ティブソボ錠 250mg

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.1　緒言

日本セルヴィエ株式会社

目次

1.　緒言 4
1.1　イボシデニブの概略 4
1.2　原薬 4
1.2.1　非臨床開発計画において用いたイボシデニブの製剤 5
1.3　本剤の効能・効果及び用法・用量（案） 6
2.　参考文献 6

表目次

表 1.2:1　非臨床開発計画において用いたイボシデニブのフリー体及び [redacted] 6

図目次

図 1.2:1　イボシデニブ原薬の化学構造 5

略語・略号一覧

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
2-HG	2-Hydroxyglutarate	2-ヒドロキシグルタル酸
α-KG	α-Ketoglutarate	α-ケトグルタル酸
AGI-16678	Ivosidenib; AG-120	イボシデニブ、AG-120
AML	Acute myeloid leukemia	急性骨髄性白血病
[redacted]	[redacted]	[redacted]
IDH1	Isocitrate dehydrogenase-1	イソクエン酸脱水素酵素 1
[redacted]	[redacted]	[redacted]

1.　緒言

1.1　イボシデニブの概略

イボシデニブ（AG-120、以前はAGI-16678としても知られる）は、変異型イソクエン酸脱水素酵素 1（IDH1）に対して強力な選択的阻害作用を有する低分子の経口剤であり、明らかなオフターゲット活性を有していない。

変異型 IDH1 は α-ケトグルタル酸（α-KG）を 2-ヒドロキシグルタル酸（2-HG）へ変換し、2-HG は造血器腫瘍及び非造血器腫瘍の両方において、細胞分化を阻害し、腫瘍形成を促進させる[1)-2)-3)]。変異型 IDH1 を直接的に阻害することにより、腫瘍細胞の分化を誘導する 2-HG 産生は阻害され、臨床での効果が期待できる。マウスにおいて増殖能を示す以下のヒト腫瘍移植モデルを用いた一連の薬理試験から、イボシデニブの投与は 2-HG 産生を 90%以上低下させることが示されている：ヒト初代急性骨髄性白血病（AML）モデル及び患者由来の細胞株を用いた異種移植モデル。この 2-HG 産生低下作用は骨髄系列細胞の分化に関与している遺伝子発現の誘導を伴っている。

In vitro において、イボシデニブによる変異型 IDH1 の阻害は 2-HG 濃度を低下させ、肝芽細胞の分化を誘導した。変異型 IDH1 を有する胆管癌患者から採取した組織試料において、イボシデニブは腫瘍細胞の増殖を阻害した[4)]。イボシデニブ投与前及び投与後の患者から採取した組織試料の遺伝子発現プロファイルからも肝細胞分化と関連している遺伝子発現を増加させ、腫瘍細胞増殖と関連している遺伝子発現を低下させることが示されている[5)]。2-HG は腫瘍微小環境において、免疫抑制物質としても関与している[6)]。

In vivo において、イボシデニブはヒト AML 及び胆管癌細胞での 2-HG 産生に対する極めて強力な阻害剤として作用し、この阻害による結果として細胞分化が誘導される。

イボシデニブはこのように胆管癌及び AML を含む変異型 IDH1 を有する悪性腫瘍患者の治療のための高度に標的化された治療薬の候補である。

1.2　原薬

イボシデニブ［(S)-N-((S)-1-(2-chlorophenyl)-2-((3,3-difluorocyclobutyl)amino)-2-oxoethyl)-1-(4-cyanopyridin-2-yl)-N-(5-fluoropyridin-3-yl)-5-oxopyrrolidine-2-carboxamide］の分子式は $C_{28}H_{22}ClF_3N_6O_3$ であり、分子量は 583.0 g/mol である。イボシデニブ原薬（フリー体）の化学構造を図 1.2:1 に示す。

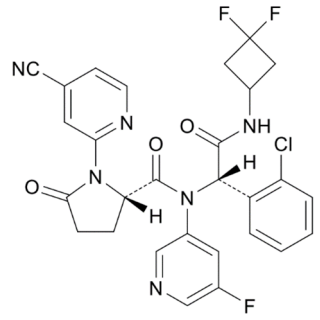


図 1.2:1　イボシデニブ原薬の化学構造

1.2.1　非臨床開発計画において用いたイボシデニブの製剤

イボシデニブ原薬（フリー体）の結晶はバイオアベイラビリティが低いため、バイオアベイラビリティを改善する目的で[redacted]を開発した。非臨床開発計画で用いたイボシデニブのフリー体及び[redacted]に関する説明を表 1.2:1 に示す。

製剤選択を判断するための目安の概要を【2.6.6_1.1】項に示した。本承認申請を担保するための主要な臨床試験（【AG-120-C-009】試験）を含む各臨床試験において、イボシデニブの[redacted]（【2.3.P_2】項）を用いた。[redacted]は市販予定製剤の成分である。

表 1.2:1　非臨床開発計画において用いたイボシデニブのフリー体及び[redacted]

Ivosidenib Form/Formulation	**Description**	**Study Type**
Ivosidenib free form	Ivosidenib drug substance	Pharmacology (refer to Module 2.6.2 for details) Pharmacokinetics (refer to Module 2.6.4 for details) Toxicology (refer to Module 2.6.6 for details)
Ivosidenib [redacted]	[redacted]	Pharmacokinetics (refer to Module 2.6.4 for details) Toxicology (refer to Module 2.6.6 for details)
Ivosidenib [redacted]	[redacted]	Pharmacology (refer to Module 2.6.2 for details) Pharmacokinetics (refer to Module 2.6.4 for details) Toxicology (refer to Module 2.6.6 for details)

Abbreviations: [redacted].

1.3　本剤の効能・効果及び用法・用量（案）

イボシデニブの効能・効果及び用法・用量（案）は以下のとおりである：

- *IDH1* 遺伝子変異陽性の急性骨髄性白血病

通常、成人にはアザシチジンとの併用において、イボシデニブとして 500 mg を 1 日 1 回経口投与する。なお、患者の状態により適宜減量する。

2.　参考文献

1) Chowdhury R, Yeoh KK, Tian YM, et al. The oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases. EMBO Rep. 2011;12(5):463-469. [PE0163011]
2) Koivunen P, Lee S, Duncan CG, et al. Transformation by the (R)-enantiomer of 2-hydroxyglutarate linked to EGLN activation. Nature. 2012;483(7390):484-488. [PE0163266]
3) Xu W, Yang H, Liu Y, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α-ketoglutarate-dependent dioxygenases. Cancer Cell. 2011;19(1):17-30. [PE0162978]
4) Lowery MA, Burris HA 3rd, Janku F, et al. Safety and activity of ivosidenib in patients with IDH1-mutant advanced cholangiocarcinoma: a phase 1 study. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2019;4(9):711-720. [PE0163349]
5) Aguado-Fraile E, Tassinari A, Ishii Y, et al. Molecular and morphological changes induced by ivosidenib correlate with efficacy in mutant-*IDH1* cholangiocarcinoma. Future Oncol. 2021 Jun;17(16):2057-2074. [PE0161661]
6) Galluzzi L, Kroemer G. Potent immunosuppressive effects of the oncometabolite *R*-2-hydroxyglutarate. Oncoimmunology. 2018 Oct 16;7(12):e1528815. [PE0165121]

ティブソボ錠 250mg

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.2　薬理試験の概要文

日本セルヴィエ株式会社

目次

略語・略号一覧 7

1.　まとめ 10

2.　効力を裏付ける試験 14
2.1　化学反応速度論的特性 14
2.2　セルベースでの活性 16
2.3　トランスレーショナルリサーチ 18
2.3.1　AG-120：TF-1 細胞モデルにおける変異型 IDH1（R132H）により誘発された増殖因子非依存性の増殖に対する阻害作用 18
2.3.2　AG-120：TF-1 細胞モデルにおいて変異型 IDH1（R132H）により誘発された分化阻害に対する抑制作用：ヘモグロビン γ（HBG）1/2 及びクルッペル様因子 1（KLF-1）発現 20
2.4　イボシデニブとアザシチジンとの併用 23
2.4.1　変異型 IDH1 を有する AML 細胞モデルにおけるイボシデニブ（AG-120）とアザシチジンの併用による機能的特性 23
2.5　*Ex vivo* での効果 24
2.5.1　AG-120：変異型 IDH1（R132C）を有する AML 患者から採取した初代骨髄細胞試料の分化誘導 24
2.5.2　AG-120：変異型 IDH1（R132H 又は R132C）を有する AML 患者から採取した初代骨髄細胞試料の分化誘導 28
2.6　*In vivo* における薬力学及び薬物動態 32
2.6.1　AG-120：HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて AG-120 を 50 又は 150 mg/kg の用量で経口投与したときの PK/PD 試験 33
2.6.2　AG-120：HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて 20、50 あるいは 150 mg/kg の用量で 3 回（12 時間間隔）経口投与又は 50 mg/kg の用量で単回経口投与したときの PK/PD 試験 36
2.6.3　AG-120：HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与したときの PK/PD 試験 38
2.6.4　変異型 IDH1（R132C）を有するヒト急性骨髄性白血病細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与したときの PK/PD 試験 41
2.6.5　変異型 IDH1（R132H）を有するヒト急性骨髄性白血病細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて AG-120 を 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回経口投与したときの PK/PD 試験 43
2.7　*In vivo* での効果 46
2.7.1　変異型 IDH1（R132H）を有するヒト骨髄性白血病細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて AG-120 を 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回経口投与したときの効果 46
2.7.2　セルベース及び *in vivo* マウス異種移植モデルにおける野生型 IDH1 及び IDH2 活性阻害作用 49

3.　副次的薬理試験 52
3.1　選択性：受容体結合 52

4.　安全性薬理試験 53
4.1　*In vitro* での安全性薬理試験 53
4.1.1　イボシデニブによる hERG 阻害の可能性を評価する QPatch（自動化電気生理）アッセイ 53

4.1.2　心拍数で補正した QT 間隔延長と関連していることが知られている電流を阻害する可能性を評価するためのマニュアルパッチクランプアッセイ.....53
4.2　*In vivo* での安全性薬理試験.....54
4.2.1　イボシデニブ：カニクイザルにおける経鼻胃内投与による心血管系に及ぼす影響.....54
4.2.2　イボシデニブ：カニクイザルを用いた反復投与毒性試験における心血管系に及ぼす影響の評価.....55
4.2.3　イボシデニブ：Sprague Dawley ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験における中枢神経系及び呼吸系に関連した一般状態に及ぼす影響.....56
5.　薬力学的薬物相互作用試験.....59
6.　考察及び結論.....59
7.　参考文献.....64
8.　図表.....64

表目次

表 2.1:1　IC_{50} 値 16
表 2.2:2　細胞内変異型 IDH1 及び IDH2 に対するイボシデニブの効力及び特異性 17
表 2.5:3　用いた初代試料を採取した AML 患者の診断 28
表 2.6:4　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおけるイボシデニブ単回経口投与後の血漿及び腫瘍中のイボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-12} 並びに 2-HG 産生阻害率の平均値 34
表 2.6:5　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおけるイボシデニブ単回経口投与後の血漿及び腫瘍中のイボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-72} 並びに 2-HG 産生阻害率の平均値 34
表 2.6:6　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを単回又は 3 回（12 時間間隔）反復経口投与した後の血漿及び腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-12} 並びに 2-HG 産生阻害率の平均値 37
表 2.6:7　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与した後の血漿及び腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG 濃度並びに 2-HG 産生阻害率の平均値 39
表 2.6:8　AML11655 細胞を移植した NOG マウスにイボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与した後の血漿及び脾臓中イボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-12} 並びに 2-HG 産生阻害率の平均値 42
表 2.6:9　血漿、骨髄及び脾臓におけるイボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-12} 並びに 2-HG 産生阻害率の平均値 44
表 2.7:10　*In vivo* 及び *ex vivo* アッセイで測定した野生型 IDH 活性に対する阻害率（%） 51
表 2.7:11　野生型 IDH1 又は変異型 IDH1（R132H）を有する HCT116 細胞を異種移植したマウスおける血漿及び腫瘍中 PK/PD の要約 52
表 4.1:12　イオンチャネルに対する阻害作用の IC_{50} 54
表 4.2:13　イボシデニブに関連した ECG 間隔データの対照群に対する変化率（%）の要約 55
表 4.2:14　イボシデニブの毒性試験で認められた呼吸系及び中枢神経系の所見 57
表 6:15　AG-120-C-001 第 I 相臨床試験におけるヒトでの曝露量と比較した GLP 適用の 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験で認められたイボシデニブに関連する可能性のある又は可能性の高い QTcB 延長を示した個々のサルにおけるイボシデニブの C_{max} 値 62

図目次

図 2.1:1　ジアホラーゼ／レサズリン共役系を用いた阻害剤のスクリーニング.....15
図 2.3:2　対照物質（DMSO）又はイボシデニブ（200 及び 1,000 nmol/L）を 7 日間処理した後の対照細胞（TF-1 pLVX）及び変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにおける細胞内 2-HG 濃度.....19
図 2.3:3　対照物質（DMSO）又はイボシデニブ（200 及び 1,000 nmol/L）を 7 日間処理した後の対照細胞（TF-1 pLVX）及び変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルの増殖.....20
図 2.3:4　対照物質（DMSO）又は各濃度でのイボシデニブ処理による 8 日後の対照細胞（TF-1 pLVX）及び変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにおける HBG 1/2 及び KLF-1 の相対的発現.....22
図 2.3:5　細胞内 2-HG 濃度に対応した細胞ペレット.....23
図 2.5:6　患者から採取した初代試料にイボシデニブを処理した後の細胞内 2-HG 濃度.....25
図 2.5:7　患者から採取したヒト初代試料にイボシデニブを処理した後の生存細胞数.....26
図 2.5:8　患者から採取したイボシデニブ処理ヒト初代試料における CD45/CD11b の FACS 解析結果.....27
図 2.5:9　患者から採取したイボシデニブ処理ヒト初代試料における CD45/CD14 の FACS 解析結果.....27
図 2.5:10 変異型 IDH1（R132H 又は R132C）を有する患者から採取した試料におけるイボシデニブ処理 6 日後の対照物質 DMSO と比較した残存 2-HG 量の割合.....29
図 2.5:11 患者から採取したヒト初代試料におけるメチルセルロース溶液中でイボシデニブを 12 日間処理した後のコロニー形成単位数.....30
図 2.5:12 変異型 IDH1（R132H 又は 132C）を有する患者から採取したヒト初代試料におけるメチルセルロース溶液中でイボシデニブを 12 日間処理したときの FACS 解析結果.....31
図 2.5:13 変異型 IDH1（R132H 又は 132C）を有する患者から採取したヒト初代試料における培養溶液中でイボシデニブを 6 日間処理したときの FACS 解析結果.....32
図 2.6:14 HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で単回経口投与した後の血漿中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値　35
図 2.6:15 HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で単回経口投与した後の腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値　36
図 2.6:16 HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 20、50 及び 150 mg/kg の用量で 3 回反復（12 時間間隔）経口投与した後の腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値.....38
図 2.6:17 HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与した後の血漿中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値.....40
図 2.6:18 HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与した後の腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値.....41
図 2.6:19 AML11655 細胞を移植した NOG マウスにイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与した後の脾臓中 2-HG 濃度の平均値－時間推移に対する血漿中イボシデニブ濃度の平均値－時間推移.....43
図 2.6:20 TM001036 細胞を移植した NSG™-SGM3 マウスに経口投与した後の脾臓中 2-HG 濃度の平均値－時間推移に対する血漿中イボシデニブ（AG-120）濃度の平均値－時間推移.....45

図 2.6:21 TM001036 細胞を移植した NSG™-SGM3 マウスに経口投与した後の骨髄中 2-HG 濃度の平均値－時間推移に対する血漿中イボシデニブ（AG-120）濃度の平均値－時間推移 46
図 2.7:22 末梢全血における経時的な hCD45 陽性細胞の割合の平均値 48
図 2.7:23 末梢全血におけるイボシデニブにより誘発された経時的な骨髄系列細胞マーカー hCD14 陽性細胞の発現 48
図 2.7:24 末梢全血におけるイボシデニブにより誘発された経時的な骨髄系列細胞マーカー hCD15 陽性細胞の発現 49
図 2.7:25 変異型及び野生型 IDH を有する腫瘍において総血漿中イボシデニブ曝露量で野生型 IDH を阻害しない可能性 50

略語・略号一覧

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
2-HG	2-Hydroxyglutarate	2-ヒドロキシグルタル酸
α-KG	α-Ketoglutarate	α-ケトグルタル酸
AGI-16678	Ivosidenib; AG-120	イボシデニブ、AG-120
AML	Acute myeloid leukemia	急性骨髄性白血病
AUC	Area under the concentration × time curve	濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-x}	Area under the concentration × time curve from 0 to x hours	0 時間から投与後 X 時間までの濃度－時間曲線下面積
BQL	Below the quantifiable limit	定量下限未満
BID	Twice daily	1 日 2 回
C2D1	Cycle 2, Day 1	サイクル 2、1 日目
CD235a	Glycophorin A	グリコフォリン A
cDNA	Complementary deoxyribonucleic acid	相補的デオキシリボ核酸
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	Maximum (peak) drug concentration	最高（ピーク）薬物濃度
C_{min}	Minimum (trough) drug concentration	最低（トラフ）薬物濃度
COR-L 105	Human lung adenocarcinoma cell line	ヒト肺腺癌細胞株
CV	Cardiovascular	心血管系
DMSO	Dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
ECG	Electrocardiogram	心電図
EPO	Erythropoietin	エリスロポエチン
FACS	Fluorescence-activated cell sorting	蛍光活性化セルソーティング
FLT3L	FMS-like tyrosine kinase 3 receptor	FMS 様チロシンキナーゼ 3 受容体リガンド
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor	顆粒球コロニー刺激因子
GI_{50}	Concentration of drug that effects half-maximal growth inhibition	50%増殖阻害濃度
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
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony stimulating factor	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
GPA	Glycophorin-A	グリコフォリン A
HBG 1/2	Hemoglobin gamma 1/2	ヘモグロビンγ 1/2
HBG	Hemoglobin gene A/B	ヘモグロビン遺伝子 A/B
HCCC-9810	Human cholangiocarcinoma cell line	ヒト胆管癌細胞株
HCT116	Human colorectal carcinoma cell line	ヒト結腸直腸癌細胞株
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
hERG	Human *ether-à-go-go* related gene	ヒト *ether-à-go-go* 関連遺伝子
HPMCAS	Hydroxypropyl methylcellulose (hypromellose) acetate succinate	ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ヒプロメロース）酢酸エステルコハク酸エステル
HT1080	Human chondrosarcoma cell line	ヒト軟骨肉腫細胞株
IC_{20}	Concentration of drug that achieved 20% inhibition	20%阻害濃度

略語・略号一覧（続き）

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
IC_{50}	Concentration of drug that achieved half maximal inhibition	50%阻害濃度
IC_{90}	Concentration of drug that achieved 90% inhibition	90%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IDH	Isocitrate dehydrogenase	イソクエン酸脱水素酵素
IDH1	Isocitrate dehydrogenase-1	イソクエン酸脱水素酵素 1
IDH2	Isocitrate dehydrogenase-2	イソクエン酸脱水素酵素 2
IDHm	Isocitrate dehydrogenase mutation	変異型イソクエン酸脱水素酵素
IgG	Immunoglobulin G	免疫グロブリン G
I_{Kr}	Rapidly activating delayed rectifier potassium current	急速に活性化する遅延整流カリウム電流
IL-3	Interleukin-3	インターロイキン-3
IL-6	Interleukin-6	インターロイキン-6
KLF-1	Kruppel-like factor 1	クルッペル様因子 1
k_{obs}	Observed rate constant	速度定数
LC-MS/MS	Liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
MPO	Myeloperoxidase	ミエロパーオキシダーゼ
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NADPH	Reduced form of NADP	NADP の還元型
NOG	Nonobese severe combined immunodeficiency interleukin 2R-gamma allelic mutation (NOD/Shi-scid/γ^{Null})	非肥満重症複合免疫不全インターロイキン 2Rγ 対立遺伝子変異（NOD/Shi-scid/γ^{Null}）
NSG	Non-obese diabetic severe combined immunodeficient gamma	非肥満糖尿病重症複合免疫不全γ
NSG™-SGM3	NSG-SGM3 mice were developed on the NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) background	NSG-SGM3 マウスは NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG)を背景系統として開発された
PDX	Patient-derived xenograft	患者から採取した腫瘍を用いた異種移植
PD	Pharmacodynamic(s)	薬力学
PK/PD	Pharmacokinetic/pharmacodynamic	薬物動態／薬力学
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態
Q12H×3	Once every 12 hours×3	12 時間間隔で 3 回
QD	Once daily	1 日 1 回
qRT-PCR	Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction	定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
QTc	Heart rate-corrected QT interval	心拍数で補正した QT 間隔
QTcB	QT interval corrected for heart rate using Bazett’s formula	Bazett's 計算式を用いて心拍数で補正した QT 間隔

略語・略号一覧（続き）

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
R132C	Arginine-132 mutated to cysteine	132 番目のアルギニンがシステインに変異
R132G	Arginine-132 mutated to glycine	132 番目のアルギニンがグリシンに変異
R132H	Arginine-132 mutated to histidine	132 番目のアルギニンがヒスチジンに変異
R132L	Arginine-132 mutated to leucine	132 番目のアルギニンがロイシンに変異
R132S	Arginine-132 mutated to serine	132 番目のアルギニンがセリンに変異
R140Q	Arginine-140 mutated to glutamine	140 番目のアルギニンがグルタミンに変異
R172K	Arginine-172 mutated to lysine	172 番目のアルギニンがリジンに変異
RBE	Human cholangiocarcinoma cell line	ヒト胆管癌細胞株
RNA	Ribonucleic acid	リボ核酸
RPMI	Roswell Park Memorial Institute	ロズウェルパーク記念研究所
RT-PCR	Reverse transcriptase polymerase chain reaction	逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
SCF	Stem cell factor	幹細胞因子
SD	Standard deviation	標準偏差
TF-1	Human erythroid leukemia cell line	ヒト赤白血病細胞株
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
TPO	Thrombopoietin	トロンボポエチン
U87MG	Human glioblastoma astrocytoma cell line	ヒト星細胞腫系膠芽腫細胞株
WT	Wild type	野生型

1.　まとめ

イボシデニブ（AG-120 及び AGI-16678 としても知られる）の効能・効果及び用法・用量（案）は以下のとおりである。

- *IDH1* 遺伝子変異陽性の急性骨髄性白血病

通常、成人にはアザシチジンとの併用において、イボシデニブとして 500 mg を 1 日 1 回経口投与する。なお、患者の状態により適宜減量する。

以降の項では、ヒトと比較したときの曝露量に基づく安全域のすべての表記は AG120-C-001 試験において、イボシデニブのヒトへの推奨 1 日用量である 500 mg/日を投与したときのサイクル 2 の 1 日目（C2D1）に得られたヒトにおける曝露量である 0 時点から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積（AUC）（$AUC_{0\text{-}24}$）=117,348 ng•h/mL 及び最高（ピーク）薬物濃度（C_{max}）=6,551 ng/mL に基づいた（臨床試験報告書【AG120-C-001】）。臨床試験 AG120-C-001 は進行性造血器腫瘍患者において、500 mg/日の用量で経口投与により実施した。この用法・用量は申請する未治療の急性骨髄性白血病（AML）（イボシデニブとアザシチジンとの併用療法）の適応症と同一の用量（500 mg/日）及び投与経路である。AG120-C-001 試験で測定した $AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} の値は未治療の AML（イボシデニブとアザシチジンとの併用療法）に対する安全域の設定に使用可能と考えられる。【AG120-C-009】試験において、未治療の AML 患者でのイボシデニブとアザシチジンとの併用療法の有効性を評価したとき、イボシデニブの曝露量の幾何平均値［AUC、C_{max} 及び最低（トラフ）薬物濃度（C_{min}）］は AG120-C-001 試験での値と統計学的な有意差は認められなかった。ヒトでの薬物動態（PK）の詳細を【2.7.2】に示した。

イソクエン酸脱水素酵素（IDH）変異により誘発された腫瘍形成モデルを確立し、イボシデニブの効力、標的である変異型 IDH 阻害作用及び代謝産物である 2-ヒドロキシグルタル酸（2-HG）産生阻害作用を評価するため、一連の探索的薬理試験を実施した。効力を裏付ける試験の大部分は *in vitro* でのイボシデニブとアザシチジンとの併用効果の評価を含め、AML における変異型 IDH1 阻害作用に関連したイボシデニブの効力を評価するために実施した。また、オフターゲットスクリーニングパネル試験及び心血管系（CV）に及ぼす影響を検討する安全性薬理試験を実施した。イボシデニブの申請を担保するために実施した薬理試験の一覧を【2.6.3_1】項に示した。効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験は医薬品規制調和国際会議（ICH）S7A[1)]の記載に従い、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）には準拠しなかった。

IDH1 変異を有する腫瘍細胞において 2-HG 産生を抑制する変異型 IDH1 選択的阻害剤を特定するために初期の試験を実施した（2.1 項）。イボシデニブは 2～17 nmol/L で 50%阻害濃度（IC_{50}）を示す変異型（R132）IDH1 選択的阻害剤である。イボシデニブはニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADP）と 1 又は 16 時間インキュベートしたとき、それぞれ 71 及び 24 nmol/L の IC_{50} で野生型 IDH1 に対しても遅い結合速度で阻害作用を示した。イボシデニブは μmol/L の濃度でイソクエン酸脱水素酵素 2（IDH2）アイソフォームに対して阻害作用を示さなかった。

細胞内変異型 IDH1 及び IDH2 に対する効力及び選択性を複数のセルベースアッセイ系で評価した（2.2 項）。ヒト星細胞腫系膠芽腫細胞株（U87MG）に変異型 IDH1［132 番目のアルギニンがシステインに変異（R132C）、132 番目のアルギニンがヒスチジンに変異（R132H）］又は IDH2［140 番目のアルギニンがグルタミンに変異（R140Q）］を過剰発現させるため遺伝子導入し、また、ヒト赤白血病細胞株（TF-1）に IDH1（R132H）を発現させるために遺伝子導入した。これらの各細胞株は変異型 IDH タンパク質産生の結果として、高濃度の 2-HG を産生することが示された。ヒト軟骨肉腫（HT1080；132C）、肺腺癌（COR-L 105；R132C）及び胆管癌［RBE；132 番目のアルギニンがセリンに変異（R132S）及び HCCC-9810；R132S］細胞並びに神経膠腫ニューロスフェア（R132H）を含む内因性変異型 IDH を有する複数のヒト細胞株についても評価した。IDH（R132C、R132H 又は R132S）を内因性に発現している細胞又は過剰発現させた細胞における 2-HG 産生阻害作用の IC_{50} の範囲は 2～20 nmol/L であった。72 時間インキュベート後に増殖阻害は検出されなかった。イボシデニブは変異型 IDH2 発現細胞において、2-HG 産生を有意に阻害しなかった。

セルベースアッセイにおいて、イボシデニブは変異型 IDH1（R132H）活性を低 nmol/L 濃度の効力で阻害し、野生型 IDH1 活性を低 μmol/L 濃度の効力で阻害した（2.2 項）。変異型 IDH1（R132H）及び野生型 IDH1 活性に対するイボシデニブの阻害作用は時間非依存的であり、イボシデニブの細胞への曝露時間を延長したとき、効力に変化は認められなかった。2-HG 産生量低下を指標とした評価では、イボシデニブの変異型 IDH1（R132H）阻害作用による野生型 IDH1 活性の回復は認められなかった。

細胞分化における変異型 IDH1 固有の影響を評価するため、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）依存性の TF-1 細胞に変異型 IDH1（R132H）を遺伝子導入することによりモデルを作製した（2.3 項）。これらの細胞の特性として、変異型酵素の発現及び高濃度の細胞内 2-HG の存在が確認された。TF-1 細胞における変異型 IDH1 の発現が増殖因子非依存性の増殖を誘導し、変異型酵素は生物学的機能獲得をもたらすことが示されている。

TF-1 細胞モデルは AML 患者における変異型 IDH の多くの特徴を有していることから、イボシデニブの有用性を特徴付け、AML の発症及び進行における IDH1 変異の役割をより理解するために本モデルを用いた。変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにおいて、イボシデニブ（200 nmol/L 及び 1 μmol/L）を 7 日間処理したとき、2-HG 産生はそれぞれ 85%及び 99%阻害された。TF-1 細胞モデルにおいて IDH1（R132H）の発現により誘導された GM-CSF 非依存性の増殖は 200 nmol/L では影響が認められなかったが、1 μmol/L で阻害された（2.3.1 項）。イボシデニブの処理により 2-HG 濃度が 4 mmol/L 未満に低下したとき、エリスロポエチン（EPO）で誘発した赤血球分化のマーカーであるヘモグロビン γ 1/2（HBG 1/2）及びクルッペル様因子 1（KLF-1）の発現はいずれも部分的に回復した（2.3.2 項）。

AML 患者から採取した初代骨髄芽球において、イボシデニブが変異型 IDH1 タンパク質を阻害する能力についても評価した。具体的には、*ex vivo* アッセイにおいて、AML 患者から採取した変異型 IDH1（R132H）及び IDH1（R132C）を有する骨髄芽球をイボシデニブで処理した（2.5.1

