルの CD3 に対する K_d 値は，それぞれ 28.03 及び 38.48 nmol/L であった（4.2.1.1.7/DS-TEC-93455）。

cBCMA 又は hBCMA 発現 CHO 細胞株と健康ドナー由来ヒト T 細胞の共培養試験（エフェクター：ターゲット比 = 5:1，48 時間共培養）によりテクリスタマブの機能活性（細胞傷害活性及び T 細胞活性化）を評価した。その結果，テクリスタマブは cBCMA 及び hBCMA 発現 CHO 細胞株に対して，細胞傷害及び T 細胞活性化を誘導した（DD[redacted]323，表 2.6.2-3）。cBCMA 及び hBCMA 発現 CHO 細胞株に対する細胞傷害活性の EC_{50} 値は，それぞれ 0.64～3.3 nmol/L 及び 0.31～0.86 nmol/L，T 細胞活性化の EC_{50} 値は，それぞれ 1.38～3.9 nmol/L 及び 0.2～0.32 nmol/L であった。

表 2.6.2-2 ヒト，サル及びマウスの遺伝子組換え BCMA タンパク質に対する
テクリスタマブの結合親和性（SPR）

BCMA Antigen	Average Kd (nM)	Range (nM)
Human	0.18	0.15-0.20
Cynomolgus monkey	6.50	5.36-7.27
Mouse	72.4	62.0-82.9

BCMA = B cell maturation antigen; Kd = dissociation constant ; nM = nmol/L
Source : DS-TEC-72238

表 2.6.2-3 hBCMA 及び cBCMA 発現 CHO 細胞に対するテクリスタマブの機能活性

	CHO Cells Expressing hBCMA[a]	CHO Cells Expressing cBCMA[a]
Cytotoxicity (EC_{50} in nM)	0.31-0.86	0.64-3.3
T cell activation (EC_{50} in nM)	0.2-0.32	1.38-3.9

[a] Presented are a range of values from multiple experiments (N=2). Receptor density differential between cBCMA and hBCMA expression was not measured in these experiments.
Teclistamab and negative control molecules were incubated at increasing concentrations with hBCMA and cBCMA-expressing CHO cells and human pan T cells from 2 healthy donors at an E:T ratio of 5:1. After 48 hours of incubation, the percentage cytotoxicity was then assessed by flow cytometry and EC_{50} values calculated using GraphPad Prism software.
BCMA = B cell maturation antigen; cBCMA = cynomolgus monkey BCMA; CHO = Chinese hamster ovary; EC_{50} = half-maximal effective concentration; E:T = effector:target; hBCMA = human BCMA; nM = nmol/L
Source: DD[redacted]323

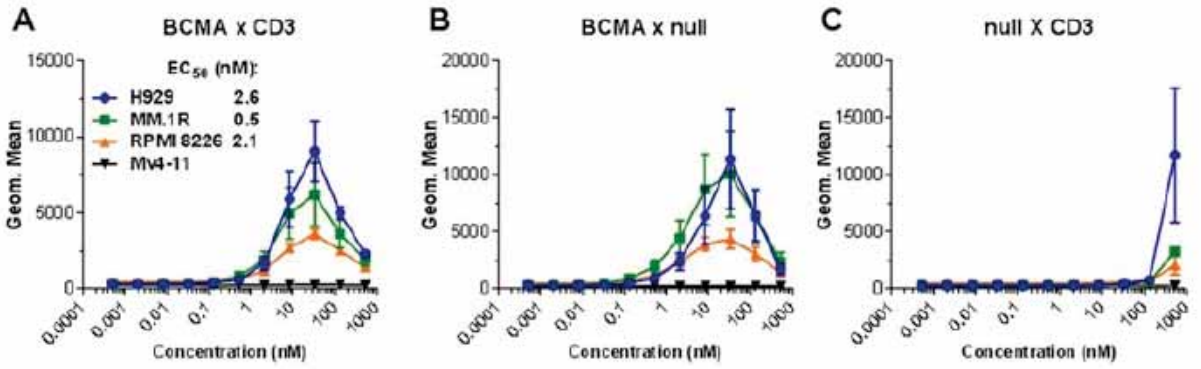
2.6.2.2.1.4　多発性骨髄腫細胞株に対するテクリスタマブの結合

資料番号 4.2.1.1.2，4.2.1.1.8

BCMA の発現量が異なる以下の細胞株を用いて，テクリスタマブの *in vitro* 機能特性を検討した（DD[redacted]320）。

- RPMI 8226：1 細胞当たり 3705 個の BCMA を発現する細胞株
- MM.1R：1 細胞当たり 6670 個の BCMA を発現する細胞株
- H929：1 細胞当たり 13173 個の BCMA を発現する細胞株
- MV4-11：BCMA 陰性細胞株

テクリスタマブは，BCMA 発現多発性骨髄腫細胞株（H929，MM.1R 及び RPMI 8226）に結合し，EC_{50} 値は 0.5～2.6 nmol/L であった（図 2.6.2-3，4.2.1.1.8/DD[redacted]321）。一方，BCMA 陰性細胞株（MV4-11）に対するテクリスタマブの結合は認められなかったことから，テクリスタマブの結合は BCMA 特異的であることが示唆された。BCMA×null 抗体はテクリスタマブと同様の結合プロファイルを示した。一方，null×CD3 抗体は検討した最高濃度（非特異的結合と考えられる）を除き，いずれの細胞株にも結合しなかった。



BCMA+ and BCMA- cells (50,000 cells in 100 µL) were stained for 60 minutes with various concentrations of teclistamab (Panel A), BCMA×null (Panel B), and null×CD3 (Panel C) antibodies to measure the surface binding profiles (n=3). Teclistamab molecular weight is 146.261 kD; 1 µg/mL = ～6 nM. Binding is expressed as the geometrical mean fluorescence intensity (geometric mean).
BCMA = B cell maturation antigen; CD = cluster of differentiation; EC_{50} = half-maximal effective concentration; Geom. = geometric; MM = multiple myeloma; n = number; nM = nmol/L
Source: DD[redacted]321

図 2.6.2-3 BCMA 発現量の異なる種々の多発性骨髄腫細胞株に対する
テクリスタマブの結合

2.6.2.2.1.5　BCMA シグナル伝達及びリガンド結合に及ぼすテクリスタマブの影響

資料番号 4.2.1.1.1

BCMA は，そのリガンドである APRIL 及び BAFF を介して p38 のリン酸化などの下流シグナル伝達を仲介する（Mackay 2002; He 2004）。H929 細胞株における p38 のリン酸化を指標に，BCMA シグナル伝達に及ぼすテクリスタマブの影響を評価したところ，10 µg/mL までテクリスタマブによるアゴニスト活性は認められなかった。一方，1 µg/mL の組換え APRIL 又は BAFF タンパク質の存在下でテクリスタマブ（1 µg/mL）を添加したところ，リガンドによる BCMA シグナル伝達（p38 のリン酸化）が最大で約 50%阻害された（DD[redacted]322）。

