テビムブラ点滴静注 100 mg

2.4　非臨床試験の概括評価
（根治切除不能な進行・再発の食道癌）

BeiGene Japan 合同会社
Confidential
BeiGene Japan 合同会社の許可を得ることなく
使用，漏洩，公表，又はその他の方法で開示することを禁じます。

目　次

略号一覧 4
1 緒言 6
2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性 6
3 薬理試験 7
3.1 薬効を裏付ける試験 7
3.2 副次的薬理試験 8
3.3 安全性薬理試験 9
3.4 薬力学的薬物相互作用試験 9
4 薬物動態試験 9
4.1 分析法 9
4.2 カニクイザルにおける薬物動態試験 10
4.3 吸収及びバイオアベイラビリティ 10
4.4 分布 10
4.5 胎盤通過性及び乳汁移行 11
4.6 代謝 11
4.7 排泄 11
4.8 薬物動態学的相互作用 11
4.9 カニクイザルにおけるトキシコキネティクス試験 11
5 毒性試験 12
5.1 毒性試験の要約 12
5.2 単回投与毒性試験 13
5.3 反復投与毒性試験 13
5.4 反復投与毒性試験（主試験） 14
5.5 遺伝毒性試験 14
5.6 がん原性試験 15
5.7 生殖発生毒性試験 15
5.7.1 受胎能及び初期胚発生 15
5.7.2 胚・胎児発生 15
5.7.3 乳汁移行 15
5.8 局所刺激性試験 15
5.9 曝露量の比較 16
5.10 その他の毒性試験 16
5.10.1 免疫毒性試験 16
5.10.2 組織交差反応性試験 17
5.10.3 結合プロファイル 17

5.10.4 In vitro 溶血性試験 17
5.10.5 サイトカイン放出アッセイ 17
6 不純物及び分解物 18
7 総合評価及び結論 18
8 参考文献 19

表一覧

Table 3-1 チスレリズマブの *in vitro* 薬理試験の一覧 8
Table 3-2 チスレリズマブの *in vivo* 薬理試験の一覧 8
Table 3-3 チスレリズマブの副次的薬理試験の一覧 9
Table 4-1 チスレリズマブの薬物動態及びトキシコキネティクス試験の概要 9
Table 5-1 チスレリズマブの毒性試験一覧 12
Table 5-2 単回投与毒性試験 13
Table 5-3 サル及びヒトにおける曝露量の比較 16

略号一覧

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
ADA	anti-drug or tislelizumab antibody	抗薬物又は抗チスレリズマブ抗体
ADCC	antibody-dependent cellular cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害
AUC	area under the drug serum concentration-time curve	血清中薬物濃度-時間曲線下面積
BGB-A317	tislelizumab	チスレリズマブ
BI	Boehringer Ingelheim	-
CDC	complement-dependent cytotoxicity	補体依存性細胞傷害
C_{max}	maximum drug serum concentration	最高血清中薬物濃度
CRA	cytokine release assay	サイトカイン放出アッセイ
ECD	extracellular ligand-binding domain	細胞外ドメイン
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫測定法
Fc	Fragment crystallizable	結晶性フラグメント
FcγR	Fc gamma receptor	Fcγ受容体
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GLP	good laboratory practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hPD-1	human PD-1	ヒト PD-1
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IFN	interferon	インターフェロン
IgG	immunoglobulin G	免疫グロブリン G
IL-2	interleukin 2	インターロイキン 2
IV	intravenous	静脈内
K_D	dissociation constant	解離定数
K_{off}	dissociation rate constant	解離速度定数
KLH	keyhole limpet hemocyanin	スカシガイ由来ヘモシアニン
mGMCSF	murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor	マウス顆粒球マクロファージコロニー刺激因子
NA	not applicable	該当せず
NMPA	National Medical Products Administration	中国国家薬品監督管理局
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development	経済協力開発機構
PBMC	peripheral blood mononuclear cells	末梢血単核細胞
PD-1	programmed cell death-1	プログラム細胞死 1
PD-L1	programmed cell death-ligand1	プログラム細胞死リガンド 1
PD-L2	programmed cell death-ligand2	プログラム細胞死リガンド 2
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
Q2W	once every 2 weeks	2 週間に 1 回
Q3W	once every 3 weeks	3 週間に 1 回

略号	省略していない表現（英）	省略していない表現（日）
SC	subcutaneous	皮下
SPR	surface plasmon resonance	表面プラズモン共鳴法
$T_{1/2}$	terminal half-life	終末相消失半減期
TDAR	T-cell-dependent antibody responses	T 細胞依存性抗体産生反応
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
TREML1	triggering receptor expressed on myeloid cells-like protein 1	-
Vd	volume of distribution	分布容積

1 緒言

チスレリズマブ（BGB-A317）は，ヒト PD-1（programmed cell death-1：プログラム細胞死 1）に対するヒト化 IgG4 モノクローナル抗体である。PD-1 とそのリガンドである PD-L1 及び PD-L2（プログラム細胞死リガンド 2）との結合を阻害し，腫瘍特異的な T 細胞の増殖，活性化，及び細胞傷害活性の増強等により，腫瘍増殖を抑制する。本薬の安定性を高めるためヒンジ領域が改変されており，また，抗体依存性細胞傷害（ADCC）や補体依存性細胞傷害（CDC）活性等のエフェクター機能を示さないように Fc 領域が改変されている。