及び 2.5.2 項)。イボシデニブ処理 6～7 日後に対応する一貫した測定可能な 2-HG 濃度の低下が細胞分化の増加と同様に認められた。

内因性変異型 IDH1（R132C）を有する軟骨肉腫のモデルとして一般的に利用されているヒト軟骨肉腫細胞株（HT1080）を用いたマウス異種移植モデルにおいて、イボシデニブの一連の *in vivo* 薬理試験を実施した（2.6.1、2.6.2 及び 2.6.3 項)。これらの試験の目的は、イボシデニブを単回又は反復経口投与したときの曝露量と 2-HG 産生阻害作用との間の薬物動態／薬力学（PK/PD）の関連を評価することである。これらの試験において、血漿及び腫瘍中 2-HG 濃度は、イボシデニブの経口投与後に急速に低下し、阻害作用はイボシデニブの用量及び曝露量に依存的であった。本モデルにおいて、イボシデニブは 150 mg/kg の反復投与（12 時間間隔）により、血漿及び腫瘍中 2-HG 濃度を 95%超低下させた。

HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルの PK/PD 試験での所見をさらに検討するため、AML 患者から採取した腫瘍を用いた異種移植（PDX）モデルを用いて、追加の 2 つの PK/PD 試験を実施した。HT1080 細胞を用いたモデルと同様に、内因性変異型 IDH1（R132C）を有する AML11655 細胞を用いたマウス異種移植モデル（2.6.4 項）及び 2 つ目のモデルとして内因性変異型 IDH1（R132H）を有する TM001036 細胞を用いたマウス異種移植モデル（2.6.5 項）において評価した。両モデルを用いた試験において、イボシデニブは 50 及び 150 mg/kg を 1 日 2 回経口投与することにより、脾臓中 2-HG 産生を 90%超阻害した。これらの *in vivo* 薬理試験から、イボシデニブは 3 種類のマウス異種移植モデルにおいて用量依存的に 2-HG 産生を阻害することが示されている。

2-HG 産生阻害と骨髄分化との関連を検討するため、IDH1（R132H）を有する TM001036 細胞を用いたモデルでさらなる評価を実施した（2.7.1 項)。マウスに媒体又はイボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回投与した。週 1 回の末梢血試料の蛍光活性化セルソーティング（FACS）解析から、投与 3 週間後の時点で媒体又はイボシデニブを投与したマウスの間に全般的な疾病負荷に差は認められなかった。一方、イボシデニブは 50 及び 150 mg/kg の用量で分化マーカーである CD15 又は CD14 のいずれかを発現している細胞の割合を媒体投与群と比べて実質的に増加させた。これらのデータから、*in vitro* 及び *ex vivo* で評価したイボシデニブの 2-HG 産生阻害作用は *in vivo* において分化誘導を伴っていることが示された。

変異型 IDH1（R132H）又は IDH1 及び IDH2 のいずれも野生型を有するヒト結腸直腸癌細胞株（HCT116）を用いたマウス異種移植モデルにおいて、イボシデニブの曝露量と野生型 IDH1 及び IDH2 に対する阻害作用との間の PK/PD の関連を評価した（2.7.2 項)。2-HG 産生量低下を指標とした評価では、イボシデニブの変異型 IDH1（R132H）阻害作用による野生型 IDH1 活性の回復は認められなかった。ヒト用量での予測から、イボシデニブを 500 mg の用量で 1 日 1 回投与したとき、野生型 IDH1 活性に対する 90%阻害濃度（IC_{90}）に十分な血漿中曝露量には達しないことが示されている。

アザシチジンは 2008 年に欧州連合（EU)、2021 年に本邦において AML に対して承認されており、アザシチジンのヒトでの薬力学（PD）は十分に知られている。

変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 AML 細胞において、イボシデニブとアザシチジンとの併用は、いずれかの単独と比べて、ヘモグロビン量及び分化マーカー発現の増加により測定したとき、細胞の分化を促進させるとともに、細胞死を増強した。

【AG120-C-009】試験において、未治療の AML 患者にイボシデニブとアザシチジンを併用投与したとき、イボシデニブの PD にアザシチジンによる影響は認められなかった。プラセボとアザシチジンを併用投与した患者において、血漿中 2-HG 濃度にアザシチジンによる影響は認められなかった。強力な寛解導入化学療法が適応とならない未治療の変異型 IDH1 を有する AML 成人患者において、イボシデニブとアザシチジンとの併用による臨床での有効性が示されている。

80 種類の受容体、イオンチャネル及び酵素に対して、イボシデニブが結合及び酵素活性を阻害する可能性を評価した（3.1 項）。イボシデニブは高い選択性を示し、有意なオフターゲット活性は認められなかった。

心拍数で補正した QT 間隔（QTc）の延長と関連することが知られている電流を抑制する可能性を評価する非 GLP の自動化及びマニュアルパッチクランプアッセイ、カニクイザルを用いた単回投与による CV に及ぼす影響を検討する非 GLP の安全性薬理試験を含むイボシデニブを用いた複数の試験を実施し（4 項）、カニクイザルを用いた 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験において心電図（ECG）も評価した。カニクイザルを用いたイボシデニブの単回投与による CV に及ぼす影響を検討する安全性薬理試験及び GLP 適用の 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験ではイボシデニブ[redacted]を用いた。

これらの試験から、イボシデニブは急速に活性化する遅延整流カリウム電流［I_{Kr}（ヒト *ether-à-go-go* 関連遺伝子：hERG）］を阻害し、20%阻害濃度（IC_{20}）及び IC_{50} はそれぞれ 3,100 nmol/L（1,807 ng/mL に相当）及び 12,600 nmol/L（7,346 ng/mL に相当）であった。ヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での C_{max} は 6,551 ng/mL（【AG120-C-001】試験）であり、イボシデニブの血漿タンパク結合率が 91.6%であると仮定すると、非結合型 C_{max} は 550 ng/mL に相当する（報告書【AG120-N-028-R1】）。

カニクイザルにおいて、イボシデニブは単回投与による CV に及ぼす影響を検討する安全性薬理試験では 45 及び 135 mg/kg で（報告書【AG120-N-053-R1】）、28 日間反復投与毒性試験では 30 及び 270 mg/kg で（報告書【AG120-N-001-R1】）、3 カ月間反復投与毒性試験では 90 及び 180 mg/kg で（報告書【AG120-N-059-R1】）Bazett's 計算式を用いて心拍数で補正した QT 間隔（QTcB）を延長させた。*In vivo* の安全性薬理試験ではトキシコキネティクスを評価しなかったが、各群の C_{max} の平均値は 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験での動物の個別値と同程度であると予想された。サルにおいて QTcB を延長させる C_{max} の最低値は 2,120 ng/mL であり、イボシデニブの血漿タンパク結合率が 81.7%であると仮定すると、非結合型 C_{max} 値は 388 ng/mL に相当する。これらのことから、サルではヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での曝露量である非結合型 C_{max} の 0.7 倍以上の非結合型 C_{max} で QTcB 延長が認められた（【AG-120-C-001】試験）。

GLP 適用のカニクイザルを用いた 28 日間反復投与毒性試験において、心室性二段脈が 270 mg/kg/日群の雌雄各 1 例で認められた（C_{max} 値はそれぞれ 16,600 及び 15,900 ng/mL、イボシ

デニブの血漿タンパク結合率が 81.7%であると仮定すると、非結合型 C_{max} 値は 2,910 ng/mL 以上に相当）（【2.6.6_3.8】項）。この所見はヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での非結合型 C_{max} の曝露量の 5 倍以上の非結合型 C_{max} の曝露量で認められたが（AG-120-C-001 試験）、同程度の曝露量に達したカニクイザルを用いた単回投与による CV に及ぼす影響を検討する安全性薬理試験又は GLP 適用の 3 カ月間反復投与毒性試験（【2.6.6_3.9】項）では、いずれにおいても認められなかった。

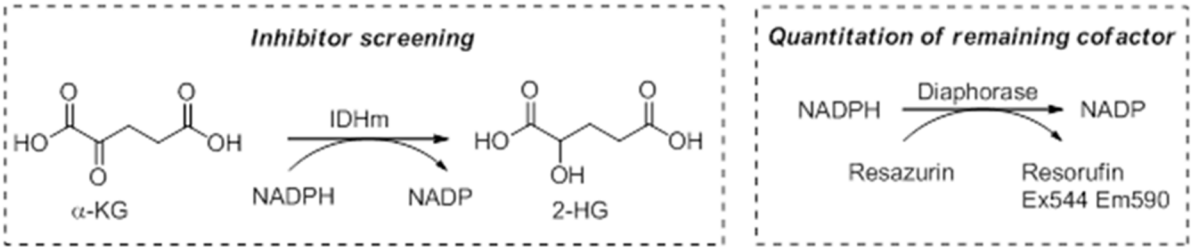
ラット及びサルを用いた GLP 適用の 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験において、中枢神経系（CNS）及び呼吸系の一般状態にイボシデニブに関連した影響は認められなかった。

2.　効力を裏付ける試験

2.1　化学反応速度論的特性

腫瘍細胞において 2-HG 産生阻害作用を示す変異型 IDH1（R132）に対する選択的阻害剤を探索し、同定するために試験を実施した（報告書【AG120-N-056-R1】、【2.6.3_2】項）。IDH1 変異型酵素の反応を阻害するイボシデニブの効力を評価するためにジアホラーゼ／レサズリン共役酵素系を用いた（図 2.1:1）。本試験の目的は変異型 IDH1（R132）のアイソフォーム及び野生型 IDH1 の酵素に対するイボシデニブの阻害作用の特性を解析し、変異型 IDH2 のアイソフォームに対するイボシデニブの選択性を評価することである。

イボシデニブの特性解析には非連続性変異型 IDH1 活性アッセイを用い、α-ケトグルタル酸（α-KG）から 2-HG への変換の指標として、残存する NADP の還元型である NADPH の機能を測定した。本アッセイでは、蛍光シグナルを発生させるために触媒するジアホラーゼ及びレサズリンを過剰に添加し、残存する NADPH の反応を停止させた後に測定した。蛍光シグナルは変異型 IDH1 に対する阻害作用の程度に伴って増加した。変異型 IDH2 についても同様にアッセイを行い、野生型 IDH1 及び IDH2 については、NADPH のジアホラーゼ／レサズリンを介した蛍光産生を直接共役させ、試験を実施した。IC_{50} 算出のため、基質を添加して酵素反応を開始する前に、効力の範囲に基づき、各酵素を 100,000 又は 10,000 nmol/L から開始して 11 の濃度で 3 倍希釈の一連の操作を通じ、イボシデニブとプレインキュベートした。酵素とプレインキュベートした 1、4 又は 16 時間後にイボシデニブの試験を実施した。



Source: Report AG120-N-056-R1_Section 11.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; α-KG = α-ketoglutarate; IDHm = isocitrate dehydrogenase mutation; NADP = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADPH = reduced form of NADP.

図 2.1:1　ジアホラーゼ／レサズリン共役系を用いた阻害剤のスクリーニング

IDH1（R132C/G/H/S/L）、IDH2［172 番目のアルギニンがリジンに変異（R172K）］、野生型 IDH1 及び野生型 IDH2 に対するイボシデニブの IC_{50} を表 2.1:1 に示した。イボシデニブは低い nmol/L の効力で変異型 IDH1（R132）及び野生型 IDH1 に対して阻害作用を示した。

変異型 IDH1（R132H）のホモ二量体に対して、イボシデニブは基質である α-KG 及び補因子である NADPH を非競合的に阻害し、インキュベート時間が 1 時間と 16 時間との間で IC_{50} 値に時間依存性は認められなかった。これらの知見は基質及び補因子の存在下又は非存在下でイボシデニブが変異型 IDH1（R132H）ホモ二量体を急速に平衡的に阻害することと一致している。

野生型 IDH1 ホモ二量体に対して、イボシデニブは NADP 補因子を不競合的に阻害した。補因子存在下でインキュベートしたときに効力が強くなることは（表 2.1:1）、イボシデニブの作用機序と一致している。イボシデニブの濃度を増加させたとき、速度定数（k_{obs}）は阻害濃度の双曲線関数を示した。これらのデータはイボシデニブが野生型 IDH1 ホモ二量体を遅い結合速度で阻害することと一致している。

イボシデニブは IDH1 アイソフォームに対して高い選択性を有し、IDH2 アイソフォームに対しては 100 µmol/L 超の濃度で阻害しないことが示されている（表 2.1:1）。

表 2.1:1　IC_{50} 値

Enzyme	**IC_{50} (nmol/L)**
IDH1 (R132C) at 1 hour	17
IDH1 (R132G) at 1 hour	8
IDH1 (R132H) + NADPH at 1 hour	2
IDH1 (R132H) + NADPH at 16 hours	2
IDH1 (R132H) at 1 hour	11
IDH1 (R132S) at 1 hour	12
IDH1 (R132L) at 1 hour	13
IDH1 WT at 1 hour	1326
IDH1 WT + NADP at 1 hour	71
IDH1 WT + NADP at 16 hours	24
IDH2 (R172K) at 1 hour	>100,000 nmol/L
IDH2 WT at 1 hour	>100,000 nmol/L

Source: Report AG120-N-056-R1_Table 1.
Abbreviations: IC_{50} = concentration of drug that achieved half maximal inhibition; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; IDH2 = isocitrate dehydrogenase-2; NADP = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADPH = reduced form of NADP; R132C = arginine-132 mutated to cysteine; R132G = arginine-132 mutated to glycine; R132H= arginine-132 mutated to histidine; R132L = Arginine-132 mutated to leucine; R132S = arginine-132 mutated to serine; R172K = arginine-172 mutated to lysine; WT = wild type.

結論：

- イボシデニブは変異型 IDH1（R132）アイソフォーム及び野生型 IDH1 に対する強力な阻害剤であり、複数の IDH2 アイソフォームを用いた検討により、IDH2 と比べて IDH1 に対して高い選択性を有することが示されている。

2.2　セルベースでの活性

細胞内変異型 IDH1 及び IDH2 に対するイボシデニブの効力及び選択性を複数のセルベースアッセイ系で評価した（表 2.2:2）（報告書【AG120-N-051-R1】、【2.6.3_2】項）。変異型 IDH1（R132C）、IDH1（R132H）又は IDH2（R140Q）を過剰発現させるため、U87MG 細胞に遺伝子導入し、その結果、高濃度の 2-HG が産生された。変異型 IDH1（R132H）を発現させるため、TF-1 細胞に遺伝子導入した。内因性変異型 IDH1 を有するヒト軟骨肉腫（HT1080）、肺腺癌（COR-L 105）及び胆管癌（RBE、HCCC-9810）細胞を含む複数の細胞株並びに神経膠腫ニューロスフェアについても評価した。細胞をマイクロプレートに播種し、一晩インキュベートした。翌日にイボシデニブの希釈液を添加し、細胞内 IC_{50}（2-HG 産生阻害により測定）及びイボシデニブの 50%増殖阻害濃度（GI_{50}）をそれぞれ 48 及び 72 時間後に測定した。イボシデニブ及び 2-HG の濃度を液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）法により測定した。結果を表 2.2:2 に示した。

R132C、R132H あるいは R132S を内因性に発現している細胞又は過剰発現させた細胞において、2-HG 産生阻害作用の IC_{50} の範囲は 2～20 nmol/L であった。イボシデニブは変異型 IDH2 を有する細胞では、2-HG 産生に対して有意な阻害作用を示さなかった。変異型 IDH1 又は IDH2 を有する細胞をイボシデニブとインキュベートした 72 時間後に増殖阻害は認められなかった（GI_{50} は 3,000 nmol/L 超）。

表 2.2:2　細胞内変異型 IDH1 及び IDH2 に対するイボシデニブの効力及び特異性

Cell Line	**2-HG IC_{50} (nmol/L)**	**n**	**GI_{50}**
COR-L105 (R132C)	10 ± 4	3	>3,000 nmol/L
HCCC-9810 (R132S)	10 ± 2	4	>3,000 nmol/L
RBE (R132S)	3	1	>3,000 nmol/L
HT1080 (R132C)	8 ± 4	15	>3,000 nmol/L
U87MG pLVX IDH1 (R132C)	4 ± 1.6	4	>3,000 nmol/L
U87MG pLVX IDH1 (R132H)	20 ± 11	14	>3,000 nmol/L
Neurosphere 603 (R132H)	2.4 ± 0.2	8	>3,000 nmol/L
TF-1 pLVX IDH1 (R132H) clone 27	20	1	>3,000 nmol/L
U87MG pLVX IDH2 (R140Q)	No Fit	1	>3,000 nmol/L

Source: Report AG120-N-051-R1_Table 3.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; GI_{50} = concentration of drug that effects half-maximal growth inhibition; IC_{50} = concentration of drug that achieved half maximal inhibition; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; IDH2 = isocitrate dehydrogenase-2.

野生型 IDH1 及び IDH2 に対するイボシデニブの薬理作用をさらに検討するため、複数の追加試験を実施した（報告書【AG120-881-N-001】）。イボシデニブと野生型 IDH1 活性阻害作用の関連を変異型 R132H（$HCT116^{+/R132H}$）又は野生型 IDH1（$HCT116^{+/+}$）をいずれかを有するヒト HCT116 細胞を用いて *in vitro* 及び *ex vivo* で検討した（報告書 AG120-881-N-001、【2.6.3_2】項）。組織培養液中で増殖する野生型 IDH 及び変異型 R132H を有する HCT116 細胞、媒体あるいはイボシデニブを *in vivo* で投与した異種移植マウスから採取した腫瘍、さらに異種移植マウスから腫瘍を採取した後に媒体あるいはイボシデニブを *ex vivo* で添加した腫瘍スライス標本のそれぞれにおいて、α-KG のクエン酸塩への還元的カルボニル化を定量することによりイボシデニブの反応を評価した。

遺伝子的に野生型 IDH1 タンパク質を欠損しているセルベースのモデルである BT142 ニューロスフェアにおいて、イボシデニブは野生型 IDH2 活性に対して作用を有していないことが示されている。セルベースアッセイ及び *ex vivo* での腫瘍を用いた解析において、変異型 IDH1 対立遺伝子の存在は全般的な野生型 IDH1 酵素活性の低下を誘導することが示されている。イボシデニブの変異型 IDH1（R132H）阻害作用による野生型 IDH1 活性の回復は認められなかった。

結論：

- イボシデニブは変異型 IDH1（R132C）、IDH1（R132H）及び IDH1（R132S）を有する細胞において強力な 2-HG 産生阻害剤として作用したが、変異型 IDH2（R140Q）を有する細胞では 2-HG の産生を阻害しなかった。
- セルベースアッセイ及び *ex vivo* での腫瘍を用いた解析において、変異型 IDH1 対立遺伝子の存在は全般的な野生型 IDH1 酵素活性の低下を誘導した。イボシデニブの変異型 IDH1（R132H）阻害作用による野生型 IDH1 活性の回復は認められなかった。

2.3　トランスレーショナルリサーチ

細胞分化に対する変異型 IDH1（R132H）固有の影響を検討するため、変異型 IDH1（R132H）対立遺伝子を GM-CSF 依存性 TF-1 細胞にレンチウイルス pLVX システムを用いて遺伝子導入することによりモデル系を作製した。また、対照群として空のベクターを過剰発現させることにより、TF-1 pLVX 細胞を作製した。

これらの細胞の特性を変異型酵素の発現及び高濃度の細胞内 2-HG の存在により確認した。TF-1 細胞における変異型 IDH1 酵素の発現は増殖因子非依存性の増殖を誘導し、このことから変異型酵素は生物学的機能獲得をもたらすことが示されている。

TF-1 細胞モデル系は AML 患者での変異型 IDH と多くの共通した特徴を有していることから、2-HG 産生を阻害するイボシデニブの有用性を特徴付けるため、また、AML の発症及び進行における変異型 IDH1（R132H）の役割をより理解するために用いた。

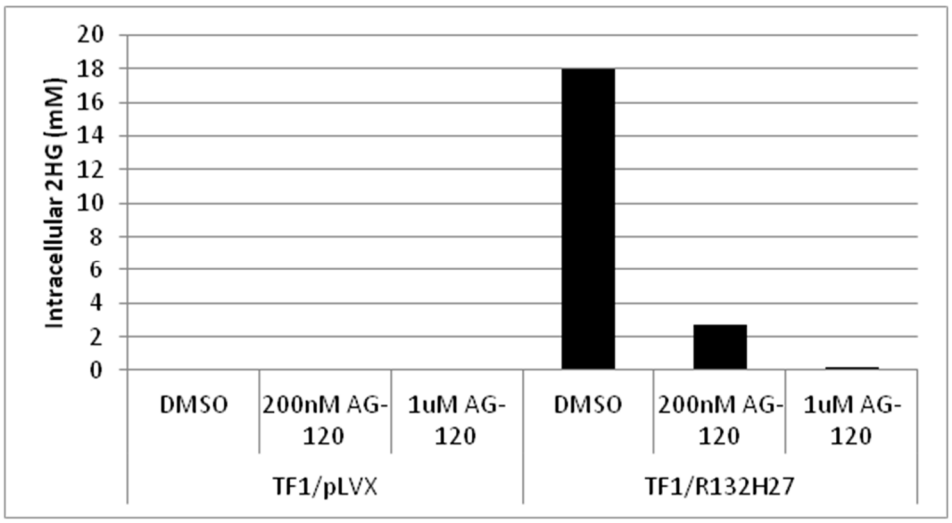
本項に詳細を記載した本モデル系を用いた検討結果から、イボシデニブは細胞内 2-HG 産生を有意に低下させ、分化を誘導し、変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルの増殖因子非依存性の増殖を阻害することが示されている。

2.3.1　AG-120：TF-1 細胞モデルにおける変異型 IDH1（R132H）により誘発された増殖因子非依存性の増殖に対する阻害作用

本試験（報告書【AG-120-N-050-R1】、【2.6.3_2】項）では 2.3 項に記載した TF-1 細胞モデル系の変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにおいて、イボシデニブによる変異型 IDH1（R132H）の酵素活性阻害作用が GM-CSF 非依存性の増殖を阻害するか否かを検討した。

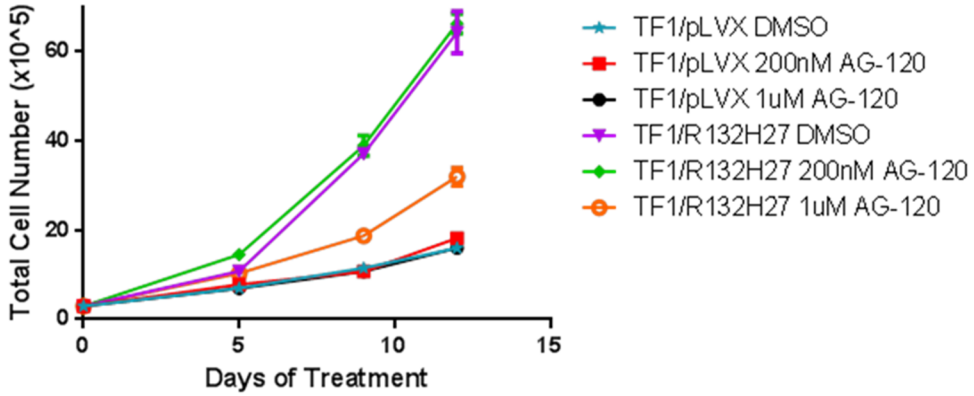
GM-CSF を含有する培養液に播種した TF-1 pLVX 細胞及び変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルを対照物質［ジメチルスルホキシド（DMSO）］又は 200 あるいは 1,000 nmol/L の濃度のイボシデニブと 7 日間プレインキュベートした。DMSO 又はイボシデニブと 7 日間プレインキュベートした後に LC-MS/MS を用いて 2-HG 産生の阻害を測定した（2.2 項）。7 日目に細胞をロズウェルパーク記念研究所（RPMI）培養液で十分洗浄し、DMSO 又は 200 あるいは 1,000 nmol/L の濃度のイボシデニブを含む GM-CSF 非含有の培養液中で計 12 日間培養した。0、5、9 及び 12 日目に細胞数を記録した。

変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにイボシデニブ（200 及び 1,000 nmol/L）を 7 日間処理することにより、DMSO を処理した対照群と比べて、2-HG 産生はそれぞれ 85 及び 99%阻害され（図 2.3:2）、変異型 IDH1（R132H）の発現により誘導された GM-CSF 非依存性の増殖は 200 nmol/L では阻害されなかったが、1,000 nmol/L で阻害された（図 2.3:3）。



Source: Report AG120-N-050-R1_Figure 1.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; DMSO = dimethylsulfoxide; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; R132H = arginine-132 mutated to histidine; R132H27 = IDH1 (R132H) mutant cell line; pLVX = control cell line; TF-1 = human erythroid leukemia cell line.

図 2.3:2　対照物質（DMSO）又はイボシデニブ（200 及び 1,000 nmol/L）を 7 日間処理した後の対照細胞（TF-1 pLVX）及び変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにおける細胞内 2-HG 濃度



Source: Report AG120-N-050-R1_Figure 2.
Abbreviations: DMSO = dimethylsulfoxide; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; pLVX = control cell line; R132H = arginine-132 mutated to histidine; R132H27 = IDH1 (R132H) mutant cell line; TF-1 = human erythroid leukemia cell line.
Note: Representative of 2 independent experiments. Each time point is the average of triplicates ± standard deviation.