2.6.2.2.1.6　多発性骨髄腫細胞株に対するテクリスタマブの T 細胞介在性細胞傷害

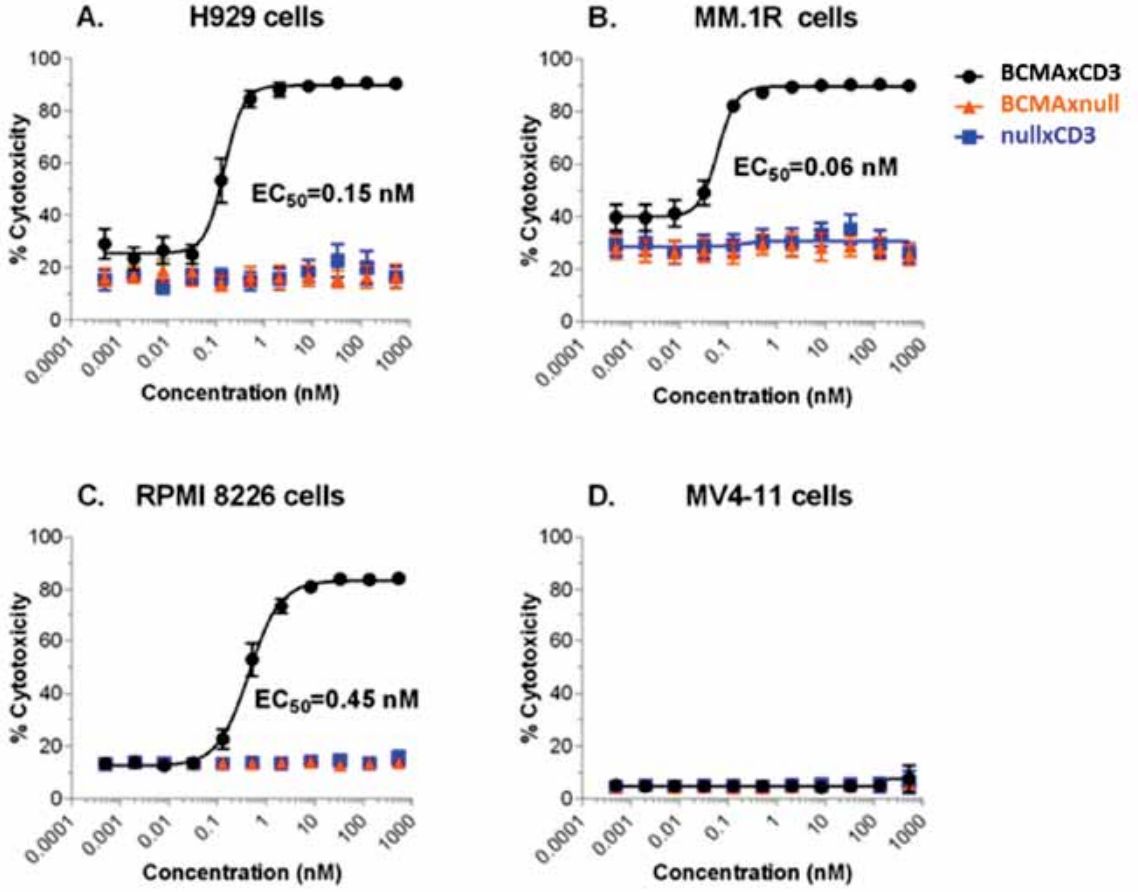
資料番号 4.2.1.1.1，4.2.1.1.8

標的細胞として BCMA 発現多発性骨髄腫細胞株（H929，MM.1R 及び RPMI 8226），及びエフェクター細胞として健康ドナー由来 T 細胞（6 例）を用いた共培養試験（48 時間培養）を実施して，BCMA 発現細胞に対するテクリスタマブの細胞傷害活性を評価した。

テクリスタマブは BCMA 発現多発性骨髄腫細胞株に対して濃度依存的な T 細胞介在性の細胞傷害を誘導し，H929，MM.1R 及び RPMI 8226 に対する平均 EC_{50} 値は，それぞれ 0.58，0.07 及び 0.70 nmol/L であった（n=2，図 2.6.2-4，DD[redacted]321）。一方，BCMA 陰性細胞株（MV4-11）に対してテクリスタマブは細胞傷害活性を示さなかった。対照の二重特異性抗体（null×CD3 又は BCMA×null）はいずれの細胞株に対しても細胞傷害活性を示さなかった。

BCMA は細胞膜タンパク質であるが，一部は ECD が切断された可溶型タンパク質（sBCMA）として血中に遊離している（Shen 2023）。テクリスタマブの細胞傷害活性に及ぼす sBCMA の影

響を評価するため，共培養試験に組換え sBCMA タンパク質を添加したところ，56 nmol/L まで細胞傷害活性への影響は認められなかった。167 nmol/L の sBCMA を添加したところ，細胞傷害活性は約 2 倍低下したが，多発性骨髄腫患者の血中 sBCMA 濃度の平均値は 15.27 nmol/L（89.91 ng/mL）であることを考慮すると，血中に遊離した sBCMA がテクリスタマブの有効性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる（DD[redacted]322）。



Teclistamab concentrations:

µg/mL	0	0.0003	0.001	0.005	0.020	0.078	0.313	1.250	5.000	20.000	80.000
nM	0	0.0020	0.008	0.032	0.130	0.520	2.078	8.313	33.250	133.000	532.000

Teclistamab and negative control molecules were incubated at increasing concentrations with multiple myeloma cell lines and healthy donor pan T cells at an E:T ratio of 5:1 in the presence of fragment crystallizable blocker. After 48 hours of incubation the percentage cytotoxicity was assessed by flow cytometry and EC_{50s} calculated using GraphPad Prism software. The data above represents the average of 6 different T cell donors.
BCMA = B cell maturation antigen; CD = cluster of differentiation; EC_{50} = half-maximal effective concentration; E:T = effector:target; nM = nmol/L
Source: DD[redacted]321

図 2.6.2-4 多発性骨髄腫細胞株に対するテクリスタマブの T 細胞介在性細胞傷害

2.6.2.2.1.7 BCMA 発現細胞株存在下におけるテクリスタマブの T 細胞活性化作用

資料番号 4.2.1.1.1，4.2.1.1.8

BCMA 発現多発性骨髄腫細胞株と健康ドナー（6 例）由来 T 細胞を用いた上述の共培養試験において，テクリスタマブは T 細胞の活性化（活性化 T 細胞マーカーである CD25 の発現を指標に評価）を誘導し，H929，MM.1R 及び RPMI 8226 と共培養したときの平均 EC_{50} 値は，それぞれ 0.50，0.15 及び 0.36 nmol/L であった（DD[redacted]321）。一方，BCMA 陰性細胞株（MV4-11）では，最高濃度（532 nmol/L）で CD25 の発現がわずかに上昇したのみであった。対照抗体（null×CD3 又は BCMA×null）はいずれの細胞株に対しても T 細胞活性化を誘導しなかった。また，標的である BCMA 発現細胞の非存在化では，テクリスタマブは明確な T 細胞活性化を誘導しなかったことから，当該作用は BCMA 特異的であった（DD[redacted]322）。テクリスタマブによる T 細胞活性化をさらに検討するために，培養上清中に放出された種々のサイトカイン濃度を測定した。その結果，RPMI 8226 及び H929 細胞と共培養したときの各サイトカイン濃度の平均 EC_{50} 値は表 2.6.2-4 のとおりであった（DD[redacted]321）。