2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性

チスレリズマブの活性は，生化学的結合試験（結合特性），*in vitro* 細胞活性試験（機能活性），及びさまざまな *in vivo* モデルを用いて評価した。種々の薬理試験においてチスレリズマブの活性を既存の抗 PD-1 抗体薬であるニボルマブやペムブロリズマブと比較した。独立した安全性薬理試験は実施しなかったが，心血管系，呼吸系，及び中枢神経系に及ぼす影響についてサルを用いた 13 週間反復投与毒性試験において評価した。

カニクイザルにチスレリズマブを単回及び反復静脈内投与したときの薬物動態（PK）を評価した。また，カニクイザルを用いた単回及び 13 週間反復静脈内投与毒性試験において，トキシコキネティクス（TK）を評価した。さらに，カニクイザルを用いた 2 つの単回静脈内投与試験を実施し，チスレリズマブの臨床開発期間中に異なる施設で製造されたバッチ間で PK プロファイルの類似性を評価した。医薬品規制調和国際会議（ICH）S6 (R1) ガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」等に基づき，チスレリズマブの分布，代謝，及び排泄試験は実施しなかった。

チスレリズマブの非臨床安全性試験及び TK プロファイルは，ICH S6 (R1)，及び ICH S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」に基づき，マウス及びカニクイザルを用いた単回投与毒性試験，カニクイザルを用いた 2 週間に 1 回（Q2W）投与による 13 週間反復静脈内投与毒性試験により評価した。その他の毒性試験として，ヒト末梢血単核球（PBMC）及びヒト PD-1 トランスジェニック（B-hPD-1）マウスを用いたリコール応答試験，サル及びヒトの正常凍結組織を用いた組織交差反応性試験，ヒト細胞膜タンパク質又は Biacore を用いた結合プロファイル，ウサギ赤血球を用いた *in vitro* 溶血性試験，サルの抗薬物抗体（ADA）陽性血清試料を用いた中和活性試験，ヒト全血細胞及びヒト PBMC を用いた *in vitro* サイトカイン放出アッセイ（CRA）を実施した。さらに，公表文献を用いて，胚・胎児毒性に関するリスク評価を行った。

非臨床安全性試験は， 米国食品医薬品局（米国 FDA），経済協力開発機構（OECD），及び中国国家薬品監督管理局（NMPA）の Good Laboratory Practice（GLP）基準に準拠して JOINN Laboratories（中国）で実施した。2022 年 11 月の欧州の承認申請時に JOINN Laboratories（中国）で実施されたカニクイザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験[2.6.6-3.1 項]，カニクイザル正常組織，及びヒト組織を用いた組織交差反応性試験[2.6.6-8.3.1 項]，[2.6.6-8.3.2 項]を対象とした欧州医

薬品庁（EMA）の GLP 適合性に対するリモート査察が実施された。2023 年 1 月に受領した GLP 適合性に対するリモート査察報告書では，上記 3 試験は OECD（経済協力開発機構）の GLP 原則を遵守して実施されていないと判断された。そのため，チスレリズマブの非臨床安全性試験の充足性を適切に保持するため，OECD 加盟国（USA）で GLP 適合施設を有する Labcorp Early Development Laboratories にて，カニクイザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）[2.6.6-3.2 項]を新たに実施した。また，組織交差反応性試験成績を補完するため，ヒト細胞膜タンパク質又は Biacore を用いた結合プロファイル[2.6.6-8.3.3 項]，[2.6.6-8.3.4 項]を追加実施した。JOINN Laboratories で実施されたその他の GLP 適用試験[2.6.6-2.1 項]，[2.6.6-2.2 項]，[2.6.6-8.4 項]については，上記の EMA の GLP リモート査察に基づき OECD GLP 基準を保証できない。

3 薬理試験

3.1 薬効を裏付ける試験

チスレリズマブは PD-1 に特異的かつ強力な PD-1 阻害薬（モノクローナル抗体）で，T 細胞の PD-1 とそのリガンドである PD-L1 及び PD-L2 との相互作用を阻害することにより T 細胞の増殖とサイトカイン産生を促進する。

チスレリズマブはヒト PD-1 の細胞外ドメイン（ECD）に対し高い親和性と緩やかな解離特性を示し，K_D 値は 0.15 nmol/L，K_{off} 値は 3.83×10^{-5} [1/s]であった[2.6.2-2.1.3 項]。また，PD-L1 及び PD-L2 の PD-1 への結合を競合的に阻害し，その IC_{50} 値は各々0.49 nmol/L 及び 0.51 nmol/L であった[2.6.2-2.1.5 項]。本薬は T 細胞において PD-1 を介するシグナル伝達を阻害し，T 細胞や活性化初代培養 PBMC の機能活性を亢進させた。

ヒト類表皮癌細胞株 A431[2.6.2-2.2.1 項]，ヒト大腸癌患者由来腫瘍組織 BCCO-028[2.6.2-2.2.2 項]，及びヒト非小細胞肺癌患者由来腫瘍組織 BCLU-054[2.6.2-2.2.3 項]等のさまざまなヒト癌細胞，及び腫瘍片を用いた異種移植モデルにおいて，チスレリズマブは優れた抗腫瘍効果を示した。チスレリズマブは，mGMCSF 発現マウス悪性黒色腫細胞（B16/F10）を移植したヒト PD-1 導入トランスジェニックマウスにおいても優れた抗腫瘍効果を発揮した[2.6.2-2.2.4 項]。さらに，本薬のサロゲートとして用いた抗マウス PD-1 抗体（Ch15mt）は，マウス大腸癌細胞を用いた同種移植モデルに対し優れた抗腫瘍効果を示した[2.6.2-2.2.5 項]。