図 2.3:3　対照物質（DMSO）又はイボシデニブ（200 及び 1,000 nmol/L）を 7 日間処理した後の対照細胞（TF-1 pLVX）及び変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルの増殖

結論：

- イボシデニブは強力な 2-HG 産生阻害剤である。
- イボシデニブは変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルに処理することにより、変異型 IDH1（R132H）により誘導された GM-CSF 非依存性の増殖を濃度依存的に阻害した。

2.3.2　AG-120：TF-1 細胞モデルにおいて変異型 IDH1（R132H）により誘発された分化阻害に対する抑制作用：ヘモグロビンγ（HBG）1/2 及びクルッペル様因子 1（KLF-1）発現

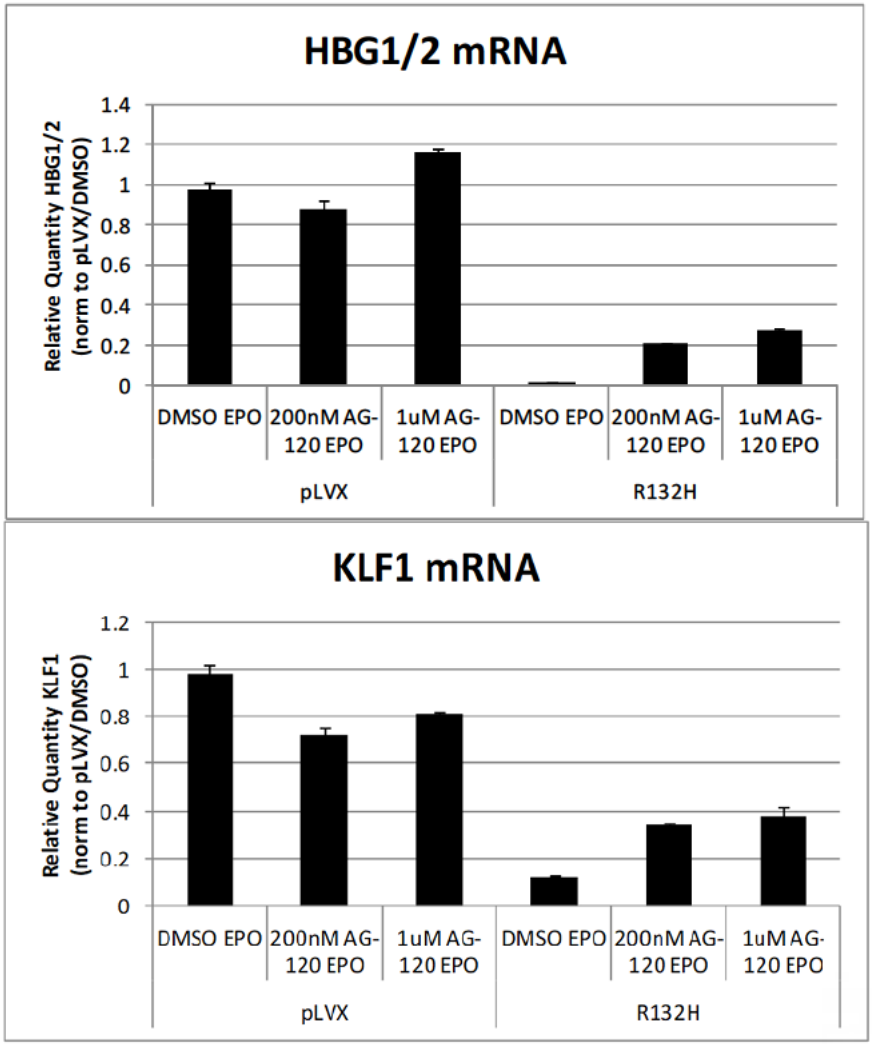
本試験は（1）変異型 IDH1（R132H）の発現が EPO 誘発による TF-1 細胞モデルの分化を阻害するか否か、（2）細胞において、変異型 IDH1（R132H）に対する選択的阻害が変異型タンパク質の発現により誘発された分化阻害を抑制することができるか否か、（3）その阻害を抑制するために必要な 2-HG 産生阻害の程度を評価する目的で実施した（報告書【AG120-N-049-R1】、【2.6.3_2】項）。

TF-1 pLVX 細胞及び変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルを GM-CSF 存在下、DMSO 又はイボシデニブ（200 又は 1,000 nmol/L）と 8 日間プレインキュベートした後、残存する GM-CSF を除去するため洗浄した。続いて、細胞をイボシデニブ又は DMSO 存在下で EPO（2 units/mL）を処理して分化（GM-CSF 非存在下）を誘導した。誘導を 8 日間継続して細胞ペ

レットを採取し、2 種類の赤血球分化のマーカーである HBG 1/2 及び KLF-1 を検出するため、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）を行った。

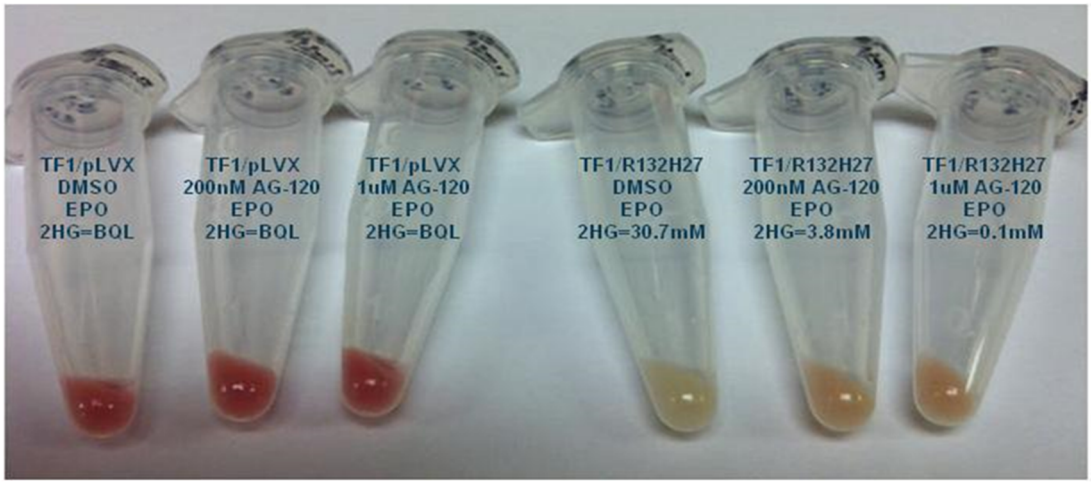
DMSO 又は 2 濃度（200 及び 1,000 nmol/L）のイボシデニブを処理した後の変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデル及び対照群の細胞（TF-1 pLVX）における HBG 1/2（上段）及び KLF-1（下段）の相対的発現を図 2.3:4 に示す。

DMSO を処理した TF-1 細胞において、IDH の変異が血球の分化を障害することを示す公表文献と一致して [2)]、HBG 1/2 及び KLF-1 の濃度が非常に低いことからも明らかなように、変異型 IDH1（R132H）の発現及び高濃度の 2-HG は EPO 誘発分化を阻害した。変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにイボシデニブを処理することにより、2-HG 濃度が 4 mmol/L 未満に低下したとき、EPO で誘発した HBG 1/2 及び KLF-1 の両方の発現は部分的に回復した。本試験において、無処理の細胞にイボシデニブを 200 及び 1,000 nmol/L の濃度で処理した後、HBG 1/2 及び KLF-1 の相対的発現は増加し（図 2.3:4）、細胞内 2-HG が 30.7 mmol/L の濃度からそれぞれ 3.8 及び 0.1 mmol/L の濃度に低下したとき、ヘモグロビンの再発現の指標である色の変化が認められた（図 2.3:5）。



Source: Report AG120-N-049-R1_Figure 1.
Abbreviations: DMSO = dimethylsulfoxide; EPO = erythropoietin; HBG 1/2 = hemoglobin gamma 1/2; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; KLF-1 = Kruppel-like factor 1; mRNA = messenger ribonucleic acid; R132H = IDH1 (R132H) mutant cell line; pLVX = control cell line; TF-1 = human erythroid leukemia cell line.

図 2.3:4　対照物質（DMSO）又は各濃度でのイボシデニブ処理による 8 日後の対照細胞（TF-1 pLVX）及び変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにおける HBG 1/2 及び KLF-1 の相対的発現



Source: Report AG120-N-049-R1_Figure 2.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; BQL = below the quantifiable limit (50 ng/mL or 0.02 mmol/L); DMSO = dimethylsulfoxide; EPO = erythropoietin; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; R132H27 = IDH1 (R132H) mutant cell line; mRNA = messenger ribonucleic acid; pLVX = control cell line; TF1 = human erythroid leukemia cell line.

図 2.3:5　細胞内 2-HG 濃度に対応した細胞ペレット

結論：

- HBG 1/2 及び KLF-1 遺伝子の両方の発現が部分的に回復したことにより示されているとおり、変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルに 2-HG 濃度を正常な生理的濃度近くまで低下させる濃度のイボシデニブを処理することにより、IDH1（R132H）依存的な EPO 誘発赤血球分化の阻害は抑制された。

2.4　イボシデニブとアザシチジンとの併用

AML 患者の約 6%～10%が悪性腫瘍代謝産物である 2-HG の産生を誘導する代謝酵素 IDH1 に変異を有している。2-HG の蓄積は α-KG 依存的な酵素を阻害し、その結果としてエピジェネティックな機能不全及び細胞分化の阻害が起こり、AML が進行する。イボシデニブは変異型 IDH1 酵素阻害剤であり、イボシデニブの臨床効果は変異型 IDH1 を有する AML に認められ、レスポンダーでは骨髄芽球の分化が認められる。アザシチジンは AML に対して臨床効果を示すメチル化阻害剤であり、イボシデニブとアザシチジンの併用は変異型 IDH1 を有する細胞における分化阻害に対して相乗効果を示すことが仮説として考えられている。

2.4.1　変異型 IDH1 を有する AML 細胞モデルにおけるイボシデニブ（AG-120）とアザシチジンの併用による機能的特性

TF-1 AML 細胞モデルを用いた *in vitro* アッセイにおいて、イボシデニブとアザシチジンの併用効果を評価した（【2.6.3_2】項）[3)-4)]。

変異型 IDH1（R132H）を有する細胞において、*in vitro* での EPO 誘発分化アッセイ及びリアルタイムアポトーシスアッセイにより細胞分化、増殖及び細胞死を測定し、評価した。細胞を媒体、アザシチジン単独（100、300 又は 1,000 nmol/L）、イボシデニブ単独（200 又は 1,000 nmol/L）又はアザシチジンとイボシデニブの併用で連続あるいは同時添加のいずれかにより処理した。ヘモグロビン量の変化（赤色の変化）及び赤血球分化マーカーであるグリコフォリン A（CD235a）をフローサイトメトリーにより評価し、KLF-1 及びヘモグロビン遺伝子 A/B（HBG）リボ核酸（RNA）濃度を定量的 RT-PCR（qRT-PCR）により評価した。アポトーシスを IncuCyte ZOOM リアルタイムイメージングにより評価した。

アザシチジンは単独でヘモグロビン量に対してほとんど又は全く作用を示さなかったが、イボシデニブは単独でヘモグロビン量を用量依存的に増加させた。イボシデニブとアザシチジンを同時に処理することにより、イボシデニブ単独と比べてヘモグロビン量に対する作用は増強した。CD235a の発現増加はイボシデニブ及びアザシチジンの単独処理で認められ、イボシデニブとアザシチジン（アザシチジンの濃度は 300 nmol/L 以上）を併用処理するとさらに作用は増強した。HBG 及び KLF-1 RNA の発現はアザシチジン単独で増加しなかったが、イボシデニブ単独では増加した。イボシデニブとアザシチジンを併用することにより、HBG 発現増強が示されたが［イボシデニブ（200 nmol/L）とアザシチジン（1,000 nmol/L）の併用で 46 倍増加、それに対して単独ではそれぞれ 25 倍増加及び 1 倍］、KLF-1 発現の増強はそれよりも顕著ではなかった。イボシデニブは単独でアポトーシス誘導に作用を示さなかったが、アザシチジンは対照群と比べてアポトーシスを増加させ、イボシデニブ（100 及び 300 nmol/L）とアザシチジン（1,000 nmol/L）の併用はアザシチジン単独と比べてアポトーシスの誘導を増大させ、増強させることが示された。

結論：

- 変異型 IDH1（R132H）を有する AML 細胞株において、ヘモグロビン量及び分化マーカーの発現増加の測定により、各単独と比べて、イボシデニブとアザシチジンの併用は細胞分化を増強するとともに細胞死を増強することが示された。

2.5　*Ex vivo* での効果

2.5.1　AG-120：変異型 IDH1（R132C）を有する AML 患者から採取した初代骨髄細胞試料の分化誘導

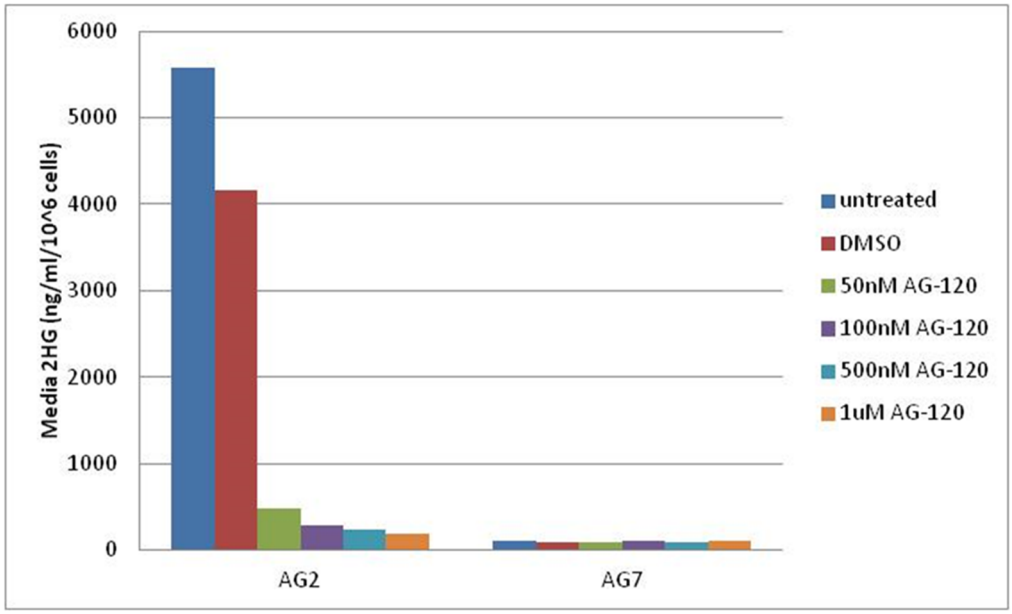
AML 患者から採取した初代腫瘍細胞において変異型 IDH1 に対する阻害作用を評価するため、*ex vivo* アッセイにおいて、変異型 IDH1（R132C）を有する AML 患者から採取した骨髄芽球試料にイボシデニブを処理した（報告書【AG120-N-055-R1】、【2.6.3_2】項）。

[redacted]Hospital [redacted] で悪性腫瘍と診断された患者から骨髄穿刺試料を採取した。AML の診断は世界保健機構により確立された基準及び国際規約[5)]の核型の記載に従い、形態学的に確認した。遺伝子変異の状態は PCR 及びダイレクトシークエンスにより評価した。

2 例の AML 患者から採取した初代 AML 細胞を無血清の状態で、遺伝子組換えヒトサイトカイン［インターロイキン-3（IL-3）、インターロイキン-6（IL-6）、幹細胞因子（SCF）、トロンボポエチン（TPO）、EPO、FMS 様チロシンキナーゼ 3 受容体リガンド（FLT3L）、GM-CSF 及び顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）］及びイボシデニブ（50、100、500 及び 1,000 nmol/L）又は DMSO 存在下で *ex vivo* で培養した[6]。細胞数を試験 0、3 及び 7 日目にカウントした。少なくとも 100,000 細胞を 2-HG の解析のため、試験 3 及び 7 日目に回収した。

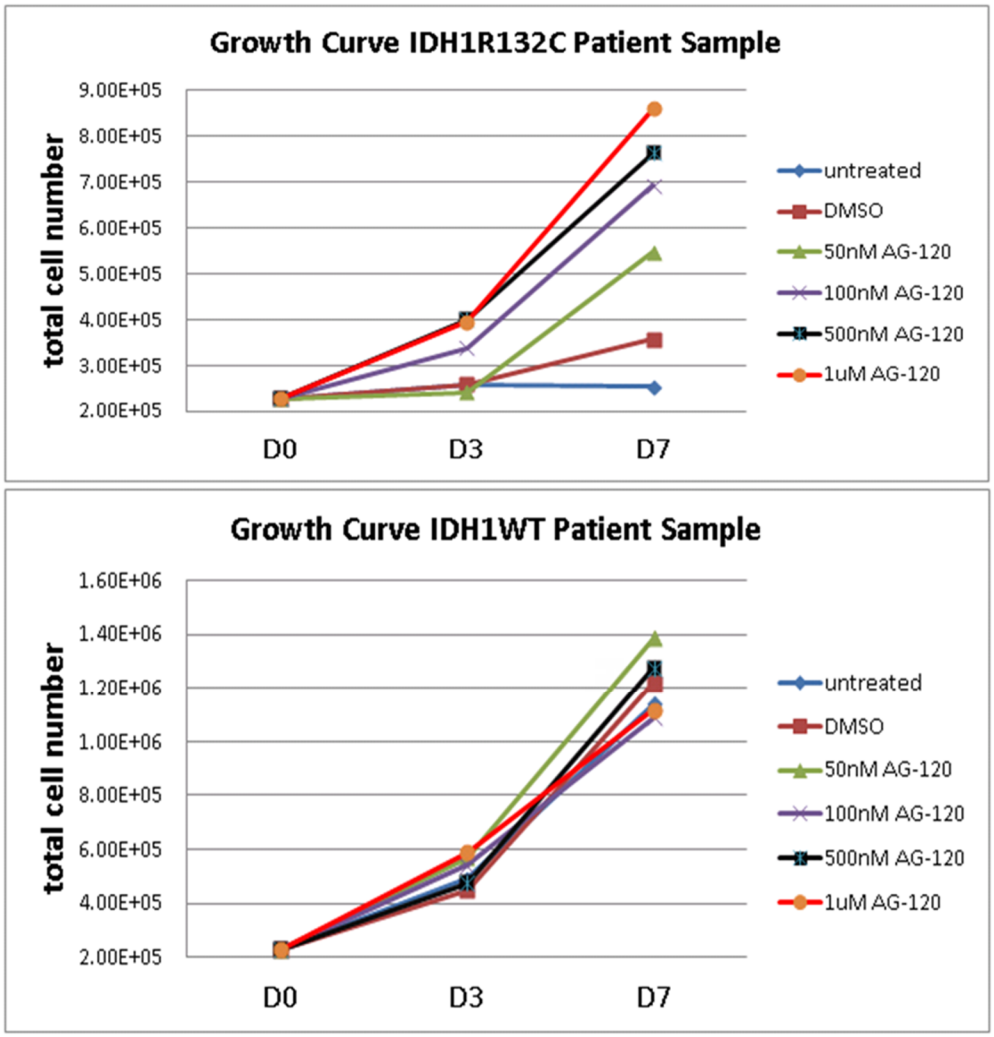
Ex vivo で処理した試験 7 日目に AG2［変異型 IDH1（R132C）］及び AG7（野生型 IDH1）の患者から採取した初代骨髄芽球試料を FACS により分化の状態を解析した。

図 2.5:6 に示したとおり、*ex vivo* での処理の間、AG2［変異型 IDH1（R132C）］の患者から採取した試料では 1,000 nmol/L のイボシデニブを処理することにより、DMSO を処理した対照群と比べて、細胞内 2-HG 濃度は 98%低下した。AG7（野生型 IDH1）の患者から採取した試料では、2-HG 濃度は低かった。図 2.5:7 に両患者から採取した試料のイボシデニブ処理後の生存細胞数を示した。変異型 IDH1 を有する細胞には高濃度の 2-HG が存在し、野生型 IDH1 を有する細胞と比べて非常に遅く増殖する傾向が示された。AG2［変異型 IDH1（R132C）］の患者から採取した試料をイボシデニブで処理することにより、試験 3 日目に急激な増殖が始まり、細胞分化の開始と一致した。AG7（野生型 IDH1）の患者から採取した試料では、培養条件（サイトカインの添加等）により誘発された自発的な増殖以上に急激な増殖は認められなかった。



Source: Report AG120-N-055-R1_Figure 1.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; DMSO = dimethylsulfoxide; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; R132C = arginine-132 mutated to cysteine; WT = wild type.
Note: AG2 = IDH1 (R132C) patient sample; AG7 = IDH1 WT patient sample.

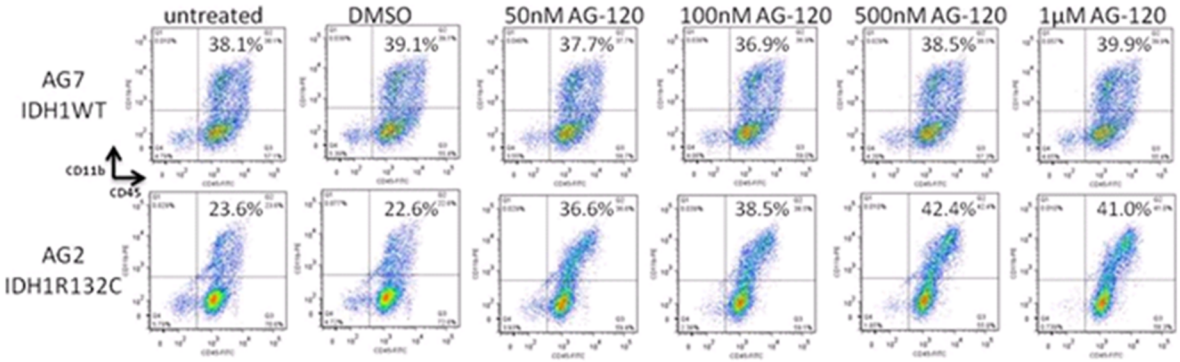
図 2.5:6　患者から採取した初代試料にイボシデニブを処理した後の細胞内 2-HG 濃度



Source: Report AG120-N-055-R1_Figure 2.
Abbreviations: D = day; DMSO = dimethylsulfoxide; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; R132C = arginine-132 mutated to cysteine; WT = wild type.
Note: IDH1 (R132C) patient sample = AG2; IDH1 WT patient sample = AG7.
データを表示するため上段と下段の縦軸はスケールが異なっている。

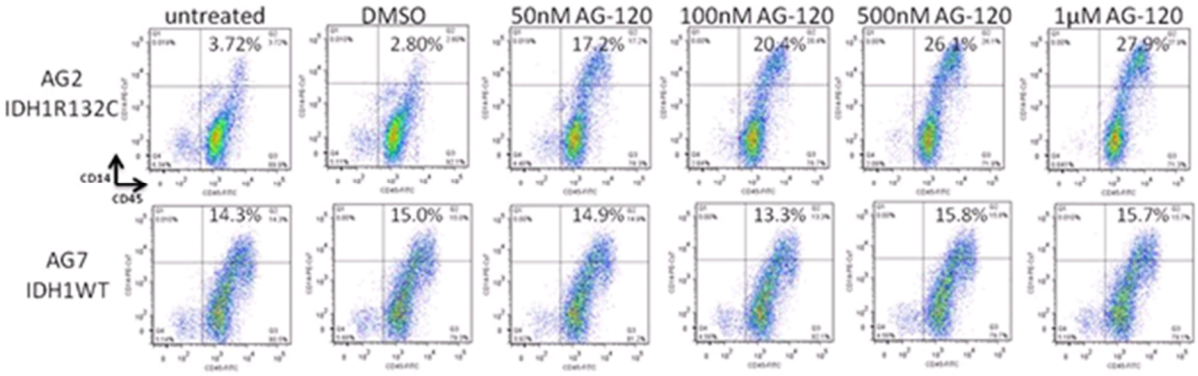
図 2.5:7　患者から採取したヒト初代試料にイボシデニブを処理した後の生存細胞数

イボシデニブ処理後の分化の状態を評価するため、生存細胞の FACS 解析を実施した。液体培養液中で増殖させた変異型 IDH1（R132C）を有する患者から採取した試料では、$CD45^+/CD11b^+$（図 2.5:8）及び $CD45^+/CD14^+$（図 2.5:9）の増加により示されているように、分化の誘導が認められた。この増加はイボシデニブを処理した野生型 IDH1 を有する患者から採取した試料では認められなかった。



Source: Report AG120-N-055-R1_Figure 3.
Abbreviations: AG2 = IDH1 (R132C) patient sample; AG7 = IDH1 WT patient sample; FACS = fluorescence-activated cell sorting; DMSO = dimethylsulfoxide; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; R132C = arginine-132 mutated to cysteine; WT = wild type.

図 2.5:8　患者から採取したイボシデニブ処理ヒト初代試料における CD45/CD11b の FACS 解析結果



Source: Report AG120-N-055-R1_Figure 4.
Abbreviations: AG2 = IDH1 (R132C) patient sample; AG7 = IDH1 WT patient sample; FACS = fluorescence-activated cell sorting; DMSO = dimethylsulfoxide; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; R132C = arginine-132 mutated to cysteine; WT = wild type.

図 2.5:9　患者から採取したイボシデニブ処理ヒト初代試料における CD45/CD14 の FACS 解析結果

結論：

- 変異型 IDH1（R132C）を有する初代 AML 細胞をイボシデニブで処理することにより、試験 7 日目まで 2-HG 濃度は低下し、骨髄芽球分化へ続く急激な増殖が誘導されたが、この作用は野生型 IDH1 を有する初代 AML 細胞では認められなかった。

2.5.2　AG-120：変異型 IDH1（R132H 又は R132C）を有する AML 患者から採取した初代骨髄細胞試料の分化誘導

変異型 IDH1 を有する AML 患者から採取した初代 AML 腫瘍細胞における変異型 IDH1 阻害による作用を評価するため、追加試験を実施した。2.5.1 項に記載した試験と同様に、*ex vivo* アッセイで変異型 IDH1（R132H 又は R132C）を有する患者から採取した末梢血又は骨髄細胞あるいはその両方の試料の骨髄芽球をイボシデニブで処理した（報告書【AG-120-N-057-R1】、【2.6.3_2】項）。

[redacted]研究所（[redacted]、フランス）で悪性腫瘍と診断された患者から末梢血又は骨髄穿刺試料あるいはその両方を採取した。AML の診断はフランス－米国－英国分類及び国際規約[5]の核型の記載に従い、形態学的に確認した。遺伝子変異の状態はPCR及びダイレクトシークエンスにより評価した。

6 例の AML 患者［2 例の変異型 IDH1（R132C）、2 例の変異型 IDH1（R132H）及び 2 例の野生型IDH1］から採取した初代骨髄芽球を無血清の状態で、遺伝子組換えヒトサイトカイン（IL-3、IL-6、SCF、TPO、EPO、FLT3L、GM-CSF 及び G-CSF）及びイボシデニブ（500、1,000 及び 5,000 nmol/L）又は DMSO 存在下で *ex vivo* で培養した[6]。これらの初代 AML 試料を採取した患者の診断を表 2.5:3 に示した。

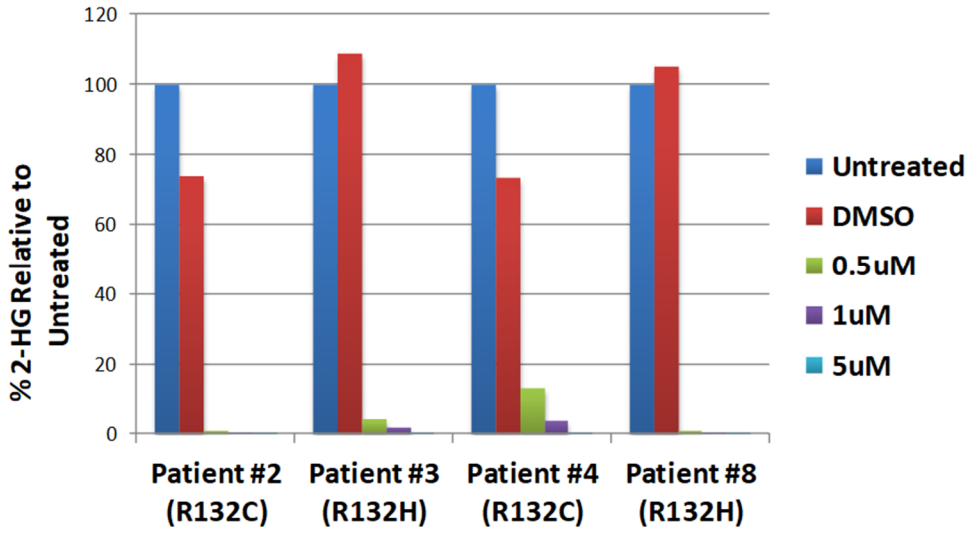
表 2.5:3　用いた初代試料を採取した AML 患者の診断

Patient Code	Mutation	FAB	Sample Source
#1	IDH WT	Not determined	Peripheral blood
#7	IDH WT	AML M4	Peripheral blood
#2	IDH1 R132C	AML M1	Peripheral blood
#3	IDH1 R132H	AML M4	Bone marrow
#4	IDH1 R132C	AML M1	Bone marrow
#8	IDH1 R132H	AML M1	Bone marrow

Abbreviations: AML = acute myeloid leukemia; IDH = isocitrate dehydrogenase; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; R132C = arginine-132 mutated to cysteine; R132H = arginine-132 mutated to histidine; WT = wild type.
Note: FAB = AML の診断はフランス－米国－英国分類に従い、形態学的に確認した。

細胞数を試験 6 及び 9 日目にカウントした。少なくとも 100,000 細胞を 2-HG の解析及び FACS 解析のため、試験 6 日目に回収した。*Ex vivo* で処理した試験 6 日目に各患者から採取した初代骨髄芽球の試料を形態学的に解析し、細胞診により分化の状態を解析した。また、初代 AML 細胞の試料をイボシデニブ（5,000 nmol/L）又は DMSO（5,000 nmol/L）存在下、メチルセルロースベースの培養液で培養した。少なくとも 30 細胞を含有するコロニー数を試験 12 日目にカウントし、フローサイトメトリーにより免疫表現型を評価した。

図 2.5:10 に示したとおり、*ex vivo* での処理の間、変異型 IDH1 を有する患者から採取した試料では高濃度のイボシデニブを処理することにより、DMSO を処理した対照群と比べて、細胞内 2-HG 濃度は 99%超低下した。野生型 IDH1 を有する患者から採取した試料では、2-HG は測定不能であった。

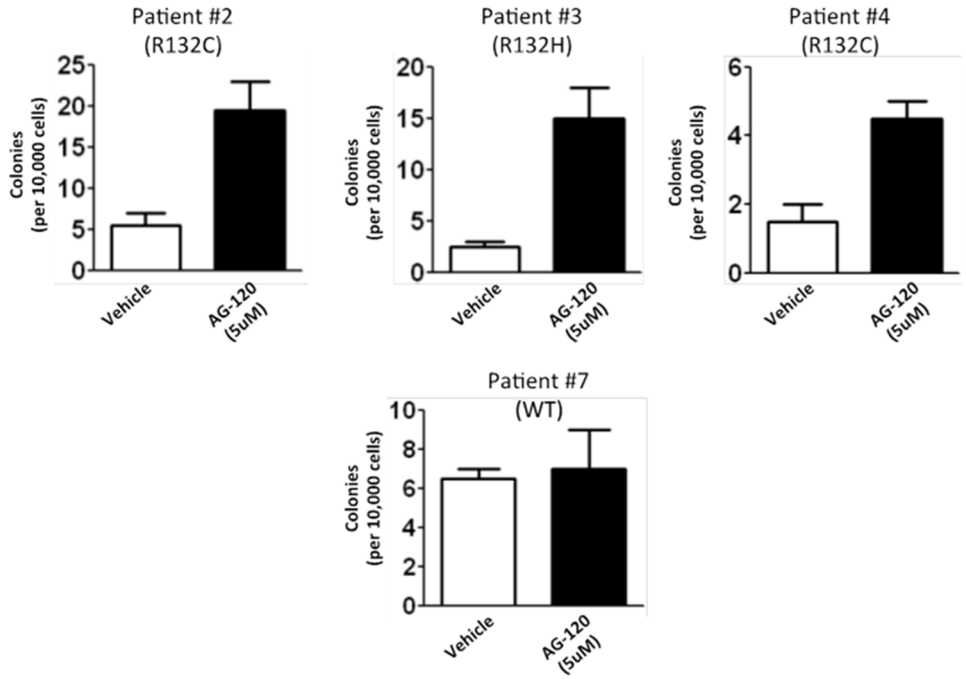


Source: Report AG120-N-057-R1_Figure 1.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; DMSO = dimethylsulfoxide; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; R132C = Arginine-132 mutated to cysteine; R132H = Arginine-132 mutated to histidine.