表 2.6.2-4 BCMA 発現細胞株存在下におけるテクリスタマブのサイトカイン放出誘導（平均 EC_{50}）

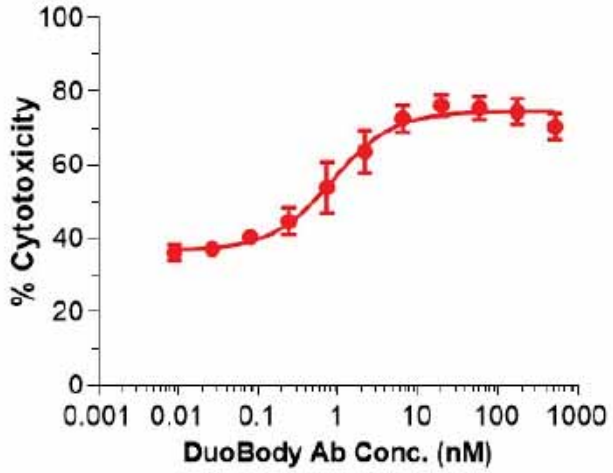
Cytokine	RPMI 8226 EC_{50} (nM)	H929 EC_{50} (nM)
IFN-γ	1.61	2.82
TNF-α	18.17	3.75
IL-2	2.00	4.09
IL-6	1.33	1.44
IL-8	0.50	2.19
IL-10	0.78	1.91

nM = nmol/L
Source: DD[redacted]321

2.6.2.2.1.8 正常全血モデルにおけるテクリスタマブの T 細胞介在性細胞傷害，T 細胞活性化及びサイトカイン放出

資料番号 4.2.1.1.9

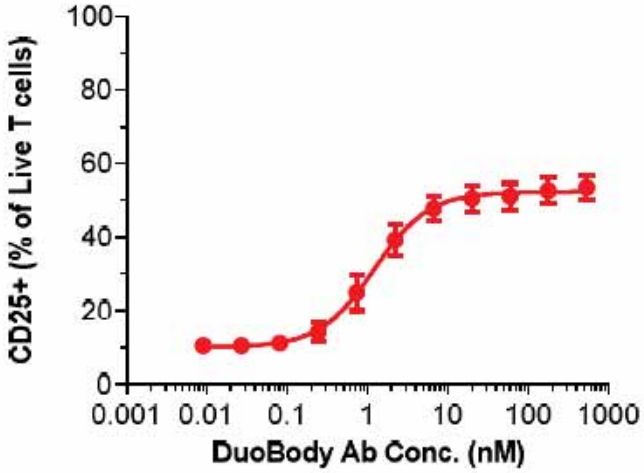
生理学的にヒト生体内をより反映するモデルを用いてテクリスタマブの機能活性を評価するため，*in vitro* 全血モデルを構築した。健康ドナー（6 例）の全血に BCMA 発現多発性骨髄腫細胞（H929）をエフェクター：ターゲット比 = 5:1 となるように添加し，種々の濃度のテクリスタマブを 48 時間曝露したときの H929 細胞に対する細胞傷害活性，T 細胞活性化及びサイトカイン放出を評価した。全血モデルにおいてもテクリスタマブは濃度依存的な細胞傷害活性を示し，6 例のドナーから得られた EC_{50} の個別値の範囲は 0.305～3.422 nmol/L，平均 EC_{50} 値は 1.262 nmol/L であった（図 2.6.2-5，4.2.1.1.9/TR20[redacted]T-005）。



Cytotoxicity was measured by flow cytometry. The graph above depicts the means of 6 individual donors ± SEM produced with GraphPad Prism software.
Ab = antibody; Conc. = concentration; nM = nmol/L; SEM = standard error of the mean
Source: TR20[redacted]T-005

図 2.6.2-5 全血モデルにおける H929 細胞に対するテクリスタマブの細胞傷害活性

続いて全血モデルにおけるテクリスタマブの T 細胞活性化作用を評価した。活性化 T 細胞の指標として，CD3 陽性 T 細胞のうち CD25 陽性を示す T 細胞の割合を測定したところ，テクリスタマブは濃度依存的に T 細胞活性化を誘導し，6 例のドナーから得られた EC_{50} の個別値の範囲は 0.486～2.200 nmol/L，平均 EC_{50} 値は 1.406 nmol/L であった（図 2.6.2-6）。培養上清中に放出された種々のサイトカイン（IFN-γ，TNF-α，IL-2，IL-4，IL-6，IL-8，IL-10，IL-1β，IL-12p70 及び IL-13）の濃度を測定した結果，最も感度の高かったサイトカインである IL-6 及び IL-2 の平均 EC_{50} 値は，それぞれ 1.207 及び 1.275 nmol/L であった（表 2.6.2-5，TR20[redacted]T-005）。



T cell activation was measured by flow cytometry. Graph above depicts the means of 6 individual donors ± SEM produced with GraphPad Prism software.
Ab = antibody; CD = cluster of differentiation; Conc. = concentration; nM = nmol/L; SEM = standard error of the mean
Source: TR20[redacted]T-005

図 2.6.2-6 全血モデルにおけるテクリスタマブの T 細胞活性化作用

表 2.6.2-5 全血モデルにおけるテクリスタマブのサイトカイン放出誘導

（平均 EC_{50}）

Cytokine	Average EC_{50} (nM)
IFN-γ	2.179
TNF-α	1.478
IL-2	1.275
IL-6	1.207
IL-8	1.726
IL-1β	2.634

Cytokine production was detected by the [redacted] platform, an immuno-assay based capture methodology. The table above displays the mean EC_{50} (nM) for each cytokine produced with GraphPad Prism software where ≥3 donors were evaluable. The mean EC_{50} (nM) were not evaluable for IL-4, IL-10, IL-13, and IL-12p70.
EC_{50} = 50% maximal effective concentration; IFN = interferon; IL = interleukin; nM = nmol/L; TNF = tumor necrosis factor
Source: TR20[redacted]T-005