チスレリズマブの効力を裏付ける薬理試験として実施された *in vitro* 及び *in vivo* 薬理試験の一覧を以下に示す（Table 3-1，Table 3-2）。

Table 3-1 チスレリズマブの *in vitro* 薬理試験の一覧

試験名	試験系	試験番号
BGB-A317 binding activity to PD-1	PD-1-ECD/His, ELISA and HuT78/PD1 cells, Flow cytometry	BLGC-002
BGB-A317 binding specificity analyses: species specificity and non-specific binding checkup	Human, monkey & mouse PD-1-ECD/His, ELISA and HuT78/huPD1 or monkey PD-1 cells, Flow cytometry	BLGC-003 (02)
Characterization of BGB-A317 binding affinities to antigen by SPR	PD-1-ECD/His, & SPR assay	BLGC-004 (02)
BGB-A317 critical binding epitopes on PD-1	PD-1 mutant and wild type proteins, ELISA and Western blot	BLGC-005 (02)
BGB-A317 competitively blocks both PD-L1 and L2 binding to PD-1	HuT78/PD-1 cells, biotinylated PD-L1 or PD-L2 and Flow cytometry	BLGC-006
BGB-A317 inhibits PD-1 function in a reverse signaling assay	HuT78/P3Z and HEK293/OS8-PD-L1 cells, ELISA	BLGC-007 (02)
BGB-A317 activates IL-2 secretion from HuT78/PD-1 cells by inhibiting PD-1 signaling	HuT78/PD-1 and HEK293/OS8-PD-L1 cells, ELISA	BLGC-008 (02)
BGB-A317 activates PBMC in coculture with stimulator cells	PBMCs and HEK293/OS8-PD-L1 cells, ELISA	BLGC-009 (02)
BGB-A317 binding activity to PD-1 on activated PBMCs	Biotinylated-BGB-A317 and HuIgG - Biotin Flow cytometry	BLGC-014
Cross-species functional activity and species selection for *in vivo* pharmacology and safety evaluation	Human, monkey and mouse PD-1-ECD/His protein and HuT78/mkPD1V3 cells, ELISA, competition with PD-L1, affinity assay by SPR	BLGC-020

Table 3-2 チスレリズマブの *in vivo* 薬理試験の一覧

試験名	試験系	試験番号
Efficacy study of anti-mouse PD-1 surrogate antibody Ch15mt in CT26.WT syngeneic model	Female BALB/c mice	R01-VIVO-125
Efficacy study of BGB-A317 in A431 allogeneic xenograft model	NOD/SCID mice	R01-VIVO-126
Efficacy study of BGB-A317 in BCCO-028 allogeneic xenograft model	NOD/SCID mice	R01-VIVO-127
Efficacy study of BGB-A317 in BCLU-054 allogeneic xenograft model	NOD/SCID mice	R01-VIVO-128
Efficacy study of BGB-A317 on B16F10/GMCSF in hPD-1 transgenic mouse model	Female B-hPD-1 C57BL/6J mice	R01-VIVO-135

3.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験の結果，標的外のヒト血清タンパク質及び細胞タンパク質に対するチスレリズマブの非特異的な結合は検出されなかった。チスレリズマブは FcγR や Clq に結合せず[2.6.2-3.1 項]，抗体依存性細胞傷害（ADCC）や補体依存性細胞傷害（CDC）の誘導はみられなかった[2.6.2-3.2 項]。チスレリズマブの副次的薬理試験を以下に示す（Table 3-3）。

Table 3-3 チスレリズマブの副次的薬理試験の一覧

試験名	試験系	試験番号
BGB-A317 has diminished binding activities to Fc gamma receptors and C1q protein	HEK293 cell line	BLGC-010 (02)
BGB-A317 does not induce ADCC and CDC activity	Cellular assays for ADCC & CDC	BLGC-021

3.3 安全性薬理試験

チスレリズマブの独立した安全性薬理試験は実施していない。ICH S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」に基づき，サルを用いた単回投与毒性試験[2.6.6-2.2 項]及び 13 週間反復投与毒性試験[2.6.6-3.1 項]，[2.6.6-3.2 項]において，チスレリズマブの心血管系，呼吸系，及び中枢神経系へ及ぼす影響を評価した。その結果，チスレリズマブを単回投与毒性試験で 100 mg/kg の用量まで，13 週間（2 週間に 1 回）反復投与毒性試験で 60 mg/kg の用量まで静脈内投与したとき， 心電図（ECG）パラメータに及ぼす影響はみられなかった。また，心血管系，呼吸系，及び中枢神経系への毒性を示唆する変化は認められなかった。

3.4 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用の検討は実施していない。

4 薬物動態試験

実施した PK 及び TK 試験の一覧を，Table 4-1 に示す。

Table 4-1 チスレリズマブの薬物動態及びトキシコキネティクス試験の概要

試験の類別	試験系又はマトリクス	投与方法	試験番号
単回及び反復投与 PK 試験			
単回及び 4 週間反復投与	カニクイザル	静脈内	P14-057-YD
単回及び反復投与 TK 試験			
単回投与	カニクイザル	静脈内	P14-057-JD
13 週間反復投与	カニクイザル	静脈内	P14-057-CD
13 週間反復投与	カニクイザル	静脈内（7 回投与）及び皮下（2 回投与）	2270246
その他の PK 試験			
単回投与	カニクイザル	静脈内	P14-057-2YD
単回投与	カニクイザル	静脈内	P14-057-3YD