図 2.5:10　変異型 IDH1（R132H 又は R132C）を有する患者から採取した試料におけるイボシデニブ処理 6 日後の対照物質 DMSO と比較した残存 2-HG 量の割合

イボシデニブ（5,000 nmol/L）存在下、メチルセルロース中で変異型 IDH1（R132H）又は IDH1（R132C）を有する患者（#2、#3 及び#4）から採取した試料の骨髄芽球が増殖したとき、*in vitro* でクローン原性の可能性が高まった（図 2.5:11）。この結果は野生型 IDH1 を有する患者（#7）から採取した骨髄芽球を同様に培養したときには認められなかった。

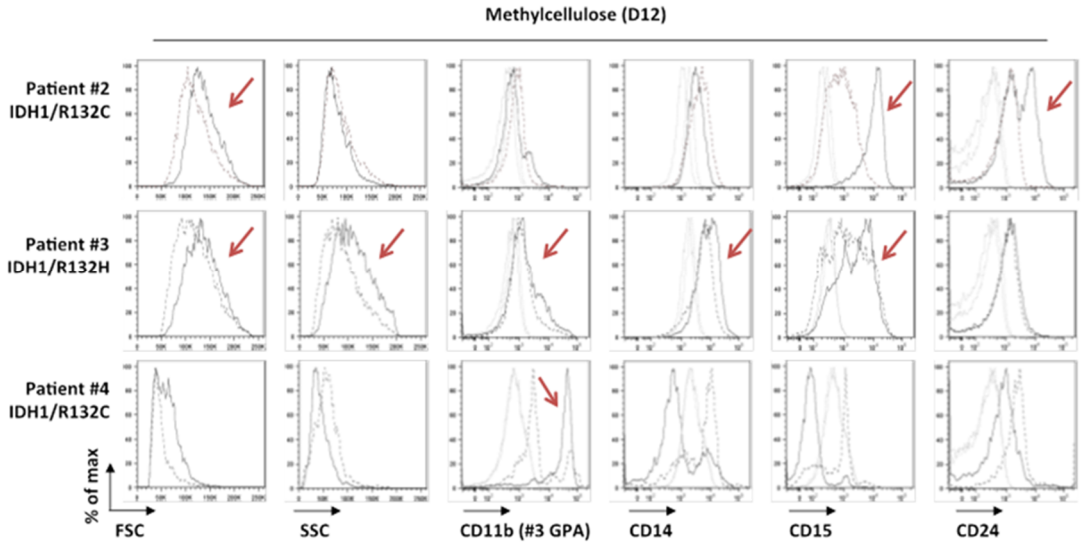
#1 及び#8 の患者では、細胞が確実にコロニーを形成せず（30 以上の細胞を含有しているコロニーをカウントした）、結果が得られなかったため、信頼性のある定量は実施できなかった。AML 患者から採取した初代骨髄芽球の利用に制限があるため、より大きなコロニー形成を得るために播種の密度を増加させてさらなる試験を実施することは不可能であった。



Source: Report AG120-N-057-R1_Figure 2.
Abbreviation: R132C = Arginine-132 mutated to cysteine; R132H = Arginine-132 mutated to histidine; WT = wild type.

図 2.5:11　患者から採取したヒト初代試料におけるメチルセルロース溶液中でイボシデニブを 12 日間処理した後のコロニー形成単位数

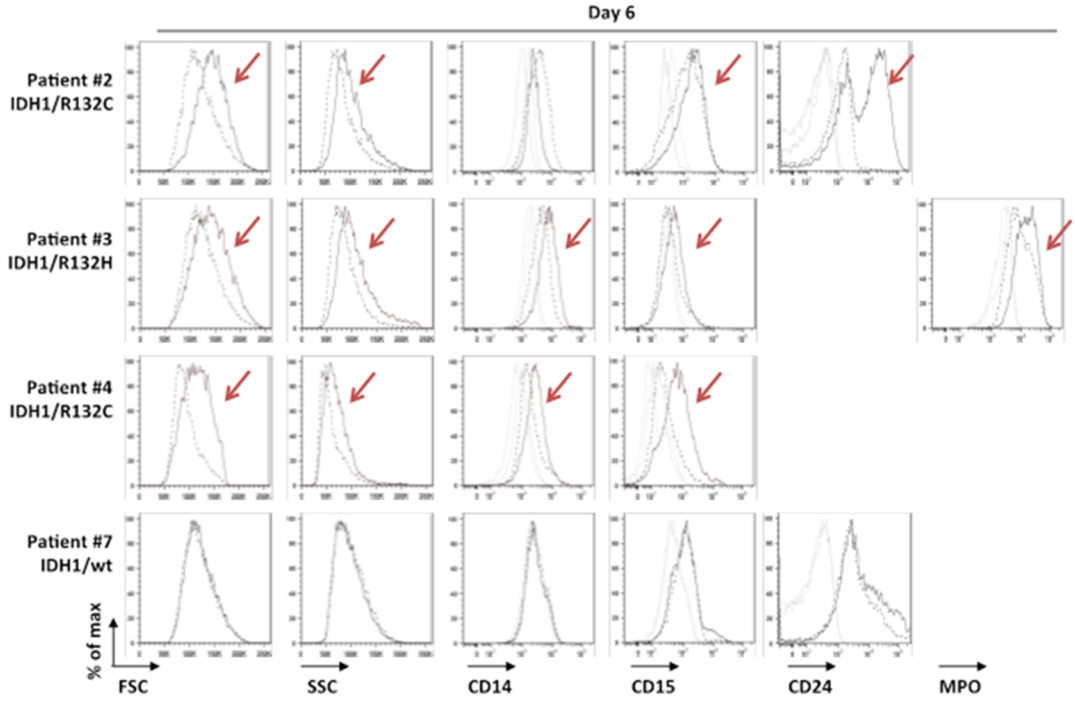
変異型を有する AML 患者から採取し、メチルセルロース溶液中で 6 又は 12 日間増殖させた骨髄芽球についても、FACS 解析により単球及び顆粒球の分化と関連する細胞表面マーカー［CD11b、CD14、CD15、CD24、グリコフォリン A（GPA）及びミエロパーオキシダーゼ（MPO）］の変化を評価した。イボシデニブの処理により、変異型 IDH1 を有する患者から採取した試料において、分化細胞数の増加が誘導された。イボシデニブを処理した変異型 IDH1（R132H 又は R132C）を有する患者の試料（#2、3 及び 4）において、細胞表面マーカーである CD11b、CD14、CD15、CD24 及び GPA の蛍光強度の平均値の増加が側方散乱光の増加と同様に認められたが（実線）、DMSO（---の点線）又は免疫グロブリン G（IgG）（…の点線）で処理した対照群ではそれらの作用は認められなかった（図 2.5:12、赤の矢印はイボシデニブの処理によるシフトを示している）。また、このシフトは野生型 IDH1 を有する患者（#7）から採取した試料では認められなかった（データは示さず）。



Source: Report AG120-N-057-R1_Figure 3.
Abbreviations: D = Day; DMSO = dimethylsulfoxide; FACS = fluorescence-activated cell sorting; FSC = forward scatter; GPA = glycophorin-A; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; IgG = immunoglobulin G; R132C = Arginine-132 mutated to cysteine; SSC = side scatter.
Ivosidenib (solid lines); DMSO control (--- lines); IgG control (… lines)
赤の矢印はイボシデニブの処理によるシフトを示している。

図 2.5:12　変異型 IDH1（R132H 又は 132C）を有する患者から採取したヒト初代試料におけるメチルセルロース溶液中でイボシデニブを 12 日間処理したときの FACS 解析結果

変異型 IDH1（R132H）（#3）及び IDH1（R132C）（#2 及び 4）から採取した試料を液体培地でイボシデニブと 6 日間培養したとき、FACS 解析により、CD14、CD15、CD24 及び MPO 陽性細胞の増加が認められたが（実線）、媒体（---の点線）又は IgG（…の点線）で処理した対照群の試料ではその作用は認められなかった（図 2.5:13、赤の矢印はイボシデニブの処理によるシフトを示している）。また、FACS 解析によるこのマーカーの増加はイボシデニブの処理 6 日後の野生型 IDH1 を有する患者（#7）から採取した試料では認められなかった。



Source: Report AG120-N-057-R1_Figure 4.
Abbreviations: DMSO = dimethylsulfoxide; FACS = fluorescence-activated cell sorting; FSC = forward scatter; IgG = immunoglobulin G; SSC = side scatter; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; MPO = myeloperoxidase; R132C = arginine-132 mutated to cysteine; wt = wild type.
Ivosidenib (solid lines); DMSO control (--- lines); IgG control (… lines)
赤の矢印はイボシデニブの処理によるシフトを示している

図 2.5:13　変異型 IDH1（R132H 又は 132C）を有する患者から採取したヒト初代試料における培養溶液中でイボシデニブを 6 日間処理したときの FACS 解析結果

結論：

- イボシデニブを試験 12 日目まで処理した変異型 IDH1（R132C 又は R132H）を有する初代 AML 細胞において、細胞内 2-HG 濃度は低下し、骨髄芽球分化が誘導された。

2.6　*In vivo* における薬力学及び薬物動態

内因性変異型 IDH1（R132C）を有する軟骨肉腫のモデルとして一般的に用いられている HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて、単回又は反復経口投与したときのイボシデニブ曝露量と 2-HG 産生阻害作用との関連を評価するため、一連の 5 つの薬理試験を実施した。

5 試験はいずれも同様の試験デザインとした。雌 BALB/c ヌードマウスの腹側皮下に 3.0×10^6 の HT1080 細胞を移植した。移植 14 又は 15 日後に腫瘍体積が約 100～1,000 mm^3 に達したとき、腫瘍体積に基づいてマウスを割り付けた。群分け及び試験デザインに基づき、その後マウスに媒体（0.5%メチルセルロース及び 0.2% Tween 80 溶液）又はイボシデニブを均一の懸濁液として単回又は反復経口投与した。

試験番号【AG120-N-010-R1】、【AG120-N-012-R1】及び【AG120-N-013-R1】の結果の要約を 2.6.1、2.6.2 及び 2.6.3 項に記載した。イボシデニブの様々な投与レジメンが用いられた別の 2 試験（報告書【AG120-N-011-R1】及び【AG120-N-014-R1】）においても同様に 2-HG 濃度低下が認められた。

変異型 IDH1（R132C）を有する AML11655 腫瘍細胞を移植した NOG マウスモデル及び変異型 IDH1（R132H）を有する TM001036 腫瘍細胞を移植した NSG^{TM}-SGM3 マウス［NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) background］の 2 つの薬理試験を実施した。これらの試験のより詳細はそれぞれ 2.6.4 項及び 2.6.5 項に記載した。

また、乏突起星細胞腫を移植した同所性腫瘍モデル（報告書【AG120-N-097】）及び乏突起膠腫を移植した同所性腫瘍モデル（報告書【AG120-N-098】）において、PK/PD 試験を実施した。これらの試験については、いずれも詳細は割愛した。

血漿及び腫瘍試料中におけるイボシデニブ及び 2-HG 濃度はバリデートされていない LC-MS/MS 法を用いて測定した。血漿及び腫瘍中濃度データの薬物動態の解析は WinNonlin®（6.4 版、Certara 社）を用いて実施した。

2.6.1　AG-120：HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて AG-120 を 50 又は 150 mg/kg の用量で経口投与したときの PK/PD 試験

HT1080 細胞を移植した 63 匹の雌 BALB/c ヌードマウスを用いて試験を実施した（報告書【AG120-N-012-R1】、【2.6.3_2】項）。本試験では、イボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で単回経口投与し、回復期間を通して経時的に PK/PD を評価した。投与 1、3、6、12、24、48 及び 72 時間後に血漿及び腫瘍試料中のイボシデニブ及び 2-HG 濃度を分析した（報告書【AG120-N-012-R1】_Appendix B）。

血漿及び腫瘍試料におけるイボシデニブ及び 2-HG の 0 から 12 時間までの濃度－曲線下面積（AUC_{0-12}）及び 0 から 72 時間までの濃度－曲線下面積（AUC_{0-72}）並びに 2-HG 産生阻害率を表 2.6:4 及び表 2.6:5 に示した。

イボシデニブの血漿及び腫瘍中曝露量（AUC_{0-12} 及び AUC_{0-72}）は用量増加に伴って増加した。イボシデニブは 50 及び 150 mg/kg の用量で単回投与することにより、投与 12 時間後に対照群と比べて血漿及び腫瘍中の 2-HG 濃度をそれぞれ 78%以上及び 58%以上低下させ、投与 72 時間後には対照群と比べて血漿及び腫瘍中の 2-HG 濃度をそれぞれ 29%以上及び 43%以上低下させた。

表 2.6:4　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおけるイボシデニブ単回経口投与後の血漿及び腫瘍中のイボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-12} 並びに 2-HG 産生阻害率の平均値

Dose Group	Ivosidenib AUC_{0-12} (ng• h/mL)		2-HG AUC_{0-12} (ng•h/mL)		Inhibition of 2-HG (%)	
	Plasma	Tumor	Plasma	Tumor	Plasma	Tumor
Vehicle	NA	NA	7,380	12,300,000	NA	NA
50 mg/kg	30,600	54,500	1,650	5,160,000	77.6	58.1
150 mg/kg	67,500	128,000	1,610	4,370,000	78.2	64.5

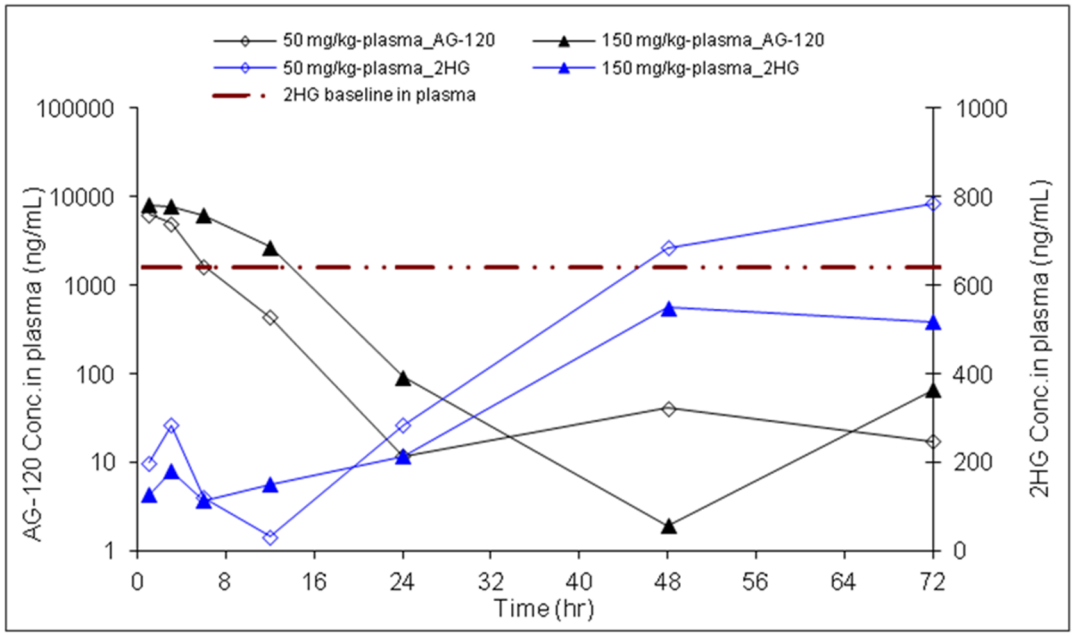
Source: Report AG120-N-012-R1_Table 12.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; AUC_{0-12} = area under the concentration × time curve from 0 to 12 hours; HT1080 = human chondrosarcoma cell line; NA = not applicable.
Note: AUC_{0-12} の値は投与 1、3、6、12、24、48 及び 72 時間後の各時点での 3 例の試料の平均値から算出した。

表 2.6:5　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおけるイボシデニブ単回経口投与後の血漿及び腫瘍中のイボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-72} 並びに 2-HG 産生阻害率の平均値

Dose Group	Ivosidenib AUC_{0-72} (ng•h/mL)		2-HG AUC_{0-72} (ng•h/mL)		Inhibition of 2-HG (%)	
	Plasma	Tumor	Plasma	Tumor	Plasma	Tumor
Vehicle	NA	NA	45,900	76,400,000	NA	NA
50 mg/kg	34,600	58,000	32,800	43,700,000	28.6	42.8
150 mg/kg	86,200	153,000	25,800	35,000,000	43.9	54.2

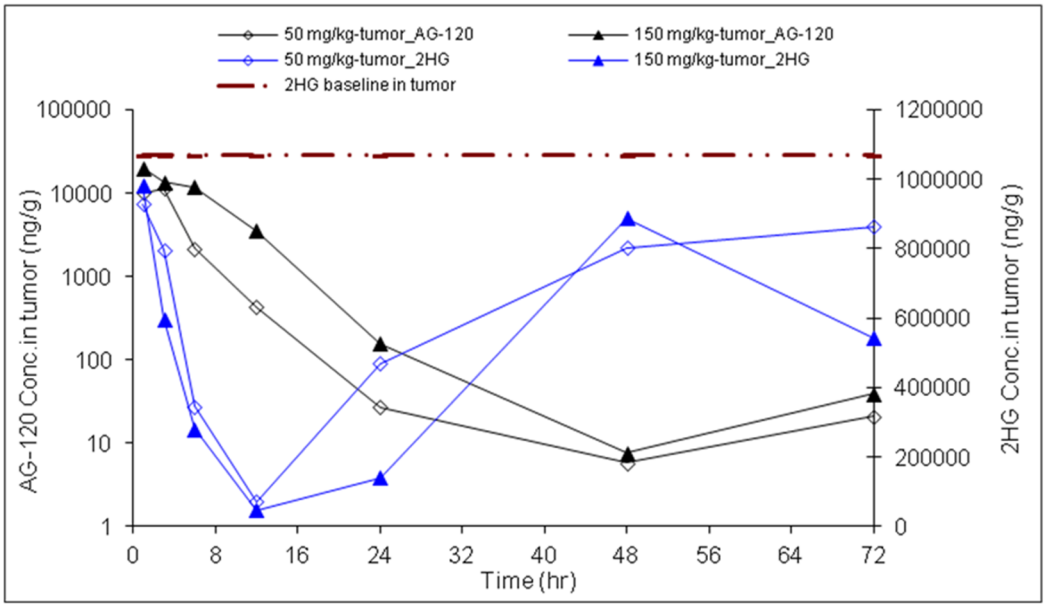
Source: Report AG120-N-012-R1_Table 13.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; AUC_{0-72} = area under the concentration × time curve from 0 to 72 hours; HT1080 = human chondrosarcoma cell line; NA = not applicable.
Note: AUC_{0-72} の値は投与 1、3、6、12、24、48 及び 72 時間後の各時点での 3 例の試料の平均値から算出した。

血漿及び腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値をそれぞれ図 2.6:14 及び図 2.6:15 に示した。媒体を投与したマウスの血漿及び腫瘍中 2-HG 濃度の平均値（ベースラインの濃度を示した）と比べて、イボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で単回投与した後、血漿及び腫瘍中 2-HG 濃度は急速に低下した。血漿では、最大の 2-HG 産生阻害作用はイボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で投与したそれぞれ 6 及び 12 時間後に認められた。腫瘍では最大の 2-HG 産生阻害作用は両方の用量で投与 12 時間後に認められた。血漿及び腫瘍中 2-HG 濃度はイボシデニブを単回投与した 48～72 時間後にベースラインの濃度に達した。



Source: Report AG120-N-012-R1_Figure 3.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; 2-HG baseline in plasma = mean plasma 2-HG concentration in vehicle treated mice; HT1080 = human chondrosarcoma cell line.
Note: n=3 per time point.

図 2.6:14　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で単回経口投与した後の血漿中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値



Source: Report AG120-N-012-R1_Figure 4.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; 2-HG baseline in tumor = mean tumor 2-HG concentration in vehicle treated mice; HT1080 = human chondrosarcoma cell line.
Note: n=3 per time point.

図 2.6:15　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で単回経口投与した後の腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値

結論：

- 試験結果から、閾値濃度を超えて血漿中イボシデニブ濃度を維持することが、腫瘍中 2-HG 産生阻害作用を維持するために重要であることが示されている。

2.6.2　AG-120：HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて 20、50 あるいは 150 mg/kg の用量で 3 回（12 時間間隔）経口投与又は 50 mg/kg の用量で単回経口投与したときの PK/PD 試験

HT1080 細胞を移植した 116 匹の雌 BALB/c ヌードマウスを用いて試験を実施した（報告書【AG120-N-010-R1】、（【2.6.3_2】項）。本試験はイボシデニブを 50 mg/kg の用量で単回経口投与（n=32）又は 20、50 あるいは 150 mg/kg の用量で 3 回反復投与（各群 n=20）した後の血漿及び腫瘍試料中イボシデニブ曝露量と 2-HG 産生阻害作用との関連を特定する目的で実施した。反復投与は 12 時間間隔で実施した。本試験から得られた情報は長期の用量反応試験の投与計画の参考とした。

媒体投与対照群では、マウス（n=4）から血漿及び腫瘍組織試料を単回投与 1、24 及び 72 時間後及び 3 回反復投与 1、24 及び 24 時間後に採取した。イボシデニブ投与群では、マウス（n=4）から血漿及び腫瘍組織試料を単回投与 0.5、1、3、8、12、24、48 及び 72 時間後並びに 3 回反復

投与 1、3、8、12 及び 24 時間後に採取した。試料中のイボシデニブ及び 2-HG 濃度を分析した（報告書【AG120-N-010-R1】_Appendix B）。

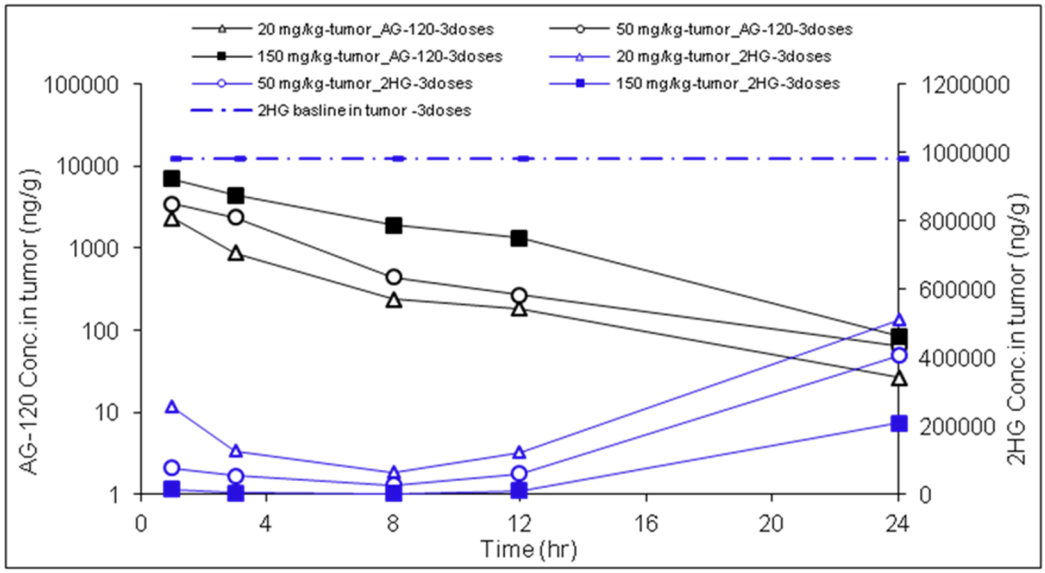
血漿及び腫瘍試料におけるイボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-12} 並びに投与後 12 時間の 2-HG 産生阻害率を表 2.6:6 に示した。20、50 及び 150 mg/kg の用量で 3 回投与したとき、血漿中イボシデニブの AUC_{0-12} の値はそれぞれ 5,130、13,100 及び 29,200 ng•h/mL であり、腫瘍中イボシデニブの AUC_{0-12} の値はそれぞれ 8,020、16,200 及び 37,300 ng•h/mL であった。イボシデニブを反復投与したとき、3 用量のいずれにおいても 50 m/kg の用量で単回投与したときと比べて腫瘍中 2-HG 産生阻害作用はより強かった。最大の腫瘍中 2-HG 産生阻害作用にはイボシデニブの 3 回目投与 8 時間後までに達し、2-HG 濃度は投与後 24 時間にわたりベースライン濃度未満に維持された（図 2.6:16）。投与後 12 時間にわたり 2-HG 産生阻害作用及び最大の 2-HG 産生阻害作用はいずれもイボシデニブを 20、50 及び 150 mg/kg の用量で 3 回反復投与したとき、用量増加に伴って増強した（図 2.6:16）。

表 2.6:6 に示したとおり、反復投与後の血漿及び腫瘍中イボシデニブ曝露量はいずれも低下し、これはマウスにおけるイボシデニブの代謝の自己誘導に起因している可能性が考えられる。

表 2.6:6　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを単回又は 3 回（12 時間間隔）反復経口投与した後の血漿及び腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-12} 並びに 2-HG 産生阻害率の平均値

Test Article	Dose (mg/kg)	Number of Doses	Ivosidenib AUC_{0-12} (ng•h/mL)		2-HG AUC_{0-12} (ng•h/mL)	Inhibition of 2-HG (%)	Maximal Inhibition of 2-HG (%)
			Plasma	Tumor	Tumor	Tumor	Tumor
Vehicle	0	1	NA	NA	12,500,000	NA	NA
Vehicle	0	3	NA	NA	11,300,000	NA	NA
Ivosidenib	50	1	38,700	54,900	4,670,000	62.5	90.6
Ivosidenib	20	3	5,130	8,020	1,380,000	87.8	93.3
Ivosidenib	50	3	13,100	16,200	560,000	95.0	97.2
Ivosidenib	150	3	29,200	37,300	71,300	99.4	99.7

Source: Report AG120-N-010-R1_Table 10 and Table 11.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; AUC_{0-12} = area under the concentration × time curve from 0 to 12 hours; HT1080 = human chondrosarcoma cell line; NA = not applicable.
Note: イボシデニブの AUC_{0-12} の値は 3、5 又は 8 時点での 4 例の試料の平均値から算出した。



Source: Report AG120-N-010-R1_Figure 5.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; HT1080 = human chondrosarcoma cell line.
Note: n=4 per time point.