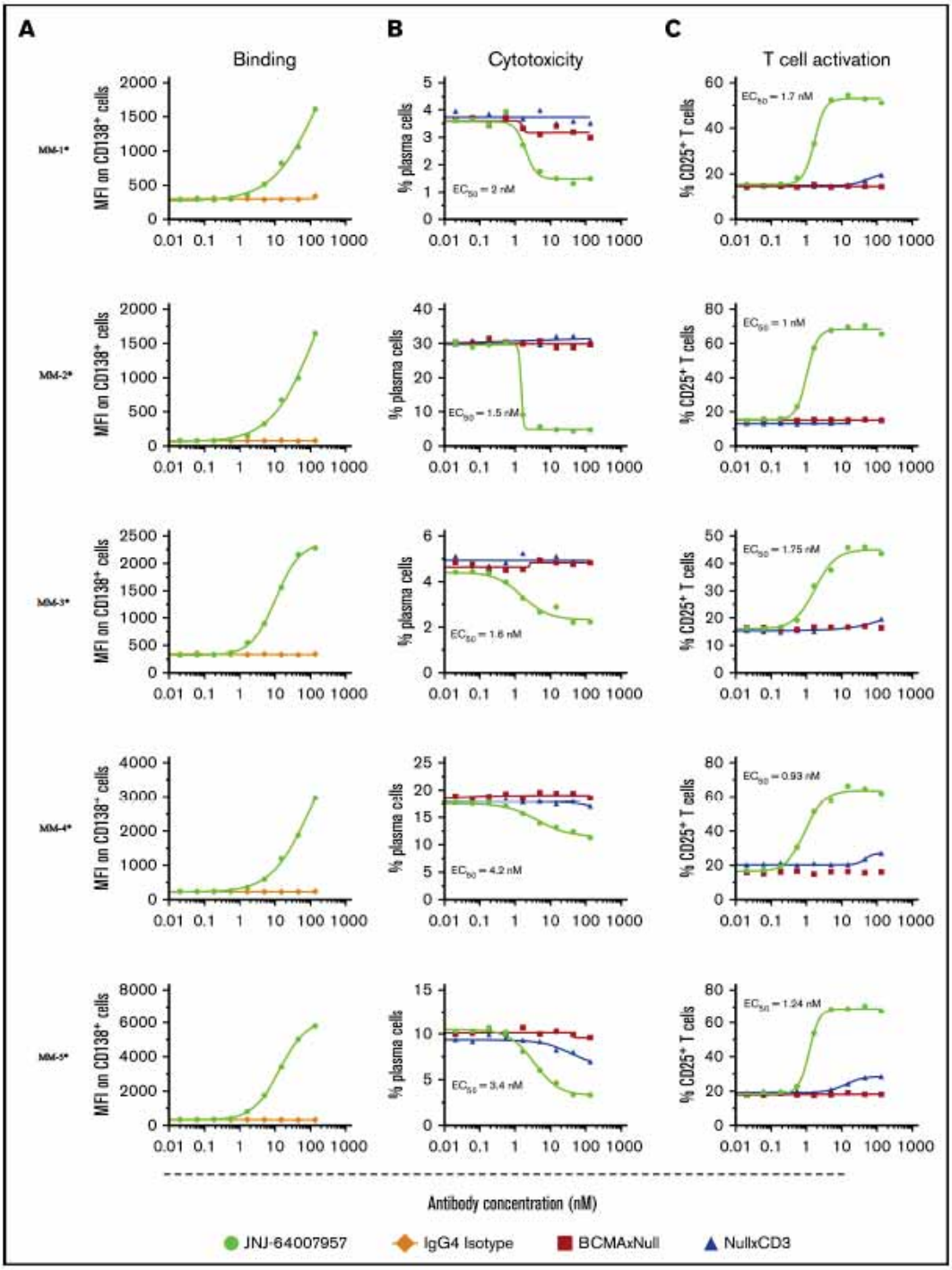
2.6.2.2.1.9　患者由来の CD138 陽性多発性骨髄腫細胞に対するテクリスタマブの結合，細胞傷害活性及び T 細胞活性化作用

資料番号 4.2.1.1.8

5 例の多発性骨髄腫患者の骨髄検体（標的細胞である骨髄腫細胞が含まれる）と健康ドナー由来の T 細胞（エフェクター細胞）を用いた共培養試験（48 時間培養）において，テクリスタマブの骨髄腫細胞に対する結合，細胞傷害活性及び T 細胞活性化作用を評価した。

全ての患者検体において，テクリスタマブは多発性骨髄腫細胞（CD138 陽性の形質細胞）に対して濃度依存的な結合及び細胞傷害活性を示した。CD138 陽性形質細胞の減少を指標に測定した細胞傷害活性の平均 EC_{50} 値は 2.53 nmol/L であった（図 2.6.2-7）。濃度依存的な T 細胞活性化も認められ，平均 EC_{50} 値は 1.33 nmol/L であった。対照抗体（null×CD3 及び BCMA×null）は，明らかな細胞傷害及び T 細胞活性化を誘導しなかった。

以上のデータから，テクリスタマブは多発性骨髄腫患者の *ex vivo* 骨髄検体においても細胞傷害を誘導することが示された（DD[redacted]321）。なお，本試験で 5 例の患者検体から得られた細胞傷害活性の EC_{90} の最大値［41.29 nmol/L（6039 ng/mL）］は，臨床試験におけるテクリスタマブの有効投与量の予測に使用した【2.7.2.3.7】。



Frozen bone marrow-derived mononuclear cells from 5 different patients (multiple myeloma; patient ID numbers on the Y axes) were used to assess teclistamab binding, compared to IgG4 isotype control (left panel), plasma cell cytotoxicity (middle) and T cell activation (right). JNJ-64007957 binds to plasma cells in a dose-dependent manner in all donor samples and the mean fluorescence intensities (MFI) were recorded on the Y-axis. For the cytotoxicity assay, T cells from healthy donor ([redacted]) were exogenously added to patient BMMNC samples and incubated with teclistamab, BCMA×null or null×CD3 for 48 hours. A total of 100,000 T cells were added to each bone marrow sample, leading to the E:T ratios from 14:1 to 1.7:1. Note the loss of live plasma cells ($CD138^+$) and the concomitant up-regulation of CD25 on T cells in response to teclistamab treatment. The donor-specific IC_{50} values for cytotoxicity and EC_{50} values for T cell activation are indicated on the graphs.

BCMA = B cell maturation antigen; BMMNC = bone marrow aspirate mononuclear cells; EC_{50} = half maximal effective concentration; E:T = effector:target; IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration; MM = multiple myeloma; nM = nmol/L

Source: DD[redacted]321

図 2.6.2-7 多発性骨髄腫患者の骨髄検体におけるテクリスタマブの結合，細胞傷害活性及び T 細胞活性化作用

2.6.2.2.2 *In vivo* 薬理試験

2.6.2.2.2.1 異種移植マウスモデルにおけるテクリスタマブの抗腫瘍効果

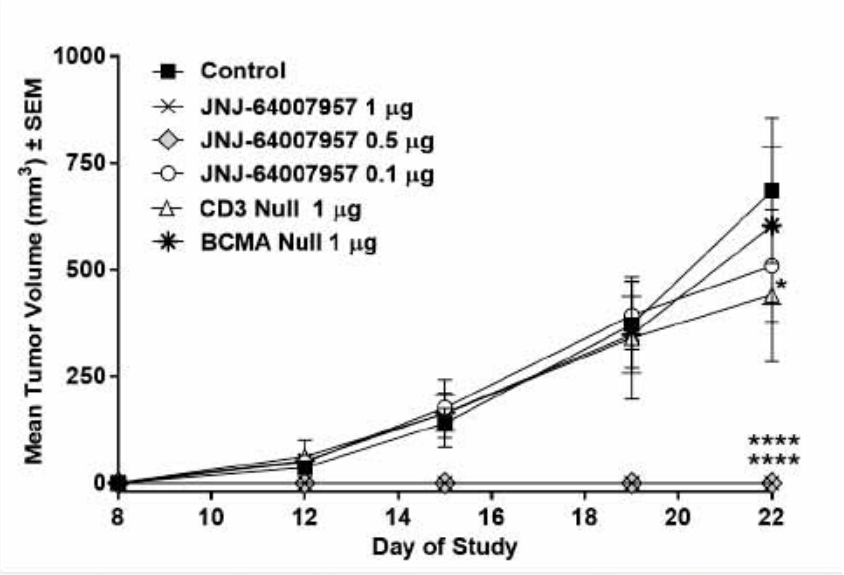
資料番号 4.2.1.1.10，4.2.1.1.11

PBMC 又は T 細胞ヒト化 NSG マウスを用いた 2 種の BCMA 発現ヒト多発性骨髄腫モデル（予防及び治療モデル）でテクリスタマブの *in vivo* 抗腫瘍効果を評価した。予防モデルでは，多発性骨髄腫細胞の移植時に被験薬の投与を開始し，治療モデルでは，腫瘍の生着確認後に被験薬の投与を開始した。