4.1 分析法

非臨床 PK 試験及び毒性試験での投与製剤分析並びに PK／TK 評価における生体試料中薬物濃度分析及び ADA 分析のための測定法を開発し，バリデーションを行った。DMPK R2201247-pk 試験及び DMPK R2201247-ig 試験を除くすべてのバリデーション試験は，JOINN laboratories（中国）

で実施した。DMPK R2201247-pk 試験及び DMPK R2201247-ig 試験は，BioAgilytix Labs（米国）で実施した。完了したすべてのバリデーション試験を[Table 2.6.5.2]に示した。

4.2 カニクイザルにおける薬物動態試験

合計 24 例のカニクイザルを 4 群に分け（各群雌雄それぞれ 3 例），チスレリズマブを 3，10，又は 30 mg/kg の用量で単回静脈内投与あるいは 10 mg/kg の用量で週 1 回を 5 回反復静脈内投与した[2.6.4-3.1 項]。

カニクイザルにチスレリズマブを 3，10，又は 30 mg/kg の用量で単回投与したとき，終末相消失半減期（$T_{1/2}$）の平均値は約 88～183 時間（約 4～8 日），分布容積（Vd）は約 22～52 mL/kg，クリアランスは 0.18～0.31 mL/h/kg であった。カニクイザルにおける曝露量［最高血清中薬物濃度（C_{max}）及び血清中薬物濃度-時間曲線下面積（AUC）］は 3～30 mg/kg の範囲で用量に比例して増加し，明らかな性差は認められなかった。また，チスレリズマブを 10 mg/kg の用量で反復投与したとき，明らかな累積性は認められなかった。サルにおいてチスレリズマブが異種タンパクであることから予想されたように，いずれの用量においても，多くのサルで ADA が検出された。ADA 陽性の動物における曝露量は ADA が検出されなかった動物に比べて低い傾向を示した。その一方で，サルに無毒性量（NOAEL）の 30 mg/kg を 13 週間反復静脈内投与した毒性試験（4.9 項の TK 試験，2270246 試験）における 6 回目（11 週間）投与後の AUC は，予定臨床用量である 200 mg の投与を受けた患者に比べて 4.3～6.6 倍高かった（5.4 項）。

カニクイザルを用いた 2 つの単回投与 PK 試験を実施し，チスレリズマブの臨床開発期間中に異なる 3 箇所の施設［Boehringer Ingelheim（BI）（ドイツ），BI（中国），及び JHL Biotech Inc.（台湾）］で製造されたバッチ間で PK プロファイルを比較した。その結果，これらのバッチ間で PK プロファイルに明らかな差はみられなかった[2.6.4-8 項]。

4.3 吸収及びバイオアベイラビリティ

チスレリズマブは大部分の非臨床試験で静脈内投与され，そのバイオアベイラビリティは 100%と考えられる。2270246 試験の 100 mg/kg 単回皮下投与時の曝露量を 30 及び 60 mg/kg 初回静脈内投与時の曝露量と比較したとき，サルの皮下投与のバイオアベイラビリティはそれぞれ 85.9%及び 88.2%であった。

4.4 分布

チスレリズマブのサルにおける Vd が血漿容積と同程度であり本薬の組織移行性は低いと考えられたこと[2.6.4-4 項]，並びにサル及びヒトの組織においてチスレリズマブとの特異的な組織交差反応性が認められなかったこと（5.10.2 項）を踏まえ，チスレリズマブの組織分布に関する試験は実施しなかった。

4.5 胎盤通過性及び乳汁移行

チスレリズマブの胎盤通過性及び乳汁移行の試験は実施しなかった。なお，チスレリズマブはIgG4 モノクローナル抗体であることから，胎盤を通過する可能性があり，また乳汁中へ移行することが考えられる（5.7 項）。

4.6 代謝

ICH S6（R1）ガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に基づき，代謝に関する試験は実施しなかった。

4.7 排泄

ICH S6（R1）ガイドライン「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」に基づき，排泄に関する試験は実施しなかった。

4.8 薬物動態学的相互作用

薬物動態学的相互作用に関する試験は実施しなかった。

4.9 カニクイザルにおけるトキシコキネティクス試験

カニクイザルにおけるチスレリズマブの TK 試験を実施した。試験は 10，30，又は 100 mg/kg の用量での単回静脈内投与試験（[2.6.4-3.2 項]，各群雌雄それぞれ 1 例），3，10，又は 30 mg/kg の用量での 13 週間反復静脈内投与試験［[2.6.4-3.3 項]，2 週間に 1 回，計 7 回投与，各群雌雄それぞれ 6 例，TK パラメータは 6 回目（11 週間）投与後に算出］，30 又は 60 mg/kg の用量での 13 週間反復静脈内投与試験（主試験）［[2.6.4-3.4 項]，2 週間に 1 回，計 7 回投与，各群雌雄それぞれ 3 例，TK パラメータは 6 回目（11 週間）投与後に算出］及び 100 mg/kg の用量での単回皮下投与試験（[2.6.4-3.4 項]，2 週間の間隔をおいて 2 回投与，雄 3 例）として行った。1 回目の反復投与試験においては，各群 6 例のうち雌雄それぞれ 2 例についてさらに 6 週間の回復期間を設けた。2 回目の反復投与試験においては，回復期間を設けなかった。2 回目の 13 週間反復静脈内投与試験（2270246 試験）の TK パラメータは 1 回目の 13 週間反復静脈内投与試験（P14-057-CD 試験）で得られた結果と類似しており，NOAEL の用量 30 mg/kg における Day 71 の定常状態 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}336h}$ の値は両試験間で同程度であった。