図 2.6:16　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 20、50 及び 150 mg/kg の用量で 3 回反復（12 時間間隔）経口投与した後の腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値

結論：

- イボシデニブを 20、50 及び 150 mg/kg の用量で反復投与したとき、50 m/kg の用量で単回投与したときと比べて腫瘍中 2-HG 産生阻害作用はより強かった。
- HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて、20、50 及び 150 mg/kg の用量で 3 回反復投与したとき、イボシデニブは腫瘍組織において効果的に 2-HG 産生を阻害（88%～99%）した。

2.6.3　AG-120：HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与したときの PK/PD 試験

HT1080 細胞を移植した 34 匹の雌 BALB/c ヌードマウスを用いて、イボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回（12 時間間隔）14 日間経口投与した後のイボシデニブ曝露量と 2-HG 産生阻害作用との関連を評価する目的で試験を実施した（報告書【AG120-N-013-R1】、【2.6.3_2】項）。

マウスに媒体（n=16）又はイボシデニブを 50 あるいは 150 mg/kg（いずれも n=9）の用量で 1 日 2 回 14 日間強制経口投与した。媒体最終投与 1、3、6 及び 12 時間後（1 時点あたり n=4）及びイボシデニブ最終投与 1、3 及び 12 時間後（1 時点あたり n=3）にマウスから血漿及び腫瘍組織試料を採取し、イボシデニブ及び 2-HG 濃度を分析した（報告書【AG120-N-013-R1】_Appendix B）。

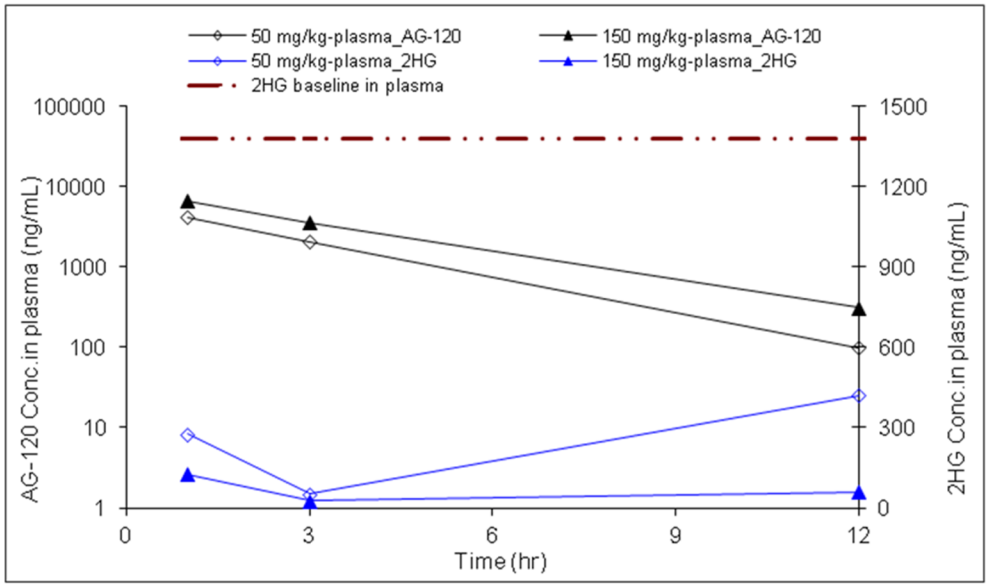
イボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間投与したときの血漿及び腫瘍試料におけるイボシデニブ及び 2-HG の曝露量（AUC_{0-12}）並びにこれらの試料中での 2-HG 産生阻害率を表 2.6:7 に示した。50 及び 150 mg/kg の用量で投与したとき、血漿中イボシデニブの AUC_{0-12} の平均値はそれぞれ 17,900 及び 30,800 ng•h/mL であった。投与後 12 時間を通した 2-HG 産生阻害率の平均値は 50 及び 150 mg/kg のいずれの用量においても血漿中で 83%以上及び腫瘍中で 93%以上であった（表 2.6:7）。

表 2.6:7　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与した後の血漿及び腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG 濃度並びに 2-HG 産生阻害率の平均値

Dose Group	**Ivosidenib AUC_{0-12} (ng•h/mL)**		**2-HG AUC_{0-12} (ng•h/mL)**		**Inhibition of 2-HG (%)**	
	Plasma	**Tumor**	**Plasma**	**Tumor**	**Plasma**	**Tumor**
Vehicle	NA	NA	15,100	14,000,000	NA	NA
50 mg/kg	17,900	16,000	2,600	921,000	82.8	93.4
150 mg/kg	30,800	28,100	611	295,000	96.0	97.9

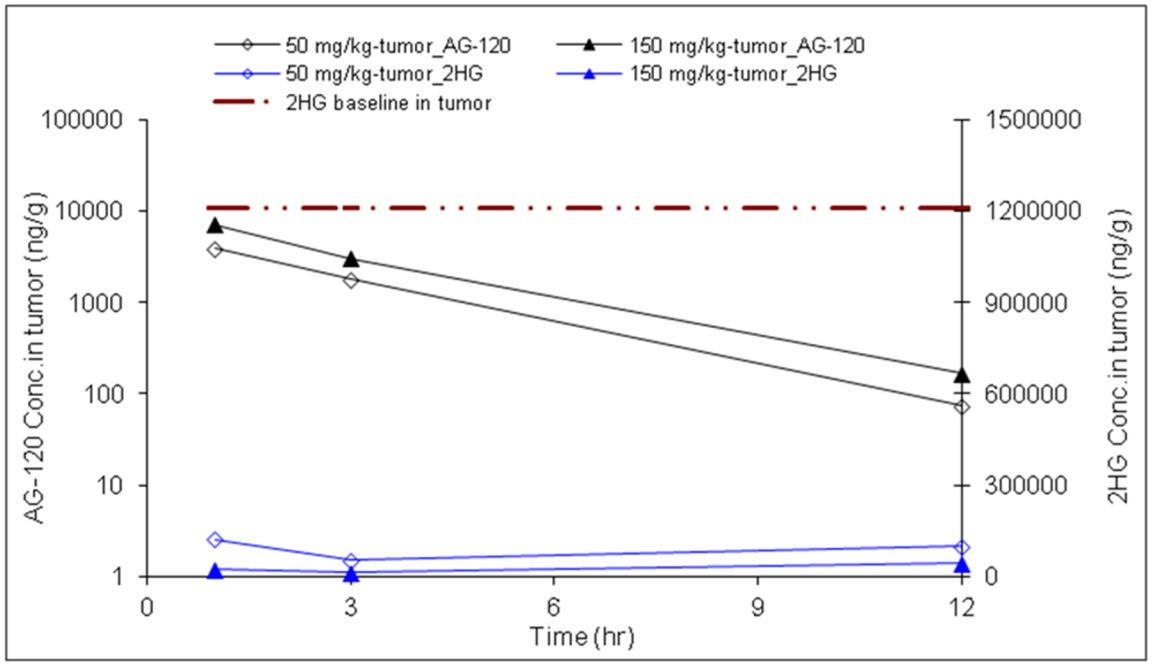
Source: Report AG120-N-013-R1_Table 12.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; AUC_{0-12} = area under the concentration × time curve from 0 to 12 hours; HT1080 = human chondrosarcoma cell line; NA = not applicable.
Note: イボシデニブの AUC_{0-12} の値は各時点での 3 例の試料の平均値から算出した。

血漿及び腫瘍中 2-HG 濃度はイボシデニブ最終投与 3 時間後に最も低下し、投与後 12 時間にわたりベースライン未満に維持された（それぞれ図 2.6:17 及び図 2.6:18）。



Source: Report AG120-N-013-R1_Figure 3.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; HT1080 = human chondrosarcoma cell line.
Note: n=3 per time point.

図 2.6:17　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与した後の血漿中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値



Source: Report AG120-N-013-R1_Figure 4.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; HT1080 = human chondrosarcoma cell line.
Note: n=3 per time point.

図 2.6:18　HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与した後の腫瘍中イボシデニブ及び 2-HG 濃度の平均値

結論：

- HT1080 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて、イボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 14 日間反復投与したとき、2-HG 産生は血漿（83%以上）及び腫瘍（93%以上）中で用量依存的に阻害された。

2.6.4　変異型 IDH1（R132C）を有するヒト急性骨髄性白血病細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいてイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与したときの PK/PD 試験

7×10^6 の AML11655 ヒト AML 細胞を尾静脈から移植した雌 NOG マウスにおいて、イボシデニブ曝露量と 2-HG 産生阻害作用との関連を評価する目的で試験を実施した（報告書【AG120-N-090-R1】、【2.6.3_2】項）。AML11655 細胞は変異型 IDH1（R132C）及びヌクレオホスミン 1（NPM1）を有する患者由来の細胞である。AML11655 細胞を移植後 32 日目において、疾病負荷を FACS 解析によりバリデートし（huCD45$^+$細胞はマウス末梢血の約 6%に達した）、マウス（n=36）を無作為に 3 群に割り付けた（n=12/群）。その後、マウスに媒体又はイボシデニブを 50 あるいは 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間投与した。投与 14 日後にマウスを屠殺し、最終投

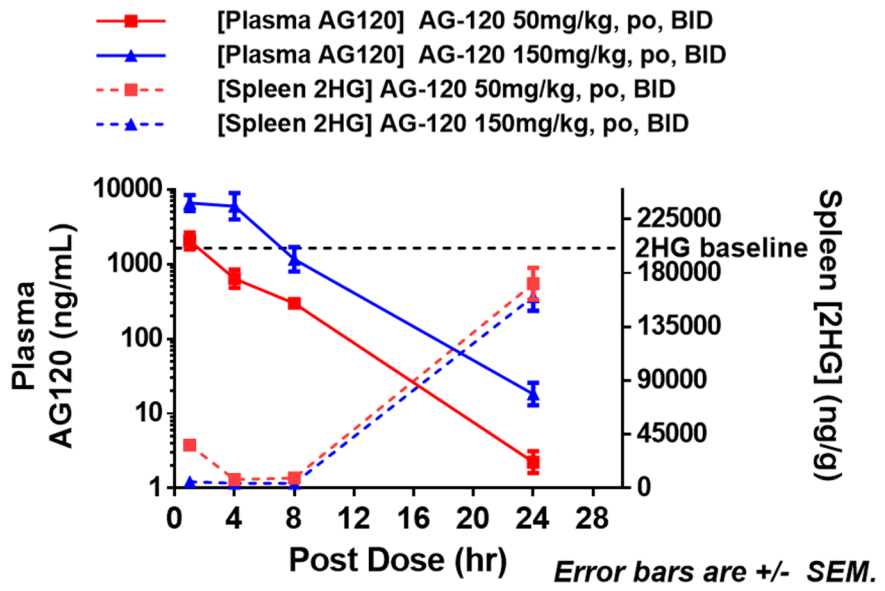
与 1、4、8 及び 24 時間後に各投与群から骨髄、血漿及び脾臓試料を採取した（n=3/時点）。採取した試料はイボシデニブ曝露量及び 2-HG 産生阻害作用の評価のために分析した。試料採取の技術的な不備のため、骨髄試料のデータは確実なものとしては定量できず、そのため、脾臓試料を 2-HG 濃度測定のための代替として用いた。

イボシデニブの曝露量は 1 日 2 回 14 日間反復投与後に用量増加に伴って増加した（表 2.6:8）。イボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で投与したときの血漿中 AUC_{0-12} の平均値は 4 時点（投与 1、4、8 及び 24 時間後）の試料から内挿し、それぞれ 7,980 及び 40,300 ng•h/mL であった。脾臓組織での最大の 2-HG 産生阻害作用は両投与群において最終投与 8 時間後に認められ（図 2.6:19）、最終投与 24 時間後までに 2-HG 濃度のベースラインまで接近した（図 2.6:19）。投与後 12 時間にわたる脾臓での 2-HG 産生阻害作用の平均値はイボシデニブの両投与群で 90%以上であった。

表 2.6:8　AML11655 細胞を移植した NOG マウスにイボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与した後の血漿及び脾臓中イボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-12} 並びに 2-HG 産生阻害率の平均値

Group	Ivosidenib AUC_{0-12}		2-HG AUC_{0-12}		Inhibition of 2-HG (%)	
	Plasma (ng•h/mL)	Spleen (ng•h/g)	Plasma (ng•h/mL)	Spleen (ng•h/g)	Plasma	Spleen
Vehicle	Not Available	Not Available	2,740	2,310,000	Not Available	Not Available
50 mg/kg	7,980	6,450	1,450	231,000	47.0	90.0
150 mg/kg	40,300	41,700	1,880	130,000	31.3	94.4

Source: Report AG120-N-090_Table 10 and Table 11.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; AUC_{0-12} = area under the concentration × time curve from 0 to 12 hours.
Note: AUC_{0-12} の値は各時点での 3 例の試料の平均値から算出した。



Source: Report AG120-N-090_Table 6 and Table 8.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; BID = twice daily; po = orally (per os); SEM = standard error of the mean.
Note: n=3 per time point.

図 2.6:19　AML11655 細胞を移植した NOG マウスにイボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間経口投与した後の脾臓中 2-HG 濃度の平均値－時間推移に対する血漿中イボシデニブ濃度の平均値－時間推移

結論：

- 変異型 IDH1（R132C）を有するヒト AML 細胞を移植したマウスにイボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間反復投与した後、血漿中イボシデニブ曝露量は増加した。
- 変異型 IDH1（R132C）を有するヒト AML 細胞を移植したマウスにイボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 14 日間投与したとき、脾臓での 2-HG 産生は両方の用量で 90%以上阻害された。

2.6.5　変異型 IDH1（R132H）を有するヒト急性骨髄性白血病細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて AG-120 を 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回経口投与したときの PK/PD 試験

TM001036 ヒト AML 細胞を尾静脈から移植した雌 NSG™-SGM3 マウスにおいて、イボシデニブ曝露量と 2-HG 産生阻害作用との PK/PD の関連（本項）を評価し、骨髄の分化及び生存における 2-HG 産生阻害作用（2.7.1 項）の影響を検討する目的で試験を実施した（報告書【AG120-N-093】、【2.6.3_2】項）。TM001036 細胞は変異型 IDH1（R132H）及び FLT3（FLT3-ITD）を有する患者由来の細胞である。全ての移植マウスについて、試験に組み入れる前に末梢血におけるヒト

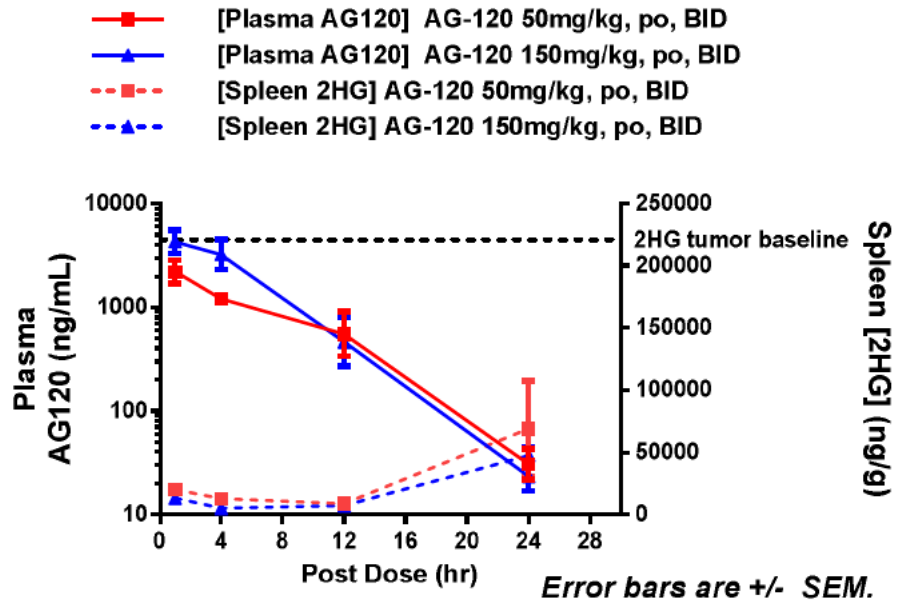
CD33 及び CD45 陽性細胞の存在をフローサイトメトリーにより解析し、白血病細胞の移植を確認した。マウス末梢血において、検出されたヒト CD33 陽性細胞の割合が 5%～10%となった状態を腫瘍生着成功の基準とした。その後、腫瘍生着データに基づき、22 匹のマウスを無作為に 3 つの試験群に割り付けた。各投与群において、12 匹のマウスを PK/PD 試験群に割り付け、10 匹のマウスを効力試験に割り付けた（2.7.1 項）。その後、マウスに媒体又はイボシデニブを 50 あるいは 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 7 日間投与した。投与 7 日後にマウスを屠殺し、最終投与 1、4、12 及び 24 時間後に各投与群から血漿、骨髄及び脾臓試料を採取した（n=3/時点）。採取した試料を骨髄及び脾臓組織の両方におけるイボシデニブ曝露量及び 2-HG 産生阻害作用の分析のために用いた。

イボシデニブの曝露量は 1 日 2 回 7 日間反復投与後に用量増加に伴って増加した（表 2.6:9）。イボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で投与したときの血漿中 AUC_{0-12} の平均値はそれぞれ 13,600 及び 28,600 ng•h/mL であった。脾臓組織での最大の 2-HG 産生阻害作用は 50 及び 150 mg/kg の用量で投与したマウスにおいて、それぞれ最終投与 12 及び 4 時間後に認められた（図 2.6:20）。イボシデニブを投与した両群において、脾臓及び骨髄での投与後 12 時間にわたる 2-HG 産生阻害率の平均値は 96%超であった（表 2.6:9）。骨髄での最大の 2-HG 産生阻害作用は 50 及び 150 mg/kg の用量で投与したマウスにおいて最終投与 12 時間後に認められた（図 2.6:21）。

表 2.6:9　血漿、骨髄及び脾臓におけるイボシデニブ及び 2-HG の AUC_{0-12} 並びに 2-HG 産生阻害率の平均値

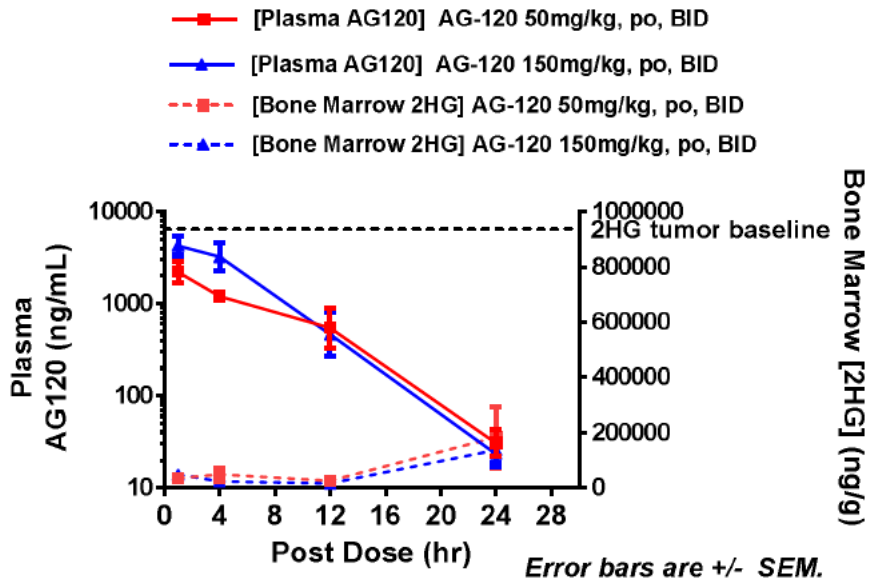
Group	Ivosidenib AUC_{0-12} (ng•h/mL)			2-HG AUC_{0-12} (ng•h/mL)			Inhibition of 2-HG (%)		
	Plasma	Bone Marrow	Spleen	Plasma	Bone Marrow	Spleen	Plasma	Bone Marrow	Spleen
Vehicle	NA	NA	NA	19,300	12,100,000	2,650,000	NA	NA	NA
50 mg/kg	13,600	10,800	9,170	2,840	449,000	151,000	99.8	97.6	96.3
150 mg/kg	28,600	25,800	19,000	2,250	301,000	87,100	>99.9	98.4	98.1

Source: Report AG120-N-093_Appendix D_Table 12.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; AUC = area under the concentration × time curve; AUC_{0-12} = area under the concentration × time curve from 0 to 12 hours; NA = not applicable.
Notes:
1: すべてのマウスに 1 日 2 回合計で 7 日間投与したことから、AUC 算出のために最終投与後 12 時間の時点のデータを 0 時間のデータとして用いた。
2: 媒体群の AUC の値は血漿、骨髄及び脾臓中の 2-HG 濃度の各平均値により算出した（n=3/各時点）。



Source: Report AG120-N-093_Appendix D_Table 11.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; BID = twice daily; po = orally (per os); SEM = standard error of the mean.
Note: n=3 per time point.

図 2.6:20　TM001036 細胞を移植した NSG™-SGM3 マウスに経口投与した後の脾臓中 2-HG 濃度の平均値ー時間推移に対する血漿中イボシデニブ（AG-120）濃度の平均値ー時間推移



Source: Report AG120-N-093_Appendix D_Table 11.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; BID = twice daily; po = orally (per os); SEM = standard error of the mean.
Note: Values presented are the mean of 3 samples at each time point.

図 2.6:21　TM001036 細胞を移植した NSG™-SGM3 マウスに経口投与した後の骨髄中 2-HG 濃度の平均値－時間推移に対する血漿中イボシデニブ（AG-120）濃度の平均値－時間推移

結論：

- 変異型 IDH1（R132H）を有するヒト AML 細胞を移植したマウスにイボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 7 日間投与したとき、血漿中イボシデニブ曝露量は用量増加に伴って増加した。
- 変異型 IDH1（R132H）を有するヒト AML 細胞を移植したマウスにイボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 7 日間投与したとき、骨髄及び脾臓での 2-HG 産生は 96%超阻害された。

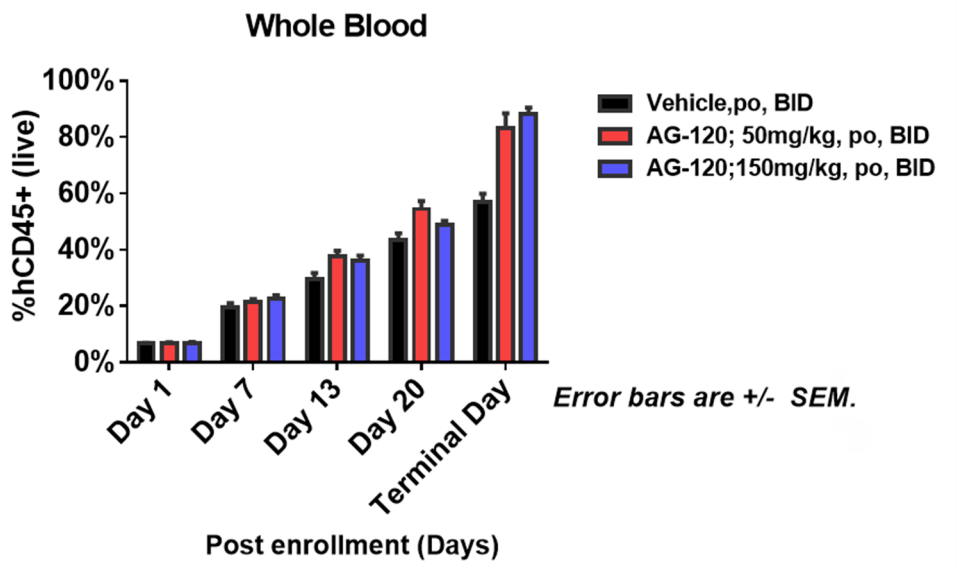
2.7　*In vivo* での効果

2.7.1　変異型 IDH1（R132H）を有するヒト骨髄性白血病細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて AG-120 を 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回経口投与したときの効果

変異型 IDH1（R132H）を有するヒト初代 AML 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて、イボシデニブを投与したときの 2-HG 産生及び骨髄細胞分化に対する変異型 IDH1 阻害の *in vivo* での効果を評価した（報告書【AG-120-N-093】、【2.6.3_2】項）。

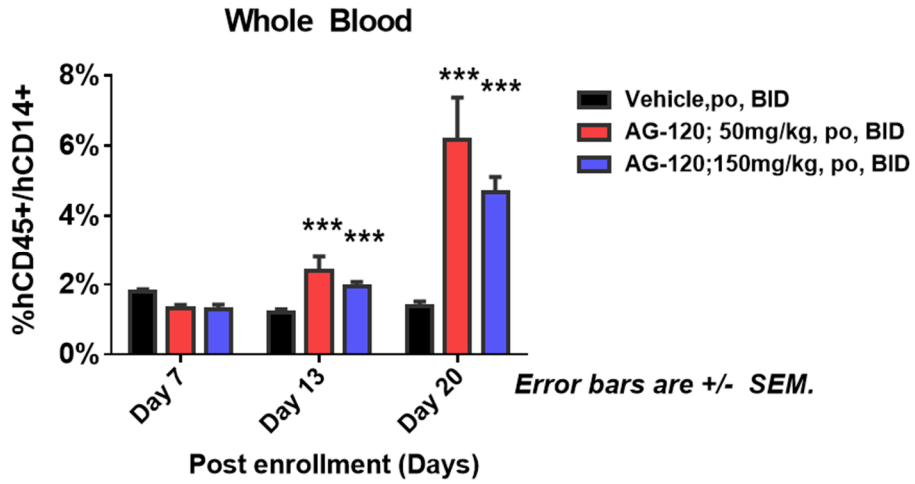
雌 NSG™-SGM3 マウスに TM001036 ヒト AML 細胞を尾静脈から移植し、変異型 IDH1（R132H）及び FLT3（FLT-ITD）を有する患者由来のヒト初代 AML モデルとして用いた。すべての移植マウスについて、試験に組み入れる前に末梢血におけるヒト CD33 及び CD45 陽性細胞の存在をフローサイトメトリーにより解析し、白血病細胞の移植を確認した。マウスの末梢血においてヒト CD33 陽性細胞の割合が 5%～10%の移植の状態に達した後、腫瘍生着データに基づき、22 匹のマウスを無作為に 3 つの試験群に割り付けた。各投与群において、12 匹のマウスを PK/PD 試験群に割り付け（2.6.5 項）、10 匹のマウスを効力試験に割り付けた（本項）。

媒体単独又はイボシデニブを 50 あるいは 150 mg/kg の用量で投与したマウスの全血試料を週 1 回採取し、末梢血におけるヒト CD45 及び CD33 陽性細胞の存在を測定することにより、マウスにおける AML の疾病負荷を評価した。また、細胞分化マーカーであるヒト CD14 及びヒト CD15 の存在についても記録した。イボシデニブを投与したマウスは媒体を投与したマウスと比べて全般的な疾病負荷が軽減しなかったが（図 2.7:22）、イボシデニブを投与したマウスの末梢血では、ヒト CD14（図 2.7:23）及びヒト CD15（図 2.7:24）陽性細胞の割合の顕著な増加が認められた。媒体を投与したマウス末梢血での $hCD45^+/hCD33^+/hCD15^+$細胞の割合は 4.8%であったのに対し、イボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 3 週間投与したマウスでは、その割合はそれぞれ 13.9%及び 12.0%であった（図 2.7:24）。また、媒体を投与したマウス末梢血での $hCD45^+/hCD33^+/hCD14^+$細胞の割合は 1.4%のみであったのに対し、イボシデニブを 50 又は 150 mg/kg の用量で投与したマウスでは 3 週間後にそれぞれ 6.1%及び 4.7%であった（図 2.7:23）。これらの結果から、イボシデニブを投与したマウスでは、媒体を投与したマウスでは認められなかった分化誘導に関連する細胞表面タンパク質の発現を誘導することが示された。



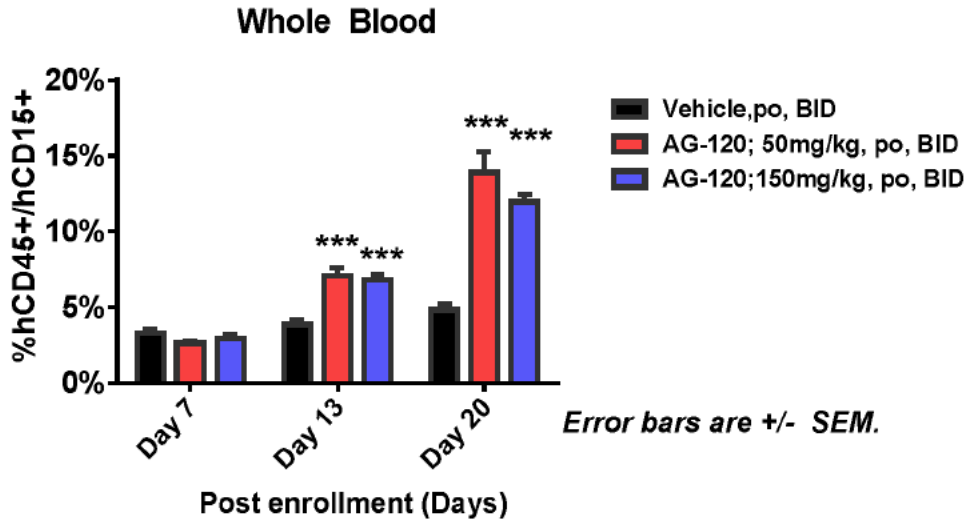
Source: Report AG120-N-093_Figure 2.
Abbreviations: BID = twice daily; %hCD45^{+} = percentage of human CD45 positive cells in peripheral blood; po = orally (per os); SEM = standard error of the mean.
Note: n=10/group.

図 2.7:22　末梢全血における経時的な hCD45 陽性細胞の割合の平均値



Source: Report AG120-N-093_Figure 3.
Abbreviations: BID = twice daily; %hCD45^{+}/hCD14^{+} = percentage human CD45 positive cells expressing human CD14 protein as well in peripheral blood; po = orally (per os); SEM = standard error of the mean.
Notes:
1: *** = P-value <0.01.
2: n=10/group.

図 2.7:23　末梢全血におけるイボシデニブにより誘発された経時的な骨髄系列細胞マーカー hCD14 陽性細胞の発現



Source: Report AG120-N-093_Figure 4.
Abbreviations: BID = twice daily; %hCD45$^+$/hCD15$^+$ = percentage human CD45 positive cells expressing human CD15 protein as well in peripheral blood; po = orally (per os); SEM = standard error of the mean.
Notes:
1: *** = P-value <0.01.
2: n=10/group.