予防モデル

Day -7 に 1×10^7 個のヒト PBMC（エフェクター細胞）を NSG マウスに静脈内移植した後，Day 1 に 5×10^6 個の H929 細胞を皮下移植し，同日からテクリスタマブを 0.1，0.5 及び 1 μg/匹（0.005，0.025 及び 0.05 mg/kg に相当）で Day 1，4，6，8 及び 11 に静脈内投与した（N=8～10/群）。

テクリスタマブは 0.5 又は 1 μg/匹で顕著な抗腫瘍効果を示し，PBS 投与群と比較して腫瘍形成及び増殖を完全に抑制した（$p<0.001$，Day 22）。一方，対照二重特異性抗体（CD3×null 及び BCMA×null）は腫瘍形成を抑制しなかった（図 2.6.2-8，4.2.1.1.10/DD[redacted]334）。



H929 prophylactic model. NSG mice were intravenously engrafted with human PBMCs on Day -7. One week later on Day 1, mice were subcutaneously inoculated with H929 multiple myeloma cells, and then intravenously dosed with BCMA × CD3 bispecific teclistamab at 0.1, 0.5, or 1 μg/ mouse (equivalent to 0.005, 0.025, or 0.05 mg/kg for a 20 g mouse) or corresponding control bispecific antibodies (BCMA×null or CD3×null). Subsequent teclistamab dosing occurred intravenously on Days 4, 6, 8, and 11. Subcutaneous tumors were calipered twice weekly and the results presented as average tumor volume, expressed in mm^3 ± SEM of each group. Only data through Day 22 is graphically represented, as this was the last day when the PBS treated control tumor volumes remained below maximal tumor size limits. Statistical significance was evaluated for bispecific antibody treated groups vs. PBS-treated controls on the last day of the study using a 2-way ANOVA with multiple comparisons and Dunnett's post-test.
BCMA = B cell maturation antigen; CD = cluster of differentiation; JNJ-64007957 = teclistamab; MM = multiple myeloma; NSG = NOD/scidγc-/-; PBMCs = peripheral blood mononuclear cells; PBS = phosphate buffered saline; SEM = standard error of the mean
Source: DD[redacted]334

図 2.6.2-8 H929 異種移植マウスモデルにおけるテクリスタマブの抗腫瘍効果（予防モデル）

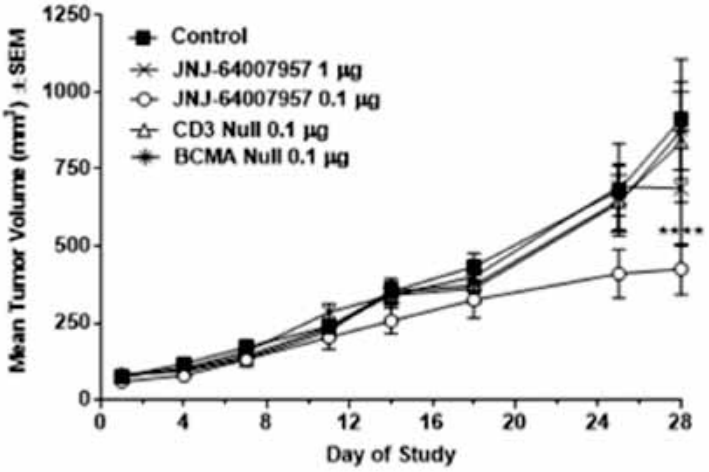
治療モデル

Day -18 に 9×10^6 個の RPMI 8226 細胞を NSG マウス皮下に異種移植し，腫瘍の生着（平均腫瘍体積は約 75 mm^3）を確認した Day 1 に 1×10^7 個のヒト PBMC（エフェクター細胞）を静脈内移植した。当該マウスにテクリスタマブを 0.1 及び 1 μg/匹（0.005 及び 0.05 mg/kg に相当）で Day 8，11，13，15，18 及び 25 に静脈内投与した（N=8～10/群）。

テクリスタマブは 0.1 μg/匹（0.005 mg/kg）で，PBS 投与群と比較して腫瘍増殖を 53%抑制したが（$p<0.05$，Day 28），高用量の 1 μg/匹（0.05 mg/kg）では抗腫瘍効果は認められなかった（図 2.6.2-9，DD[redacted]334）。

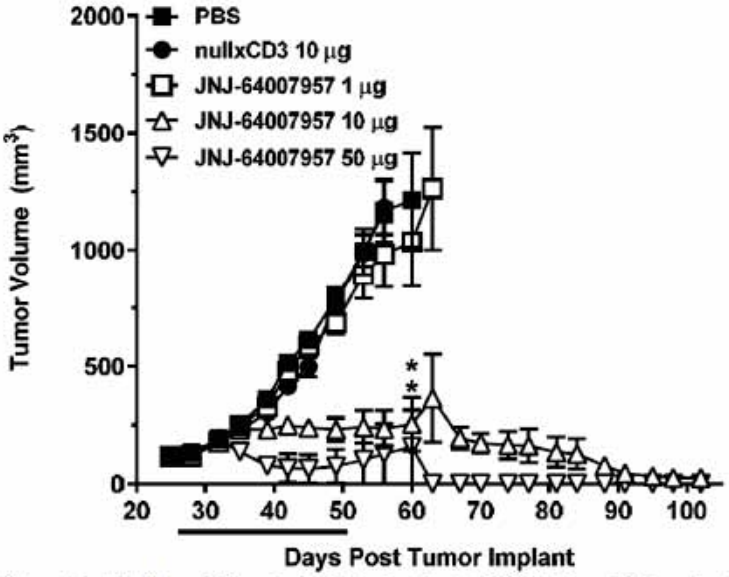
同様の試験系で，より高用量のテクリスタマブの抗腫瘍効果を確認するため，T 細胞ヒト化 NSG マウスを用いた追加試験を実施した。Day 0 に 1×10^7 個の RPMI 8226 細胞を NSG マウスの皮下に異種移植し，生着を確認した Day 25 にエフェクター細胞として 2×10^7 個のヒト T 細胞を腹腔内移植した。Day 26 からテクリスタマブを 1，10 及び 50 μg/匹（0.05，0.5 及び 2.5 mg/kg に相当）で週 2 回 4 週間腹腔内投与した（N=10/群）。

テクリスタマブは用量依存的な抗腫瘍効果を示し，PBS 投与群と比較して 10 及び 50 μg/匹で腫瘍増殖をそれぞれ 79%及び 87%抑制した（$p<0.05$，Day 60）。試験終了時（Day 102）において 50 μg/匹では 10 例中 9 例で腫瘍が消失した。一方で，1 μg/匹では明確な抗腫瘍効果は認められなかった（図 2.6.2-10，4.2.1.1.11/DD[redacted]099）。