チスレリズマブ 3～100 mg/kg をサルに単回（又は初回）静脈内投与したときの曝露量は概ね用量に比例して増加し，明らかな性差はみられなかった。また，チスレリズマブを反復投与したとき，累積性の可能性及び曝露量の性差がみられたが，試験間でその程度や傾向に一貫性は認められなかった。全体として，すべての試験の各用量を通じて多くのサルで ADA が検出され，ADA 産生による曝露量への影響の可能性が除外できないため，反復投与後の曝露量の性差に関するデータの解釈は慎重に行うべきである。

5 毒性試験

5.1 毒性試験の要約

チスレリズマブの毒性試験一覧を Table 5-1 に示す。

Table 5-1 チスレリズマブの毒性試験一覧

試験の種類及び投与期間		投与経路	試験系
単回投与毒性試験	単回	静脈内	マウス
		静脈内，持続投与	カニクイザル
反復投与毒性試験	13 週間	静脈内，持続投与	カニクイザル
		静脈内，皮下	カニクイザル
その他の毒性試験			
リコール応答		*in vitro*	ヒト PBMC
	3 週間	腹腔内	ヒト PD-1 TG マウス
組織交差反応性		*in vitro*	カニクイザル正常組織
		in vitro	ヒト正常組織
結合プロファイル		*in vitro*	ヒト正常組織
		in vitro	ヒト TREML1 タンパク質
溶血性		*in vitro*	ウサギ赤血球
ADA 中和活性		*in vitro*	カニクイザル血清
CRA		*in vitro*	ヒト全血細胞
		in vitro	ヒト PBMC

安全性評価の動物種には，標的結合親和性及び機能活性アッセイ，並びに動物種間の PD-1ECD の配列相同性の結果を考慮して，薬理学作用を示す動物種であるカニクイザルを選択した[2.6.2-2 項]。さらに，サルはモノクローナル抗体に関する毒性試験で汎用され，十分な背景データを有することから，動物種の選択は妥当と考える。投与経路には，予定臨床投与経路である静脈内投与を選択した。毒性試験に供試した被験物質は，臨床開発及び製造販売承認申請に使用されるものと同等であった。

マウス及びカニクイザルを用いた単回投与毒性試験では，100 mg/kg までの用量で死亡及び投薬に関連した毒性変化は認められず，忍容性は良好であった。サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験（主試験）では，60 mg/kg IV 群の雌 1 例が状態悪化により安楽殺処分され，忍容性は認められなかった。瀕死の原因は血小板数の減少（消費性凝血障害）による出血に起因したものと考えられた。その他，重度の腎前性又は腎性高窒素血症を伴う顕著な低ナトリウム血症，及び複数臓器（心臓，膀胱，直腸，子宮頸部，及び膣）で血管の変化が認められた。60 mg/kg IV 群の別の雌 1 例でも安楽殺された動物と同様の所見がみられ，本薬投与に関連した免疫原性に起因した毒性変化と考えられた。本試験の NOAEL は 30 mg/kg と考えられた。

リコール応答試験では，ヒト PBMC を用いた *in vitro* 試験でリコール応答促進作用がみられたものの，B-hPD-1 マウス（ヒト PD-1 トランスジェニックマウス）を用いた *in vivo* 試験では認められなかった。免疫組織化学による組織交差反応性試験では，正常サル組織及び正常ヒト組織に対するチスレリズマブの特異的結合は認められなかった。ヒト細胞膜タンパク質を用いた結合プロファイルでは，チスレリズマブは PD-1 に特異的に結合し，TREML1 に対しては弱い結合を示した。TREML1 の結合親和性は PD-1 に比べて極めて弱いことから，チスレリズマブの TREML1 結合に対する生理学的意義は低いと考えられた。なお，Biacore を用いた TREML1 結合プロファイルでは，チスレリズマブは TREML1 タンパク質への結合を示さなかった。ウサギ赤血球を用いた *in vitro* 溶血性試験では，10 mg/mL 濃度で溶血性は認められなかった。ヒト全血細胞及びヒト PBMC を用いた CRA では，サイトカイン放出誘発性は認められなかった。

チスレリズマブの作用機序及び文献情報に基づき，本薬は胎児の発生に影響を及ぼす可能性が考えられることから[2.6.6-6 項]，ICH S9 ガイドラインに従い，チスレリズマブの生殖発生毒性試験は実施しなかった。

以上より，毒性試験の成績は，添付文書で規定された用法・用量の範囲において，チスレリズマブのがん患者への使用を支持するものと考えられる。

5.2 単回投与毒性試験

マウス及びカニクイザルを用いた単回投与毒性試験では，チスレリズマブを 100 mg/kg までの用量で単回静脈内投与し，投与後 28 日間観察した[2.6.6-2.1 項]，[2.6.6-2.2 項]。その結果，いずれの試験においても死亡及び投薬に関連した毒性変化は認められず，概略の致死量は 100 mg/kg を超える量と考えられた（Table 5-2）。