図 2.7:24　末梢全血におけるイボシデニブにより誘発された経時的な骨髄系列細胞マーカー hCD15 陽性細胞の発現

結論：

- イボシデニブは 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回 21 日間投与することにより、マウス末梢血中の変異型 IDH1（R132H）を有する AML 細胞表面において、骨髄分化マーカーである hCD14 及び hCD15 発現を増加させた。

2.7.2　セルベース及び *in vivo* マウス異種移植モデルにおける野生型 IDH1 及び IDH2 活性阻害作用

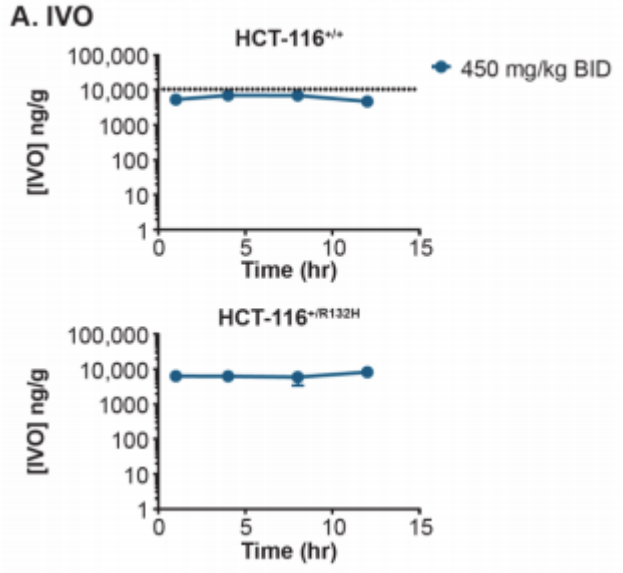
本試験は変異型 IDH1（R132H）又は野生型 IDH1 及び IDH2 の両方を有するヒト細胞において、イボシデニブ曝露量と野生型 IDH1 及び IDH2 阻害作用との PK/PD の関連を評価することを目的として実施した（報告書【AG120-881-N-001】、【2.6.3_2】項）。媒体又はイボシデニブを経口投与した異種移植マウスにおいて、α-KG からクエン酸塩への還元型カルボニル化を定量する方法によりイボシデニブの作用を評価した。

血漿及び腫瘍組織中イボシデニブ濃度並びに腫瘍組織中 2-HG 濃度をバリデートされていない LC-MS/MS 法を用いて測定した。

1 つ目の試験では雌マウスの右腹側皮下に野生型 HCT116 細胞又は変異型 IDH1（R132H）を有する HCT116 細胞を移植した。腫瘍体積が 150～200 mm^3 に達した後、マウスを各投与群に無作

為化し、媒体又はイボシデニブを 450 mg/kg の用量で、1 日 2 回 12 時間間隔で最長 15 日間経口投与した。最終投与 1、4、8 及び 12 時間後に腫瘍及び血漿を採取した。

変異型を有していない組織又は腫瘍組織において、野生型 IDH1/2 活性に対する IC_{90} に要するイボシデニブの C_{min} は 10,500 ng/mL 以上であると推定された（図 2.7:25）。変異型 IDH1（R132H）を有する HCT116 細胞に対する IC_{90} は算出できなかった。



Source: Report AG120-881-N-001_Figure 7.
Abbreviations: BID = twice daily; HCT-116 = human colorectal carcinoma cell line; HCT-$116^{+/+}$ = IDH1/2 wild type; HCT-$116^{+/R132H}$ = mutant IDH1; IC_{90} = concentration of drug that achieved 90% inhibition; IDH = isocitrate dehydrogenase; IVO = ivosidenib; WT = wild type.
Note: Plasma drug exposures are shown with the estimated IC_{90} for WT IDH inhibition marked by the dotted lines.

図 2.7:25　変異型及び野生型 IDH を有する腫瘍において総血漿中イボシデニブ曝露量で野生型 IDH を阻害しない可能性

変異型 IDH1（R132H）を有する腫瘍は野生型 IDH を有する腫瘍と比べて野生型 IDH 活性が低いことが示された。イボシデニブは野生型 IDH1 活性を阻害したが、変異型 IDH1（R132H）を有する HCT116 細胞の野生型 IDH1 活性に対する阻害作用は弱かった。測定したイボシデニブの野生型 IDH 活性阻害率には、*ex vivo* アッセイと *in vivo* アッセイとの間で強い相関性が示された（表 2.7:10）。

表 2.7:10　*In vivo* 及び *ex vivo* アッセイで測定した野生型 IDH 活性に対する阻害率（%）

Group	***In vivo*** **HCT116$^{+/+}$**	***Ex vivo*** **HCT116$^{+/+}$**	***In vivo*** **HCT116$^{+/R132H}$**	***Ex vivo*** **HCT116$^{+/R132H}$**
450 mg/kg Q12H AG-120	44	64	17	24

Source: Report AG120-881-N-001_Table 13.
Abbreviation: Q12H = once every 12 hours; HCT116 = human colorectal carcinoma cell line; HCT116$^{+/+}$ = IDH1/2 wild type; HCT116$^{+/R132H}$ = mutant IDH1; IDH = isocitrate dehydrogenase.

2 つ目の試験では雌 Nu/Nu マウスに野生型 HCT116 細胞又は変異型 IDH1（R132H）を有する HCT116 細胞を皮下に移植した。腫瘍体積が 200 mm^3 に達した後、3 つの投与群に無作為化し、媒体又はイボシデニブを 150 あるいは 450 mg/kg の用量で、12 時間間隔で 1 日 2 回経口投与した。最終投与 1 時間後にマウスに L-グルタミン-$^{13}C_5$, $^{15}N_2$ を 350 mg/kg の用量で腹腔内にボーラス投与した。L-グルタミン投与 10 分後に瀉血し、腫瘍及び肝臓試料を採取した。

変異型 IDH1（R132H）を有する HCT116 細胞は *in vivo* で 2-HG を産生した（2-HG 濃度は野生型で 1,100 ng/g であるのに対し、変異型では 180,000 ng/g）。イボシデニブは 2-HG 濃度を用量依存的に 150 及び 450 mg/kg 群でそれぞれ 96%及び 99%低下させた。

イボシデニブは野生型 HCT116 細胞において、150 及び 450 mg/kg 群で野生型 IDH 活性を用量依存的にそれぞれ 35%及び 44%低下させた。

イボシデニブは変異型 IDH1（R132H）を有する HCT116 細胞において、野生型 IDH も阻害したが、効力は弱かった。イボシデニブは 150 及び 450 mg/kg 群で野生型 IDH 活性をそれぞれ 10%及び 17%のみ低下させた。

要約を表 2.7:11 に示した。

表 2.7:11　野生型 IDH1 又は変異型 IDH1（R132H）を有する HCT116 細胞を異種移植したマウスおける血漿及び腫瘍中 PK/PD の要約

Model	Dose Group	Dose Level	Plasma Ivosidenib AUC_{0-24} (ng•h/mL)	Tumor Ivosidenib AUC_{0-24} (ng•h/g)	Tumor 2-HG AUC_{0-24} (ng•h/g)	% 2-HG Inhibition in Tumor
HCT116 R132H	Ivosidenib	450 mg/kg Q12H	74,800 ± 6,600	74,800 ± 10,200	50,400 ± 3,530	96
	Vehicle	Control	NA	NA	348,000*	NA
HCT116 WT	Ivosidenib	450 mg/kg Q12H	72,600 ± 3,550	58,200 ± 20,400	20,600 ± 1,500	NA
	Vehicle	Control	NA	NA	4,780*	NA

Source: Report AG120-881-N-001_Table 12.
Abbreviations: 2-HG = 2-hydroxyglutarate; AUC_{0-24} = area under the concentration × time curve from time 0 to 24 hours; HCT116 = human colorectal carcinoma cell line; IDH1 = isocitrate dehydrogenase-1; NA = not applicable; PK/PD = pharmacokinetic/pharmacodynamic; Q12H = once every 12 hours; R132H = arginine-132 mutated to histidine; WT =wild type.
* 測定した投与後 8 時間から 12 時間までの濃度－時間曲線下面積（AUC_{8-12}）に基づいて 0 時間から投与後 24 時間までの濃度－時間曲線下面積（AUC_{0-24}）を外挿した。

結論：

- 変異型を有していない組織又は腫瘍組織において、IDH1 活性を 90%阻害するために要する C_{min} は 10,500 ng/mL 以上であると推定された。ヒトでは血漿タンパク結合率がマウスよりも高いため、野生型 IDH1 を阻害するために要するイボシデニブの血漿中 C_{min} はより高くなると予想された。推奨用量である 500 mg/日を投与したときの定常状態での C_{max} は 6,551 ng/mL であった。このことから、イボシデニブを 500 mg/日の用量で投与したとき、野生型 IDH1 活性を 90%阻害するために十分な血漿中曝露量には達しないと予想される。

3.　副次的薬理試験

3.1　選択性：受容体結合

80 種類の受容体、イオンチャネル及び酵素のパネルにおいて、イボシデニブが結合及び酵素活性を阻害する可能性を評価した。

一般的なオフターゲットスクリーニングパネルには神経伝達物質受容体（ヒスタミン、ムスカリン、ニコチン、ノルエピネフリン、オピオイド及びセロトニン）、イオンチャネル（カルシウム、カリウム、ナトリウム及び γ-アミノ酪酸）、プロスタグランジン、脳及び腸ペプチド（アンジオテンシン、ブラジキニン、エンドセリン及びニューロペプチド）、酵素（コリンエステラーゼ及びシクロオキシゲナーゼ）並びにキナーゼ（プロテインキナーゼ A 及びプロテインキナーゼ Cα 活性型キナーゼ）を含めた。これらのアッセイに用いた方法の詳細は個々の報告書に示した（報告書【AG120-N-004-R1】、【2.6.3_3】項）。

検討した 80 種類の標的に対して、イボシデニブは 10,000 nmol/L（5,830 ng/mL に相当）の単一濃度でいずれも有意な阻害作用（50%以上と定義）を示さなかった。ヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での C_{max} は 6,551 ng/mL であり（【AG-120-C-001】試験）、イボシデニブの 91.6%が血漿タンパクに結合すると仮定すると非結合型 C_{max} は 550 ng/mL に相当する（報告書【AG120-N-028-R1】）。

4.　安全性薬理試験

イボシデニブの CV に及ぼす潜在的な影響を評価するため、*in vitro* 及び *in vivo* の非 GLP の安全性薬理試験を実施した。

また、ECG の測定は GLP 適用の反復投与毒性試験（サルに 28 及び 90 日間反復投与）において実施し、これらの結果は【2.6.6】（毒性試験の概要文）に記載した。

4.1　*In vitro* での安全性薬理試験

4.1.1　イボシデニブによる hERG 阻害の可能性を評価する QPatch（自動化電気生理）アッセイ

自動化 QPatch アッセイにおいて、hERG によりコードされている I_{Kr} をイボシデニブが阻害する可能性を評価するための試験を実施した。hERG 相補的デオキシリボ核酸（cDNA）を安定的に遺伝子導入し、hERG カリウムチャネルを発現させたチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株を用いた。陽性対照物質としてシサプリドを用いた。自動化 QPatch アッセイにおいて、hERG に対するイボシデニブの IC_{50} は 21,000 nmol/L（12,242 ng/mL に相当）及び 10,000 nmol/L（5,830 ng/mL に相当）であり、30,000 nmol/L（検討した最高濃度）での阻害率は 60%（報告書【AG120-N-005-R1】、【2.6.3_4】項）及び 69%（報告書【AG120-N-009-R1】、【2.6.3_4】項）であった。これらの値は臨床での非結合型 C_{max} の 550 ng/mL と比べ大きく上回った。

4.1.2　心拍数で補正した QT 間隔延長と関連していることが知られている電流を阻害する可能性を評価するためのマニュアルパッチクランプアッセイ

QTc 延長と関連していることが知られている 4 種類の電流（hNaV1.5 ナトリウムチャネル、hCaV1.2 カルシウムチャネル並びに hKvLQT1/hminK 及び hERG カリウムチャネル）をイボシデニブが阻害する可能性をマニュアルパッチクランプアッセイにより評価した。hKvLQT1/hminK 及び hERG カリウムチャネル発現ヒト胎児腎臓（HEK）-293 細胞並びに hNaV1.5 ナトリウムチャネル及び hCaV1.2（α1C/β2a/α2δ1）カルシウムチャネル発現 CHO 細胞を用いた。陽性対照物質にはリドカイン（hNaV1.5）、ニフェジピン（hCaV1.2）、クロマノール 293B（hKvLQT1/hminK）及びテルフェナジン（hERG）を用いた。検討した 4 種類のイオンチャネルに対する IC_{50} を表 4.1:12 に示した。マニュアルパッチクランプアッセイにおけるイボシデニブの hERG に対する IC_{50} は 12,600 nmol/L であり（検討した最高濃度である 30,000 nmol/L で 72%の阻害）、hCaV1.2、hNaV1.5

及び hKvLQT1/hminK に対する IC_{50} は 30,000 nmol/L 超であった（報告書【AG120-N-054-R1】、【2.6.3_4】項）。

表 4.1:12　イオンチャネルに対する阻害作用の IC_{50}

Current	Ivosidenib IC_{50} (nmol/L)
hERG (I_{Kr})	12,600[1,2]
hCaV1.2 (α1C/β2a/α2δ1)	>30,000[3]
hNaV1.5	>30,000[3]
hKvLQT1/hminK	>30,000[3]

Source: Report AG120-N-054-R1
Abbreviations: C_{max} = maximum (peak) drug concentration; hERG = human *ether-à-go-go* related gene; IC_{20} = concentration of drug that achieved 20% inhibition; IC_{50} = concentration of drug that achieved half maximal inhibition; I_{Kr} = rapidly activating delayed rectifier potassium current.
1: hERG に対する IC_{20} の値は 3,100 nmol/L であった。
2: 7,346 ng/mL に相当。ヒトにおける非結合型 C_{max} は 550 ng/mL である。
3: 17,489 ng/mL 超に相当。ヒトにおける非結合型 C_{max} は 550 ng/mL である。

4.2　*In vivo* での安全性薬理試験

4.2.1　イボシデニブ：カニクイザルにおける経鼻胃内投与による心血管系に及ぼす影響

ラジオテレメトリー装置を装着した覚醒雄カニクイザルにおいて、イボシデニブの単回投与による動脈圧、心拍数、体温及び第 II 誘導 ECG 波形に及ぼす影響を評価する目的で非 GLP 試験を実施した（試験番号【AG120-N-053-R1】、【2.6.3_4】項）。

各群 3 例で 4 群の雄カニクイザルに対照群の媒体又は[redacted]イボシデニブを 0、15、45 及び 135 mg/kg の用量で経鼻胃内チューブにより投与した。

本試験では媒体として 10%ビタミン E（D-α-トコフェロールポリエチレングリコール 1000 コハク酸）／1% HPMCAS（MF グレード）／0.1%シメチコン溶液を用いた。媒体群には、添加剤である HPMCAS を高用量群（135 mg/kg）で用いた濃度と同程度の濃度で用いた。心拍数、動脈圧（収縮期、拡張期及び平均動脈圧）、脈圧、体温及び ECG 波形［PR、QRS、RR 及び QTcB の ECG 上の間隔に基づく］をイボシデニブ投与約 1 時間前から投与後約 24 時間にわたり継続的に測定した。一般状態観察を投与約 4 及び 24 時間後に実施した。

イボシデニブを 0、15、45 及び 135 mg/kg の用量で単回経口（経鼻胃内チューブ）投与したとき、カニクイザルの一般状態に影響は認められなかった。イボシデニブを 45 及び 135 mg/kg の用量で単回投与したとき、QT 間隔及び QTcB の延長が認められた。イボシデニブを 45 及び 135 mg/kg の用量で単回投与したとき、フェーズ 2（投与後 7～18 時間）の全般的解析において、QT 延長が認められた［それぞれ 21.2%（58.0 msec）及び 11.7%（32.1 msec）、表 4.2:13］。イボシデニブを 135 mg/kg の用量で投与したとき、フェーズ 1（投与後 1～6 時間）の全般的解析において QTcB 延長が認められ［7.8%（26.4 msec）］、45 及び 135 mg/kg の用量で投与したとき、フェーズ 2 の全般的解析において QTcB 延長が認められた［それぞれ 8.2%（30.4 msec）及び 12.4%

（45.7 msec）、表 4.2:13］。獣医の心臓学担当者によるその後の再評価により、イボシデニブはQTの不安定性を誘発しないと判断した。これらの QT 間隔及び QTcB 延長は変化の程度及び用量反応性の存在に基づき、イボシデニブに関連した影響であると考えられる。イボシデニブを 45 又は 135 mg/kg の用量で投与したとき、血行動態パラメーター、PR、QRS、RR 間隔又は ECG 波形にイボシデニブに関連した変化は認められなかった。15 mg/kg の用量では、心拍数、動脈圧（収縮期、拡張期又は平均動脈圧）、脈圧、体温、ECG 間隔（PR、QRS、RR、QT 又は QTcB）又は ECG 波形に影響は認められなかった。

GLP 適用のサルを用いた 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験において、45 mg/kg の用量で 1 日 2 回投与のスケジュールで投与したときの初回投与後の TK データを用いてヒトでの安全性を検討した（【2.6.6_3.8】及び【2.6.6_3.9】項）。28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験において、45 mg/kg の用量で投与したときの 0 日目の C_{max} 値はそれぞれ 9,720 及び 8,620 ng/mL であった。この値はサルにおけるイボシデニブの血漿タンパク結合率が 81.7%であると仮定すると（報告書【AG120-N-028-R1】）非結合型 C_{max} としては 1,577 ng/mL 以上に相当し、非結合型 C_{max} の曝露量はヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での非結合型 C_{max} の曝露量の 2.9 倍以上であることが示されている（【AG-120-C-001】試験）。

表 4.2:13　イボシデニブに関連した ECG 間隔データの対照群に対する変化率（%）の要約

Phase	Time (hours)	QT			QTcB		
		15 mg/kg	45 mg/kg	135 mg/kg	15 mg/kg	45 mg/kg	135 mg/kg
1	1-6 (overall)	NC	NC	NC	NC	NC	↑7.8%
2	7-18 (overall)	NC	↑21.2%	↑11.7%	NC	↑8.2%	↑12.4%

Source: Report AG120-N-053-R1
Abbreviations: ECG = electrocardiogram; NC = no change; QTcB= QT interval corrected for heart rate using Bazett's formula.

結論：

- 雄カニクイザルにイボシデニブを 15 mg/kg の用量で単回強制経口投与したとき、心拍数、血圧（収縮期、拡張期又は平均動脈圧）、脈圧、体温、ECG 間隔又は ECG 波形に影響は認められなかった。
- イボシデニブを 45 及び 135 mg/kg の用量で単回強制経口投与したとき、QT 及び QTcB 延長が認められたが、QT 不安定性は認められなかった。

4.2.2　イボシデニブ：カニクイザルを用いた反復投与毒性試験における心血管系に及ぼす影響の評価

GLP 適用の 28 日間反復投与毒性試験において、カニクイザルにイボシデニブを 0、30、90 及び 270 mg/kg/日（0、15、45 及び 135 mg/kg/回）の用量で 1 日 2 回（約 12 時間間隔）経鼻胃内

チューブにより投与した（報告書【AG120-N-001-R1】、【2.6.6_3.8】項）。ECG は試験 25 又は 26 日目に測定した。

270 mg/kg 日群の雌雄各 1 例のサルに投与に関連した心室性二段脈が認められたが、病理組織学的又は電解質との関連は認められなかった。回復性は評価しなかった。認められた心室性二段脈は hERG の阻害に起因した所見ではないと考えられ、本所見の原因は明確ではない。影響が認められた雄及び雌の試験 27 日目の C_{max} 値はそれぞれ 16,600 及び 15,900 ng/mL であり、これらの値はヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での非結合型 C_{max} の曝露量（AG-120-C-001 試験）の 5 倍以上に相当する。単回投与による CV に及ぼす影響を検討することを目的とした試験又は GLP 適用のサルを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験では、同程度の曝露量に達したにもかかわらず、心室性二段脈は認められなかった。

270 mg/kg/日群の雌サルにおいて、統計学的に有意な QTcB 延長（4.77%）が認められたが、本所見が認められた時点でのイボシデニブ投与との関連は明確ではない。後ろ向き統計解析において、本試験での最低用量（30 mg/kg/日）で個々の雌サルに QTcB 延長の可能性が示された。影響が認められた雌サルの 27 日目での C_{max} の最低値は 2,120 ng/mL であり、この値はヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での非結合型 C_{max} の曝露量の 0.7 倍に相当する（AG120-C-001 試験）。

GLP 適用の 3 カ月間反復投与毒性試験において、カニクイザルにイボシデニブを 0、30、90 及び 180 mg/kg/日（15、45 及び 90 mg/kg/回）の用量で 1 日 2 回（約 12 時間間隔）経鼻胃内チューブにより投与した（報告書【AG120-N-059-R1】、【2.6.6_3.9】項）。ECG は試験 12 週目に測定した。

いずれの用量においても心拍数、RR 間隔、PR 間隔、QRS 時間、QT 間隔又は QTcB の平均値に統計学的に有意な影響は認められなかった。不整脈は認められなかったが、90 mg/kg/日群（雄の 1 例）及び 180 mg/kg/日群（雄の 1 例及び雌の 2 例）の個々のサルにおいて、投与に関連している可能性が考えられる QTcB の延長（30 msec 超）が認められた。QTcB 延長の回復性を評価したサルの 1 例（試験 12 週目に QTcB 延長が認められた 180 mg/kg/日群の雄サル）では、4 週間の回復期間終了時に QTcB の延長は認められなかった。

影響が認められたサルにおける 90 日目の C_{max} の最低値は 3,990 ng/mL であり、この値はヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での非結合型 C_{max} の曝露量の 1.37 倍以上に相当する（【AG-120-C-001】試験）。

QTc 延長は hERG に対する IC_{50} 値未満の薬剤濃度で起こり、12%～30%の阻害濃度で起こることが知られている[7)]。hERG に対するイボシデニブの IC_{20} は約 3,100 nmol/L であることから、カニクイザルにおいて認められた QTcB 延長は hERG 阻害の所見と一致する。

4.2.3　イボシデニブ：Sprague Dawley ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験における中枢神経系及び呼吸系に関連した一般状態に及ぼす影響

すべての単回及び反復投与毒性試験での一般状態観察及び詳細な身体的検査の一部として、中枢神経系及び呼吸系への影響を日常的に評価した。単回及び反復投与毒性試験において、イボシデニブによる中枢神経系及び呼吸系に関連する一般状態観察及び詳細な身体的検査の所見を表

4.2:14 に示した。要約すると、イボシデニブによる呼吸系及び中枢神経系に関連する一般状態観察及び詳細な身体的検査の所見は、ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験で忍容性を示さない用量で認められた呼吸系の所見を除いて認められなかった。これらの所見は全般的にラットの衰弱した状態に起因した二次的な影響であり、早期の死亡の原因にはならないと考えられる。

表 4.2:14　イボシデニブの毒性試験で認められた呼吸系及び中枢神経系の所見

Study Description	Species / Strain	Report No.	Respiratory System and Central Nervous System Findings
An Escalating-Dose Oral (Nasogastric) Dose Range-Finding Study of AGI-16678 in Cynomolgus Monkeys	Cynomolgus monkey	[AG120-N-040-R1]	No observations up to the highest exposure tested (single dose; 250 mg/kg; ivosidenib free form; males only): AUC_{0-12} 214,000 ng•h/mL; C_{max} 24,600 ng/mL
A 7-day (Twice Daily Dosing) Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of AGI-16678 in Sprague Dawley Rats	Sprague Dawley rat	[AG120-N-041-R1]	No observations up to the highest exposure tested (500 mg/kg/day; ivosidenib free form; males only): Day 0 AUC_{0-12} 96,100 ng•h/mL; C_{max} 8,890 ng/mL Day 4 AUC_{0-12} 35,100 ng•h/mL; C_{max} 5,210 ng/mL
A 7-day (Twice Daily Dosing) Oral Gavage Tolerability Study of AGI-16678 in Sprague Dawley Rats	Sprague Dawley rat	[AG120-N-044-R1]	No observations up to the highest exposure tested (2,000 mg/kg/day: ivosidenib [redacted] and ivosidenib free form) Ivosidenib [redacted] Day 0: M/F AUC_{0-12} 116,000/210,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 14,900/23,000 ng/mL Ivosidenib [redacted] Day 6: M/F AUC_{0-12} 84,600/120,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 8,430/15,600 ng/mL Ivosidenib free form Day 0: M/F AUC_{0-12} 171,000/135,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 18,700/20,000 ng/mL Ivosidenib free form Day 6: M/F AUC_{0-12} 35,800/81,300 ng•h/mL; M/F C_{max} 4,420/10,000 ng/mL
A 28-Day (Twice Daily Dosing) Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of AG-120 in Sprague Dawley Rats with a 14-Day Recovery Period	Sprague Dawley rat	[AG120-N-002-R1]	2,000 mg/kg/day (ivosidenib [redacted]) was not tolerated. Cause of early mortality not related to respiratory or central nervous system findings. In early death animals: Decreased respiration rate, shallow respiration, gasping. In both non-surviving and surviving animals - rales, labored respiration in a single male on a single day. Day 0 M/F AUC_{0-12} 193,000/204,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 19,300/19,800 ng/mL Day 27 M/F AUC_{0-12} 69,500/101,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 8,850/18,100 ng/mL No findings at next highest dose level of 500 mg/kg/day (ivosidenib [redacted]).

Study Description	Species / Strain	Report No.	Respiratory System and Central Nervous System Findings
			Day 0 M/F AUC_{0-12} 161,000/171,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 15,100/16,400 ng/mL Day 27 M/F AUC_{0-12} 30,100/59,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 5,700/9,150 ng/mL
A 3-Month (Twice Daily) Oral (Gavage) Toxicity and Toxicokinetic Study of AG-120 in Sprague Dawley Rats with a 28-Day Recovery Period	Sprague Dawley rat	[AG120-N-058-R1]	No findings at the highest exposure tested (500 mg/kg/day; ivosidenib [redacted]): Day 0 M/F AUC_{0-12} 173,000/153,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 17,300/14,600 ng/mL Day 91 M/F AUC_{0-12} 29,000/62,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 4,650/9,710 ng/mL
A 7-Day (Twice Daily) Oral (Nasogastric) Dose Range-Finding Study of AGI-16678 in Cynomolgus Monkeys	Cynomolgus monkey	[AG120-N-042-R1]	No observations up to the highest exposure tested (200 mg/kg/day; ivosidenib free form; males only): Day 0 AUC_{0-12} 133,000 ng•h/mL; C_{max} 14,200 ng/mL Day 6 AUC_{0-12} 265,000 ng•h/mL; C_{max} 24,900 ng/mL
A 7-Day (Twice Daily) Oral (Nasogastric) Tolerability Study of AGI-16678 in Female Cynomolgus Monkeys	Cynomolgus monkey	[AG120-N-043-R1]	1,000 mg/kg/day (ivosidenib [redacted]; females only) was not tolerated. Cause of early mortality not related to respiratory or central nervous system findings. No observations: Day 0 AUC_{0-12} 222,000 ng•h/mL; C_{max} 21,700 ng/mL Day 6 500 mg/kg/day AUC_{0-12} 275,000 ng•h/mL; C_{max} 25,800 ng/mL (no toxicokinetic data at Day 6 for 1,000 mg/kg/day)
A 7-Day (Twice Daily) Oral (Nasogastric) Tolerability Study of AG-120 in Female Cynomolgus Monkeys	Cynomolgus monkey	[AG120-N-007-R1]	No observations up to the highest dose tested (1,000 mg/kg/day; ivosidenib [redacted]). Toxicokinetic data not collected.
A 28-Day (Twice Daily) Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AG-120 in Cynomolgus Monkeys with a 14-Day Recovery Period	Cynomolgus monkey	[AG120-N-001-R1]	No observations up to the highest exposure tested (270 mg/kg/day; ivosidenib [redacted]): Day 0 M/F AUC_{0-12} 159,000/151,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 15,400/15,300 ng/mL Day 27 M/F AUC_{0-12} 235,000/109,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 24,200/12,100 ng/mL
A 3-Month (Twice Daily) Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic	Cynomolgus monkey	[AG120-N-059-R1]	No observations up to the highest exposure tested (180 mg/kg/day; ivosidenib [redacted]):

Study Description	Species / Strain	Report No.	Respiratory System and Central Nervous System Findings
Study of AG-120 in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period			Day 0 M/F AUC_{0-12} 114,000/121,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 11,000/11,900 ng/mL Day 90 M/F AUC_{0-12} 127,000/140,000 ng•h/mL; M/F C_{max} 14,500/15,000 ng/mL

Abbreviations: AGI-16678 = ivosidenib; AG-120 = ivosidenib; AUC_{0-12} = area under the concentration × time curve from time 0 to 12 hours; C_{max} = maximum (peak) drug concentration; F = female; [redacted]; M = male; [redacted].