NSG mice were subcutaneously inoculated with RPMI 8226 cells, and then intravenously engrafted with human PBMCs when tumors were established (mean tumor volume ～75 mm^3). Mice were then intravenously dosed with control bispecific antibodies (BCMA×null or CD3×null on Days 1, 4, 6, 8, 11, 15, and 25 post-PBMC implantation, or BCMA × CD3 bispecific antibody teclistamab at 0.1 or 1 µg/mouse (equivalent to 0.005 or 0.05 mg/kg for a 20 g mouse) on Days 8, 11, 13, 15, 18, and 25 post-PBMC-implantation. Only data through Day 28 is graphically represented, as this was the last day when at least 7 mice remained in each group. Statistical significance was evaluated for bispecific antibody treated groups vs. PBS-treated controls on the last day of the study using a 2-way ANOVA with multiple comparisons and Dunnett's post-test.
BCMA = B cell maturation antigen; CD = cluster of differentiation; JNJ-64007957 = teclistamab; MM = multiple myeloma; NSG = NOD/scidγc-/-; PBMCs = peripheral blood mononuclear cells; SEM = standard error of the mean
Source: DD[redacted]334

図 2.6.2-9 RPMI 8226 異種移植マウスモデルにおけるテクリスタマブの抗腫瘍効果（治療モデル）



Mice were treated with teclistamab at 1, 10, and 50 µg/animal (equivalent to 0.05, 0.5, and 2.5 mg/kg for a 20 g mouse, respectively) IP every 3 or every 4 days for 8 total treatments on Days 26, 29, 33, 36, 40, 43, 47, and 50 post human pan T cells (2×10^7) implantation. CD3×null was dosed at 0.5 mg/kg with the same schedule and regimen. Statistical significance was evaluated for antibody-treated groups versus PBS-treated controls on the last day of the study when at least 70% of the vehicle control animals remained. A 1-way analysis of variance with multiple comparisons and Dunnett's post-test were performed. Group tumor volumes are graphed as mean ± SEM.
BCMA = B cell maturation antigen; CD = cluster of differentiation; IP = intraperitoneal; JNJ-64007957 = teclistamab; NSG = NOD/scidγc-/-; PBS = phosphate buffered saline; SEM = standard error of the mean
Source: DD[redacted]099

図 2.6.2-10 RPMI 8226 異種移植マウスモデルにおけるテクリスタマブの抗腫瘍効果
（治療モデル，追加試験）

2.6.2.2.3 毒性試験に用いる薬理学的に適切な動物種の選択

資料番号 4.2.1.1.4，4.2.1.1.5

薬理学的に適切な動物種を選択するために，配列相同性，標的結合親和性及び細胞を用いた機能活性の比較を含む複数の要因を検討した。テクリスタマブは，げっ歯類の BCMA に対する結合親和性が弱く（2.6.2.2.1.3），げっ歯類及びウサギの CD3 に結合しない（ラット及びウサギの CD3ε とヒト CD3ε との相同性が低いことに基づく；NCBI BLAST）ことから，げっ歯類及びウサギは毒性試験に用いる動物種として適切ではない。一方，カニクイザルの BCMA は，hBCMA の ECD に対して 90%を超える配列相同性を有する（DS-TEC-72238）。加えて，*in vitro* でテクリスタマブは cBCMA 及び cCD3 に結合し，cBCMA 発現細胞に対して細胞傷害及び T 細胞活性化を誘導した（表 2.6.2-6 及び 2.6.2.2.1.3）。以上のことから，テクリスタマブの毒性を評価する上で薬理学的に適切な動物種としてカニクイザルを選択した。

しかしながら，*in vitro* での cBCMA に対するテクリスタマブの結合親和性は，hBCMA に対する結合親和性と比較して約 36 倍弱く，cBCMA 発現細胞に対するテクリスタマブの機能活性は，ヒトと比較して 2～20 倍低い。このことと関連して，カニクイザルを用いた反復投与毒性試験ではテクリスタマブの薬理活性の徴候は認められなかった【2.6.6.3】。以上のことに加えて，正常カニクイザルにおいて BCMA を発現する形質細胞は，多発性骨髄腫患者（BCMA 発現骨髄腫細胞が大量に存在する）に比べて著しく少ないことを考慮すると，多発性骨髄腫患者におけるリス

クを評価する上で，正常カニクイザルを用いた非臨床毒性試験データは慎重に解釈する必要がある。

表 2.6.2-6 ヒト又はカニクイザル BCMA に対するテクリスタマブの結合親和性及び機能活性

	Binding Affinity to BCMA (nM)[a]		Cytotoxicity EC_{50} (nM)[b]		T Cell Activation EC_{50} (nM)[b]	
Antibody	**Human**	**Cynomolgus**	**Human**	**Cynomolgus**	**Human**	**Cynomolgus**
Teclistamab	0.15-0.20	5.36-7.27	0.31-0.86	0.64-3.3	0.2-0.32	1.38-3.9

[a] Measured by SPR.
[b] Human indicates the use of hBCMA and human T cells from healthy donors; cynomolgus indicates the use of cBCMA and human T cells from healthy donors. Effector to target cell ratio = 5:1. Cytotoxicity and T cell activation were measured at 48 hours after treatment.
BCMA = B cell maturation antigen; cBCMA = cynomolgus monkey BCMA; CHO = Chinese hamster ovary; EC_{50} = half-maximal effective concentration; hBCMA = human BCMA; nM = nmol/L; SPR = surface plasma resonance
Source: DD[redacted]323 and DS-TEC-72238

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

資料番号 4.2.3.2.2

テクリスタマブの独立した安全性薬理試験は実施しなかった。ICH S9，S6 (R1) 及び S7A ガイダンスに従い，心血管系，呼吸系及び中枢神経系の安全性薬理評価項目を 5 週間反復投与毒性試験（GLP）に組み込んで評価した。当該試験では，カニクイザル（1 群雌雄各 5 例）にテクリスタマブを 0（生理食塩液），1，10 及び 30 mg/kg（0，0.33，3.33 及び 10 mg/mL）で週 1 回静脈内投与した（4.2.3.2.2/T-20[redacted]-030）。ECG（I，II，III，aVR，aVL 及び aVF 誘導）を投与前（1 回）から Week 5 までの間で測定し，異常の有無を定性的に評価した。本試験の投与期間終了時に異常所見は認められなかったため，回復期間終了時の ECG は測定しなかった。血圧，心拍数，呼吸数及び体温は，各投与日の投与前及び投与後 2～3 時間時点で 1 回記録した。CNS 評価項目として一般状態を 1 日 1 回評価し，投与日は 1 日 2 回（投与後 3～4 及び 6～7 時間時点）評価した。

検討した心血管系，呼吸系及び CNS パラメータにテクリスタマブ投与に関連した影響は，最高用量の 30 mg/kg/週まで認められなかった。カニクイザルに 30 mg/kg/週のテクリスタマブを静脈内投与したときの曝露量は，第 1/2 相 MajesTEC-1 試験の第 1 相パートで再発又は難治性多発性骨髄腫患者に 1.5 mg/kg で週 1 回皮下投与（体重に基づく臨床推奨用量）したときの定常状態における曝露量と比較して C_{max} で 43 倍，AUC で 22 倍高かった（表 2.6.2-1）。

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

効力を裏付ける試験

テクリスタマブは，BCMA を発現する多発性骨髄腫細胞株に強力かつ特異的に結合した（EC_{50} = 0.05～2.6 nmol/L）。SPR を用いて，遺伝子組換え BCMA に対するテクリスタマブの結合親和性を測定した結果，ヒト BCMA に対する K_d 値は，0.18 nmol/L であった。