Table 5-2 単回投与毒性試験

試験系	動物数／群	投与経路	用量 (mg/kg)	概略の致死量 (mg/kg)	試験番号
マウス，ICR	雄 10，雌 10	静脈内投与	0, 30, 100	> 100	M14-057-JD (GLP [a])
カニクイザル	雄 1，雌 1	持続静脈内投与	0, 10, 30, 100	> 100	P14-057-JD (GLP [a])

a：EMA の GLP リモート査察に基づき OECD GLP 基準を保証できない。

5.3 反復投与毒性試験

サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験では，各群雌雄各 6 例のカニクイザルにチスレリズマブを 0（placebo 製剤を注射用生理食塩液にて希釈），3，10，及び 30 mg/kg の用量で，2 週間に 1 回，30 mL/kg/h の投与速度で 13 週間反復持続静脈内投与した。さらに，1 群雌雄各 2 例は回復性試験群とし，投与期間終了後，6 週間の休薬により回復性を検討した[2.6.6-3.1 項]。なお，本試験は EMA の GLP リモート査察に基づき GLP 原則を遵守して実施されていないと判断された。

本試験で，死亡及び瀕死は認められず，いずれの検査項目（一般状態，体重，摂餌量，体温，心電図，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固系検査，血液生化学的検査，尿検査，リンパ球サブセット検査，サイトカイン検査，剖検，器官重量測定，及び病理組織学的検査）でも投薬に関連する明らかな毒性は認められず，心血管系，呼吸系，及び中枢神経系への作用も認められなかった。本試験の NOAEL は 30 mg/kg Q2W と考えられた。

各用量の多くの動物で中和抗体が確認されたが，免疫複合体の形成を示唆する毒性及び免疫毒性の発現は認められなかった。本試験の NOAEL である 30 mg/kg 群の曝露量（AUC）は，予定臨床用量［200 mg，3 週間に 1 回（Q3W）］を投与した患者における曝露量の約 5～8 倍であった。

5.4 反復投与毒性試験（主試験）

サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）では，各群雌雄各 3 例のカニクイザルにチスレリズマブを 0（placebo 製剤を注射用生理食塩液にて希釈），30，及び 60 mg/kg の用量で，2 週間に 1 回，13 週間反復静脈内投与，及び 1 群雄 3 例に 100 mg/kg の用量で，2 週間に 1 回，計 2 回皮下投与（SC）した[2.6.6-3.2 項]。本試験は，GLP 適合の施設である Labcorp Early Development Laboratories（USA）にて新たに追加実施した。

本試験では，60 mg/kg IV 群の雌 1 例が状態悪化により安楽殺処分され，忍容性は認められなかった。当該瀕死例の一般状態の変化として，鼻出血，円背位，及び活動性低下等がみられ，血小板数減少（消費性凝血障害）と関連した皮膚の色素異常が認められた。尿素窒素の増加を伴う腎臓の糸球体の血栓症（播種性血管内凝固症候群）及び尿細管変性の病理組織学的変化，並びに複数臓器（心臓，膀胱，直腸，子宮頸部，及び膣）で血管の変化が認められた。60 mg/kg IV 群の別の雌 1 例でも安楽殺された動物と同様の所見がみられ，本薬投与に関連した免疫原性に起因した毒性変化と考えられた。

その他，生存例では全投薬群で体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査，剖検，及び器官重量測定に本薬投与に関連した変化は認められなかった。心血管系，呼吸系，及び中枢神経系への作用も認められなかった。したがって，本試験の NOAEL は IV 群では 30 mg/kg，SC 群では 100 mg/kg と考えられた。

TK 試験では，曝露量は用量依存的な増加を示し，雄では雌に比べ累積性が高かった。ADA 検査では，投与期間終了時までに 30 及び 60 mg/kg 群で雌雄合計 10/12 例に ADA が検出された。NOAEL である 30 mg/kg における曝露量（AUC）は，予定臨床用量（200 mg）を投与した患者における曝露量の約 4.3～6.6 倍であった。

5.5 遺伝毒性試験

チスレリズマブはモノクローナル抗体であり，DNA 又は他の染色体成分と直接相互作用するとは考え難いことから，ICH S6 (R1)ガイドラインに従い，遺伝毒性試験は実施しなかった。

5.6 がん原性試験

チスレリズマブは進行がんの治療を目的としていることから，ICH S9 ガイドラインに従い，がん原性試験は実施しなかった。

5.7 生殖発生毒性試験

ICH S9 ガイドラインに従い，チスレリズマブの生殖発生毒性試験は実施しなかった。

5.7.1 受胎能及び初期胚発生

チスレリズマブの受胎能への影響に関する試験は実施しなかった。サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験において，雌雄生殖器官に肉眼的及び病理組織学的変化は認められなかったものの，当該試験に供試したカニクイザルの多くは性的に成熟していないことから，チスレリズマブの雌雄生殖器官への影響について明確に結論付けることはできなかった[2.6.6-6.1 項]。

5.7.2 胚・胎児発生

胚・胎児毒性に関する文献的評価から，動物モデルにおいて，PD-1/PD-L1 経路の阻害により制御性 T 細胞の免疫チェックポイント分子が変化し，胎児に対する免疫寛容が破綻し胎児死亡に至る可能性が示されている。チスレリズマブはヒト化抗 PD-1 IgG4 抗体であり，IgG4 抗体は胎盤を通過するため，妊娠中の投与によってチスレリズマブが胎盤移行し，胎児毒性を発現する可能性がある[2.6.6-6.2 項]。

PD-1 及び PD-L1 ノックアウトマウスでの知見及び作用機序から，PD-1 及び PD-L1 ノックアウトマウスで免疫関連疾患が認められていることを考慮すると，チスレリズマブの胎児曝露により免疫関連疾患の発症又は胎児の正常な免疫応答に影響を及ぼす可能性が示唆される[2.6.6-6.3 項]。

5.7.3 乳汁移行

チスレリズマブの乳汁産生への影響及び乳汁移行に関する試験は実施しなかった。チスレリズマブはモノクローナル抗体であり，乳汁中へ移行するものと考えられる。乳汁を介した本薬の曝露により，乳児において重篤な毒性が発現する可能性が考えられることから，投与期間中及び投与中止後最低 4 ヵ月間は授乳を避けることが推奨される[2.5-5.7.4 項]。

5.8 局所刺激性試験

チスレリズマブの独立した局所刺激性試験は実施しなかった。投与部位局所への影響については，サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験（5.3 項，5.4 項）で一般状態観察及び病理組織学的検査により評価した。当該試験ではチスレリズマブ投与に関連した局所刺激性を示唆する変化は認められなかった。

5.9 曝露量の比較

TK は，カニクイザルを用いた単回投与毒性試験及び 13 週間反復投与毒性試験で評価した。サル及びヒトの曝露量の比較を Table 5-3 に示す。サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験（主試験）の NOAEL は 30 mg/kg であり，この用量におけるサルの曝露量（AUC）は，予定臨床用量の 200 mg を 3 週間に 1 回（Q3W）投与した患者における曝露量（AUC）の約 4.3～6.6 倍であった。

Table 5-3 サル及びヒトにおける曝露量の比較

試験の種類	用量 (mg/kg)	投与経路	性	C_{max} (μg/mL)	AUC (μg·day/mL)	曝露量比 [a]	
						C_{max} 比	AUC 比
単回, サル [b]	100		雌雄	3315	30839	25.3	27.5
13 週, サル [c]	3	IV	雄	63	304	0.5	0.3
			雌	62	380	0.5	0.3
	10	IV	雄	404	1858	3.1	1.7
			雌	519	2892	4.0	2.6
	30 (NOAEL)	IV	雄	1239	9120	9.5	8.1
			雌	909	5774	6.9	5.1
13 週, サル [d]	30 (NOAEL)	IV	雄	1200	7417	9.2	6.6
			雌	818	4833	6.2	4.3
	60	IV	雄	2480	20167	18.9	18.0
			雌	1320	8083	10.1	7.2
	100 (NOAEL)	SC	雄	1230	12542	9.4	11.2
Phase Ia/Ib, ヒト	200 mg (Q3W)		男女	131	1122	NA	NA

Source: Table 2.6.7.5-P14-057-JD，Table 2.6.7.7 A-P14-057-CD，2.6.7.7 B-2270246，BGB-A317-102 試験

a：臨床用量 200 mg Q3W（BGB-A317-102 試験）の Cycle 5 における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}21d}$ から算出，n = 12（平均値）

b：単回投与後の $AUC_{0\text{-}27d}$ を示す（P14-057-JD 試験），n = 2（雌雄の平均値）

c：6 回投与後の $AUC_{0\text{-}14d}$ を示す（P14-057-CD 試験），n = 5 又は 6（平均値）

d：6 回投与後の $AUC_{0\text{-}14d}$ を示す（2270246 試験），n = 2 又は 3（平均値）

5.10 その他の毒性試験

5.10.1 免疫毒性試験

リコール応答又は免疫記憶に対するチスレリズマブの潜在的な影響を評価するため，ヒト PBMC を用いた *in vitro* 試験及び PD-1 トランスジェニック（B-hPD-1）マウスを用いた *in vivo* 試験を実施した。

HLA-A2.1^{+}健康ドナーの PBMC をチスレリズマブ存在下で 4 日間培養し，サイトメガロウイルス pp65 ペプチド（リコール抗原）で再刺激した。T 細胞活性化の指標としてインターフェロン（IFN）-γ 産生量を測定した結果，チスレリズマブ処理により IFN-γ 産生の有意な亢進が認められ

た。この結果は，既承認の抗 PD-1 抗体薬と同様に，チスレリズマブが T 細胞介在性のリコール応答を増強する可能性があり，過去に認識した外来抗原に対する免疫応答の増強，及び免疫応答関連の毒性発現の可能性を示唆するものであった[2.6.6-8.2.1 項]。

B-hPD-1 マウスを用いた *in vivo* 試験において，スカシガイ由来ヘモシアニン（KLH）を抗原として T 細胞依存性抗体産生反応（TDAR）に対するチスレリズマブの影響を評価したところ，一次及びリコール応答のいずれにおいても，KLH 感作に対するチスレリズマブの影響は認められなかった[2.6.6-8.2.2 項]。本結果は，ニボルマブにおける TDAR 試験の結果と一致しており，ペムブロリズマブでは，機能的サロゲート抗体である muDX400 の B 型肝炎ワクチンへの免疫応答に対する影響は認められなかった。したがって，*in vivo* 動物モデルにおいては，PD-1 を介した T 細胞機能の再活性化によってワクチン接種に対する抗体反応が亢進されるリスクは低いと考えられた。