5.　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

6.　考察及び結論

イボシデニブの安全性、PK/PD 及び活性を評価し、変異型 IDH1 を有する AML 患者の治療に用いる承認申請の妥当性を担保するため、一連の探索的非臨床薬理試験を実施した。

IDH ファミリータンパク質には IDH1、IDH2 及び IDH3 の 3 つのアイソフォームが存在する。IDH1 及び IDH2 において、悪性腫瘍に関連した変異が特定されている [8)]。変異型 IDH1 は α-KG を 2-HG へ変換させ、2-HG は造血器腫瘍及び非造血器腫瘍の両方において、細胞分化を阻害し、腫瘍形成を促進させる [9)-10)-11)]。

最も多い 2 種類の変異型である IDH1（R132C）及び IDH1（R132H）を有するモデルを使用したセルベースアッセイ、*ex vivo* アッセイ及び動物試験において、2-HG 産生阻害の影響を理解するための多くの試験を実施した。これらの試験の目的は、複数の試験系でイボシデニブと 2-HG の用量反応性を理解し、変異型 IDH1 を有する白血病モデルの分化促進に対するイボシデニブの作用を評価することである。生化学的アッセイにおいて、変異型 IDH1 を有する細胞の分化の阻害は 2-HG 濃度を一貫して増加させ、このメカニズムは検討したすべての変異型に共通である。

イボシデニブは変異型 IDH1（R132C/H/S/G/L）及び野生型 IDH1 の酵素に対する強力な阻害剤であり、複数の IDH2 アイソフォームと比べて IDH1 に対して高い選択性を有する。イボシデニブは変異型 IDH1（R132）に対して速い平衡速度を示し、一方、野生型 IDH1 に対しては遅く結合する阻害剤であることが示されている。変異型 IDH1 の R132C、R132H 又は R132S を内因性に発現している又は過剰発現させた細胞において、2-HG 産生阻害作用の IC_{50} の範囲は 2～20 nmol/L であった。イボシデニブは μmol/L の濃度で IDH2 アイソフォームに対して阻害作用を示さなかった。遺伝的に野生型 IDH1 タンパク質を欠損しているセルベースのモデル（BT142 ニューロスフェア）を用いて、イボシデニブは野生型 IDH2 活性に作用を有していないことが示されている。セルベースアッセイ及び *ex vivo* での腫瘍の解析において、変異型 IDH1 の対立遺伝子の存在が全般的な野生型 IDH1 の酵素活性を減弱させることが示されている。イボシデニブの変異型 IDH1（R132H）阻害作用による野生型 IDH1 活性の回復は認められなかった。

変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにおいて、イボシデニブによる変異型 IDH1（R132H）に対する濃度依存的な阻害が認められ、2-HG 産生阻害率の最大値は 85%以上であった。変異型 IDH1（R132H）を阻害する機能的影響及びそれによる細胞内 2-HG 濃度低下についても変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにおいて評価した。これらの評価結果から、イボシデニブは変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞の増殖因子非依存的な増殖を阻害することが示されている。また、変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルにおいて、イボシデニブは細胞分化の阻害を回復させ、ヘモグロビンの再発現を誘導することが示されている。変異型 IDH1（R132C）又は IDH1（R132H）を有する AML 患者から採取した初代細胞において、イボシデニブの効果を理解するために *ex vivo* アッセイを実施した。変異型 IDH1（R132C）及び IDH1（R132H）を有する患者から採取した試料において、イボシデニブの曝露後、2-HG 濃度は 99%超低下し、細胞分化の誘導が認められた。同時に、これらの結果は変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデル系で得られたデータと一致しており、裏付ける結果となった。内因性変異型 IDH1（R132C）を有する軟骨肉腫のモデルとして一般的に用いられている HT1080 細胞を皮下に移植したマウス異種移植モデルを用いた一連の *in vivo* 薬理試験により、イボシデニブの血漿及び腫瘍組織の両方における 2-HG 産生阻害作用の効力を確認した。これらの試験において、イボシデニブを経口投与した後、血漿及び腫瘍中 2-HG 濃度は急速に低下し、低下作用はイボシデニブの用量及び曝露量依存的であった。イボシデニブは 50 及び 150 mg/kg の用量で反復投与（12 時間間隔）することにより、血漿及び腫瘍中の 2-HG 濃度を 95%超低下させた。イボシデニブを 150 mg/kg の用量で 3 回反復投与した後、8 時間後までに腫瘍中 2-HG 濃度低下は 99%の最大に達し、12 時間の投与間隔にわたり持続した。

HT1080 細胞を皮下に移植したマウス異種移植モデルでの試験に加えて、AML 患者から採取した腫瘍細胞を移植したマウス異種移植モデル（PDX）において、2 つの追加の PK/PD 試験を実施した。試験デザインは類似していたが、2 種類の異なる AML PDX モデル［1 つは変異型 IDH1（R132C）及びもう 1 つは変異型 IDH1（R132H)］を用いて試験を実施し、検討した両方の初代 AML モデルにおいて、両試験でイボシデニブは 50 及び 150 mg/kg の用量で脾臓中 2-HG 濃度を用量依存的に低下させ、最大で 90%超低下させた。同様に、変異型 IDH1（R132H）を有する AML PDX モデルを用いた試験において、イボシデニブは血漿及び骨髄中 2-HG 濃度を最大で 98%超低下させた。両試験において、イボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で反復投与した後、腫瘍中 2-HG 濃度は最終投与後 4 時間以内に最大に低下した。2 種類の初代 AML モデルのそれぞれにおいて、腫瘍中 2-HG 濃度低下は 12 時間の投与間隔にわたり、94%超で持続した。また、変異型 IDH1（R132H）を有するヒト初代腫瘍を移植したマウスモデルの末梢血での持続的な 2-HG 濃度低下作用に疾病負荷の低下との相関は認められなかったが、2 種類の異なる骨髄分化マーカーであるヒト CD14 及び CD15 の発現増加と正の相関が認められた。

AML PDX モデルにおいて、イボシデニブ投与に対する反応として、異種移植マウスの生存にばらつきが認められた。マウスは成熟ヒト細胞を体内から完全に除去する能力を有していないため、生存のばらつきは、分化の状態及びイボシデニブに対する反応における細胞増殖能の感受性にかかわらず、直接的にヒト $CD45^+$ AML の増殖に反映された。ヒト骨髄接着分子はマウスの内

皮細胞受容体に適合しないため、AML 細胞を用いたマウス異種移植モデルでは正常の白血球漏出又はクリアランスは起こらない。そのため、これらのモデルにおける白血球数はヒトでの病態生理と比べても高く紛らわしい。結果として、AML PDX モデルにおいて、変異型 IDH 阻害、2-HG 産生阻害及び白血病細胞の分化誘導の関連が示されたが、このことは白血病細胞による全般的な負荷に対する影響又は白血病細胞を除去する患者の能力を正確に反映していない。したがって、これらの非臨床試験結果を対応する臨床に当てはめることは適切ではないと考えられる。

Ex vivo 及び *in vivo* の非臨床試験は変異型 IDH1 を有する AML において、2-HG 産生阻害と骨髄分化との関連性を裏付けている。また、野生型 IDH1 に対する阻害との関連では、骨髄分化に対する同様の作用は認められなかった。骨髄分化の表現型は個々の患者内及び患者間の両方で「ロックされた」状態の骨髄細胞の亜集団の割合により変動すると考えられる。さらに、2-HG 産生が阻害された後の異なる各集団の最終的な分化の状態も変動すると考えられる。

要約すると、これらの AML PDX モデルを用いた試験から、イボシデニブは *in vivo* において、ヒト AML 細胞における 2-HG 産生を非常に強力に阻害し、ヒト初代 AML 細胞において、イボシデニブによる 2-HG 産生阻害は、*in vivo* での分化誘導を促進させることが裏付けられている。変異型 IDH1（R132H）又は野生型 IDH1 及び IDH2 の両方を有する HCT116 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて、イボシデニブの曝露量と IDH1 及び野生型 IDH2 活性阻害との間の PK/PD の関連を評価した。イボシデニブの変異型 IDH1（R132H）阻害作用による野生型 IDH1 活性の回復は認められなかった。変異型を有していない組織又は腫瘍組織において、野生型 IDH1 活性に対する IC_{90} に要する血漿中イボシデニブの C_{min} は 10,500 ng/mL 超であった。イボシデニブの推奨用量である 500 mg/日（C2D1）を投与したときの定常状態での C_{max} は 6,551 ng/mL であり（【AG-120-C-001】第 I 相試験）、このように臨床での曝露量は野生型 IDH1 を阻害する IC_{90} には達しなかった。

アザシチジンは 2008 年に EU、2021 年に本邦において AML に対して承認されており、アザシチジンのヒトでの PD は十分に知られている。

変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 AML 細胞において、イボシデニブとアザシチジンとの併用は、いずれかの単独と比べて、ヘモグロビン量及び分化マーカー発現の増加により測定したとき、細胞の分化を促進させるとともに、細胞死を増強した。

【AG-120-C-009】試験において、未治療の AML 患者に併用したとき、アザシチジンはイボシデニブの効果に影響を示さなかった。

80 種類の受容体、イオンチャネル及び酵素のパネルにおいて、イボシデニブが結合及び酵素活性を阻害する可能性を 10,000 nmol/L（5,830 ng/mL に相当）の濃度で評価した。イボシデニブは選択的な分子であり、検討した標的に対していずれも 50%を超える阻害作用を示さなかった。

イボシデニブが CV に影響を及ぼす可能性を評価するため、QTc 延長と関連していることが知られている電流に対する阻害作用を評価するための非 GLP の自動化及びマニュアルパッチクランプアッセイ、非 GLP のカニクイザルを用いた単回投与による CV への影響を検討する安全性薬理試験並びに ECG を評価した GLP 適用のカニクイザルを用いた 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験（【2.6.6_3.8】及び【2.6.6_3.9】項）を含む複数の試験を実施した。

マニュアルパッチクランプアッセイでの IC_{50} は 12,600 nmol/L であった結果と比較すると、自動化 QPatch アッセイでの IC_{50} は 21,000 及び 10,000 nmol/L であった。結果の相違は 1）日々のアッセイでのばらつき、2）イボシデニブのバッチ、3）アッセイの計画書の 3 つのうちの 1 つ又は 2 つ以上の理由であると考えられる。すべてのアッセイから、hERG 電流阻害の可能性が示されている。

マニュアルパッチクランプアッセイにおいて、イボシデニブは I_{Kr}（hERG）を阻害し、IC_{20} 及び IC_{50} 値はそれぞれ 3,100 nmol/L（1,807 ng/mL に相当）及び 12,600 nmol/L（7,346 ng/mL に相当）であった。ヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での C_{max} は 6,551 ng/mL であり（【AG-120-C-001】試験）、この値はイボシデニブの血漿タンパク結合率を 91.6%であると仮定すると（報告書【AG120-N-028-R1】）、非結合型 C_{max} は 550 ng/mL に相当する。このことは、IC_{50} 値での安全域は臨床での非結合型 C_{max} の平均値の 13 倍であることを示している。

GLP 適用のカニクイザルを用いた 28 日間（30 及び 270 mg/kg/日で）及び 3 カ月間（90 及び 180 mg/kg/日で）反復投与毒性試験において、約 12 時間間隔で 1 日 2 回投与したとき、個々のサルにイボシデニブに関連した可能性のある（30 msec 以上）又は可能性の高い（60 msec 以上）と考えられる QTcB 延長 [12]が認められた（表 6:15）。QTcB 延長を示したときの C_{max} の最低値は 2,120 ng/mL であり、このときの非結合型 C_{max} 値はヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での非結合型 C_{max} の曝露量（ヒトへの推奨 1 日用量である 500 mg/日）の 0.7 倍以上に相当する。また、非 GLP のサルを用いた単回投与による CV へ及ぼす影響を検討する安全性薬理試験において、QTcB 延長が 45 及び 135 mg/kg の用量で認められ、このときの C_{max} の群平均値は 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験における個々の動物での値と同程度であると予想された。サルを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験での高用量を投与した雄 1 例において、QTcB 延長作用の回復性を評価し、QTcB は 28 日間の回復期間の後に、ベースラインまで回復した（報告書【AG120-N-059-R1】）。

QTc 延長は hERG 阻害の IC_{50} 値未満の薬剤濃度で起こり、12%～30%の阻害作用を示す低い濃度で起こることが知られている [7]。hERG に対するイボシデニブの IC_{20} は約 3,100 nmol/L であることから、カニクイザルにおいて認められた QTcB 延長は hERG 阻害の所見と一致する。

表 6:15　AG-120-C-001 第 I 相臨床試験におけるヒトでの曝露量と比較した GLP 適用の 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験で認められたイボシデニブに関連する可能性のある又は可能性の高い QTcB 延長を示した個々のサルにおけるイボシデニブの C_{max} 値

Species	Study	Gender	QTcB prolongation (msec)[1, 2]	Dose (mg/kg/day)	Individual C_{max} (ng/mL)	Free C_{max} (nmol/L)[3]	Margin to Mean Steady State C_{max} in Humans
Monkey	28-day	Female	34	30	2,120	665	0.7
	28-day	Female	31	270	8,760	2,800	2.8
	28-day	Female	36	270	9,980	3,100	3.2
	3-month	Male	44	90	3,990	1,300	1.3
	3-month	Male	75[4]	180	20,000	6,300	6.5
	3-month	Female	52	180	11,400	3,600	3.7
	3-month	Female	46	180	21,600	6,800	7.0

Species	Study	Gender	QTcB prolongation (msec)[1, 2]	Dose (mg/kg/day)	Individual C_{max} (ng/mL)	Free C_{max} (nmol/L)[3]	Margin to Mean Steady State C_{max} in Humans
Human[5]	Phase 1	Male and Female	NA	500 mg, QD	6,551	944	NA

Source: Reports AG120-N-001-R1 and AG120-N-059-R1, and AG120-C-001 Clinical Study Report
Abbreviations: AML = acute myeloid leukemia; AUC = area under the concentration × time curve; C_{max} = maximum (peak) drug concentration; C_{min} = minimum (trough) drug concentration; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; QD = once daily; QTcB = QT interval corrected for heart rate using Bazett's formula.

1） QTcB 延長は個々のサルのベースラインと比較した投与期間終了時付近（28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験においてそれぞれ 26 日目及び 12 週目）に得られた 30 秒間の ECG に基づいた。
2） イボシデニブに関連した可能性のある及び可能性の高い QTcB 延長はそれぞれ 30 及び 60 msec 以上の延長と定義した [12]。
3） 非結合型分画の C_{max} の算出は 10,000 nmol/L の濃度でサルでのタンパク結合率が 81.7%、ヒトでのタンパク結合率が 91.6%であることに基づいた。
4） 28 日間の回復期間の後に QTcB 延長作用の回復性が認められた。この結果は回復性を評価したサルのみのものである。
5） AG120-C-001（第 I 相臨床試験）、500 mg の用量で投与したときの C2D1 での曝露量。AG120-C-001 試験は進行性造血器腫瘍患者において、500 mg/日の用量で経口投与により実施した。この用量及び投与経路は申請する未治療の AML の適応症（イボシデニブとアザシチジンの併用療法）での用量及び投与経路と同様であり、そのため、AG120-C-001 の治験総括報告書に記載されている $AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} 値は未治療の AML（イボシデニブとアザシチジンの併用療法）の適応症に対する安全域の設定に使用可能と考えられる。未治療の AML 患者を対象としてイボシデニブとアザシチジンの併用療法を評価した AG120-C-009 試験において、イボシデニブの曝露量（AUC、C_{max} 及び C_{min}）の幾何平均値は AG-120-C-001 試験で得られた値と統計学的に有意な差は認められなかった。

GLP 適用のサルを用いた 28 日間反復投与毒性試験での ECG の評価から、高用量を投与した雄及び雌の各 1 例（270 mg/kg/日）において投与に関連した心室性二段脈が認められたが、病理組織学的な又は電解質との関連は認められなかった。回復性は評価しなかった。認められた心室性二段脈は hERG の阻害に起因した所見ではないと考えられ、本所見の原因は明確ではない。影響が認められた雄及び雌の 27 日目の C_{max} 値はそれぞれ 16,600 及び 15,900 ng/mL であり、これらの値はヒトに 500 mg/日を投与したときの C2D1 での非結合型 C_{max} の曝露量（【AG-120-C-001】試験）の 5 倍以上に相当する。単回投与による CV に及ぼす影響を検討することを目的とした試験又は GLP 適用のサルを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験では、同程度の曝露量に達したにもかかわらず、心室性二段脈は認められなかった。これらの CV 機能的変化のヒトでの意義については【2.7.4_2】項に考察を記載した。*In vitro* での hERG 電流阻害及び QTc 延長の可能性については、申請製品の特性を要約する資料に記載する予定である。

GLP 適用のラット及びサルを用いた 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験において、中枢神経系又は呼吸系の一般状態に影響は認められなかった。

非臨床薬理試験の結果から、イボシデニブは変異型 IDH1 を有する未治療の AML（アザシチジンとの併用療法）に対する承認申請の妥当性を担保可能な非臨床薬理プロファイルを有することが示された。

7. 参考文献

1) ICH S7A: Note for guidance on safety pharmacology studies for human pharmaceuticals. 2001. [PE0067466]
2) Sasaki M, Knobbe CB, Munger JC, et al. IDH1(R132H) mutation increases murine haematopoietic progenitors and alters epigenetics. Nature. 2012;488(7413):656-9. [PE0162784]
3) Yen K, Chopra VS, Tobin E, et al. Poster: Functional characterization of the ivosidenib (AG 120) and azacitidine combination in a mutant IDH1 AML cell model. Cancer Res. 2018a;78(13 Supplement):4956. [PE0163679]
4) Yen K, Chopra VS, Tobin E, et al. Abstract 4956: Functional characterization of the ivosidenib (AG-120) and azacitidine combination in a mutant IDH1 AML cell model. Cancer Res. 2018b;78(13 Supplement):4956. [PE0163677]
5) Mitelman F. International system for cytogenetic nomenclature. guidelines for cancer cytogenetics. Supplement to: an international system for human cytogenetic nomenclature. New York: Basel. 1995. [PE0163369]
6) Norol F, Vitrat N, Cramer E, et al. Effects of cytokines on platelet production from blood and marrow $CD34^{+}$ cells. Blood. 1998;91(3):830-43. [PE0162783]
7) Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, et al. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and Torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. Cardiovasc Res. 2003;58(1):32-45. [PE0035382]
8) Yen KE, Bittinger MA, Su SM, et al. Cancer-associated IDH mutations: biomarker and therapeutic opportunities. Oncogene. 2010;29(49):6409-6417. [PE0162971]
9) Chowdhury R, Yeoh KK, Tian YM, et al. The oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases. EMBO Rep. 2011;12(5):463-469. [PE0163011]
10) Koivunen P, Lee S, Duncan CG, et al. Transformation by the (R)-enantiomer of 2-hydroxyglutarate linked to EGLN activation. Nature. 2012;483(7390):484-488. [PE0163266]
11) Xu W, Yang H, Liu Y, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α-ketoglutarate-dependent dioxygenases. Cancer Cell. 2011;19(1):17-30. [PE0162978]
12) Morganroth J. Focus on issues in measuring and interpreting changes in the QTc interval duration. Eur J Heart Suppl. 2001;3(Suppl K):K105-K111. [PE0162787]

8. 図表

図表は本文中に記載した。

ティブソボ錠 250mg

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.3　薬理試験概要表

日本セルヴィエ株式会社

目次

略語・略号一覧 3
1. 薬理試験：一覧表 5
2. 効力を裏付ける試験 10
3. 副次的薬理試験 19
4. 安全性薬理試験 20
5. 薬力学的薬物相互作用試験 22
6. 参考文献 23

略語・略号一覧

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
2-HG	2-Hydroxyglutarate	2-ヒドロキシグルタル酸
α-KG	α-Ketoglutarate	α-ケトグルタル酸
AGI-16678	Ivosidenib; AG-120	イボシデニブ、AG-120
AML	Acute myeloid leukemia	急性骨髄性白血病
AUC_{0-x}	Area under the concentration × time curve from 0 to x hours	0 時間から投与後 X 時間までの薬物濃度－時間曲線下面積
AUC_{last}	Area under the concentration × time curve from 0 to the last sampling time point	0 時間から最終測定時点までの薬物濃度－時間曲線下面積
CD235a	Glycophorin A	グリコフォリン A
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{min}	Minimum (trough) drug concentration	最低（トラフ）薬物濃度
COR-L 105	Human lung adenocarcinoma cell line	ヒト肺腺癌細胞株
DMSO	Dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
EPO	Erythropoietin	エリスロポエチン
GI_{50}	Concentration of drug that effects half-maximal growth inhibition	50%増殖阻害濃度
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
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony stimulating factor	顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
HBG 1/2	Hemoglobin gamma 1/2	ヘモグロビンγ1/2
HBG	Hemoglobin gene A/B	ヘモグロビン遺伝子 A/B
HCCC-9810	Human cholangiocarcinoma cell line	ヒト胆管癌細胞株
HCT116	Human colorectal carcinoma cell line	ヒト結腸直腸癌細胞株
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
hERG	Human *ether-à-go-go* related gene	ヒト *ether-à-go-go* 関連遺伝子
HPMCAS	Hydroxypropyl methylcellulose (hypromellose) acetate succinate	ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ヒプロメロース）酢酸エステルコハク酸エステル
hr	Hour(s)	時間
HT1080	Human chondrosarcoma cell line	ヒト軟骨肉腫細胞株
IC_{20}	Concentration of drug that achieved 20% inhibition	20%阻害濃度
IC_{50}	Concentration of drug that achieved half maximal inhibition	50%阻害濃度
IC_{90}	Concentration of drug that achieved 90% inhibition	90%阻害濃度
IDH	Isocitrate dehydrogenase	イソクエン酸脱水素酵素
IDH1	Isocitrate dehydrogenase-1	イソクエン酸脱水素酵素 1
IDH2	Isocitrate dehydrogenase-2	イソクエン酸脱水素酵素 2
KLF-1	Kruppel-like factor 1	クルッペル様因子 1
M	Male	雄
mIDH1	Mutant isocitrate dehydrogenase-1	変異型イソクエン酸脱水素酵素 1

略語・略号一覧（続き）

略語・略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
NA	Not applicable	該当せず
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NADPH	Reduced form of NADP	NADP の還元型
NOG	Nonobese severe combined immunodeficiency interleukin 2R-gamma allelic mutation (NOD/Shi-scid/γ^{Null})	非肥満重症複合免疫不全インターロイキン 2Rγ 対立遺伝子変異（NOD/Shi-scid/γ^{Null}）
NSG	Non-obese diabetic severe combined immunodeficient gamma	非肥満糖尿病重症複合免疫不全γ
NSG™-SGM3	NSG-SGM3 mice were developed on the NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) background	NSG-SGM3 マウスは NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG)を背景系統として開発された
PK/PD	Pharmacokinetic/pharmacodynamic	薬物動態／薬力学
PD	Pharmacodynamic	薬力学
QTc	Heart rate-corrected QT interval	心拍数で補正した QT 間隔
QTcB	QT interval corrected for heart rate using Bazett’s formula	Bazett's 計算式を用いて心拍数で補正した QT 間隔
R132C	Arginine-132 mutated to cysteine	132 番目のアルギニンがシステインに変異
R132G	Arginine-132 mutated to glycine	132 番目のアルギニンがグリシンに変異
R132H	Arginine-132 mutated to histidine	132 番目のアルギニンがヒスチジンに変異
R132L	Arginine-132 mutated to leucine	132 番目のアルギニンがロイシンに変異
R132S	Arginine-132 mutated to serine	132 番目のアルギニンがセリンに変異
R140Q	Arginine-140 mutated to glutamine	140 番目のアルギニンがグルタミンに変異
R172K	Arginine-172 mutated to lysine	172 番目のアルギニンがリジンに変異
RBE	Human cholangiocarcinoma cell line	ヒト胆管癌細胞株
RNA	Ribonucleic acid	リボ核酸
TF-1	Human erythroid leukemia cell line	ヒト赤白血病細胞株
TPGS	D-α-Tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate	D-α-トコフェロールポリエチレングリコール 1000 コハク酸
U87MG	Human glioblastoma astrocytoma cell line	ヒト星細胞腫系膠芽腫細胞株
WT	Wild type	野生型

1.　薬理試験：一覧表

Study Title	Test System / Species	Test Article[1]	Method of Admin.	GLP	Testing Facility	Study Number
PRIMARY PHARMACODYNAMICS						
In vitro						
AG-120: Inhibition and Characterization in IDH Biochemical Systems	Purified enzymes: IDH1 (R132H) IDH1 (R132S) IDH1 (R132G) IDH1 (R132C) IDH1 (R132L) IDH2 (R172K) IDH1 (IDH1WT) IDH2 (IDH2WT)	Ivosidenib free form	*In vitro*	No	[redacted], China	[AG120-N-056-R1]
AG-120: Inhibition of 2-HG in IDH Mutant Expressing Cells	Human cell lines: U87MG pLVX IDH1 (R132C) U87MG pL VX IDH1 (R132H) U87MG pLVX IDH2 (R140Q) TF-1 pLVX IDH1 (R132H) clone 27 COR-L105 (R132C) HT1080 (R132C) RBE (R132S) HCCC-9810 (R132S) Neurospheres (603) (R132H)	Ivosidenib free form	*In vitro*	No	[redacted], China	[AG120-N-051-R1]

Study Title	Test System / Species	Test Article[1]	Method of Admin.	GLP	Testing Facility	Study Number
PRIMARY PHARMACODYNAMICS cont.						
***In vitro* cont.**						
AG-120: Inhibition of TF-1 IDH1R132H-Induced Growth Factor Independent Proliferation	Human TF-1 IDH1 (R132H) cells	Ivosidenib free form	*In vitro*	No	[redacted], USA	[AG120-N-050-R1]
AG-120: Reversal of IDH1R132H-Induced Differentiation Block in TF-1 IDH1R132H Cells: Hemoglobin and KLF-1 Expression	Human TF-1 IDH1 (R132H) cells	Ivosidenib free form	*In vitro*	No	[redacted], USA	[AG120-N-049-R1]
Functional Characterization of the Ivosidenib (AG-120) and Azacitidine Combination in a Mutant IDH1 AML Cell Model	Human TF-1 IDH1 (R132H) cells	Not stated	*In vitro*	No	Agios Pharmaceuticals, USA Celgene Corporation, USA	Yen et al, 2018a[1)] Yen et al, 2018b[2)]
AG-120: Induces Myeloid Differentiation in Primary IDH1R132C AML Patient Samples	Primary human IDH1 (R132C) blast cells	Ivosidenib free form	*Ex vivo*	No	[redacted], USA	[AG120-N-055-R1]
AG-120: Induction of Myeloid Differentiation in Primary IDH1 Mutant (R132H or R132C) AML Patient Samples	Primary human IDH1 (R132H or R132C) blast cells	Ivosidenib free form	*Ex vivo*	No	[redacted], France	[AG120-N-057-R1]
Study of Inhibition of IDH1 and IDH2 Wild Type Activity in Cell-based and *In Vivo* Mouse Xenograft Systems	Human HCT116$^{+/+}$ cells (IDH WT); human HCT116$^{+/R132H}$ cells (R132H mutant)	Ivosidenib free form	*In vitro* and *ex vivo*	No	[redacted], USA	[AG120-881-N-001]

Study Title	Test System / Species	Test Article[1]	Method of Admin.	GLP	Testing Facility	Study Number
PRIMARY PHARMACODYNAMICS cont.						
In vivo						
AG-120: PK/PD Study in HT1080 Xenograft Mouse Model Following Single Oral Dose Administration at 50 mg/kg or 150 mg/kg	Mouse (nude BALB/c)	Ivosidenib free form	Oral gavage	No	[redacted], China	[AG120-N-012-R1]
AG-120: PK/PD Study in HT1080 Xenograft Mouse Model After Receiving Three Oral Doses (12-Hours Intervals) at 20 mg/kg, 50 mg/kg or 150 mg/kg, or Single Oral Dose at 50 mg/kg	Mouse (nude BALB/c)	Ivosidenib free form	Oral gavage	No	[redacted], China	[AG120-N-010-R1]
AG-120: PK/PD Study in HT1080 Xenograft Mouse Model Following 14-Day Twice-Daily Oral Dosing of AG-120 at 50 mg/kg or 150 mg/kg	Mouse (nude BALB/c)	Ivosidenib free form	Oral gavage	No	[redacted], China	[AG120-N-013-R1]
PK/PD Study of AG-120 Following Twice-Daily Oral Dosing of AG-120 at 50 or 150 mg/kg for 14 Days in a Human IDH1 (R132C) Acute Myeloid Leukemia Xenograft Mouse Model	Mouse (NOG)	Ivosidenib free form	Oral gavage	No	[redacted], Germany	[AG120-N-090-R1]
Efficacy and PK/PD Studies of AG-120 Following Twice-Daily Oral Dosing of AG-120 at 50 or 150 mg/kg in a Human IDH1 (R132H) Acute Myeloid Leukemia Xenograft Mouse Model	Mouse (NSG™-SGM3)	Ivosidenib free form	Oral gavage	No	[redacted], USA	[AG120-N-093]

Study Title	Test System / Species	Test Article[1]	Method of Admin.	GLP	Testing Facility	Study Number
PRIMARY PHARMACODYNAMICS cont.						
***In vivo* cont.**						
Study of Inhibition of IDH1 and IDH2 Wild Type Activity in Cell-based and In Vivo Mouse Xenograft Systems	Mouse (Nu/Nu; human HCT116$^{+/+}$ [IDH WT]; human HCT116$^{+/R132H}$ [R132H mutant]) cell xenografts	Ivosidenib [redacted][1]	Oral gavage	No	[redacted], USA	[AG120-881-N-001]
SECONDARY PHARMACODYNAMICS						
Data Report for Pharmacology Services	Receptors, ion channels, and enzymes	Ivosidenib free form	*In vitro*	No	[redacted], Taiwan	[AG120-N-004-R1]
SAFETY PHARMACOLOGY						
Report of Cardiac hERG Activities for Compound: AG-120	CHO cells expressing hERG	Ivosidenib free form	*In vitro*	No	[redacted], China	[AG120-N-009-R1]
Report of Cardiac hERG Activities for Compound: AG-120	CHO cells expressing hERG	Ivosidenib free form	*In vitro*	No	[redacted], China	[AG120-N-005-R1]
Effects of AG-120 on Four Cloned Ion Channel Currents Expressed in Mammalian Cells	CHO cells expressing hCaV1.2 and hNaV1.5 HEK-293 cells expressing hERG and hKCNQ1	Ivosidenib free form	*In vitro*	No	[redacted], USA	[AG120-N-054-R1]
AG-120: Cardiovascular Assessment Following Nasogastric Administration in Cynomolgus Monkeys	Cynomolgus monkey (conscious radiotelemetry-instrumented)	Ivosidenib [redacted][1]	Nasogastric intubation	No	[redacted], USA	[AG120-N-053-R1]
PHARMACODYNAMIC DRUG INTERACTIONS						
No studies conducted.						