6 例の健康ドナー由来 T 細胞と多発性骨髄腫細胞株を用いた *in vitro* 共培養試験において，テクリスタマブは BCMA 発現量の異なる複数の多発性骨髄腫細胞株に対して，強力な T 細胞介在性の細胞傷害を誘導した（EC_{50} = 0.07～0.70 nmol/L）。当該試験でテクリスタマブは，検討した全てのドナー由来 T 細胞に対して，T 細胞活性化を誘導した（EC_{50} = 0.15～0.50 nmol/L）。生理学的にヒト生体内をより反映すると考えられる *in vitro* 全血モデルにおいても，テクリスタマブは BCMA 発現多発性骨髄腫細胞株に対して，強力な細胞傷害（EC_{50} = 1.262 nmol/L），T 細胞活性化（EC_{50} = 1.406 nmol/L）及びサイトカイン放出（IL-6: EC_{50} = 1.207 nmol/L，IL-2: EC_{50} = 1.275 nmol/L）を誘導した。

5 例の多発性骨髄腫患者の骨髄検体と健康ドナー由来 T 細胞を用いた *ex vivo* 共培養試験において，テクリスタマブは CD138 陽性骨髄腫細胞に対する細胞傷害（EC_{50} = 2.53 nmol/L）及び健康ドナー由来 T 細胞に対する T 細胞活性化（EC_{50} = 1.33 nmol/L）を誘導した。テクリスタマブの細胞傷害活性は濃度依存的であり，検討した最高濃度（133 nmol/L）まで活性の減弱は認められなかったことから，当該濃度では細胞上の BCMA 及び CD3 エピトープは飽和に達しないことが示唆された。

PBMC ヒト化 NSG マウスを用いた 2 種の BCMA 発現ヒト多発性骨髄腫モデル［予防モデル（H929 細胞）及び治療モデル（RPMI 8226 細胞）］でテクリスタマブの *in vivo* 抗腫瘍効果を評価した。予防モデルにおいて，テクリスタマブ（0.025 及び 0.05 mg/kg）は腫瘍形成及び増殖を完全に抑制した。治療モデルにおいて，テクリスタマブは 0.005 mg/kg で，PBS 投与群と比較して腫瘍増殖を 53%抑制したが，高用量の 0.05 mg/kg では抗腫瘍効果を示さなかった。エフェクター細胞として T 細胞を用いた追加試験（治療モデル）を実施したところ，テクリスタマブは用量依存的な抗腫瘍効果を示し，0.5 及び 2.5 mg/kg では腫瘍退縮が認められた。一方で，0.05 mg/kg では明確な抗腫瘍効果は認められなかった。

以上の *in vitro* 及び *in vivo* 薬理試験の結果から，テクリスタマブは BCMA 発現細胞特異的に T 細胞介在性の細胞傷害を誘導する二重特異性抗体であることが示された。

安全性薬理試験

テクリスタマブの安全性薬理パラメータは，薬理学的に適切な動物種であるカニクイザルを用いた 5 週間反復投与毒性試験（GLP）に，心血管系，呼吸系及び中枢神経系の評価項目を組み込んで評価した【2.6.6.3.2】。検討した最高用量の 30 mg/kg/週まで，安全性薬理パラメータにテクリスタマブ投与に関連した影響は認められなかった。他の CD3 リダイレクト分子をカニクイザルに投与した試験ではサイトカイン放出に関連すると考えられる低血圧及び頻脈が認められた（Saber 2017）が，本試験では血中サイトカインの増加，低血圧及び頻脈は認められなかった。カニクイザルに 30 mg/kg/週のテクリスタマブを静脈内投与したときの曝露量（C_{max} 及び AUC）

は，臨床推奨用量（1.5 mg/kg で週 1 回皮下投与）の C_{max} 及び AUC と比較して，それぞれ 43 及び 22 倍（非日本人），並びに 57 及び 31 倍（日本人）高かった【2.7.2.2.1 及び 2.7.2.2.4】。

正常組織における BCMA の発現は，成熟 B 細胞及び形質細胞に限定されており，ヒト正常脳で BCMA は発現していない（2.6.2.2.1.2）。また，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では，心臓，肺，脳，末梢神経及び脊髄の細胞膜にテクリスタマブの特異的染色は認められなかった【2.6.6.8.6.1】。

以上のことから，ヒトに臨床推奨用量のテクリスタマブを投与する上で，心血管系，呼吸系及び CNS に対する重大な懸念は認められなかった。しかしながら，以下に示す理由から，ヒト（多発性骨髄腫患者）におけるリスクを評価する上で，カニクイザルを用いた非臨床毒性試験から得られたデータは慎重に解釈する必要がある。

- cBCMA に対するテクリスタマブの結合親和性は hBCMA よりも約 36 倍弱く，機能活性（細胞傷害活性及び T 細胞活性化）は hBCMA よりも 2～20 倍低かったこと（2.6.2.2.1.3）。
- カニクイザルを用いた 5 週間反復投与毒性試験（GLP）及び探索的忍容性試験では，検討した最高用量までテクリスタマブの薬理活性の徴候は認められなかったこと【2.6.6.3】。
- 正常カニクイザルにおいて BCMA を発現する形質細胞は，多発性骨髄腫患者に比べて著しく少ないこと。

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

Bu DX, et al. Pre-clinical validation of B cell maturation antigen (BCMA) as a target for T cell immunotherapy of multiple myeloma. Oncotarget. 2018;9(40):25764-80.

Carpenter RO, et al. B-cell maturation antigen is a promising target for adoptive T-cell therapy of multiple myeloma. Clin Cancer Res. 2013;19(8):2048-60.

GTEx (Genotype-Tissue Expression) Project. Available from: https://gtexportal.org/home/datasets. Accessed 19 Jan 2024.

He B, et al. Lymphoma B Cells Evade Apoptosis through the TNF Family Members BAFF/BlyS and APRIL. J Immunol. 2004;172(5):3268-79.

Kalled SL. The role for BAFF in immune function and implications for autoimmunity. Immunol Rev. 2005;204:43-54.

Laabi Y, et al. The BCMA gene, preferentially expressed during B lymphoid maturation, is bidirectionally transcribed. Nucleic Acids Res. 1994;22(7):1147-54.

Laabi Y, et al. A new gene, BCM, on chromosome 16 is fused to the interleukin 2 gene by a t(4;16)(q26;p13) translocation in a malignant T cell lymphoma. EMBO J. 1992;11(11):3897-904.

Mackay F, et al. BAFF: A FUNDAMENTAL SURVIVAL FACTOR FOR B CELLS. Nat Rev Immunol. 2002;2(7):465-75.

NCBI BLAST (National Center for Biotechnology Information, Basic Local Alignment Search Tool). Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). Available from: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi. Accessed 28 Mar 2024.

Ng LG, et al. B cell-activating factor belonging to the TNF family (BAFF)-R is the principal BAFF receptor facilitating BAFF costimulation of circulating T and B cells. J Immunol. 2004;173(2):807-17.

O'Connor BP, et al. BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. J Exp Med. 2004;199(1):91-7.