以上のとおり，ヒト PBMC を用いた *in vitro* 試験及び B-hPD-1 マウスを用いた *in vivo* 試験の結果，チスレリズマブによる治療中の患者が感染又はワクチン接種を受けた場合，リコール応答の増強及びリコール抗原に対する過剰反応に関連した毒性が発現する可能性は否定できないと考えられた。

5.10.2 組織交差反応性試験

カニクイザル及びヒトの組織を用いて免疫組織化学によりチスレリズマブの非特異的結合性を評価した。サル及びヒトの組織において，チスレリズマブの標的外組織に対する組織交差反応性は認められなかった[2.6.6-8.3 項]。

5.10.3 結合プロファイル

6101 種のヒト細胞膜タンパク質を発現したヒト HEK293 細胞を用いてチスレリズマブの組織交差反応性を評価した。チスレリズマブは標的である PD-1 に結合し，TREML1 に対して弱い結合を示した。TREML1 の結合親和性は，PD-1 に比べて極めて弱い（3750 倍以上弱い）ことから，チスレリズマブの TREML1 結合に対する生理学的意義は低いと考えられた[2.6.6-8.3.3 項]。Biacore を用いた TREML1 結合プロファイルでは，チスレリズマブは TREML1 タンパク質への結合を示さなかった[2.6.6-8.3.4 項]。

5.10.4 In vitro 溶血性試験

チスレリズマブを 10 mg/mL までの濃度でウサギ赤血球浮遊液と 37℃ で 3 時間インキュベートした結果，溶血作用は認められなかった[2.6.6-8.4 項]。

5.10.5 サイトカイン放出アッセイ

サイトカイン放出に関するチスレリズマブの潜在的リスクを評価するために，ヒト全血細胞及びヒト PBMC を用いた *in vitro* サイトカイン放出アッセイを実施した。いずれの試験においても，チスレリズマブによるサイトカイン放出の誘発は認められなかった[2.6.6-8.5 項]。

6 不純物及び分解物

該当資料なし

7 総合評価及び結論

チスレリズマブはヒト PD-1 に対するヒト化 IgG4 モノクローナル抗体であり，エフェクター機能の発現回避及び安定性を高めるため，ヒンジ領域及び Fc 領域が改変されている。チスレリズマブの非臨床試験成績から以下のことが示された。

- チスレリズマブは，生化学的結合試験，免疫細胞を用いた機能活性試験，及び *in vivo* 薬効試験において PD-1 に対して優れた結合親和性を示すとともに，PD-1 を介したシグナル伝達を効果的に阻害して免疫細胞の機能を亢進させて，*in vivo* で腫瘍増殖抑制効果を示した。
- チスレリズマブの PK／TK プロファイルの特性はカニクイザルを用いた単回及び反復投与試験において十分に評価された。カニクイザルにチスレリズマブ 3～100 mg/kg の用量で単回（又は初回）静脈内投与したときの曝露量は，概して用量に比例して増加した。
- カニクイザルを用いた毒性試験では，100 mg/kg までの単回静脈内投与により，本薬投与に関連した毒性変化は認められなかった。
- カニクイザルを用いた 2 週間に 1 回（Q2W）投与による 13 週間反復静脈内投与毒性試験（主試験）では，60 mg/kg IV 群の雌 1 例が状態悪化により安楽殺処分され，忍容性は認められなかった。安楽殺処分動物を含めて 60 mg/kg IV 群の雌 3 例中 2 例で本薬投与に関連した免疫原性に起因した毒性変化が認められたが，本所見はカニクイザル特異的変化でありヒトへの外挿性は低いと考えられた。
- カニクイザル反復投与毒性試験（主試験）の NOAEL である 30 mg/kg での曝露量を，予定臨床用量（200 mg Q3W）におけるヒトの曝露量と比較したとき，曝露量（AUC）比は約 4.3～6.6 倍であった。
- カニクイザルの心血管系，呼吸系，及び中枢神経系に対する影響は認められなかった。
- カニクイザル及びヒト組織に対する特異的な組織交差反応性は認められなかった。
- チスレリズマブは PD-1 に特異的に結合し，TREML1 に対し弱い結合を示した。TREML1 の結合親和性は，PD-1 に比べて極めて弱いことから，チスレリズマブの TREML1 結合に対する生理学的意義は低いと考えられた。
- Biacore を用いた TREML1 結合プロファイルでは，チスレリズマブは TREML1 タンパク質への結合を示さなかった。それ以外の血清や細胞の標的外タンパク質への結合は検出されていない。
- ヒト全血細胞及びヒト PBMC を用いたサイトカイン放出アッセイでは，明らかなサイトカイン放出誘発作用は認められなかった。

- 作用機序及び文献情報に基づいた胚・胎児毒性に関する評価により，チスレリズマブの胎児毒性が示唆された。
- 既承認の抗 PD-1/PD-L1 抗体薬と同様に，チスレリズマブには T 細胞介在性リコール応答亢進作用を有する可能性があると考えられた。

以上のとおり，一連の非臨床試験によりチスレリズマブの特徴は十分に検討されたものと考える。したがって，本概要に示す非臨床試験の成績は，添付文書に規定される用法・用量に従ったチスレリズマブのがん患者への使用を支持するものと判断した。

8 参考文献

該当資料なし