Abbreviations: AML = Acute myeloid leukemia; CHO = Chinese hamster ovary; COR-L 105 = Human lung adenocarcinoma cell line; GLP = Good Laboratory Practice; HCCC-9810 = Human cholangiocarcinoma cell line; HCT116 = Human colorectal carcinoma cell line; HEK = Human embryonic kidney; hERG = Human *ether-à-go-go* related gene; 2-HG = 2-hydroxyglutarate; [redacted]; HT1080 = Human chondrosarcoma cell line; IDH = Isocitrate dehydrogenase; IDH1 =

Isocitrate dehydrogenase-1; IDH2 = Isocitrate dehydrogenase-2; KLF-1 = Kruppel-like factor 1; NSG = Non-obese diabetic severe combined immunodeficient gamma; NOG = Nonobese severe combined immunodeficiency interleukin 2R-gamma allelic mutation (NOD/Shi-scid/γ^{Null}); NSG™-SGM3 = NSG-SGM3 mice were developed on the NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG) background; PD = Pharmacodynamic;
PK = Pharmacokinetic; PK/PD = Pharmacokinetic/pharmacodynamic; RBE = Human cholangiocarcinoma cell line; TF-1 = Human erythroid leukemia cell line; U87MG = Human glioblastoma astrocytoma cell line; WT = Wild type.
Note: AG-120 is the International Nonproprietary Name for ivosidenib (also formerly known as AGI-16678 and AGI-0016678).
1 For a description of the ivosidenib formulations used in the non-clinical development program see Module 2.6.1_1.2.1.

2.　効力を裏付ける試験

<table>
<tr><th>Organ Systems Evaluated</th><th>Test Article Doses (mg/kg) / Concentration</th><th>Test System</th><th>Method of Admin.</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th></tr>
<tr><td>Inhibition and characterization in IDH biochemical systems</td><td>Ivosidenib</td><td>Purified enzymes:
IDH1 (R132H),
IDH1 (R132S),
IDH1 (R132G),
IDH1 (R132C),
IDH1 (R132L),
IDH2 (R172K),
IDH1 (IDH1WT),
IDH2 (IDH2WT)
Incubation periods of 1, 4 or 16 hr</td><td>In vitro</td><td>Ivosidenib is a potent inhibitor of IDH1 (R132) mutant and IDH1WT enzymes with high selectivity for IDH1 versus IDH2.
Against IDH1 (R132H) homodimer, ivosidenib showed noncompetitive inhibition with respect to α-KG substrate and NADPH cofactor, and no time-dependence in IC_{50} values between 1 and 16 hours of incubation.
Against IDH1WT homodimer, ivosidenib showed uncompetitive inhibition with respect to NADP cofactor.
<table>
<tr><th>Enzyme</th><th>IC_{50} (nmol/L)</th></tr>
<tr><td>IDH1 (R132C) at 1 hr</td><td>17</td></tr>
<tr><td>IDH1 (R132G) at 1 hr</td><td>8</td></tr>
<tr><td>IDH1 (R132H) + NADPH at 1 hr</td><td>2</td></tr>
<tr><td>IDH1 (R132H) + NADPH at 16 hr</td><td>2</td></tr>
<tr><td>IDH1 (R132H) at 1 hr</td><td>11</td></tr>
<tr><td>IDH1 (R132S) at 1 hr</td><td>12</td></tr>
<tr><td>IDH1 (R132L) at 1 hr</td><td>13</td></tr>
<tr><td>IDH1 (IDH1WT) at 1 hr</td><td>1,326</td></tr>
<tr><td>IDH1 (IDH1WT) + NADP at 1 hr</td><td>71</td></tr>
<tr><td>IDH1 (IDH1WT) + NADP at 16 hr</td><td>24</td></tr>
<tr><td>IDH2 (R172K) at 1 hr</td><td>>100,000</td></tr>
<tr><td>IDH2 (IDH2WT) at 1 hr</td><td>>100,000</td></tr>
</table></td><td>[AG120-N-056-R1]</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th>Organ Systems Evaluated</th><th>Test Article Doses (mg/kg) / Concentration</th><th>Test System</th><th>Method of Admin.</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th></tr>
<tr><td>Inhibition of 2-HG in IDH mutant expressing cells</td><td>Ivosidenib</td><td>Human cell lines:
U87MG pLVX IDH1 (R132C)
U87MG pLVX IDH1 (R132H)
U87MG pLVX IDH2 (R140Q)
TF-1 pLVX IDH1 (R132H) clone 27
COR-L 105 (R132C)
HT1080 (R132C)
RBE (R132S)
HCCC-9810 (R132S)
Neurospheres (603) (R132H)
Incubation periods of 48 hr (IC_{50}) or 72 hr (GI_{50})</td><td>In vitro</td><td>Ivosidenib is a potent inhibitor of 2-HG production in cells expressing IDH1 (R132C), IDH1 (R132H), and IDH1 (R132S) mutations, but does not inhibit 2-HG production in cells expressing IDH2 (R140Q).
No growth inhibition (GI_{50}) was detected after 72 hr incubation.
<table>
<tr><th>Cell Line</th><th>2-HG IC_{50} (nmol/L)</th><th>GI_{50} (nmol/L)</th></tr>
<tr><td>COR-L 105 (R132C)</td><td>10</td><td>>3,000</td></tr>
<tr><td>HCCC-9810 (R132S)</td><td>10</td><td>>3,000</td></tr>
<tr><td>RBE (R132S)</td><td>3</td><td>>3,000</td></tr>
<tr><td>HT1080 (R132C)</td><td>8</td><td>>3,000</td></tr>
<tr><td>U87MG pLVX IDH1 (R132C)</td><td>4</td><td>>3,000</td></tr>
<tr><td>U87MG pLVX IDH1 (R132H)</td><td>20</td><td>>3,000</td></tr>
<tr><td>Neurosphere 603 (R132H)</td><td>2.4</td><td>>3,000</td></tr>
<tr><td>TF-1 pLVX IDH1 (R132H) clone 27</td><td>20</td><td>>3,000</td></tr>
<tr><td>U87MG pLVX IDH2 (R140Q)</td><td>>3,000</td><td>>3,000</td></tr>
</table></td><td>[AG120-N-051-R1]</td></tr>
<tr><td>Inhibition of TF-1 IDH1 (R132H)-induced growth factor independent proliferation</td><td>Ivosidenib: 200, 1,000 nmol/L
Control: DMSO</td><td>Human TF-1 IDH1 (R132H) cells
Human TF-1 pLVX cells (control cell line)
Incubation period of 7 days</td><td>In vitro</td><td>2-HG production in TF-1 IDH1 (R132H) cells following treatment with ivosidenib at 200 and 1,000 nmol/L was inhibited by 85% and 99%, respectively, compared with DMSO control. The GM-CSF-independent growth conferred by the expression of TF-1 IDH1 (R132H) was reversed at 1,000 nmol/L, but not at 200 nmol/L.</td><td>[AG120-N-050-R1]</td></tr>
</table>

Organ Systems Evaluated	Test Article Doses (mg/kg) / Concentration	Test System	Method of Admin.	Noteworthy Findings	Study Number
Reversal of IDH1 (R132H)-induced differentiation block in TF-1 IDH1 (R132H) cells: hemoglobin and KLF-1 expression	Ivosidenib: 200, 1,000 nmol/L Control: DMSO	Human TF-1 IDH1 (R132H) cells Human TF-1 pLVX cells (control cell line) Incubation period of 8 days	*In vitro*	In DMSO-treated cells, expression of IDH1 (R132H) and high levels of 2-HG in human TF-1 IDH1 (R132H) cells blocked EPO-induced differentiation as evidenced by very low levels of HBG 1/2 and KLF-1. Treatment of TF-1 IDH1 (R132H) mutant cells with ivosidenib partially restored the EPO-induced expression of both HBG 1/2 and KLF-1, when the 2-HG levels fell below 4 mmol/L. The relative expression of HBG 1/2 and KLF-1 increased and there was an observed color change—indicative of re-expression of hemoglobin— when the intracellular 2-HG levels dropped from 30.7 mmol/L in untreated cells to 3.8 and 0.1 mmol/L following treatment with ivosidenib at 200 and 1,000 nmol/L, respectively.	[AG120-N-049-R1]
Functional characterization of the ivosidenib and azacitidine combination in a mutant IDH1 AML cell model	Ivosidenib: 200, 1,000 nmol/L Azacitidine: 100, 300, 1,000 nmol/L Control: DMSO	Human TF-1 IDH1 (R132H) cells	*In vitro*	Hemoglobinization: azacitidine alone had little or no effect, however, ivosidenib alone showed dose-dependent increases in hemoglobinization. Concurrent ivosidenib + azacitidine treatment had a greater effect on hemoglobinization than ivosidenib alone. Increases in CD235a expression were seen with ivosidenib and azacitidine as single-agents, and expression was further increased with the combination of ivosidenib + azacitidine (at azacitidine doses ≥300 nmol/L). Expression of HBG and KLF-1 RNA was not increased by single-agent azacitidine but was increased by single-agent ivosidenib. Concurrent ivosidenib + azacitidine treatment resulted in potentiation of HBG expression (46-fold increase with ivosidenib [200 nmol/L] + azacitidine [1,000 nmol/L] combination versus 25-fold and 1-fold increases for ivosidenib [200 nmol/L] and azacitidine [1,000 nmol/L] alone, respectively); potentiation of KLF-1 expression was less marked. Apoptosis: ivosidenib alone had no effect on induction of apoptosis, azacitidine increased apoptosis versus control, and concurrent treatment with ivosidenib (100 and 300 nmol/L) + azacitidine (1,000 nmol/L) showed greater induction of apoptosis than azacitidine alone, suggesting potentiation.	Yen et al, 2018a[1)] Yen et al, 2018b[2)]
Induction of myeloid differentiation in primary	Ivosidenib: 50, 100, 500, 1,000 nmol/L	Primary human IDH1 (R132C) blast cells	*Ex vivo*	Treatment of primary IDH1-mutated (R132C), but not WT, AML cells with ivosidenib for up to 7 days reduced 2-HG levels and induced a proliferative burst, followed by myeloblast differentiation.	[AG120-N-055-R1]

Organ Systems Evaluated	Test Article Doses (mg/kg) / Concentration	Test System	Method of Admin.	Noteworthy Findings	Study Number
IDH1 (R132C) AML patient samples	Untreated Control: DMSO	Incubation period of up to 7 days			
Induction of myeloid differentiation in primary IDH1 mutant (R132H or R132C) AML patient samples	Ivosidenib: 500, 1,000, 5,000 nmol/L Untreated Control: DMSO	Primary human IDH1 (R132H or R132C) blast cells Incubation period of up to 12 days	*Ex vivo*	Treatment of primary IDH1 (R132C or R132H) mutant AML cells with ivosidenib for up to 12 days reduced intracellular 2-HG levels and induced myeloblast differentiation.	[AG120-N-057-R1]
Inhibition of IDH1 and IDH2 WT activity in cell-based systems	Ivosidenib: several concentrations	$HCT116^{+/+}$ cells (IDH1/2 WT)	*In vitro*	Ivosidenib inhibited IDH1/2 WT; this was not time dependent over the incubation period of 3 and 48 hr. Using the $HCT116^{+/+}$ IC_{50} (6 µmol/L) the plasma C_{min} required for IC_{90} was estimated to be ≥10,500 ng/mL for ivosidenib.	[AG120-881-N-001]
	Ivosidenib: several concentrations	$HCT116^{+/+}$ cells (IDH1/2 WT); $HCT116^{+/R132H}$ cells (mIDH1); $BT142^{R132H}$ cells (mIDH1 BT142 neurospheres lacking IDH1 WT expression)	*In vitro*	Ivosidenib inhibited IDH1/2 WT activity in $HCT116^{+/+}$ cells. Ivosidenib did not reduce IDH1/2 WT activity in $HCT116^{+/R132H}$ cells suggesting specificity for IDH1 WT. This result and the fact that IDH R132H expressing cells show reduced IDH1/2 WT activity suggests IDH1 WT activity is reduced dramatically in cells expressing IDH1 R132H since ivosidenib does not inhibit IDH2 WT or mutant enzyme activity.	
	Ivosidenib: 10 µmol/L	$HCT116^{+/+}$ cells (IDH1/2 WT); $HCT116^{+/R132H}$ cells (mIDH1)	*In vitro*	In $HCT116^{+/R132H}$ cells ivosidenib reduced $^{13}C_5$-2-HG production to levels measured in the parental WT cells. $HCT116^{+/R132H}$ cells have less IDH WT activity than $HCT116^{+/+}$ ($^{13}C_5$-citrate), and IDH WT was not restored with ivosidenib. Ivosidenib did not affect oxidative IDH WT activity ($^{13}C_3$-α-KG), suggesting IDH1 WT does not contribute significantly to the oxidative IDH WT flux in these cells.	
	Ivosidenib: (*In vivo*:	Mouse (Nu/Nu)	*Ex vivo*	Only $HCT116^{+/R132H}$ slices produced 2-HG de novo from the $^{13}C_5$-glutamine.	

<table>
<tr><th>Organ Systems Evaluated</th><th>Test Article Doses (mg/kg) / Concentration</th><th>Test System</th><th>Method of Admin.</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th></tr>
<tr><td></td><td>450 mg/kg twice daily for 15 days)
Ex vivo: equivalent to *in vivo* plasma exposure</td><td>HCT116$^{+/+}$ (IDH1/2 WT) and HCT116$^{+/R132H}$ (mIDH1) cell xenografts (subcutaneous injection)</td><td></td><td>Ivosidenib reduced 2-HG production in HCT116$^{+/R132H}$ tumors by 85%.
HCT116$^{+/R132H}$ slices had 33% of the IDH WT activity observed in the HCT116$^{+/+}$ slices.
In HCT116$^{+/+}$ WT slices ivosidenib reduced IDH WT activity by 64%.
In HCT116$^{+/R132H}$ slices ivosidenib inhibited IDH WT by 24%.</td><td></td></tr>
<tr><td>PK/PD study in HT1080 xenograft mouse model</td><td>Ivosidenib:
0 (vehicle), 50, 150
Single dose</td><td>Mouse (nude BALB/c); female</td><td>Oral gavage</td><td>Exposure to ivosidenib in plasma and tumor increased with dose.
Ivosidenib Exposure
<table>
<tr><th rowspan="2">Dose (mg/kg)</th><th colspan="3">AUC$_{0-12}$ (ng•h/mL)</th><th colspan="3">AUC$_{0-72}$ (ng•h/mL)</th></tr>
<tr><th>Plasma</th><th>Tumor</th><th>Brain</th><th>Plasma</th><th>Tumor</th><th>Brain</th></tr>
<tr><td>50</td><td>30,600</td><td>54,500</td><td>2,020</td><td>34,600</td><td>58,000</td><td>2,020</td></tr>
<tr><td>150</td><td>67,500</td><td>128,000</td><td>5,070</td><td>86,200</td><td>153,000</td><td>6,460</td></tr>
</table>
Ivosidenib inhibited plasma and tumor 2-HG levels by ≥77% and ≥58% at 50 and 150 mg/kg respectively, relative to vehicle control over 12 hours postdose and inhibited plasma and tumor 2-HG by ≥29% and ≥43%, relative to vehicle control, over 72 hours postdose.
Plasma and tumor 2-HG concentrations declined rapidly after administration of ivosidenib at 50 and 150 mg/kg. In plasma, maximum 2-HG inhibition was achieved at 12 and 6 hours postdose at 50 and 150 mg/kg, respectively. In tumor, maximum 2-HG inhibition was achieved at 12 hours postdose at both doses. Plasma and tumor 2-HG concentrations approached baseline levels 48 to 72 hours after dosing.</td><td>[AG120-N-012-R1]</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th>Organ Systems Evaluated</th><th>Test Article Doses (mg/kg) / Concentration</th><th>Test System</th><th>Method of Admin.</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th></tr>
<tr><td>PK/PD study in HT1080 xenograft mouse model</td><td>Ivosidenib:
0 (vehicle), 20, 50, 150
3 doses at 12-hour intervals
0 (vehicle), 50
Single dose</td><td>Mouse (nude BALB/c); female</td><td>Oral gavage</td><td>
Ivosidenib Exposure
<table>
<tr><th rowspan="2">Dose (mg/kg)</th><th colspan="3">AUC0-12 (ng•h/mL)</th><th colspan="3">AUC0-24 (ng•h/mL)</th></tr>
<tr><th>Plasma</th><th>Tumor</th><th>Brain</th><th>Plasma</th><th>Tumor</th><th>Brain</th></tr>
<tr><td>50 (×1)</td><td>38,700</td><td>54,900</td><td>936</td><td>41,800</td><td>58,900</td><td>936</td></tr>
<tr><td>20 (×3)</td><td>5,130</td><td>8,020</td><td>55.2</td><td>5,880</td><td>9,280</td><td>55.2</td></tr>
<tr><td>50 (×3)</td><td>13,100</td><td>16,200</td><td>259</td><td>14,900</td><td>18,200</td><td>259</td></tr>
<tr><td>150 (×3)</td><td>29,200</td><td>37,300</td><td>630</td><td>36,300</td><td>45,800</td><td>630</td></tr>
</table>
Repeat dosing of ivosidenib at 20, 50 and 150 mg/kg resulted in greater inhibition of tumor 2-HG production than single-dose administration at 50 mg/kg. Ivosidenib inhibited 2-HG production (87.8% to 99.7%) in tumor tissue following 3 repeat doses at 20, 50, or 150 mg/kg.
Maximum tumor 2-HG inhibition was achieved by 8 hours following the third dose of ivosidenib and 2-HG levels remained below baseline levels through 24 hours postdose. Both inhibition of 2-HG production over 12 hours postdose and maximal inhibition of 2-HG increased with dose.
</td><td>[AG120-N-010-R1]</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th>Organ Systems Evaluated</th><th>Test Article Doses (mg/kg) / Concentration</th><th>Test System</th><th>Method of Admin.</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th></tr>
<tr><td>PK/PD study in HT1080 xenograft mouse model</td><td>Ivosidenib:
0 (vehicle), 50, 150
Twice-daily for 14 days</td><td>Mouse (nude BALB/c); female</td><td>Oral gavage</td><td>
Ivosidenib Exposure
<table>
<tr><th rowspan="2">Dose (mg/kg)</th><th colspan="3">AUC$_{0\text{-}12}$ (ng•h/mL)</th></tr>
<tr><th>Plasma</th><th>Tumor</th><th>Brain</th></tr>
<tr><td>50</td><td>17,900</td><td>16,000</td><td>728</td></tr>
<tr><td>150</td><td>30,800</td><td>28,100</td><td>1,350</td></tr>
</table>
Ivosidenib inhibited 2-HG production in a dose-dependent manner in plasma (≥82%) and in tumor tissue (≥93%) following twice-daily dosing at 50 or 150 mg/kg for 14 days.
The plasma and tumor 2-HG concentrations were maximally suppressed 3 hours following the last dose of ivosidenib and remained below baseline levels through 12 hours postdose.
</td><td>[AG120-N-013-R1]</td></tr>
<tr><td>PK/PD study in human IDH1 (R132C) acute myeloid leukemia xenograft mouse model</td><td>Ivosidenib:
0 (vehicle), 50, 150
Twice-daily for 14 days</td><td>Mouse (NOG); female</td><td>Oral gavage</td><td>
Ivosidenib Exposure
<table>
<tr><th rowspan="2">Dose (mg/kg)</th><th colspan="2">AUC$_{0\text{-}12}$ (ng•h/mL)</th><th colspan="2">AUC$_{last}$ (ng•h/mL)</th></tr>
<tr><th>Plasma</th><th>Spleen</th><th>Plasma</th><th>Spleen</th></tr>
<tr><td>50</td><td>7,980</td><td>6,450</td><td>9,330</td><td>7,660</td></tr>
<tr><td>150</td><td>40,300</td><td>41,700</td><td>45,700</td><td>51,500</td></tr>
</table>
Ivosidenib plasma exposure increased with dose at 50 and 150 mg/kg after twice-daily dosing over 14 days.
Twice-daily dosing over 14 days at 50 and 150 mg/kg led to ≥90% inhibition of 2-HG production in spleen in both dose groups based on AUC$_{0\text{-}12}$ data.
</td><td>[AG120-N-090-R1]</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th>Organ Systems Evaluated</th><th>Test Article Doses (mg/kg) / Concentration</th><th>Test System</th><th>Method of Admin.</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th></tr>
<tr><td rowspan="2">Efficacy and PK/PD studies in human IDH1 (R132H) acute myeloid leukemia xenograft mouse model</td><td>Ivosidenib:
0 (vehicle), 50, 150
Twice-daily for 7 days</td><td rowspan="2">Mouse (NSG™-SGM3); female</td><td rowspan="2">Oral gavage</td><td>Ivosidenib Exposure
<table><tr><th rowspan="2">Dose (mg/kg)</th><th colspan="3">AUC₀₋₁₂ (ng•h/mL)</th></tr><tr><th>Plasma</th><th>Bone Marrow</th><th>Spleen</th></tr><tr><td>50</td><td>13,600</td><td>10,800</td><td>9,170</td></tr><tr><td>150</td><td>28,600</td><td>25,800</td><td>19,000</td></tr></table>Ivosidenib plasma exposure increased with dose after twice-daily dosing over 7 days.
Twice-daily dosing of ivosidenib over 7 days at 50 and 150 mg/kg led to ≥94.3% inhibition of 2-HG production in plasma, bone marrow and spleen.</td><td rowspan="2">[AG120-N-093]</td></tr>
<tr><td>Ivosidenib:
0 (vehicle), 50, 150
Twice-daily for 21 days</td><td>Mice given ivosidenib twice daily for 3 weeks at doses of 50 or 150 mg/kg were found to have 13.9% and 12.0% peripheral hCD45^{+}/hCD33^{+}/hCD15^{+} blood cells compared with 4.8% in vehicle treated mice. Furthermore, at 50 or 150 mg/kg, peripheral hCD45^{+}/hCD33^{+}/hCD14^{+} blood cells were 6.1% and 4.7%, respectively, compared with 1.4% in vehicle treated mice.
Twice-daily dosing of ivosidenib over 21 days at 50 and 150 mg/kg led to increased expression of myeloid differentiation markers hCD14 and hCD15 on the surface of human mutant IDH1 (R132H) AML cells in peripheral blood of mice.</td></tr>
</table>

Organ Systems Evaluated	Test Article Doses (mg/kg) / Concentration	Test System	Method of Admin.	Noteworthy Findings	Study Number
Inhibition of IDH1 and IDH2 WT activity in mouse xenograft model	Ivosidenib: 0 (vehicle), 450 Twice-daily for 15 days	Mouse (Nu/Nu; human HCT116$^{+/+}$ [IDH WT]; human HCT116$^{+/R132H}$ (R132H mutant) cell xenografts); female	Oral gavage	The plasma C_{min} required for IC_{90} of IDH1/2 WT activity in non-mutant tissue or tumor was estimated to be ≥10,500 ng/mL. R132H tumors demonstrated decreased WT IDH activity relative to WT tumors. Ivosidenib inhibited WT IDH activity but was less potent against WT IDH activity in HCT116+/R132H tumors. The percent inhibition of WT IDH activity induced by ivosidenib as measured by the ex vivo and in vivo assays show strong correlation.	[AG120-881-N-001]
	Ivosidenib: 0 (vehicle), 150, 450 Twice-daily for 7 days	Mouse (Nu/Nu; human HCT116$^{+/+}$ [IDH WT]; human HCT116$^{+/R132H}$ (R132H mutant) cell xenografts); female	Oral gavage	HCT116$^{+/R132H}$ tumors produced 2-HG in vivo (180,000 ng/g versus 1,100 ng/g 2-HG in mutant [HCT116$^{+/R132H}$] versus WT tumors [HCT116$^{+/+}$], respectively). Ivosidenib reduced 2-HG in HCT116$^{+/R132H}$ tumors in a dose-dependent manner with reductions of 96% and 99%, respectively at 150 and 450 mg/kg. Ivosidenib reduced IDH WT activity in HCT116$^{+/+}$ tumors in a dose-dependent manner with reductions of 35% and 44%, respectively at 150 and 450 mg/kg. Ivosidenib inhibited IDH WT activity in HCT116$^{+/R132H}$ tumors with reduced potency and reductions of 10% and 17%, respectively at 150 and 450 mg/kg.	

Abbreviations: α-KG = α-Ketoglutarate; AML = Acute myeloid leukemia; AUC_{0-x} = Area under the concentration × time curve from 0 to x hours; AUC_{last} = Area under the concentration × time curve from 0 to the last sampling time point; CD235a = Glycophorin A; COR-L 105 = Human lung adenocarcinoma cell line; C_{min} = Minimum drug concentration; DMSO = Dimethylsulfoxide; EPO = Erythropoietin; GI_{50} = Concentration of drug that effects half-maximal growth inhibition; GM-CSF = Granulocyte-macrophage colony stimulating factor; HBG = Hemoglobin gene A/B; HBG 1/2 = Hemoglobin gamma 1/2; hr = Hour(s); HCCC-9810 = Human cholangiocarcinoma cell line; HCT116 = Human colorectal carcinoma cell line; 2-HG = 2-Hydroxyglutarate; HT1080 = Human chondrosarcoma cell line; IDH = Isocitrate dehydrogenase; IDH1 = Isocitrate dehydrogenase-1; IDH2 = Isocitrate dehydrogenase-2; IC_{50} = Concentration of drug that achieved half maximal inhibition; IC_{90} = Concentration of drug that achieved 90% inhibition; KLF-1 = Kruppel-like factor 1; mIDH1 = Mutant isocitrate dehydrogenase-1; NADP = Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADPH = Reduced form of NADP; RBE = Human cholangiocarcinoma cell line; RNA = Ribonucleic acid; TF-1 = Human erythroid leukemia cell line; U87MG = Human glioblastoma astrocytoma cell line; WT = Wild type

3.　副次的薬理試験

Organ Systems Evaluated	Test System	Test Article and Concentration	Method of Admin.	Noteworthy Findings	Study Number
Receptor binding and enzyme inhibition	80 targets (receptors, ion channels, and enzymes; listed in Module 2.6.2_3.1)	Ivosidenib 10,000 nmol/L	*In vitro*	Ivosidenib did not exhibit significant inhibition (defined as ≥50%) of any of the 80 targets tested.	[AG120-N-004-R1]

4.　安全性薬理試験

Organ Systems Evaluated	Species / Strain	Method of Admin.	Test Article Dose (mg/kg) / Concentration	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP	Study Number
Cardiovascular (hERG current inhibition – automated patch clamp)	CHO cells expressing hERG	*In vitro*	Ivosidenib: 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 µmol/L	NA	Ivosidenib hERG IC_{50} =10 µmol/L	No	[AG120-N-009-R1]
Cardiovascular (hERG current inhibition – automated patch clamp)	CHO cells expressing hERG	*In vitro*	Ivosidenib: 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 µmol/L	NA	Ivosidenib hERG IC_{50} =21 µmol/L	No	[AG120-N-005-R1]
Cardiovascular (hCav1.2 hKvLQT hNAV1.5 current inhibition – manual patch clamp)	CHO cells expressing hCaV1.2 and hNaV1.5 HEK-293 cells expressing hERG and hKvLQT/hminK	*In vitro*	Ivosidenib: 1, 3, 10, 30 µmol/L	NA	Ivosidenib hERG IC_{50} =12.6 µmol/L; IC_{20} =3.1 µmol/L Ivosidenib hCaV1.2 IC_{50} >30 µmol/L Ivosidenib hNaV1.5 IC_{50} >30 µmol/L Ivosidenib hKvLQT/hminK IC_{50} >30 µmol/L	No	[AG120-N-054-R1]
Cardiovascular (conscious radiotelemetry-instrumented monkeys)	Monkey / Cynomolgus	Oral naso-gastric intubation	Ivosidenib [redacted]: control (vehicle), 15, 45, 135 Vehicle: 10% vitamin E (TPGS) / 1% HPMCAS / 0.1% simethicone	M 3	15 mg/kg: No treatment-related effects 45 and 135 mg/kg: Prolonged QT and QTcB intervals; no QT instability.	No	[AG120-N-053-R1]

Abbreviations: CHO = Chinese hamster ovary; HEK = Human embryonic kidney; hERG = Human *ether-à-go-go* related gene; HPMCAS = Hydroxypropyl methylcellulose (hypromellose) acetate succinate; IC_{20} = Concentration of drug that achieved 20% inhibition; IC_{50} = Concentration of drug that achieved half maximal inhibition; M = Male; NA = Not applicable; TPGS = D-α-Tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate; QTc = Heart rate-corrected QT interval; QTcB = QT interval corrected for heart rate using Bazett's formula.

5. 薬力学的薬物相互作用試験

試験は実施しなかった。

6. 参考文献

1) Yen K, Chopra VS, Tobin E, et al. Poster: Functional characterization of the ivosidenib (AG-120) and azacitidine combination in a mutant IDH1 AML cell model. Cancer Res. 2018a;78(13 Supplement):4956. [PE0163679]

2) Yen K, Chopra VS, Tobin E, et al. Abstract 4956: Functional characterization of the ivosidenib (AG-120) and azacitidine combination in a mutant IDH1 AML cell model. Cancer Res. 2018b;78(13 Supplement):4956. [PE0163677]