Saber H, et al. An FDA oncology analysis of CD3 bispecific constructs and first-in-human dose selection. Regul Toxicol Pharmacol. 2017;90:144-52.

Shen Y, et al. Serum soluble BCMA can be used to monitor relapse of multiple myeloma patients after chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy. Curr Res Transl Med. 2023;71(2):103378.

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: teclistamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Primary Pharmacodynamics					
Binding affinity and functional activity	Recombinant expression system, PBMCs from multiple species, FACS, ELISA	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]323/ 4.2.1.1.4
Cross reactivity to human and cynomolgus monkey BCMA protein	Recombinant protein, SPR binding	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DS-TEC-72238/ 4.2.1.1.5
Cross reactivity to human and cynomolgus monkey CD3 protein	Human and cynomolgus primary T cells, FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DS-TEC-93455/ 4.2.1.1.7
Cross reactivity to mouse CD3 protein	Mouse primary T cells, FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DS-TEC-102635/ 4.2.1.1.6
Binding profile in whole blood	FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]322/ 4.2.1.1.1
BCMA IHC antibody validation and expression on normal non-hematological tissues	IHC	In vitro	No	[redacted], US & JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]320/ 4.2.1.1.2
BCMA protein expression in multiple myeloma cell lines	FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]320/ 4.2.1.1.2
BCMA mRNA expression in cell lines	Microarray data set	Computational	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]320/ 4.2.1.1.2
BCMA endogenous expression in human brain	Human brain tissues, IHC	In vitro	No	JRD, San Diego, CA, US	Histo-060920[redacted]/ 4.2.1.1.3
Binding profile on multiple myeloma cell lines	Human endogenous BCMA-expressing cell lines, FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]321/ 4.2.1.1.8
BCMA receptor density on multiple myeloma plasma cells	FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]320/ 4.2.1.1.2
Antagonistic effect on ligand-mediated signaling	p38 phosphorylation assay	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]322/ 4.2.1.1.1

(Continued)

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: teclistamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Soluble BCMA levels in multiple myeloma patient plasma samples	Mass Spectrometry	In vitro	No	[redacted], [redacted], [redacted], Canada & JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]322/ 4.2.1.1.1
Soluble factors (sBCMA, APRIL, BAFF) effect on binding to BCMA^{+} cells	FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]322/ 4.2.1.1.1
Soluble factors (soluble BCMA, APRIL, BAFF) effect on functional activity	FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]322/ 4.2.1.1.1
T cell-dependent cytotoxicity in BCMA expressing cell lines	Human endogenous BCMA-expressing cell lines, human pan T cells, FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]321/ 4.2.1.1.8
Teclistamab-mediated T-cell activation	Human endogenous BCMA-expressing cell lines, human pan T cells, FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]321/ 4.2.1.1.8
Effect on T-cell activation in absence of target cells	FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]322/ 4.2.1.1.1
Teclistamab-mediated cytokine release	Human endogenous BCMA expressing cell lines (RPMI 8226), human pan T cells, [redacted]	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]321/ 4.2.1.1.8
Teclistamab mediated T cell-dependent cytotoxicity of frozen primary multiple myeloma bone marrow samples	Human multiple myeloma patient bone marrow samples, FACS	Ex vivo	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]321/ 4.2.1.1.8
Comparison of HEK versus CHO produced teclistamab	FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]322/ 4.2.1.1.1
Comparison of different batches of teclistamab	FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]322/ 4.2.1.1.1
Effect of parental bispecific antibody concentrations on teclistamab efficacy	FACS	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	DD[redacted]322/ 4.2.1.1.1

(Continued)

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: teclistamab

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Efficacy of teclistamab in H929 or RPMI 8226 model of human multiple myeloma in PBMC humanized NSG mice	Prophylactic H929 or subcutaneous RPMI 8226 ($BCMA^+$) inoculation, engrafted human healthy PBMCs	IV (PBS)	No	JRD Spring House, PA, US	DD[redacted]334/ 4.2.1.1.10
Efficacy of teclistamab in RPMI 8226 established T cell model	Subcutaneous RPMI 8226 ($BCMA^+$) inoculation, engrafted human healthy T cells	IP (PBS)	No	[redacted], US	DD[redacted]099/ 4.2.1.1.11
Efficacy of teclistamab in a H929 whole blood model of human multiple myeloma	Healthy human whole blood spiked with H929 cells	In vitro	No	JRD, Spring House, PA, US	TR20[redacted]T-005/ 4.2.1.1.9
Safety Pharmacology					
Cardiovascular, respiratory, and central nervous system assessments conducted as part of the pivotal 5-week repeat-dose toxicity study with an 8-week recovery period	Cynomolgus monkey	IV (formulation buffer[a]; diluent: sterile saline)	Yes	[redacted], US	T-20[redacted]-030/ 4.2.3.2.2

[a] Formulation buffer: An aqueous solution of [redacted] mM [redacted], [redacted]% (w/v) [redacted], [redacted]% (w/v) polysorbate 20, [redacted] µg/mL EDTA, at pH [redacted]. Control animals were administered sterile saline.

APRIL = a proliferation-inducing ligand; BAFF = B cell activating factor; BCMA = B cell maturation antigen; CA = California; CD3 = cluster of differentiation 3; CHO = Chinese hamster ovary; EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; FACS = fluorescence-activated cell sorting; GLP = Good Laboratory Practice; HEK = human embryonic kidney; IHC = immunohistochemistry; IP = intraperitoneal; IV = intravenous; JRD = Janssen Research & Development, LLC; [redacted]; PA = Pennsylvania; PBMC = peripheral blood mononuclear cell; PBS = phosphate buffered saline; sBCMA = soluble BCMA; US = United States; w/v = weight per volume

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験の詳細は概要文中に記載した

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: teclistamab

Organ Systems Evaluated	Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	GLP	Study No./ Location in CTD
Cardiovascular, respiratory, and central nervous system assessments[a] conducted as part of the pivotal 5-week repeat-dose toxicity study with an 8-week recovery period	Cynomolgus monkey	IV, weekly (formulation buffer[b])	0, 1, 10, 30	No effects on cardiovascular, respiratory, or central nervous system parameters. Exposure at 30 mg/kg/week following 4 doses: C_{max} 1084.01 µg/mL $AUC_{Day22-29}$ 3549.19 µg•day/mL	Yes	T-20[redacted]-030/ 4.2.3.2.2

[a] Electrocardiograms (leads I, II, III, aVR, aVL, and aVF) were recorded once pretreatment and during Week 5 and qualitatively evaluated for abnormalities. Electrocardiograms were not recorded at the end of the recovery period due to the absence of findings at the end of the dosing phase of the study. Blood pressure, heart rate, respiratory rate, and body temperature measurements were recorded once pretreatment and 2 to 3 hours after each dose. Central nervous system endpoints were evaluated via clinical observations conducted daily and after each dose (3 to 4 and 6 to 7 hours post dose).

[b] Formulation buffer: An aqueous solution of 10 mg/mL in [redacted] mM [redacted], [redacted]% (w/v) [redacted], [redacted]% (w/v) polysorbate 20, [redacted] µg/mL EDTA, at pH [redacted]

$AUC_{Day22-29}$ = area under the serum concentration versus time curve from Day 22 to Day 29; C_{max} = maximum observed serum concentration; EDTA = ethylenediamine tetraacetic acid; GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし