目次

2.6.1 緒言 3

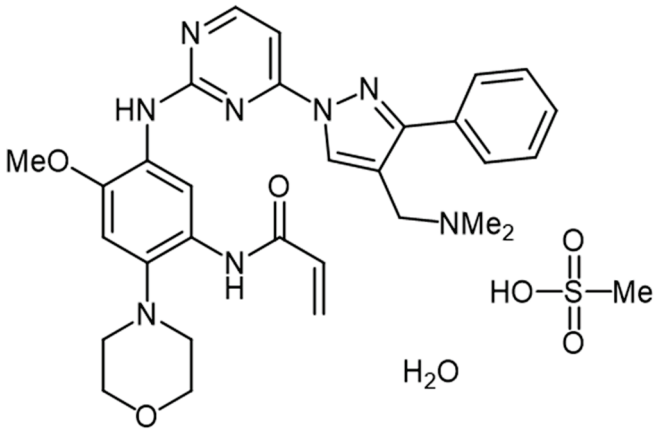
略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
EGFR	上皮成長因子受容体（epidermal growth factor receptor）
MET	間葉上皮移行因子（mesenchymal-epithelial transition factor）
NSCLC	非小細胞肺癌（non-small cell lung cancer）
TKI	チロシンキナーゼ阻害薬（tyrosine kinase inhibitor）

2.6.1 緒言

ラゼルチニブ（別名，JNJ-73841937）は，上皮成長因子受容体（EGFR）に遺伝子変異を有する非小細胞肺癌（NSCLC）の治療薬であり，成人での推奨用量を 1 日 1 回 240 mg として開発が進められている。

ラゼルチニブ（図 2.6.1-1）は，エクソン 19 欠失及び L858R の両活性化変異，並びに T790M 耐性変異を標的とする，変異体選択的かつ不可逆的作用を示す強力な第 3 世代の EGFR チロシンキナーゼ阻害薬（TKI）である。ラゼルチニブは *in vitro* で EGFR 変異体に対して高い活性及び選択性を示し，EGFR 変異陽性の細胞株及び脳転移モデル等の動物モデルでは，NSCLC に対し強力な抗腫瘍効果を示す。



化学名: *N*-{5-[(4-{4-[(Dimethylamino)methyl]-3-phenyl-1*H*-pyrazol-1-yl}pyrimidin-2-yl)amino]-4-methoxy-2-(morpholin-4-yl)phenyl}prop-2-enamide monomethanesulfonate monohydrate

分子式: $C_{30}H_{34}N_8O_3 \cdot CH_4O_3S \cdot H_2O$

分子量: 668.76 (554.66 + 96.10 + 18.02) grams/mole (lazertinib mesylate monohydrate salt)
554.66 (lazertinib free base)

図 2.6.1-1 ラゼルチニブの化学構造

ラゼルチニブは，EGFR と間葉上皮移行因子（MET）を標的とする二重特異性抗体であるアミバンタマブ（JNJ-61186372）と併用療法の開発が進められている。EGFR の細胞内部分に結合する EGFR TKI とは異なり，アミバンタマブは EGFR と MET との両方の細胞外部分に結合して，リガンド依存性のシグナル伝達を阻害する。アミバンタマブは，エクソン 20 挿入変異を有する進行性 NSCLC 成人患者の白金製剤による治療後の治療薬として，米国（2021 年 5 月，迅速承認）及び欧州（2021 年 12 月，条件付承認）を含む本邦以外の数か国で承認されている。本邦ではエクソン 20 挿入変異を有する手術不能又は再発 NSCLC の治療薬として，2023 年 11 月に製造販売承認申請を行った。

ラゼルチニブ及びアミバンタマブは，それぞれ EGFR の細胞内活性化部位及び細胞外リガンド結合ドメインを標的としているが，異なる作用機序を有することから併用療法によって各薬剤単独よりもこの経路を強力に阻害する可能性がある。

開発の初期段階で実施した非臨床試験では，ラゼルチニブの遊離塩基を使用した（YH25448，[redacted]-1480，SKI-G-1480）。13 週間毒性試験（GLP）及び生殖発生毒性試験（GLP）を含む開発

後期の多くの非臨床試験，並びに臨床試験では，水溶性を高めたラゼルチニブメシル酸塩（YH25448A）を用いた。

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 3
2.6.2.1 まとめ 3
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.2.3 副次的薬理試験 21
2.6.2.4 安全性薬理試験 22
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 26
2.6.2.6 考察及び結論 26
2.6.2.7 参考文献 27
2.6.3 薬理試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
5-HT	セロトニン（5-hydroxytryptamine）
ATP	アデノシン三リン酸（adenosine triphosphate）
AZ5104	オシメルチニブ代謝物（osimertinib metabolite）
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration versus time curve）
AUC_{24h}	投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration versus time curve from time zero to 24 hours）
BLI	生物発光画像技術（bioluminescence imaging）
BPM	拍／分（beats per minute）
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株（Chinese hamster ovary）
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum observed plasma concentration）
CO-1686	ロシレチニブ（rociletinib）
EC_{50}	50%有効濃度（half maximal effective concentration）
ECG	心電図（electrocardiogram）
EGF	上皮成長因子（epidermal growth factor）
EGFR	上皮成長因子受容体（epidermal growth factor receptor）
GI_{50}	50%増殖阻害濃度（half-maximal growth inhibitory concentration）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
Her2	ヒト上皮成長因子受容体 2 型（human epidermal growth factor receptor）
Her4	ヒト上皮成長因子受容体 4 型（human epidermal growth factor receptor）
hERG	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（human ether-à-go-go-related gene）
HGF	肝細胞増殖因子（hepatocyte growth factor）
IC_{50}	50%阻害濃度（half maximal inhibitory concentration）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use）
JNJ-73841937	ラゼルチニブ（lazertinib）の別名
K_m	ミカエリス定数（Michaelis-Menton constant）
MET	間葉上皮移行因子（mesenchymal-epithelial transition factor）
NSCLC	非小細胞肺癌（non-small cell lung cancer）
p-AKT	リン酸化 AKT（phosphorylated AKT [protein kinase B]）
p-EGFR	リン酸化 EGFR（phosphorylated EGFR）
p-ERK	リン酸化 ERK（phosphorylated ERK [extracellular signal-regulated kinase]）
QD	1 日 1 回（once daily）
SEM	標準誤差（standard error of the mean）
TGI	腫瘍増殖阻害（tumor growth inhibition）
TKI	チロシンキナーゼ阻害薬（tyrosine kinase inhibitor）
UK	イギリス（United Kingdom）
YH25448	ラゼルチニブ遊離塩基（フリー体）（lazertinib free base） 別称：[redacted]-1480，SKI-G-1480
YH25448A	ラゼルチニブメシル酸塩（lazertinib mesylate salt）

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

ラゼルチニブ（別名，JNJ-73841937）は，上皮成長因子受容体（EGFR）に遺伝子変異を有する非小細胞肺癌（NSCLC）の治療薬であり，成人での推奨用量を 1 日 1 回 240 mg として開発が進められている。ラゼルチニブは，エクソン 19 欠失（del19）及び L858R 置換の両活性化変異，並びに T790M 耐性変異を標的とする，変異体選択的かつ不可逆的作用を有する強力な第 3 世代の経口 EGFR チロシンキナーゼ阻害薬（TKI）である。ラゼルチニブは，EGFR と間葉上皮移行因子（MET）を標的とする二重特異性抗体であるアミバンタマブ（JNJ-61186372）との併用療法での開発が進められている。

- 非臨床薬理試験計画

開発の初期に実施した非臨床試験では，ラゼルチニブの遊離塩基（YH25448，[redacted]-1480，SKI-G-1480）を用いた。13 週間反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験を含む開発後期の多くの非臨床試験，並びに臨床試験では，水溶性を高めたラゼルチニブメシル酸塩（YH25448A）を用いた。

ラゼルチニブの遊離塩基及びメシル酸塩を同用量で経口投与した動物では，投与媒体に関わらず，いずれも同程度の曝露量を示すことが確認されている【2.6.4.3.2，2.6.4.3.3】。本概要では，遊離塩基及びメシル酸塩の両方をラゼルチニブと記載した。

重要な安全性薬理試験は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP），21 連邦規則集（CFR），Part 58 及び／又は経済協力開発機構（OECD）-GLP 原則を遵守して，欧州連合加盟国，OECD 加盟国の国内 GLP モニタリングプログラムの参加試験施設，又は当該試験実施時期にデータ相互受入れ制度に完全に準拠した試験施設において実施した。GLP 適用及び試験施設の場所を含む非臨床薬理試験の概要を，薬理試験概要表【2.6.3.1】に示す。

種々の *in vitro* 及び *in vivo* 非臨床薬理試験により，ラゼルチニブの薬理学的特徴を明らかにした。*In vitro* 薬理試験において，主に NSCLC 細胞株を用いたキナーゼアッセイ，増殖アッセイ及びアポトーシスアッセイによりラゼルチニブの活性を評価した。*In vivo* 薬理試験では，NSCLC 担癌マウスを用いて抗腫瘍効果を評価した。また，ラゼルチニブがオフターゲット作用を有する可能性について，*in vitro* での受容体結合実験，細胞及び組織を用いた機能試験により検討した。更に，安全性薬理試験として，*in vitro* ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）アッセイ，ラットの呼吸系及び神経学的評価試験，並びに覚醒（テレメトリー）イヌにおける心血管系試験を実施した。

試験動物種に，げっ歯類としてラットを，非げっ歯類としてイヌを選択した。これらは低分子医薬品の非臨床安全性評価に認められている動物種であり（Prior 2020），両動物種のラゼルチニブの代謝及び排泄プロファイルが，ヒトと類似していることが確認されたためである【2.6.4.5】。毒性試験における EGFR 発現組織に認められた所見から，ラット及びイヌはいずれも薬理学的に適切な動物であることが確認されている。

安全性試験に用いた動物と臨床におけるラゼルチニブの曝露比は，第 I/II 相試験（5.3.4.2.1）で得られた臨床推奨用量（240 mg を 1 日 1 回）における定常状態での最高血漿中濃度（C_{max}）

517.15 ng/mL 及び血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）6541.96 ng·h/mL を用いて算出した【2.7.2.2.1.2】。

非結合型 C_{max} の 9.3 nmol/L は，遊離塩基の分子量 554.66 及び実験的に 99%を超える血漿タンパク結合が認められた場合，血漿中の 1%を非結合（遊離）画分とするという医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン ICH E14/S7B Q&As（「QT/QTc 間隔の延長と催不整脈作用の潜在的可能性に関する臨床的及び非臨床的評価」に関する Q&A）に従って算出した。

ICH M3(R2)Q&As，「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に該当する，非臨床安全性評価が必要な主要なヒト代謝物は認められなかった。

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

In vitro 試験において，ラゼルチニブは，del19，L858R，T790M，del19/T790M 又は L858R/T790M を含む変異型 EGFR キナーゼを非常に強力に阻害し，50%阻害濃度（IC_{50}）値は 1.7～20.6 nmol/L であった。ラゼルチニブは，ヒト上皮成長因子受容体 2 型（Her2）や 4 型（Her4）などの EGFR ファミリーキナーゼに対して阻害作用を示さなかった。EGFR 変異を有する NSCLC を用いた細胞アッセイにおいて，ラゼルチニブはリン酸化 EGFR（p-EGFR），リン酸化 AKT（p-AKT）及びリン酸化 ERK（p-ERK）レベルを顕著に減少させ，続いてアポトーシス促進タンパク質 Bim EL 及びカスパーゼ-3/7 を誘導した。これによりラゼルチニブは EGFR 変異を有する癌細胞の増殖を強力に阻害したが，野生型 EGFR NSCLC 細胞への増殖阻害作用は弱かった。

In vivo 薬理試験では，NSCLC を生着させた担癌マウスにラゼルチニブを経口投与したときの抗腫瘍作用を検討した。皮下 PC9 細胞（エクソン 19 欠失変異）異種移植マウスにおいて，ラゼルチニブは 0.3～3 mg/kg の用量範囲で，用量依存的に腫瘍増殖を抑制した。H1975 細胞（L858R/T790M）マウス皮下異種移植モデルでは，ラゼルチニブの 0.3～10 mg/kg は用量依存的かつ有意な腫瘍増殖抑制作用を示し，10 mg/kg の反復投与後に大部分のマウスで腫瘍の完全退縮が認められた。ラゼルチニブの *in vivo* での有効性は，腫瘍組織における p-EGFR の用量依存的な阻害とよく相関した。脳転移のモデルとして，ルシフェラーゼ遺伝子を安定的に導入した H1975 細胞をヌードマウスの脳実質に移植した。このモデルにおいて，1～50 mg/kg の用量範囲でのラゼルチニブの投与により，生物発光シグナルが用量依存的に顕著に減少し，脳転移に対する抗腫瘍効果が示され，対照群と比較して生存期間中央値が有意に延長した。EGFR TKI 耐性 NSCLC マウス異種移植モデルにおいて，ラゼルチニブとアミバンタマブの併用は単独投与よりも優れた抗腫瘍効果が得られ，持続的かつ完全な腫瘍退縮が認められた。

2.6.2.1.2 副次的薬理試験

ラゼルチニブ（1 μmol/L）の選択性を，80 種類の受容体，イオンチャネル及びモノアミントランスポータのパネルにて検討した。ラゼルチニブはセロトニン（5-HT）トランスポーター（アンタゴニスト放射性リガンド）及び 5-HT 取り込み能を阻害し，IC_{50} 値は 40 nmol/L 及び 110 nmol/L であった。ラゼルチニブは，受容体結合試験において，$5\text{-}HT_{2B}$ 受容体へのアゴニスト放射性リガンドの結合を阻害し，その IC_{50} 値は 180 nmol/L であったが，最高 500 nmol/L の濃度まで，適切

な細胞及び組織を用いた機能試験において，意義あるアゴニスト又はアンタゴニスト作用を示さなかった。これらの結果は，ラゼルチニブのこれらのターゲットに対する結合は機能的には問題とならないことを示している。

2.6.2.1.3 安全性薬理試験

hERG アッセイにおいて，ラゼルチニブは濃度依存的に hERG チャネルの機能を阻害し，IC_{50} 値は 5.3 µmol/L であった。しかしながら，臨床推奨用量 240 mg を 1 日 1 回投与した際の非結合型の C_{max}（9.3 nmol/L）に対する曝露量のマージンは 570 倍と算出され，リスクを示唆するものでなかった。摘出ウサギ心臓において，臨床推奨用量の非結合型の血漿曝露量よりもはるかに高い（>3000 倍）30 µmol/L までのラゼルチニブの曝露後に，ラゼルチニブに関連する心電図（ECG）的変化及び電気生理学的変化は観察されなかった。ラゼルチニブは最高 20 mg/kg の単回経口投与で，イヌの定性的又は定量的な ECG，動脈圧又は心拍数を変化させなかった。ラットに最高 100 mg/kg のラゼルチニブを単回経口投与しても，呼吸及び神経学的パラメータにラゼルチニブに関連する影響は認められなかった。反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクスに基づくと，イヌの 20 mg/kg 及びラットの 100 mg/kg での曝露量［C_{max} 及び投与後 24 時間までの AUC（AUC_{24h}）］は，臨床推奨用量での曝露量の 2 倍から 4 倍であった。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 *In vitro* 薬理試験

ラゼルチニブの *in vitro* での薬理学的な特徴を，以下の試験により評価した。概要表を【2.6.3.2】に示す。

- EGFR ファミリーキナーゼアッセイ
- 標的タンパクに対する結合様式の解析
- *In vitro* キナーゼパネルによる特異性の解析
- NSCLC 細胞を用いた *in vitro* 細胞生存試験
- NSCLC 細胞を用いた EGFR リン酸化阻害
- NSCLC 細胞へのアポトーシス誘導

2.6.2.2.1.1 EGRF ファミリーキナーゼアッセイ（[redacted]-1480_1501）

（資料番号 4.2.1.1.1）

In vitro EGFR ファミリーキナーゼアッセイは，時間分解蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）法を用いて実施した。各酵素のミカエリス定数（K_m）に相当するアデノシン三リン酸（ATP）濃度を用いた。キナーゼ反応は室温で 1 時間行い，PrismTM ソフトウェア（GraphPad）を用いて IC_{50} 値を算出した。

ラゼルチニブは，EGFR 単一変異体（del19，L858R 又は T790M）及び二重変異体（L858R/T790M 又は del19/T790M）に対して強力な阻害作用を示し，野生型 EGFR よりも EGFR

変異体に対して選択的であった（表 2.6.2-1）。オシメルチニブの EGFR 変異体選択性はラゼルチニブと同程度だったが，オシメルチニブの代謝物である AZ5104 は野生型 EGFR に対しても強い阻害作用を示し，IC_{50} 値は 2.5 nmol/L であった（表 2.6.2-1）。

表 2.6.2-1 ラゼルチニブ及び他の TKI の EGFR 野生型及び変異体キナーゼ阻害作用

	IC_{50} (nmol/L)					
EGFR Genotype	**Afatinib**	**Osimertinib**	**AZ5104**	**CO-1686**	**Erlotinib**	**Lazertinib**
wild type**	0.2	16.7	2.5	928.2	0.6	25.2
del19 (E746-A750)	0.2	8.6	2.2	216.5	0.8	5.3
L858R	0.3	12.2	4.2	742.9	0.9	20.6
L858R/T790M	18.6	4.5	2.4	45.7	549.3	3.7
T790M	1.6	2.2	0.7	20.5	395.2	1.7
del19/T790M	7	3.3	1.2	44.1	715.6	3.5
IC_{50} ratio of wild type/double mutant L858R/T790M	0.01	3.7	1.1	20.3	<0.01	6.7

** Truncated wild type EGFR protein constitutively activated in the absence of EGF

2.6.2.2.1.2 EGFR L858R/T790M 変異体に対するラゼルチニブの不可逆的結合（[redacted]-1480_1501）

（資料番号 4.2.1.1.1）

EGFR L858R/T790M 変異体酵素に対する結合の不可逆性を判断するために，ラゼルチニブと EGFR L858R/T790M 変異体とを，10，100 及び 1000 µmol/L の ATP 濃度で，種々のインキュベーション時間にて反応させた。表 2.6.2-2 に示したように，ATP 濃度の増加はラゼルチニブの IC_{50} 値に明らかな影響を及ぼさなかった。しかし，検討した全ての ATP 濃度において，ラゼルチニブの IC_{50} 値はインキュベーション時間に依存して低下した。このような阻害結合特性は不可逆的阻害薬に典型的に認められるものであり，ラゼルチニブが EGFR L858R/T790M 変異体に対する不可逆的阻害薬であることが示唆された。また，ラゼルチニブは EGFR 結晶構造の 797 位のシステイン残基に共有結合することが示され（Yun 2019），ラゼルチニブが不可逆的阻害薬であることが更に裏付けられた。

表 2.6.2-2 ラゼルチニブの時間依存的 EGFR L858R/T790M キナーゼ阻害

	IC_{50} (nmol/L)		
	ATP Concentration		
Incubation Time (min)	**10 µmol/L**	**100 µmol/L**	**1000 µmol/L**
0	2.493	3.067	3.645
30	0.722	0.734	0.804
120	0.208	0.167	0.260

2.6.2.2.1.3 キナーゼパネルアッセイ([redacted]-1480_1501，UK022-0002534)

（資料番号 4.2.1.1.1，4.2.1.1.2）

[redacted]（[redacted]，イギリス）を用いて，キナーゼ 304 種を含むパネルに対するラゼルチニブの選択性を，1000 nmol/L のラゼルチニブ及び各キナーゼの K_m に相当する ATP 濃度において評価した（4.2.1.1.1，4.2.1.1.2）。4 種の変異 EGFR キナーゼを含む 16 種のキナーゼが

1000 nmol/L のラゼルチニブにより 50%以上阻害された。これらのキナーゼのうち，確認試験で阻害を示さなかった MARK1 以外について IC_{50} 値を算出し，その結果を表 2.6.2-3 に示した。本試験において，EGFR T790M/L858R 変異体の野生型 EGFR に対するラゼルチニブの選択性の比は 38 倍であった。ラゼルチニブにより強く阻害された MLK1 キナーゼは，MEK/ERK 経路の活性化により NSCLC の増殖を促進することが知られている。したがって，MLK1 に対する強力な阻害作用は NSCLC 治療に有益であると考えられた（Fawdar 2013; Xia 2018）。

表 2.6.2-3 選択したキナーゼに対するラゼルチニブの活性及び選択性

	Lazertinib	
Kinase	% Inhibition at 1000 nmol/L	IC_{50} (nmol/L)
Axl	67	523**
wild type EGFR	86	76*
EGFR (L858R)	91	NT
EGFR (L861Q)	86	NT
EGFR (T790M)	101	NT
EGFR (L858R/T790M)	98	2*
Fer	85	154*; 118**
JAK3	50	917**
MARK1	99	>100,000**
Mer	71	225**
MLK1	97	31*; 17**
Ret	86	473*; 419**
Ret (V804L)	96	NT
Ret (V804M)	82	NT
RIPK2	53	155**
Rsk3	59	575**

NT: not tested; some kinases were tested in 2 independent assays.
*: [redacted]-1480_1501 ([redacted]), **: UK022-0002534 ([redacted] UK)

さらに，ErbB ファミリーの他のメンバーである Her2 及び Her4 を用いて，ラゼルチニブの選択性を対照阻害薬と比較検討した（4.2.1.1.1）。

ラゼルチニブは Her2 及び Her4 に対して阻害作用をほとんど示さなかったが，アファチニブ及びオシメルチニブは Her2 及び Her4 に対して強い阻害作用を示した（表 2.6.2-4）。EGFR L858R/T790M 二重変異体に対する IC_{50} 値の比較では，ラゼルチニブは Her2 及び Her4 に対してそれぞれ 275 倍及び 98 倍の選択性を示したが，オシメルチニブの選択性はそれぞれ 17 倍及び 6.7 倍であった。

表 2.6.2-4 ラゼルチニブ及び他の EGFR 阻害薬の Her2 及び Her4 キナーゼ阻害活性

ErbB Family	IC_{50} (nmol/L)				
	Afatinib	Osimertinib	AZ5104	CO-1686	Lazertinib
Her2	46.8	78.6	44.7	723.5	1017
Her4	9.5	30.2	3.1	762.4	363.1
EGFR (L858R/T790M)	18.6	4.5	2.4	45.7	3.7

The ATP Km of each enzyme was used. The IC_{50} values were determined using GradPad Prism 5.

2.6.2.2.1.4　*In vitro* 細胞生存アッセイ（[redacted]-1480_1501，RDTD[redacted]001）

（資料番号 4.2.1.1.1，4.2.1.1.3）

種々の EGFR 変異を有するヒト NSCLC 細胞株を，ラゼルチニブあるいは他の EGFR 阻害薬とインキュベートした（4.2.1.1.1）。72 時間後，ATPLite アッセイキット（PerkinElmer）を用いて ATP 総量を定量することにより細胞の生存を測定した。ラゼルチニブは変異 EGFR を有する PC9 及び H1975 両細胞株の増殖を強く阻害したが，野生型 EGFR を有する H2073 株の増殖に対する阻害作用は弱かった。これらの結果は *in vitro* キナーゼ活性阻害の効力及び選択性と一致していた。オシメルチニブは EGFR 変異細胞株に良好な選択性を示したが，代謝物 AZ5104 は H2073 の細胞増殖を阻害し，親化合物よりかなり低い 50%増殖阻害濃度（GI_{50}）値を示し，その値はアファチニブと同程度であった（表 2.6.2-5）。これらの結果は，変異 EGFR を発現する NSCLC 細胞に対して，ラゼルチニブの増殖阻害の効力及び選択性が優れていることを示している。

表 2.6.2-5 NSCLC 細胞におけるラゼルチニブの *in vitro* 抗腫瘍活性

		GI_{50} (nmol/L)					
Cell Lines	**EGFR Genotype**	**Afatinib**	**Osimertinib**	**AZ5104**	**CO-1686**	**Erlotinib**	**Lazertinib**
H2073 (+EGF)	wild type	41.4	437.7	23.8	2477.0	609.7	711.1
PC9	del19	2.3	8.5	2.3	57.1	9.9	4.7
H1975	L858R/T790M	6.9	10.1	2.5	64.3	13790.0	6.3
GI_{50} ratio	H2073/PC9	18.0	51.5	10.3	43.4	61.6	151.3
	H2073/H1975	6.0	43.3	9.5	38.5	0.0	112.9

NSCLC cells were treated with serial diluted EGFR inhibitors and cell viability was measured by ATPLite assay. The GI_{50} values were determined using GraphPad Prism 5.

さらに，ラゼルチニブ（遊離塩基及びラゼルチニブメシル酸塩）及びその N-脱メチル化代謝物（M7）の抗腫瘍活性を，変異 EGFR 発現 Ba/F3 細胞及び NSCLC 細胞で評価した（4.2.1.1.3）。臨床開発以前に，M7 はイヌで循環血中の主要代謝物として同定されており，その活性を特徴付けることが必要になるものと考えられた。NSCLC 細胞において，ラゼルチニブは，遊離塩基及びメシル酸塩のいずれでも，PC9，H3255，H1975 及び二重変異 EGFR 発現 Ba/F3 細胞の増殖を明らかに抑制したが，代謝物（M7）の抑制作用はラゼルチニブより弱かった。全ての NSCLC 細胞株において，ラゼルチニブは野生型 EGFR と比較して変異型 EGFR に対して優れた選択性を示した（表 2.6.2-6）。EGFR の共有結合部位であるシステイン 797 が失われると，オシメルチニブと同様に，ラゼルチニブの活性が低下した。なお，M7 はヒトの循環血中では微量な代謝物であり（ラゼルチニブと比較して<4%），臨床における薬理活性への重要な寄与はないと考えられた。

表 2.6.2-6 変異型 EGFR 発現 Ba/F3 細胞及び NSCLC 細胞におけるラゼルチニブ，ラゼルチニブメシル酸塩及び N デスメチル代謝物（M7，YH28746）の *in vitro* 抗腫瘍活性

		GI_{50} (nmol/L)			
Cell Lines	**EGFR Genotype**	**Osimertinib**	**Lazertinib**	**Lazertinib Mesylate**	**YH28746**
H2073 (+EGF)	wild type	770.7	1233.3	1366.7	1566.7
PC9	del19	21.4	7.3	8.2	31.0
H3255	L858R	114.2	78.0	86.2	246.8
H1975	L858R/T790M	21.4	8.3	9.0	21.6
BaF3-DM	del19+T790M	1.4	1.6	1.5	2.0
BaF3-TM	del19+T790M+C797S	1360.0	1800.0	1820.0	1400.0
GI_{50} ratio	H2073/PC9	36.0	168.5	166.3	50.5
	H2073/H3255	6.7	15.8	15.9	6.3
	H2073/H1975	36.0	148.2	152.2	72.5

2.6.2.2.1.5　NSCLC 細胞における EGFR リン酸化阻害（[redacted]-1480_1501）

（資料番号 4.2.1.1.1）

NSCLC 細胞に対する抗腫瘍活性と，EGFR 変異体タンパク質のリン酸化を指標とした薬力学的作用との相関を検討するために，ラゼルチニブ又は対照阻害薬と代表的な NSCLC 細胞を 2 時間インキュベートし，ウエスタンブロット解析を行った。ラゼルチニブは PC9 及び H1975 細胞の変異 EGFR のリン酸化を阻害したが，H2073 細胞の野生型 EGFR の阻害は弱く，ラゼルチニブの野生型 EGFR に対する変異 EGFR への選択性は 88～118 倍であった（表 2.6.2-7，図 2.6.2-1）。その効力は *in vitro* キナーゼ阻害活性及び抗腫瘍活性とよく相関した。オシメルチニブも変異 EGFR のリン酸化を阻害し，野生型 EGFR に対する影響は小さかったが，その代謝物 AZ5104 及びアファチニブは変異 EGFR のみならず野生型 EGFR のリン酸化も強力に阻害し，選択性は低かった。p-AKT 及び p-ERK 等の既知の下流シグナル因子の阻害も，EGFR リン酸化阻害の程度とよく一致しており，EGFR リン酸化の阻害により下流シグナルが阻害されることが示された（図 2.6.2-1）。

表 2.6.2-7 NSCLC 細胞におけるラゼルチニブの EGFR リン酸化阻害の IC_{50} 値

		IC_{50} (nmol/L)					
Cell Lines	**EGFR Genotype**	**Afatinib**	**Osimertinib**	**AZ5104**	**CO-1686**	**Erlotinib**	**Lazertinib**
H2073 (+EGF)	wild type	6.4	244.4	16.7	768.6	>1000	318.1
PC9	del19	2.3	4.8	2.3	50.7	15.7	2.7
H1975	L858R/T790M	6.9	11.2	~ 1	10.4	>1000	3.6
IC_{50} ratio	H2073/PC9	2.8	50.9	7.3	15.2	63.7	117.8
	H2073/H1975	0.9	21.8	16.7	73.9	1.0	88.4

Relative band density from figure below was used to determine the IC_{50} of molecular potency.

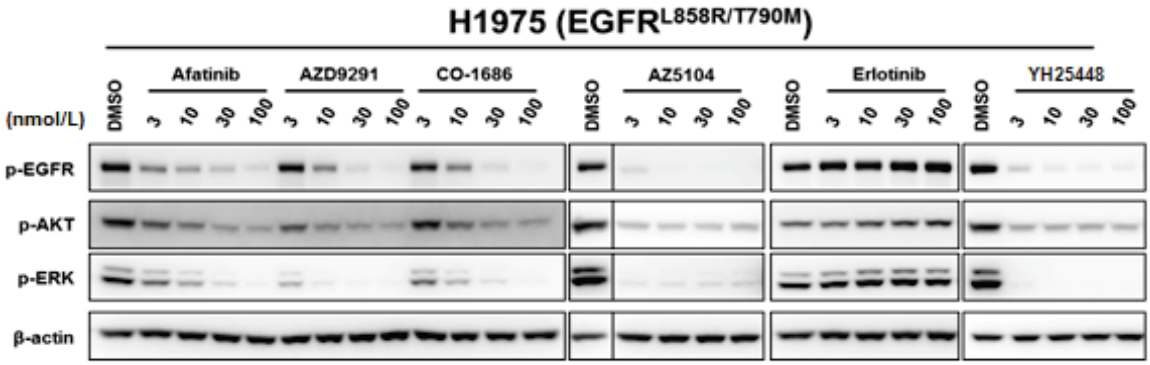


図 2.6.2-1 H1975 細胞におけるラゼルチニブ（YH25448）による EGFR リン酸化の阻害

2.6.2.2.1.6　NSCLC 細胞のアポトーシス誘導（[redacted]-1480_1501）

（資料番号 4.2.1.1.1）

ラゼルチニブの抗腫瘍活性の機序を解明するため，EGFR 阻害によって誘導される細胞死シグナル伝達を検討した。カスパーゼ-3/7 がアポトーシスの重要な調節因子であることから，H1975 及び PC9 細胞を各阻害薬とインキュベートし，カスパーゼ-3/7 の活性を測定した。PC9 細胞において，検討した全ての阻害薬がカスパーゼ-3/7 の活性化を誘導した。一方，H1975 細胞において，検討した阻害薬のうちラゼルチニブがカスパーゼ-3/7 の活性化を最も強く誘導した（表 2.6.2-8）。さらに，ラゼルチニブと H1975 細胞をインキュベートしたとき，アポトーシス促進タンパク質であり主要なアポトーシスメディエーターである Bim EL が誘導された。これらの結果は p-EGFR の阻害及び増殖抑制プロファイルと合致している。ラゼルチニブは，カスパーゼ-3/7 の活性化及び Bim EL 誘導等の機序を介し，アポトーシスを強く誘導した。

表 2.6.2-8 NSCLC 細胞におけるカスパーゼ-3/7 活性誘導に対するラゼルチニブ及び他の EGFR 阻害薬の作用

		EC_{50} (nmol/L)				
Cell Lines	**EGFR Genotype**	**Afatinib**	**Osimertinib**	**CO-1686**	**Erlotinib**	**Lazertinib**
PC9	del19	2.3	31.7	190.1	35.6	14.7
H1975	L858R/T790M	370.2	94.9	172.4	23880.0	38.8

Relative caspase 3/7 activity in the Caspase-Glo 3/7 assay

2.6.2.2.2　*In vivo* 薬理試験

In vivo におけるラゼルチニブの効果を種々の異種及び同種移植モデルを用いて検討した。概要表【2.6.3.2】にその結果を示す。全ての皮下異種移植試験において，腫瘍体積は式：体積 = $0.5 \times a \times b^2$（a は腫瘍の長径，b は短径）により求め，単位は mm^3 で表した。腫瘍増殖抑制率（%TGI）は以下のように算出した：

%TGI = ［1-（被験薬を投与した各群の腫瘍体積の平均変化量／対照群の腫瘍体積の平均変化量）］× 100

2.6.2.2.2.1　ヒト NSCLC PC9 皮下異種移植モデル（E0403-U1502-CP-T001-1）

（資料番号 4.2.1.1.4）

ヒト NSCLC 異種移植モデルに対するラゼルチニブの効果を，PC9 細胞（EGFR del19 変異を保有）を皮下移植した雌 BALB/c ヌードマウスを用いて評価した。Day 0 に，マウスの皮下に PC9 癌細胞（1×10^7個）を移植した。平均腫瘍体積が 138 mm^3 に達した時点から，溶媒，ラゼルチニブ（0.3，1 及び 3 mg/kg）又はオシメルチニブ（3 mg/kg）の投与を開始し，1 日 1 回 25 日間（Day 5 から Day 29）強制経口投与した。

ラゼルチニブ 0.3，1 及び 3 mg/kg の 1 日 1 回経口投与により，用量依存的かつ溶媒投与群に対し統計学的に有意な（$p<0.001$）抗腫瘍活性が得られた。Day 29 における%TGI はそれぞれ 60%，96%及び 104%であった。一方，オシメルチニブ（3 mg/kg）の%TGI は 95%であった（図 2.6.2-2）。

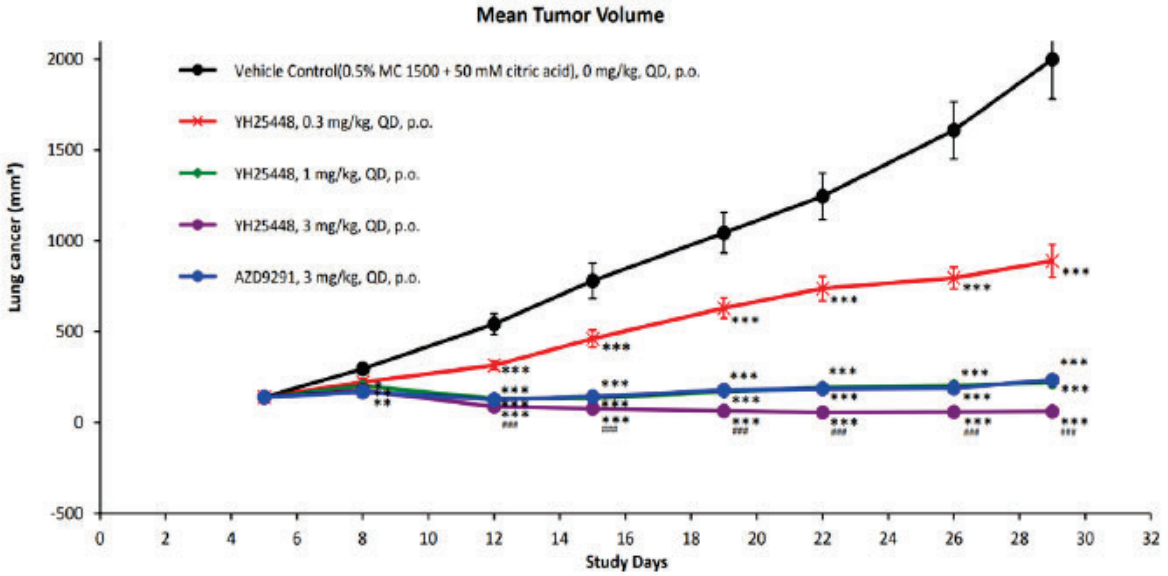


図 2.6.2-2 ヒト NSCLC PC9 異種移植ヌードマウスにおけるラゼルチニブ（YH25448）及びオシメルチニブ（AZD9291）の抗腫瘍活性

Data represents mean ± SEM. (n=10/group)
* $p<0.05$, ** $p<0.01$, and *** $p<0.001$ compared to vehicle control (Dunnett's test).
###, $p<0.001$ compared to osimertinib (AZD9291) at the same dose (Student's t-test).

2.6.2.2.2.2　ヒト L858R 変異 EGFR を発現したマウス Ba/F3 皮下同種移植モデル（RDTE[redacted]037）

（資料番号 4.2.1.1.5）

Ba/F3-L858R（ヒト L858R 変異 EGFR を定常的に発現するマウス pro-B 細胞株）皮下移植モデルにおいて，ラゼルチニブメシル酸塩の効果を評価した。雌 BALB/c ヌードマウスの皮下に Ba/F3-L858R 細胞（5×10^6個/マウス）を移植した。平均腫瘍体積が 160 mm^3 に達した時点から，溶媒，ラゼルチニブ（1，3 及び 10 mg/kg）又はオシメルチニブ（1，3 及び 10 mg/kg）の投与を開始し，1 日 1 回，11 日間強制経口投与した。

ラゼルチニブ 1，3 及び 10 mg/kg の 1 日 1 回経口投与により，用量依存的かつ統計学的に有意な抗腫瘍活性が得られた（%TGI はそれぞれ 72%，108%及び 118%，ラゼルチニブ投与群 3 群は

溶媒対照群に対し，いずれも $p<0.01$ 又は $p<0.001$）。一方，同用量のオシメルチニブの抗腫瘍活性は，それぞれ 26%，100%及び 115%であった。ラゼルチニブ 10 mg/kg では 8 例中 3 例で完全な腫瘍退縮がみられたのに対して，オシメルチニブ 10 mg/kg を投与したマウスでは完全な腫瘍退縮がみられたのは 8 例中 1 例のみであった。

2.6.2.2.2.3 ヒト NSCLC H1975 皮下異種移植モデル（[redacted]-1480_1502，RDTE[redacted]144，RDTE[redacted]016，RDTE[redacted]201）

（資料番号 4.2.1.1.6，4.2.1.1.7，4.2.1.1.8，4.2.1.1.9）

EGFR L858R/T790M 二重変異を有するヒト NSCLC 細胞株 H1975 の皮下移植モデルを用いて，第一世代 EGFR TKI に対する耐性を獲得した変異株に対するラゼルチニブの効果を検討した（4.2.1.1.6）。H1975 細胞（2×10^6 個/マウス）を雄 BALB/c ヌードマウスの皮下に移植した。平均腫瘍体積が約 200 mm^3 に達した時点から，ラゼルチニブを 1 日 1 回又は 1 日 2 回，14 日間強制経口投与した。ラゼルチニブは，1，3 及び 10 mg/kg の 1 日 1 回経口投与により，腫瘍増殖を用量依存的かつ有意に抑制した（%TGI は，それぞれ 101%，111%及び 112%，いずれも $p<0.01$，溶媒対照群との比較，表 2.6.2-9）。また，ラゼルチニブは 3 mg/kg の 1 日 2 回経口投与により腫瘍増殖を有意に抑制した（%TGI：112%，$p<0.01$）。

表 2.6.2-9 NSCLC H1975 異種移植モデルにおけるラゼルチニブの抗腫瘍活性のまとめ

Drug and Dose	TGI (%) at Day 13	Maximal Body Weight Loss (%)
Lazertinib 1 mg/kg QD	101 ($p<0.01$)#	No body weight loss
Lazertinib 3 mg/kg QD	111 ($p<0.01$)	No body weight loss
Lazertinib 10 mg/kg QD	112 ($p<0.01$)	No body weight loss
Lazertinib 3 mg/kg BID	112 ($p<0.01$)	No body weight loss
AZD9291 1 mg/kg QD	77 ($p<0.01$)	No body weight loss

# The last data point of lazertinib 1 mg/kg is excluded owing to error of drug preparation during Day 11-13. Therefore, % TGI is results of Day 10.
n=12 for all groups except lazertinib 3 mg/kg (BID) and AZD9291 1 mg/kg QD n=6. The Student t-test was conducted between each dosing group and vehicle control.

さらに，このモデルにおけるラゼルチニブ 0.3，1 及び 3 mg/kg の 1 日 1 回経口投与で再度試験を実施した。H1975 腫瘍が生着したマウスにおいて，ラゼルチニブは，0.3，1 及び 3 mg/kg の 14 日間投与により用量依存的かつ有意に腫瘍増殖を抑制した（それぞれ TGI = 56%，95%及び 112%，いずれも $p<0.01$，溶媒対照群との比較）（4.2.1.1.6）。

別の投与スケジュールを用いた H1975 皮下異種移植モデル（4.2.1.1.7）及び H1975 同所移植肺モデル（4.2.1.1.8）で実施された試験おいても，ラゼルチニブは高い有効性を示した。

腫瘍退縮と EGFR のリン酸化阻害との関連性について薬力学試験で検討した。H1975 皮下担癌マウスにおいて，最終経口投与の 2 時間及び 24 時間後に腫瘍組織を採取してウエスタンブロット解析を行った。ラゼルチニブは，3 及び 10 mg/kg の用量で，投与後 24 時間の p-EGFR を完全に阻害した。さらにラゼルチニブは，溶媒対照群と比較して，下流シグナルの p-AKT 及び pERK1/2 を用量依存的かつ持続的に阻害した（図 2.6.2-3）。p-EGFR の阻害及び薬力学的分析データは，各用量群の抗腫瘍活性と相関していた（4.2.1.1.9）。

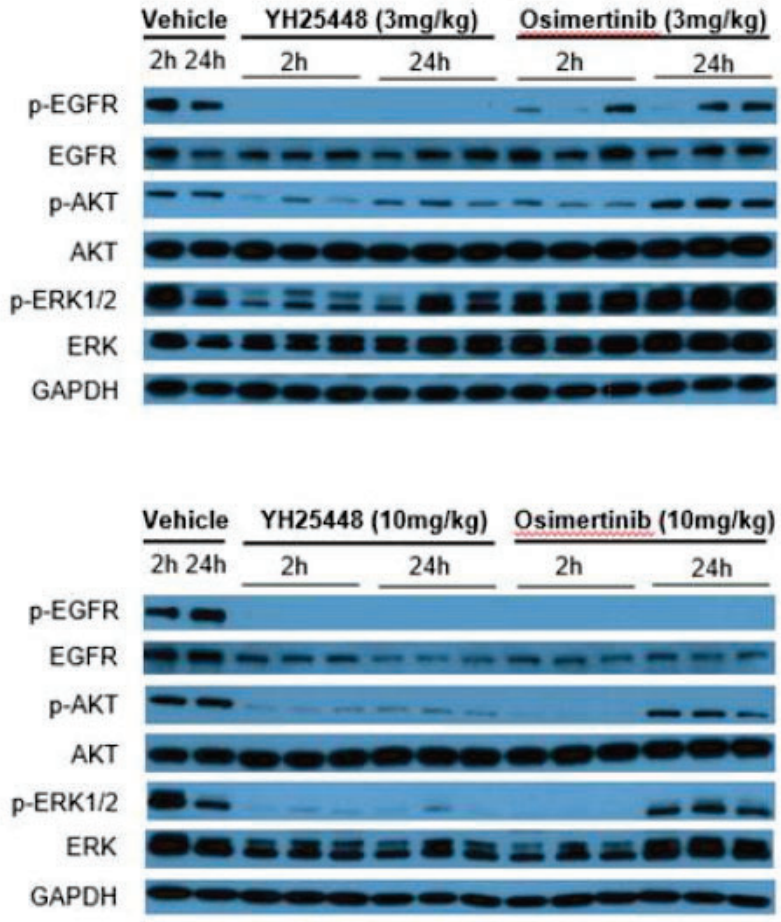


図 2.6.2-3 ヒト NSCLC H1975 皮下異種移植モデルの腫瘍組織におけるラゼルチニブ（YH25448）の薬力学的活性

2.6.2.2.2.4　ヒト類表皮癌 A431 皮下異種移植モデル（RDTE[redacted]073）

（資料番号 4.2.1.1.10）

ラゼルチニブメシル酸塩の抗腫瘍効果を，野生型 EGFR（ヒト類表皮癌 A431）を発現する腫瘍の皮下異種移植モデルを用いて評価した。溶媒対照群と比較して，ラゼルチニブメシル酸塩及びオシメルチニブ 3 及び 10 mg/kg の 1 日 1 回経口投与により，用量依存的な抗腫瘍活性が認められた。ラゼルチニブメシル酸塩 1，3 及び 10 mg/kg 投与による Day 45 における%TGI はそれぞれ 10%，51%及び 84%で，これに対して同用量のオシメルチニブでは-18%，73%及び 101%であった。A431 異種移植モデルにおけるラゼルチニブメシル酸塩 3～10 mg/kg の TGI 作用は中等度であった。

一方，PC9（EGFR del19 変異を有するヒト NSCLC 細胞），Ba/F3-L858R（EGFR L858R 変異由来転写物を定常的に発現するよう操作させたマウス B 細胞）及び H1975（EGFR L858R/T790M 変異を有するヒト NSCLC 細胞）の各 EGFR 変異体を有する腫瘍移植モデルにおいて，ラゼルチニブの 3～10 mg/kg は，持続的な腫瘍退縮を誘導するのに十分な用量であった。これらの結果は，変異 EGFR を有する異種移植腫瘍モデルに対するラゼルチニブの有効性が，野生型 EGFR を発現するモデルよりも高いことを示している。

2.6.2.2.2.5　ヒト NSCLC H1975 皮下及び頭蓋内の二重移植モデル（RDTE[redacted]229，RDTE[redacted]176，RDTE[redacted]075，RDTE[redacted]143，RDTE[redacted]175，RDTE[redacted]246）（資料番号 4.2.1.1.11，4.2.1.1.12，4.2.1.1.13，4.2.1.1.14，4.2.1.1.15，4.2.1.1.16）

頭蓋内癌細胞移植モデルを用いて，脳の転移病変に対するラゼルチニブの効果を検討した（4.2.1.1.11）。ルシフェラーゼ遺伝子導入 H1975 ヒト NSCLC 細胞（5×10^5 個/4 μL/マウス）をヌードマウスの脳線条体内に移植した。各マウスは頭蓋内に加えて，皮下にも H1975 細胞を移植した。頭蓋内病変の腫瘍量を，生物発光画像技術（BLI）により IVIS® SPECTRUM Imaging System（PerkinElmer）を用いて測定した。

頭蓋内及び皮下の両方にヒト NSCLC H1975 腫瘍を移植した雌の BALB/c ヌードマウスに，1，3 及び 10 mg/kg のラゼルチニブ又はオシメルチニブを移植 13 日後から 1 日 1 回経口投与した。投与は各動物が死亡するまで継続し，生存期間を評価した。各群 7 例の動物を割り付けた。

皮下に移植した腫瘍の体積は，ラゼルチニブ及びオシメルチニブ両群の動物において，用量依存的かつ有意に減少した。ラゼルチニブ 1 及び 3 mg/kg の 10 日間投与後における TGI（%）はそれぞれ 93%及び 121%，また同用量のオシメルチニブでは 44%及び 103%であった（図 2.6.2-4）。さらに，43 日間の反復投与後，ラゼルチニブ 10 mg/kg により生存マウス 6 例中 6 例の皮下の腫瘍が完全退縮したのに対して，オシメルチニブ 10 mg/kg により完全退縮がみられたマウスは 6 例中 3 例であった。

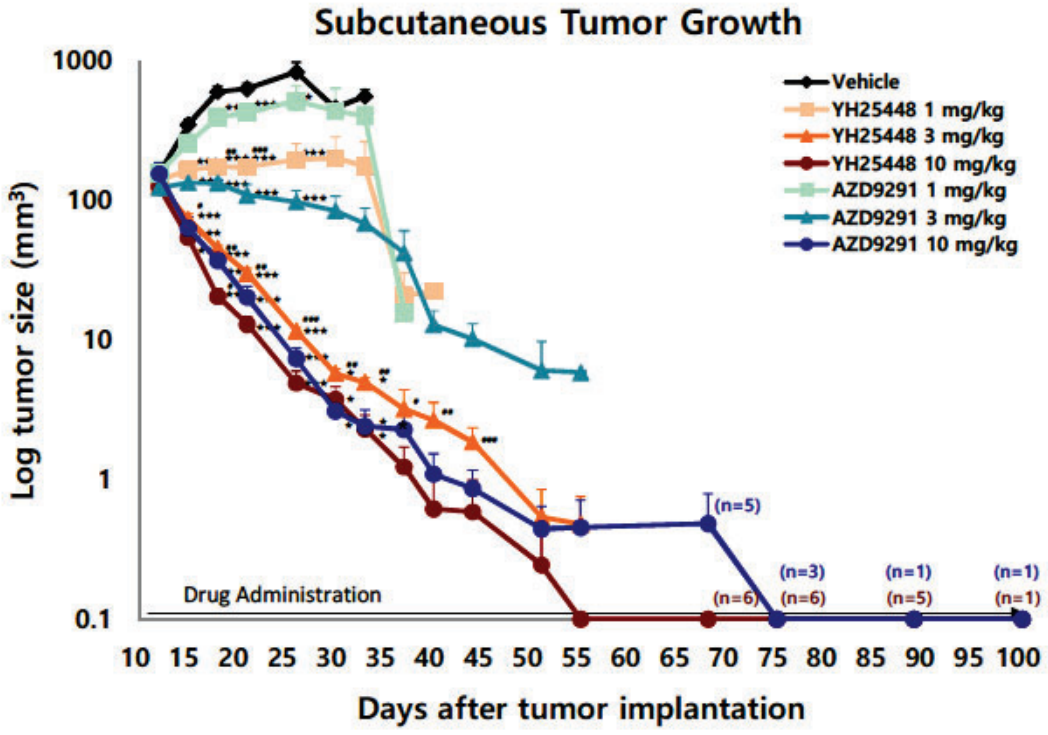


図 2.6.2-4 ヒト NSCLC 由来 H1975 の頭蓋内及び皮下担癌マウスの皮下の腫瘍に対するラゼルチニブ（YH25448）の効果

Data represents mean ± SEM (n=7/group).
*, **, ***: p<0.05, p<0.01, p<0.001 vs vehicle control (Dunnett's test).
#, p<0.05; ##, p<0.01; ###, p<0.001 vs osimertinib (AZD9291) at the same dose (student's t-test).
The number in parentheses indicates the number of survivors on the measurement day.

脳へ移植した腫瘍の生物発光画像強度（log total flux，photon/秒）は，ラゼルチニブ及びオシメルチニブ両群の動物で有意に低下した（図 2.6.2-5）。被験薬投与 9 日目後（Day 21）におけるラゼルチニブ 1，3 及び 10 mg/kg 群の生物発光画像強度はそれぞれ 4.1E+07，1.2E+07 及び 1.5E+06 であったのに対して，溶媒対照群では 1.1E+09 であった。さらに被験薬投与 28 日後（Day 40）における各個体の生物発光画像を比較すると，ラゼルチニブ 10 mg/kg の投与群では，同用量のオシメルチニブ投与群と比較して，脳病変のより完全な抑制が認められた。

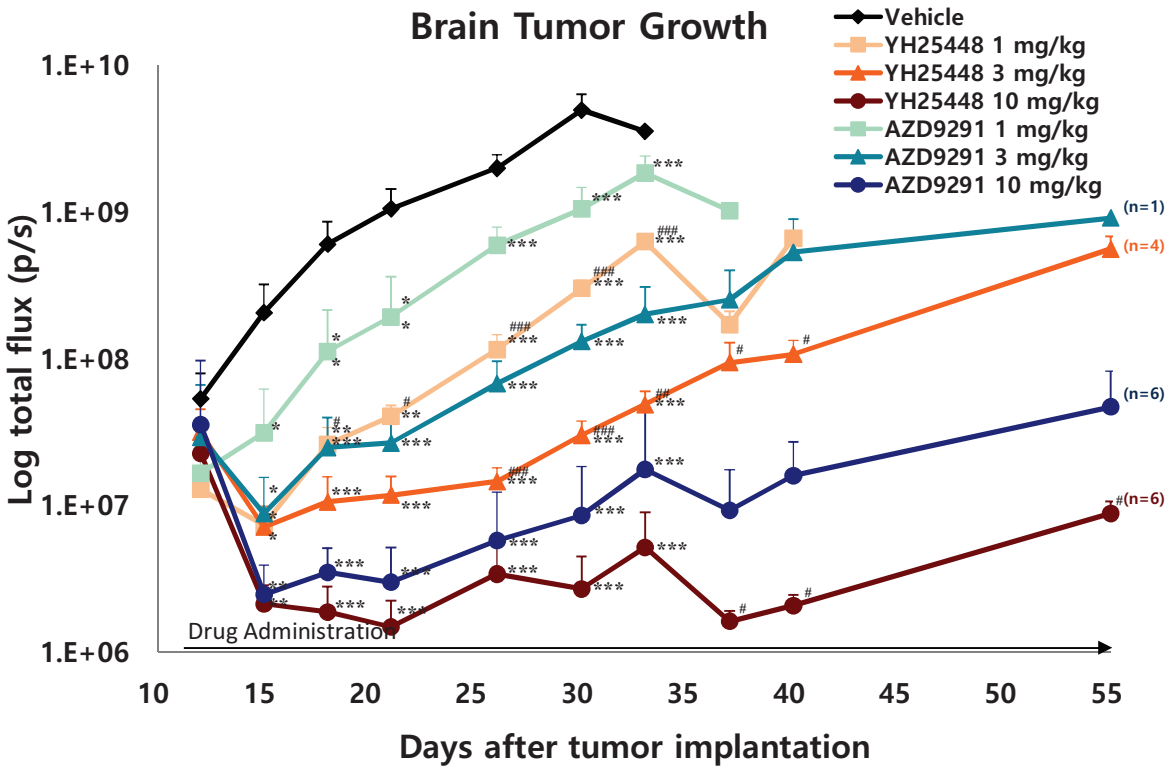


図 2.6.2-5 ヒト NSCLC 由来 H1975 頭蓋内及び皮下担癌マウスの頭蓋内腫瘍に対するラゼルチニブ（YH25448）の効果

Data represents mean ± SEM (n=7/group).
*, **, ***: p<0.05, p<0.01, p<0.001 vs vehicle control, respectively (Dunnett's test).
#, ##, ###: p<0.05, p<0.01, p<0.001 vs osimertinib (AZD9291) at the same dose, respectively (Student's t-test).
The number in parentheses indicates the number of survivors on Day 55 post tumor implantation.

ラゼルチニブは，H1975 のマウス二重移植モデルにおいて，1，3 及び 10 mg/kg の用量で皮下及び頭蓋内の両方の腫瘍増殖を用量依存的かつ有意に抑制し，生存期間を延長した（図 2.6.2-6，表 2.6.2-10）。皮下の腫瘍は安楽死を行う基準に達していなかったが，頭蓋内の生物発光画像強度の増加及び著しい体重減少を認め，死亡あるいは安楽死させた。

H1975 二重移植モデル（4.2.1.1.12）及び H1975 脳転移モデル（4.2.1.1.13, 4.2.1.1.14, 4.2.1.1.15, 4.2.1.1.16）を使用した種々の試験が実施され，その結果を薬理試験の概要表【2.6.3.2】にまとめた。

これらの結果は，NSCLC の原発肺病変だけでなく，脳転移に対しても強い抗腫瘍活性があることを示している。

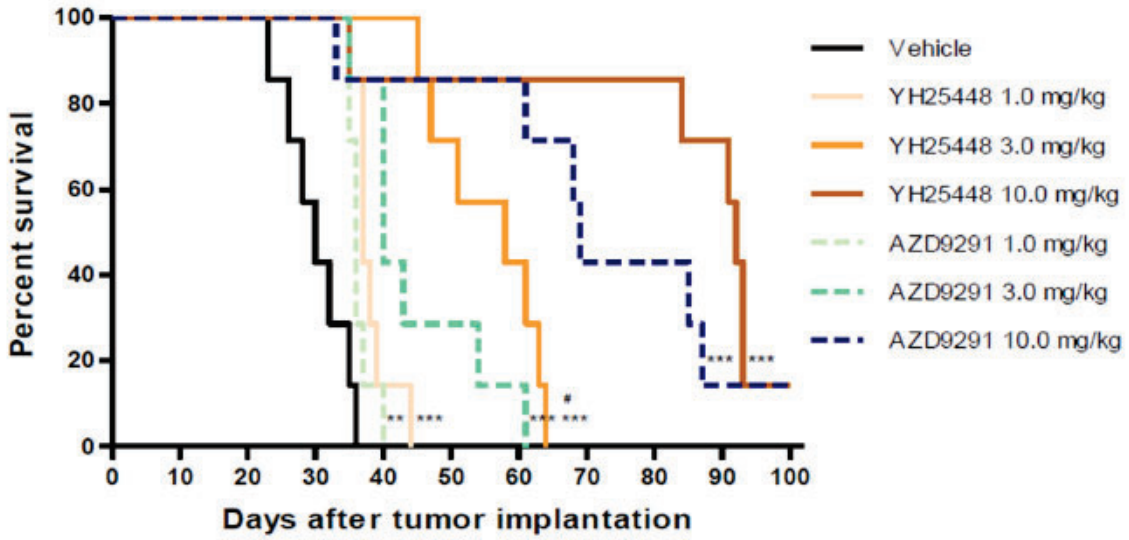


図 2.6.2-6 ヒト NSCLC 由来 H1975 の頭蓋内及び皮下担癌マウスの生存に対するラゼルチニブ（YH25448）の効果

**, ***: p<0.01, p<0.001 vs vehicle control, respectively.
#: p<0.05 vs osimertinib (AZD9291) at same dose (Cox proportional hazards model)

表 2.6.2-10 ヒト NSCLC 由来 H1975 の頭蓋内及び皮下担癌マウスの生存解析

Compounds		MST (Day)	ILS (%)	HR (95% CI) / p-value (vs. vehicle)	
Vehicle	-	30			
Lazertinib	1 mg/kg	37	123	0.096 (0.025 to 0.365)	/ <0.01
	3 mg/kg	58	193	0.012 (0.002 to 0.059)	/ <0.001
	10 mg/kg	92	307	0.001 (0 to 0.008)	/ <0.001
Osimertinib	1 mg/kg	36	120	0.185 (0.054 to 0.638)	/ <0.01
	3 mg/kg	40	133	0.031 (0.007 to 0.141)	/ <0.001
	10 mg/kg	69	230	0.002 (0 to 0.014)	/ <0.001

Survival analysis was conducted using log-rank test and compared to the vehicle group.

CI = confidence interval; HR = hazard ratio; ILS = increase of life span; MST = median survival time.

2.6.2.2.6 未治療及び EGFR TKI 耐性の NSCLC 異種移植腫瘍モデルにおけるラゼルチニブ／アミバンタマブ（JNJ-61186372）併用時の抗腫瘍活性（DD[redacted]058, DD[redacted]087）

（資料番号 4.2.1.1.17，4.2.1.1.18）

2 つの EGFR 標的薬物の併用投与による抗腫瘍活性を評価するために，ラゼルチニブとは EGFR に対する作用機序が異なるアミバンタマブとラゼルチニブの併用時の作用を検討した。ラゼルチニブが EGFR の細胞内キナーゼドメインに結合して受容体のリン酸化を阻害するのに対して，EGFR/MET 二重特異性抗体アミバンタマブはこれらの受容体の細胞外ドメインに結合して抗腫瘍活性を示す。アミバンタマブは，受容体のダウンモジュレーションとリガンド遮断によるリン酸化の阻害に加えて，免疫細胞を介した抗腫瘍作用を誘導し，これらの作用はラゼルチニブの

抗腫瘍活性を補完するとのことが考えられる。さらに，アミバンタマブは，EGFR TKI 療法に対する耐性を引き起こす際に一般的に活性化される経路である MET シグナル伝達も阻害する。

ラゼルチニブとアミバンタマブの併用投与による有効性を調べるために，原発巣の代表的なモデルである H1975 異種移植腫瘍モデルを用いて，抗腫瘍活性を評価した（4.2.1.1.17）。先に実施した試験（4.2.1.1.11）（2.6.2.2.2.5）の結果と一致して，ラゼルチニブ 10 mg/kg の単独投与は，対照群と比較して Day 29 に 112%の有意な%TGI を示した（p<0.0001，図 2.6.2-7 及び表 2.6.2-11）。同様に，アミバンタマブ 10 mg/kg の単独投与においても，対照群と比較して Day 29 に有意な%TGI（86%; p=0.0003）が見られた。アミバンタマブとラゼルチニブの併用投与（両薬物とも 10 mg/kg）は，アミバンタマブ単独投与群と比較して有意な%TGI を示し（p<0.0001，表 2.6.2-11），ラゼルチニブ単独投与群と比較して，有意ではないが腫瘍再増殖の時期が遅延する傾向が認められた（図 2.6.2-7）。また，ラゼルチニブ単独投与では，完全な腫瘍退縮が見られたマウスは 10 例中 1 例であったのに対して，アミバンタマブとラゼルチニブの併用では，10 例中 7 例で完全な腫瘍退縮が認められた。この試験結果から，EGFR TKI 単独療法と比較し，ラゼルチニブとアミバンタマブの併用療法は，未治療の EGFR 変異型 NSCLC の治療において臨床的に有益である可能性が示唆された。

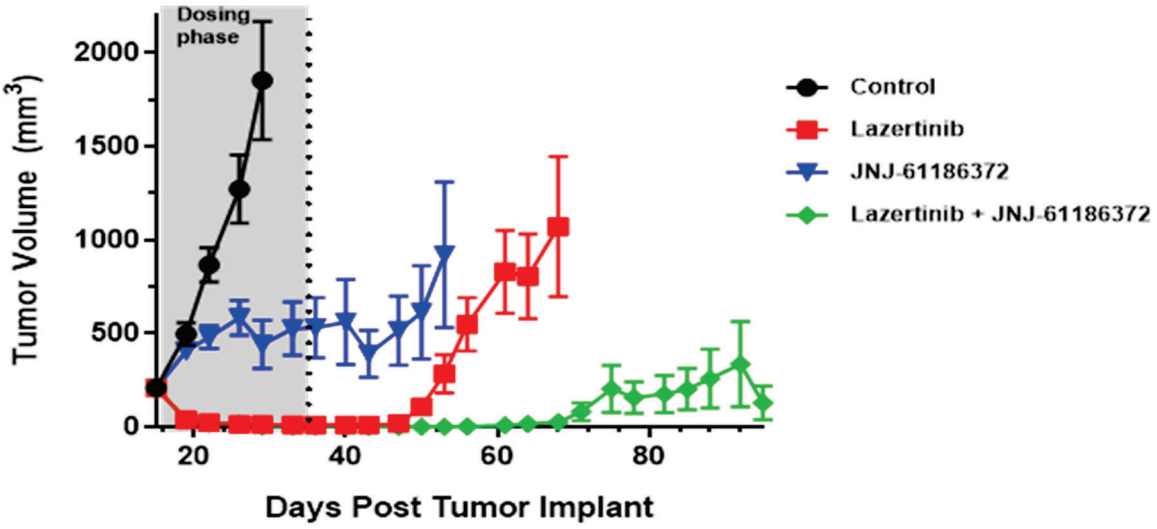


図 2.6.2-7 H1975 を生着させた NSCLC 異種移植モデルにおけるアミバンタマブ（JNJ-61186372）とラゼルチニブの併用効果

JNJ-61186372 (Amivantamab), EGFRxcMET antibody; NSCLC, non-small cell lung cancer.
Group tumor volumes are graphed as the mean ± SEM (n=10/group). Tumor cells were implanted on Day 0; and mice were treated from Days 15 to 35 (denoted by gray shading). All therapeutics were dosed at 10 mg/kg.

表 2.6.2-11 H1975 腫瘍に対する Day 29 における腫瘍増殖阻害の p 値

Treatments	Control	Lazertinib	Amivantamab
Lazertinib	<0.0001	--	--
Amivantamab	0.0003	--	--
Lazertinib + Amivantamab	<0.0001	0.1606	<0.0001

Statistical significance was calculated using the Linear Mixed-Effects analysis and Dunnett's test.

EGFR TKI 耐性異種移植腫瘍モデルにおけるアミバンタマブとラゼルチニブの併用の有効性を評価するために，H1975 に肝細胞増殖因子（HGF）を過剰発現させて MET シグナル伝達経路（H1975/HGF）を活性化したモデルを構築した（4.2.1.1.17）。このモデルにおいて，アミバンタマブ及びラゼルチニブの 10 mg/kg 単独投与はいずれも有効性を維持し，対照群と比較して Day 28 にそれぞれ 70%及び 75%の%TGI を示した（それぞれ p=0.0059 及び p=0.0030；図 2.6.2-8 及び表 2.6.2-12)。ラゼルチニブの活性は，MET シグナル伝達の活性化によって H1975/HGF の TGI は前述の H1975 モデル（図 2.6.2-7）での作用と比較して大幅に低下し，%TGI はそれぞれ 75%及び 112%であった。一方，アミバンタマブの活性は両方のモデルで同程度であり，%TGI はそれぞれ 70%及び 86%であった。アミバンタマブとラゼルチニブの併用は，Day 28 に対照群と比較して 109%の%TGI を示し（p<0.0001），各単独投与群と比較して TGI が有意に改善された（p<0.0001）。更に，ラゼルチニブ単独投与では完全な腫瘍退縮が 10 例中 2 例のマウスで認められたのに対して，アミバンタマブとラゼルチニブの併用では完全な腫瘍退縮が 10 例中 3 例のマウスで認められた。前述の H1975 モデル（4.2.1.1.17，図 2.6.2-7）と同様に，HGF 過剰発現によって誘導された本 EGFR TKI 抵抗性モデルにおいても，ラゼルチニブとアミバンタマブの併用がいずれの単独投与よりも優れていた。

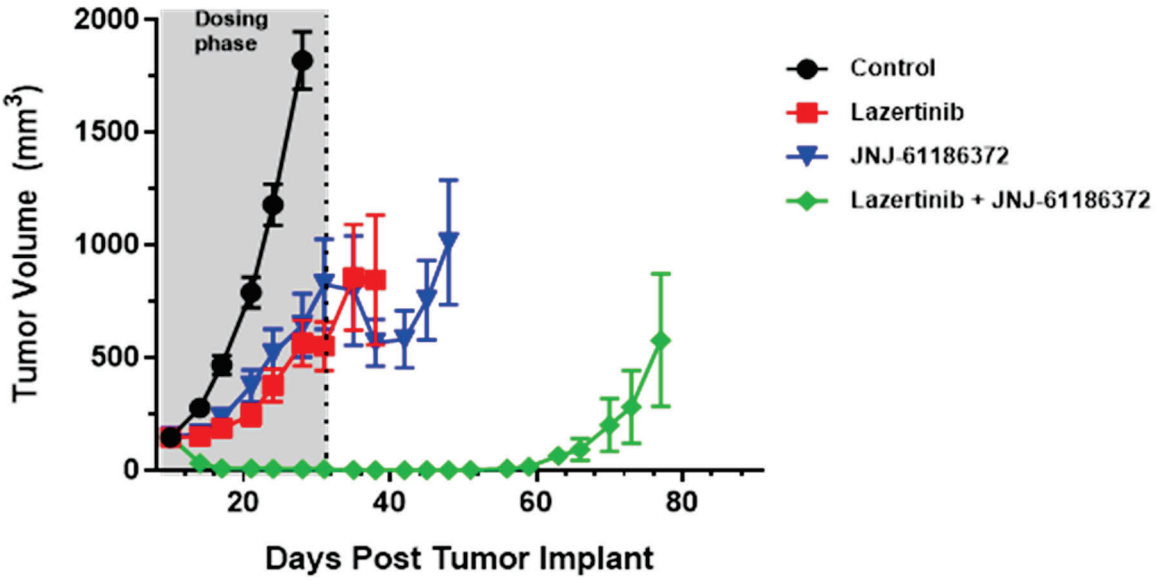


図 2.6.2-8 H1975-HGF を生着させた NSCLC 異種移植モデルにおけるアミバンタマブ（JNJ-61186372）とラゼルチニブの併用作用

JNJ-61186372 (Amivantamab), EGFRxcMET antibody; HGF, hepatocellular growth factor; NSCLC; non-small cell lung cancer.
Group tumor volumes are graphed as the mean ± SEM (n=10/group). Tumor cells were implanted on Day 0; and mice were treated from Days 10 to 30 (denoted by gray shading). All therapeutics were dosed at 10 mg/kg.

表 2.6.2-12 H1975-HGF 腫瘍に対する Day 28 における腫瘍増殖阻害の p 値

Treatments	Control	Lazertinib	Amivantamab
Lazertinib	0.0030	--	--
Amivantamab	0.0059	--	--
Lazertinib + Amivantamab	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Statistical significance was calculated using the Linear Mixed-Effects analysis and Dunnett's test.

前述の試験で併用投与による有効性向上が明らかとなったことから，H1975/HGF モデルに対する長期継続併用投与（11 週間）の抗腫瘍作用の強度及び持続時間について検討した（4.2.1.1.18）。Day 15 までに，対照群と比較して全ての薬物投与群において%TGI が有意に増加した（図 2.6.2-9，表 2.6.2-13）。前述の H1975/HGF 担癌マウスの試験（4.2.1.1.17，図 2.6.2-8）と同様に，HGF の過剰発現と MET シグナル伝達経路の活性化により，EGFR/MET を標的とした二重特異性抗体のアミバンタマブ（89%の%TGI）よりも EGFR 特異的阻害薬であるラゼルチニブ（76%の%TGI）の効力が低下した。しかしながら，いずれの薬物の単独投与とも有効であった（p<0.0001；表 2.6.2-13）。アミバンタマブ + ラゼルチニブ併用投与は Day 15 に 121%の%TGI を示し，いずれの単独投与よりも併用投与の効果が高いことが示された。

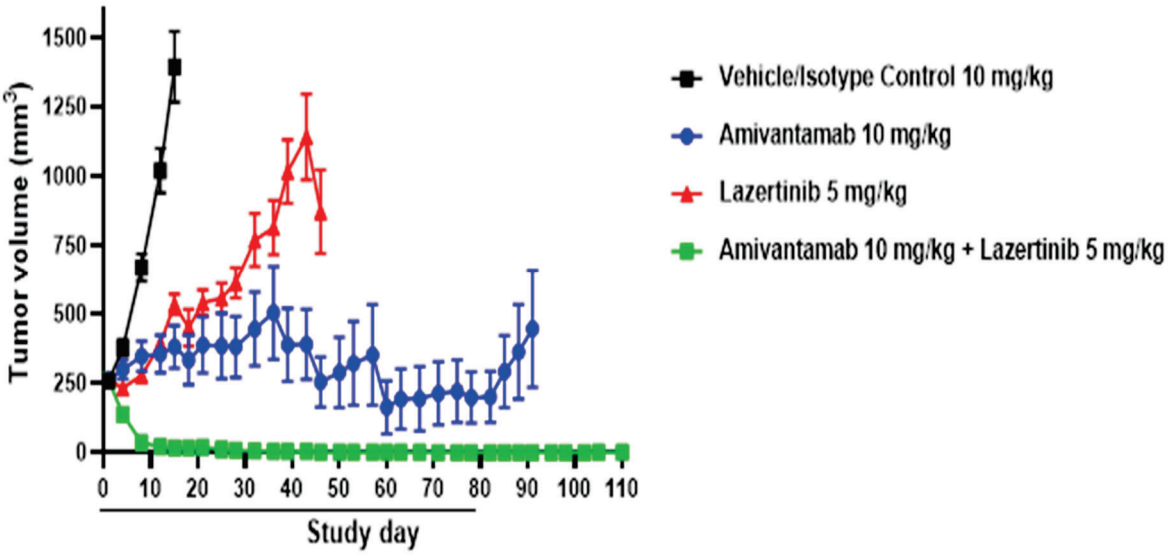


図 2.6.2-9 マウスにおける H1975-HGF 異種移植腫瘍の増殖に対するアミバンタマブ又はラゼルチニブの単独投与及び併用投与の効果

HGF, hepatocyte growth factor; SEM, standard error of the mean.
Tumor-bearing mice were assigned to groups and dosing was initiated on Day 1. Isotype control and amivantamab at 10 mg/kg were dosed intraperitoneally twice a week for 11 weeks. Lazertinib was orally dosed daily for 78 days. The overall dosing period is denoted by the line below the X-axis. Group tumor volumes are graphed as the mean ± SEM (n=10/group) and are graphed while at least 8 mice remained on study.

表 2.6.2-13 H1975-HGF 腫瘍担癌マウスの腫瘍増殖阻害，p 値，並びに部分及び完全奏効数

Treatment	% TGI	p Value of TGI	# of PRs	# of CRs
Isotype (10 mg/kg) + vehicle control	NA	NA	0	0
Amivantamab (10 mg/kg)	89	<0.0001	1	4
Lazertinib (5 mg/kg)	76	<0.0001	0	0
Amivantamab (10 mg/kg); lazertinib (5 mg/kg)	121	<0.0001	0	10

Isotype control and amivantamab at 10 mg/kg were dosed intraperitoneally twice a week for 11 weeks. Lazertinib was orally dosed daily for 78 days. Percent TGI and p values were calculated on Day 15. Statistical significance was calculated using the Linear Mixed-Effects analysis and Benjamini-Hochberg method. PRs and CRs were determined over the course of the study, which lasted 110 days.

CR = complete response; NA = not applicable; PR = partial response; TGI = tumor growth inhibition.

腫瘍量の規定によりラゼルチニブ投与群の全てのマウスが Day 95 までに試験から除外されたが，アミバンタマブ 10 mg/kg 投与群では 70%のマウスで試験が継続された（図 2.6.2-10）。

アミバンタマブ単独投与により，明らかな延命効果（4 例での完全な腫瘍退縮）が見られたものの，併用投与群ではより優れた腫瘍増殖抑制及び延命効果（10 例の完全な腫瘍退縮）が認められた（表 2.6.2-13，図 2.6.2-10）。対照群と比較して全ての薬物投与群で顕著な生存期間の延長が認められたが（図 2.6.2-10，表 2.6.2-14），併用投与群は，いずれの単独投与群と比較して生存期間の有意な延長が認められた（表 2.6.2-14）。さらに，ラゼルチニブとの同時投与した期間中に測定された血清アミバンタマブの曝露量は，アミバンタマブ単独投与で得られた値と一致しており，ラゼルチニブの同時投与の影響を受けなかった。同様に，ラゼルチニブの曝露量は，アミバンタマブの同時投与による影響を受けなかった。

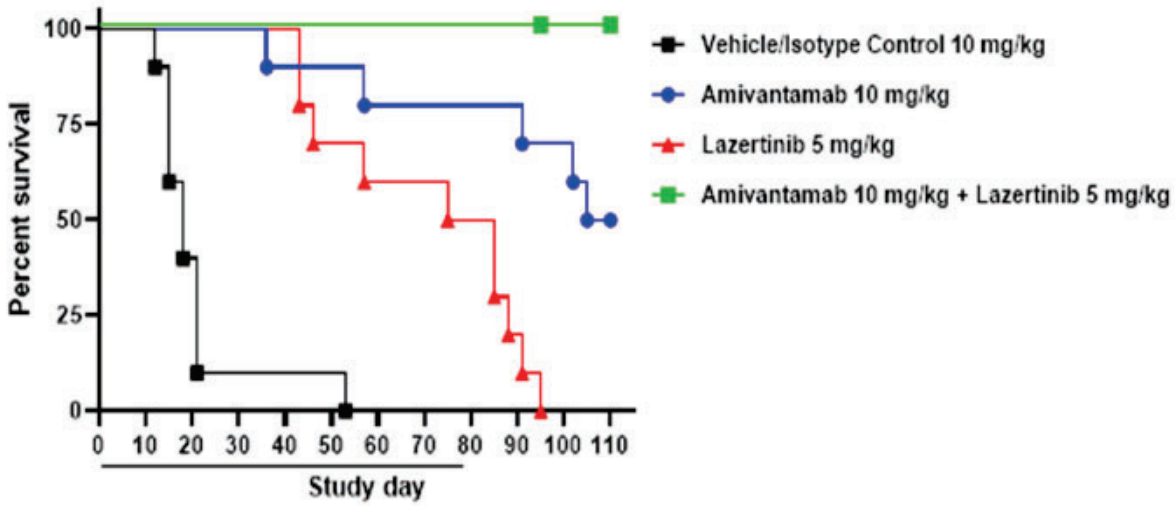


図 2.6.2-10 H1975-HGF 腫瘍担癌マウスの生存に対するアミバンタマブ又はラゼルチニブの単独投与及び併用投与の効果

HGF = hepatocyte growth factor.
Tumor-bearing mice were assigned to groups and dosing was initiated on Day 1. Isotype control and amivantamab at 10 mg/kg were dosed intraperitoneally twice a week for 11 weeks. Lazertinib was orally dosed daily for 78 days. The overall dosing period is denoted by the line below the X-axis.

表 2.6.2-14 H1975-HGF 担癌マウスにおける対照群，アミバンタマブ又はラゼルチニブ単独投与群及び併用群との生存の対比較

Treatment	p Value vs. control	p Value vs. lazertinib	p Value vs. amivantamab
Amivantamab (10 mg/kg)	<0.0001	0.0007	NA
Lazertinib (5 mg/kg)	0.0002	NA	0.0007*
Amivantamab (10 mg/kg); lazertinib (5 mg/kg)	<0.0001	<0.0001	0.0285

Statistical significance was calculated using Log-rank test and Benjamini-Hochberg method based on number of surviving mice at Day 110.
*Significant difference due to superior survival of mice treated with amivantamab at 10 mg/kg.

HGF = hepatocyte growth factor; NA = not applicable; vs. = versus.

2.6.2.3 副次的薬理試験

2.6.2.3.1 放射性リガンド結合，細胞及び組織機能アッセイを用いた *in vitro* 選択性スクリーニング（RDTE[redacted]124）

（資料番号 4.2.1.2.1）

膜貫通受容体，可溶性受容体，イオンチャネル及びモノアミントランスポータを含む 80 種の標的を用いた一連の *in vitro* 試験を実施し，ラゼルチニブ遊離塩基（YH25448）のオフターゲット受容体結合の可能性を評価した（[redacted]®，[redacted]）。薬理試験概要表【2.6.3.3】に結果を示した。

最初のスクリーニングでは，ラゼルチニブ（1 μmol/L）において 5-HT トランスポーター（アンタゴニスト放射性リガンド）及び $5HT_{2B}$ 受容体（アゴニスト放射性リガンド）のみ 50%を超える変化（阻害又は刺激）が認められた。

$5\text{-}HT_{1A}$，$5\text{-}HT_{1B}$，$5\text{-}HT_{2A}$，$5\text{-}HT_{2C}$，$5\text{-}HT_{5a}$，$5\text{-}HT_{6}$ 及び $5\text{-}HT_{7}$ 受容体に対して，ラゼルチニブは有意な活性を示さなかった。フォローアップ試験において，5-HT トランスポーター及び $5HT_{2B}$ 受容体に対するラゼルチニブの IC_{50} 値はそれぞれ 40 nmol/L 及び 180 nmol/L であった。

そこで，さらに細胞及び組織を用いてこれら 2 種の標的タンパクに対する機能評価を実施した。

ラットの脳シナプトソームを用いた 5-HT 取り込み試験において，ラゼルチニブの IC_{50} が 110 nmol/L であったことから，5-HT トランスポーターはラゼルチニブのオフターゲットとなる可能性が示唆された。しかし，臨床推奨用量（1 日 1 回 240 mg）では，非結合型の C_{max} は 9.3 nmol/L であり，5-HT トランスポーターを阻害する可能性は低い。

$5\text{-}HT_{2B}$ 受容体について，ヒト組換え受容体を発現するチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いたアゴニスト又はアンタゴニスト機能試験で検討し，ラゼルチニブは検討した最高濃度（500 nmol/L）までイノシトール一リン酸（IP-1）量に有意な影響を及ぼさなかった。さらに，ラゼルチニブは 500 nmol/L までラットの摘出胃底標本の収縮に対してアゴニスト又はアンタゴニスト作用を示さなかったことから，$5\text{-}HT_{2B}$ 受容体に対する結合親和性は機能的な作用を及ぼさないことが示された。

2.6.2.4 安全性薬理試験

ICH S7A（「安全性薬理試験ガイドライン」）及び S7B（「QT/QTc 間隔の延長と催不整脈作用の潜在的可能性に関する臨床的及び非臨床的評価」）ガイドラインに従い，ラゼルチニブの心血管系，呼吸系及び中枢神経系への影響について評価した。心血管への安全性は，*in vitro* hERG アッセイ（GLP），摘出灌流ウサギ心臓標本を用いた試験及び覚醒イヌを用いた単回経口投与によるテレメトリー試験（GLP）で評価した。呼吸系及び中枢神経系（Irwin の変法）の安全性は，ラット単回経口試験（GLP）で評価した。概要表【2.6.3.4】に結果を示す。

さらに，ラット及びイヌの反復投与毒性試験に安全性薬理の評価を組み入れた。

2.6.2.4.1 心血管系

2.6.2.4.1.1 hERG カリウムチャネル試験（G115169，GLP）

（資料番号 4.2.1.3.1）

hERG カリウムチャネル電流に対するラゼルチニブの作用を，hERG 遺伝子導入 CHO 細胞を用いたホールセルパッチクランプ法による GLP 試験で評価した。ラゼルチニブ遊離塩基（YH25448）濃度として 1.0，2.5，5.0 及び 10.0 μmol/L を設定して評価したが，試験時の実測濃度はそれぞれ 1.0，2.5，4.8 及び 9.3 μmol/L であった。実測濃度を，hERG チャネル電流に対する IC_{50} の算出に用いた。溶媒対照は 0.3%ジメチルスルホキシド（DMSO）であり，陽性対照として E-4031（100 nmol/L）を用いた。

ラゼルチニブは hERG カリウムチャネル電流を，1.0，2.5，4.8 及び 9.3 μmol/L で，それぞれ 25.5%，31.3%，59.8%及び 53.2%減少させたのに対して，溶媒対照では 2.0%減少した。ラゼルチニブの実測濃度 1.0，2.5，4.8 及び 9.3 μmol/L 群と溶媒対照群との間に，ピーク hERG カリウムチャネル電流の阻害に統計的な有意な差が認められた（$p<0.01$）。同一試験条件下で，陽性対照の E-4031（100 nmol/L）は hERG 電流を 77.8%阻害し（$p<0.01$），hERG 阻害に対する試験系の感度が確認された。

結論として，hERG 遺伝子導入 CHO 細胞にラゼルチニブを添加すると，実測濃度 1.0，2.5，4.8 及び 9.3 μmol/L で hERG チャネル電流が統計的に有意に阻害された（$p<0.01$）。hERG チャネル電流におけるラゼルチニブの IC_{50} は 5.3 ± 2.0 μmol/L であり，これは，臨床推奨用量（1 日 1 回 240 mg）おける非結合型の C_{max}（9.3 nmol/L）の 570 倍であった。

2.6.2.4.1.2 摘出ウサギ心臓（057-1501，非 GLP）

（資料番号 4.2.1.3.2）

摘出灌流ウサギ心臓標本を用いて，ECG，電気生理学的及び催不整脈の指標に及ぼすラゼルチニブ遊離塩基（SKI-G-1480）の影響を，非 GLP 試験にて評価した。

4 例の雌 New Zealand White ウサギから摘出した心臓をランゲンドルフ装置に取り付け，改良 Krebs-Henseleit 緩衝液で灌流し，房室結節アブレーションを実施した。心臓は約 15 分間平衡化した。平衡化後，ベースラインの値を測定し，ラゼルチニブ（0，1，3，10 及び 30 μmol/L）の濃度を漸増し，各濃度 20 分間心臓に曝露した。各 20 分間の最初の 14 分間は心臓を 80 拍/分（BPM）（750 ms）の周期でペーシングし，最後の 6 分間は 120 BPM（500 ms）及び 240 BPM（250 ms）の各周期で 3 分間心臓をペーシングした。心臓の電気生理学及び催不整脈の可能性に対するラゼルチニブの影響を評価するために，QRS 幅，QT 間隔，QT_{peak} 間隔，T_{peak}-T_{end} 持続時間，早期後脱分極の出現及び再分極の 30%，50%及び 90%における単相活動電位持続時間（それぞれ，$MAPD_{30}$，$MAPD_{50}$ 及び $MAPD_{90}$）を測定した。また，$MAPD_{90}$ の心拍ごとの変動性も測定した。ECG 及び活動電位持続時間のパラメータは，各ペーシング周期の最後の 1 分間計測した。

ラゼルチニブは，1，3，10 及び 30 μmol/L の濃度で，ECG 上又は電気生理学的に意義のある変化を示さなかった。ラゼルチニブの 10 μmol/L までの濃度では，いずれのペーシング周期においても催不整脈パラメータに影響を与えなかった。ラゼルチニブの 30 μmol/L で，750 ms の周期でのみ T_{peak}-T_{end} のわずかな延長（10 ms）が見られたが，250 ms 又は 500 ms の周期では催不整脈パラメータに変化は認められなかった。今回検討したラゼルチニブの濃度では不整脈の可能性が非常に低いことが示唆された。ラゼルチニブは 30 μmol/L までの濃度で，逆頻度依存的な作用を示さなかった。

2.6.2.4.1.3 テレメトリー装着覚醒イヌを用いた心血管系に対する安全性薬理評価（8333738，GLP）

（資料番号 4.2.1.3.3）

ラゼルチニブ遊離塩基（YH25448）の心血管系へ影響を及ぼす可能性を，テレメトリー装着覚醒雄ビーグル犬を用いた GLP 試験にて評価した。ラテン方格法で，Day 1，Day 8，Day 15 及び

Day 22 に，4 例のイヌに 0（溶媒対照），5，10 又は 20 mg/kg のラゼルチニブを単回強制経口投与した。溶媒対照には，逆浸透水を用いて調製した pH 3.0～3.2 の 0.5%メチルセルロース，50 mmol/L クエン酸溶液を用いた。

イヌの毒性試験において，30 mg/kg/日の 3 日間及び 15 mg/kg/日の 2 週間連日強制経口投与で良好な忍容性が得られたが，より高用量の 60 mg/kg 及び 90 mg/kg/日の 3 日間，並びに 30 及び 50 mg/kg/日の 2 週間投与試験（4.2.3.2.7）では忍容性が認められなかったことから，今回の試験では高用量として 20 mg/kg を選択した。心血管機能の評価は，定性的 ECG 評価と ECG の定量的分析（PR 間隔，QRS 幅，QT 間隔，補正 QT [QTc] 間隔）及び血行動態パラメータ（心拍数，収縮期，拡張期及び平均動脈圧，並びに脈圧）を用いて実施した。ECG，動脈血圧及び体温のデータは，投与前の少なくとも 90 分間及び投与後の少なくとも 49 時間まで継続的にテレメトリー法によって記録した。一般的な健康状態の評価は，生死，一般状態観察，体重に基づいて実施した。

全ての動物は，いずれの投与群でも投与期間の Day 24 まで死亡は認められなかった。ラゼルチニブの投与に起因する所見や体重への影響は見られなかった。

ラゼルチニブの 20 mg/kg の投与により，心拍数がわずかに減少したが（-16 BPM; -19%），変化量は小さく，生理学的変動の範囲内でありかつ持続時間が短かったため，生理学的に問題とはならないと考えられた。

ラゼルチニブは収縮期，拡張期及び平均動脈圧，並びに脈圧に影響を及ぼさなかった。

ラゼルチニブは，最高用量（20 mg/kg）まで，定性的 ECG，PR 間隔，QRS 幅，QT 間隔，QTc 間隔，動脈圧及び体温に影響を及ぼさなかった。

結論として，ラゼルチニブを最高 20 mg/kg で単回経口投与した 4 例の雄ビーグル犬において，ECG，血圧及び心拍数の異常な所見はみられなかった。イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験での初回の雄及び雌への 20 mg/kg/日投与後の曝露量（C_{max} = 1520/1790 ng/mL, AUC_{24h} = 22700/18200 ng·h/mL）（4.2.3.2.8）【2.6.7.7C】を，臨床推奨用量（1 日 1 回 240 mg）の曝露量と比較すると，C_{max} は雄で 2.9 倍，雌で 3.5 倍，AUC は雄で 3.5 倍，雌で 2.8 倍であった。

2.6.2.4.2 呼吸系

2.6.2.4.2.1 ラットにおける呼吸系の安全性薬理評価（8333739，GLP）

（資料番号 4.2.1.3.4）

ラゼルチニブ遊離塩基（YH25448）の呼吸機能（1 回換気量，呼吸数，分時換気量）に及ぼす影響を，雄 Sprague-Dawley ラット（8 例/群）を用いた GLP 試験で評価した。第 1 フェーズは 0（溶媒），25，50 又は 79 mg/kg を単回強制経口投与し，7 日後の第 2 フェーズでは対照群と高用量群の動物にそれぞれ 0 及び 100 mg/kg を経口投与した（4.2.1.3.4）。溶媒対照は，逆浸透水（最終 pH 3.0～3.2）中で調製された 0.5%メチルセルロース及び 50 mmol/L クエン酸であった。第 1 フェーズは高用量群として 100 mg/kg を設定していたが，実際の投与量が 79 mg/kg であったため，第 2 フェーズの試験を実施した。呼吸機能の評価は，ヘッドアウトプレチスモグラフィーで測定した一回換気量（mL），呼吸数（呼吸数/分）及び分時換気量（mL/分）の分析により実施した。ベースラインのデータは，各フェーズでの薬物投与前に収集した 30 分間の平均値とし

た。各フェーズの Day 1 の投与後 2.5 時間から投与後 8，24 及び 48 時間まで連続 30 分間の平均データを収集した。動物の健康状態の評価は，生死と一般状態観察に基づいて実施した。

いずれの投与群でも死亡は認められなかった。ラゼルチニブに関連する所見は認められなかった。

ラゼルチニブの 25 mg/kg 及び 50 mg/kg は，一回換気量，呼吸数及び分時換気量に影響を及ぼさなかった。ラゼルチニブの 79 mg/kg 及び 100 mg/kg では，全体の共変量調整平均一回換気量が最大 13%減少し，これにより分時換気量が最大 13%減少した。この影響は，投与後 48 時間の最後の呼吸データ収集時まで持続した。これらの変化の程度はわずかであり，その変化には明確な生物学的意義は認められなかった。また，呼吸数の代償的な変化は明確ではなかった。

結論として，雄 Sprague-Dawley ラットに対するラゼルチニブの単回経口投与は，50 mg/kg までは呼吸パラメータに影響を及ぼさず，79 及び 100 mg/kg で，呼吸数の代償的な変化を伴わない一回換気量及び分時換気量のわずかな減少がみられたものの，変化量はわずかであり生物学的に意義のある影響は認められなかった。ラット 4 週間反復経口投与毒性試験（4.2.3.2.3）【2.6.7.7A】での初回の 100 mg/kg/日の投与後のトキシコキネティクスに基づき，雌雄ラットの 100 mg/kg での曝露量（C_{max} = 1270/1080 ng/mL，AUC_{24h} = 23000/23300 ng·h/mL）を，臨床推奨用量（1 日 1 回 240 mg）の曝露量と比較すると，C_{max} は雄で 2.5 倍，雌で 2.1 倍，AUC は雄で 3.5 倍，雌で 3.6 倍であった。

2.6.2.4.3 中枢神経系

2.6.2.4.3.1 雄ラットを用いた中枢神経系の安全性薬理評価（8333740，GLP)

（資料番号 4.2.1.3.5）

ラゼルチニブ遊離塩基（YH25448）の中枢神経系への影響を，ラゼルチニブの 0，25，50 又は 100 mg/kg を単回強制経口投与した雄 Sprague-Dawley ラット（8 例/群）の GLP 試験で評価した。溶媒は，逆浸透水で調製した 0.5%メチルセルロース及び 50 mmol/L クエン酸（最終 pH 3.0～3.2）を用いた。神経学的作用の評価は，Irwin の変法によりラゼルチニブ投与後約 2，4，8，24 及び 48 時間に収集された観察データに基づき実施した。評価項目は，グループホームケージ，ハンドヘルド，オープンフィールド及び誘発反応の観察，並びに体温測定とした。全体的な健康状態の評価は，生死と一般状態観察に基づいて実施した。

いずれの投与群でも死亡は認められなかった。一般状態観察において、ラザルチニブ投与に関連する所見は認められなかった。Irwin の変法の一部の評価である，ホームケージ，ハンドヘルド，オープンフィールド及び誘発反応の観察，並びに体温測定において，ラゼルチニブに関連する影響は認められなかった。

結論として，雄 Sprague-Dawley ラットに最高 100 mg/kg のラゼルチニブを単回経口投与しても，一般状態及び神経学的パラメータへの影響は生じなかった。ラット 4 週間経口投与毒性試験（4.2.3.2.3）【2.6.7.7A】での初回の 100 mg/kg/日投与後のトキシコキネティクスに基づくと，雌雄ラットの 100 mg/kg での曝露量は，臨床推奨用量（1 日 1 回 240 mg）の曝露量との比較で C_{max} は雄で 2.5 倍，雌で 2.1 倍，AUC は雄で 3.5 倍，雌で 3.6 倍であった。

2.6.2.4.4 ラット及びイヌの反復投与毒性試験における安全性薬理評価

心血管系

イヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（GLP 適用）において，ラゼルチニブメシル酸塩（YH25448A）の高用量（8 mg/kg/日）まで，ラゼルチニブに関連した心血管系の変化は認められなかった（4.2.3.2.9）【2.6.7.7D】。Day 88 の ECG 検査ではラゼルチニブに関連した異常は認められなかった。不整脈及び異常波形はみられず，PR 間隔，QRS 幅，QT 間隔，QTc 間隔，RR 間隔及び心拍数の変化は認められなかった。また，投与期間終了時又は回復期間終了時の剖検及び病理組織学的検査において，心臓に異常は認められなかった。8 mg/kg/日では，雄/雌における 13 週目の C_{max} 及び AUC_{24h} 曝露量（975/897 ng/mL 及び 14600/11700 ng·h/mL）は，臨床推奨用量（1 日 1 回 240 mg）での曝露量と比較し，C_{max} は雄で 1.9 倍，雌で 1.7 倍，AUC は雄で 2.2 倍，雌で 1.8 倍であった。

イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験における心電図検査で，最高用量 20 mg/kg/日までラゼルチニブの投与に関連する所見は認められなかった。しかしながら，主試験群の高用量（20 mg/kg/日）群の雄 3 例中 2 例で心毒性が観察され，そのうちの雄 1 例において Day 22 の心電図検査で心室性期外収縮が頻回認められ，Day 23 に瀕死のため早期安楽死させた。なお不整脈の発現機序は不明であった。同群の他の動物では心毒性は認められなかった【2.6.6.3.2.3】。

中枢神経系

ラット及びイヌを用いた 4 週間及び 13 週間反復経口投与毒性試験における，一般状態観察及び病理組織学的検査において，ラゼルチニブ関連の神経学的変化は認められなかった（4.2.3.2.3，4.2.3.2.5，4.2.3.2.8 及び 4.2.3.2.9）【2.6.7.7A，2.6.7.7B，2.6.7.7C 及び 2.6.7.7D】。

呼吸系

ラット及びイヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 8 週間回復性試験において，ラゼルチニブに関連した肺の変化が，病理組織学的検査で認められた（4.2.3.2.5 及び 4.2.3.2.9）【2.6.6.3.1.5，2.6.6.3.2.4，2.6.7.7B 及び 2.6.7.7D】。ラット及びイヌ 4 週間反復経口投与毒性試験では，一般状態観察及び病理組織学的検査においてラゼルチニブ関連の呼吸系の変化は認められなかった（4.2.3.2.3 及び 4.2.3.2.8），【2.6.7.7A 及び 2.6.7.7C】。

2.6.2.5 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ていない。

2.6.2.6 考察及び結論

ラゼルチニブは，経口投与可能かつ不可逆的な第 3 世代 EGFR TKI であり，活性化変異による異常な EGFR シグナル伝達，並びに第 1 世代及び第 2 世代 EGFR TKI に対する耐性となる T790M 変異 EGFR を阻害する。TKI による野生型 EGFR の阻害は毒性と関連しうるが，ラゼルチニブは野生型 EGFR と比較して変異型 EGFR を強力かつ選択的に阻害する。さらに，ラゼルチニブ単独

投与は，頭蓋内転移モデルを含む EGFR del19 及び L858R 変異異種移植モデルの両方で強力な抗腫瘍活性を示したが，野生型 EGFR を有するモデルでは抗腫瘍活性が大幅に低下した。

臨床では，受容体又はリガンドの過剰発現による MET シグナル伝達の活性化が，第 3 世代 EGFR TKI に対する耐性となることが示されている（Leonetti 2019; Raghav 2012）。HGF の過剰発現により耐性及び EGFR TKI 耐性を示す NSCLC 異種移植モデルにおいて，ラゼルチニブと二重特異性 EGFR/MET 標的抗体アミバンタマブの併用は，いずれの薬物の単独投与と比較して優れた抗腫瘍作用を示し，持続的で完全な腫瘍退縮をもたらした。

ラゼルチニブは，放射性リガンド結合アッセイにおいて，5-HT トランスポーター及び 5-HT_{2B} 受容体への結合を阻害した。しかしながら，細胞及び組織での機能試験における阻害濃度（IC_{50} = 40～110 nM）と臨床推奨用量（1 日 1 回 240 mg）の非結合型 C_{max}（9.3 nmol/L）との比較から，5-HT トランスポーター及び 5-HT_{2B} 受容体へのオフターゲット毒性が起こる可能性は低いことが示された。

標準的な安全性薬理試験において，ラゼルチニブは心血管系，呼吸系及び中枢神経系に対して，重要な又は生物学的に意義のある影響を及ぼさなかった。hERG アッセイにおけるラゼルチニブの IC_{50}（5.3 μmol/L）は臨床推奨用量におけるヒト曝露量に比べて十分に高かった。イヌのテレメトリー試験では，単回経口投与による最高 20 mg/kg まで，ECG，血圧及び心拍数の異常所見は認められなかった。ラゼルチニブを単回投与したラットでは，100 mg/kg まで一般状態及び神経学的パラメータへの影響はなかった。また，ラゼルチニブの 50 mg/kg まで，呼吸パラメータへの影響はなく，79 及び 100 mg/kg で，呼吸数の代償的な変化を伴わない一回換気量及び分時換気量のわずかな減少がみられたが、生物学的に意義のある影響ではないと考えられた。

以上の非臨床薬理成績に加え，非臨床薬物動態及び毒性試験成績を踏まえと，ラゼルチニブは単独又はアミバンタマブとの併用は，EGFR 変異 NSCLC 成人患者に対する有効な治療となりうることが示唆され，想定される安全性リスクは進行がん患者において許容可能であると考えられた。

2.6.2.7 参考文献

Fawdar S. et al. Targeted genetic dependency screen facilitates identification of actionable mutations in FGFR4, MAP3K9, and PAK5 in lung cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(30):12426-31.

Leonetti A. et al. Resistance mechanisms to osimertinib in EGFR-mutated non-small cell lung cancer. Br J Cancer. 2019;121(9):725-37.

Prior H. et al. Justification for species selection for pharmaceutical toxicity studies. Tox Res. 2020;9:758-70.

Raghav KP. et al. Role of HGF/MET axis in resistance of lung cancer to contemporary management. Transl Lung Cancer Res. 2012;1(3):179-93.

Xia J. et al. miR-7 suppresses tumor progression by directly targeting MAP3K9 in pancreatic cancer. Mol Ther Nucleic Acids. 2018;13:121-32.

Yun J. et al. YH25448, an irreversible EGFR-TKI with potent intracranial activity in EGFR mutant non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res. 2019;25(8):2575-87.

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

Test Article: Lazertinib[a]

Type of Study	Test System		Route (Vehicle/Formulation)	Test Article	GLP	Test Facility	Study Number/ CTD Location
Primary Pharmacodynamics							
EGFR family kinase assay, irreversibility of binding, & kinase panel assay	Human	cell-free assay	In vitro	YH25448	No	[redacted], USA	[redacted]-1480_1501/ 4.2.1.1.1
Kinase panel assay	Human, mouse, rat and yeast	cell-free assay	In vitro	YH25448	No	[redacted] United Kingdom	UK022-0002534/ 4.2.1.1.2
Anti-cancer cellular activity	Human	H1975, PC9, H2073 cells	In vitro	YH25448	No	[redacted], USA	[redacted]-1480_1501/ 4.2.1.1.1
Anti-cancer cellular activity & inhibition of EGFR phosphorylation	Human	PC9, H3255, H1975, Ba/F3-hEGFR L858R cells	In vitro	YH25448, YH25448A, YH28746	No	[redacted] Korea	RDTD[redacted]001/ 4.2.1.1.3
Inhibition of EGFR phosphorylation	Human	H1975, PC9, H2073 cells	In vitro	YH25448	No	[redacted], USA	[redacted]-1480_1501/ 4.2.1.1.1
Induction of apoptosis	Human	H1975, PC9 cells	In vitro	YH25448	No	[redacted], USA	[redacted]-1480_1501/ 4.2.1.1.1
Xenograft model efficacy(subcutaneous)	Mouse[b]	PC9 cells	Oral	YH25448	No	[redacted], China	E0403-U1502-CP-T001-1/ 4.2.1.1.4
Allograft model efficacy(subcutaneous)	Mouse[b]	Ba/F3-hEGFR L858R cells	Oral	YH25448A	No	[redacted] Korea	RDTE[redacted]037/ 4.2.1.1.5
Xenograft model efficacy (subcutaneous)	Mouse[b]	H1975 cells	Oral	YH25448	No	[redacted], China	[redacted]-1480_1502/ 4.2.1.1.6
Xenograft model efficacy (subcutaneous)	Mouse[b]	H1975 cells	Oral	YH25448A	No	[redacted] Korea	RDTE[redacted]144/ 4.2.1.1.7

(Continued)

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: Lazertinib[a]

Type of Study	Test System		Route (Vehicle/Formulation)	Test Article	GLP	Test Facility	Study Number/ CTD Location
Xenograft model efficacy (orthotopic)	Mouse[b]	H1975 cells	Oral	YH25448	No	[redacted] Korea	RDTE[redacted]016/ 4.2.1.1.8
Xenograft model pharmacodynamics (subcutaneous)	Mouse[b]	H1975 cells	Oral	YH25448	No	[redacted] Korea & [redacted] Korea	RDTE[redacted]201/ 4.2.1.1.9
Xenograft model efficacy (subcutaneous)	Mouse[b]	A431 cells	Oral	YH25448A	No	[redacted] Korea	RDTE[redacted]073/ 4.2.1.1.10
Xenograft model efficacy (subcutaneous and intracranial)	Mouse[b]	H1975 cells	Oral	YH25448	No	[redacted] Korea	RDTE[redacted]229/ 4.2.1.1.11
Xenograft model efficacy (subcutaneous and intracranial)	Mouse[b]	H1975 cells	Oral	YH25448	No	[redacted] Korea	RDTE[redacted]176/ 4.2.1.1.12
Xenograft model efficacy (intracranial)	Mouse[b]	H1975 cells	Oral	YH25448	No	[redacted] Korea	RDTE[redacted]075/ 4.2.1.1.13
Xenograft model efficacy (intracranial)	Mouse[b]	H1975 cells	Oral	YH25448A	No	[redacted] Korea	RDTE[redacted]143/ 4.2.1.1.14
Xenograft model pharmacodynamics (intracranial)	Mouse[b]	H1975 cells	Oral	YH25448A	No	[redacted] Korea	RDTE[redacted]175/ 4.2.1.1.15
Xenograft model efficacy (intracranial)	Mouse[b]	H1975 cells	Oral	YH25448A	No	[redacted] Korea	RDTE[redacted]246/ 4.2.1.1.16
Xenograft model efficacy (subcutaneous)(combination therapy)	Mouse[b]	H1975 and H1975/HGF cells	Oral & IP	JNJ-73841937 and Amivantamab (JNJ-61186372)	No	[redacted] USA	DD[redacted]058/ 4.2.1.1.17
Xenograft model efficacy (subcutaneous)(combination therapy)	Mouse[b]	H1975/HGF cells	Oral & IP	JNJ-73841937 and Amivantamab (JNJ-61186372)	No	[redacted] USA	DD[redacted]087/ 4.2.1.1.18

(Continued)

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

Test Article: Lazertinib[a]

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	Test Article	GLP	Test Facility	Study Number/ CTD Location
Secondary Pharmacodynamics						
Selectivity screening: radioligand binding, cellular and tissue functional assays	Human Receptors, ion channels, monoamine transporters	In vitro	YH25448	No	[redacted] France	RDTE[redacted]124/ 4.2.1.2.1
Safety Pharmacology						
Cardiovascular - hERG assay	CHO cells	In vitro	YH25448	Yes	[redacted] Korea	G115169/ 4.2.1.3.1
Cardiovascular	Rabbit/NZW, isolated hearts	Ex vivo	YH25448 (SKI-G-1480)	No	[redacted] USA	057-1501/ 4.2.1.3.2
Cardiovascular	Dog/beagle	Oral, gavage (0.5% MC and 50 mM citric acid in RO water, pH 3.0-3.2)	YH25448	Yes	[redacted] USA	8333738/ 4.2.1.3.3
Respiratory	Rat/SD	Oral, gavage (0.5% MC and 50 mM citric acid in RO water, pH 3.0-3.2)	YH25448	Yes	[redacted] USA	8333739/ 4.2.1.3.4
CNS	Rat/SD	Oral, gavage (0.5% MC and 50 mM citric acid in RO water, pH 3.0-3.2)	YH25448	Yes	[redacted] USA	8333740/ 4.2.1.3.5
Pharmacodynamic Drug Interactions	No studies conducted					

[a] Nonclinical studies were conducted with lazertinib as the free base in early development and as the mesylate salt in later development.
[b] Mouse strain is BALB/c nude, except for NU(Ncr)-Foxn1[nu] (Charles River Athymic Nude) in DD[redacted]058 and DD[redacted]087.

CHO = Chinese hamster ovary; CNS = central nervous system; EGFR = epidermal growth factor receptor; GLP = Good Laboratory Practice; hERG = human ether-à-go-go-related gene; IP = intraperitoneal; JNJ-73841937 = lazertinib mesylate; MC = methylcellulose; NZW = New Zealand White; RO = reverse osmosis; SD = Sprague-Dawley; USA = United States of America; YH25448 = lazertinib free base; YH25448A = YH25448 mesylate (lazertinib mesylate); YH28746 = M7 metabolite

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Test Article: Lazertinib[a]

In Vitro Studies	Test System	Method	Test Article Dose	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
EGFR family kinase assay	Human cell-free assay	Fluorescence resonance energy transfer assay	Lazertinib (YH25448), Afatinib, Osimertinib, AZ5104, CO-1686, Erlotinib 19 pmol/L - 20 µmol/L	IC_{50} values of lazertinib for EGFR T790M, L858R/T790M, and del19/T790M were 1.7, 3.7, and 3.5 nmol/L, respectively, and for WT EGFR was 25.2 nmol/L.	[redacted]-1480_1501/ 4.2.1.1.1
Irreversibility of binding	Human cell-free assay	Fluorescence resonance energy transfer assay	Lazertinib (YH25448) 19 pmol/L - 20 µmol/L	Lazertinib demonstrated irreversible binding with EGFR L858R/T790M.	[redacted]-1480_1501/ 4.2.1.1.1
Kinase panel assay	Human cell-free assay	Radiometric kinase assay	Lazertinib (YH25448) 1000 nmol/L	Only 16 kinases were inhibited over 50% by 1000 nmol/L lazertinib, including 4 mutant EGFR kinases among 304 kinases assayed	[redacted]-1480_1501/ 4.2.1.1.1
	Human, mouse, rat and yeast cell-free assay	Radiometric kinase assay	Lazertinib (YH25448) 0.01 µmol/L - 100 µmol/L	Lazertinib showed minimal off-target kinase activity and moderate IC_{50} potencies for Axl, Fer, JAK3, Mer, MLK1, Ret, RIPK2 and Rsk3.	UK022-0002534/ 4.2.1.1.2
Anti-cancer cellular activity	Human H1975, PC9, H2073 cells	ATP Lite assay, 72h incubation	Lazertinib (YH25448) 0.2 nmol/L - 10 µmol/L Afatinib, Osimertinib, AZ5104, CO-1686, Erlotinib, 0.2 nmol/L - 10 µmol/L	GI_{50} values of lazertinib for PC9 (del19) and H1975 (L858R/T790M) cells were 4.7, 6.3 nmol/L, and 711.1 nmol/L for H2073 cells (WT EGFR), respectively	[redacted]-1480_1501/ 4.2.1.1.1
Anti-cancer cellular activity	Human PC9, H3255, H1975, Ba/F3-hEGFR L858R cells	ATP Lite assay, 72h incubation	Osimertinib, Lazertinib (YH25448), Lazertinib mesylate (YH25448A), YH28746 (M7 metabolite) 0.32 nmol/L – 1 µmol/L	Lazertinib mesylate showed similar activities compared to lazertinib treated NSCLC cells. Lazertinib mesylate induced growth inhibition in PC9 (del19) (8.2 nmol/L), H3255 (L858R) (86.2 nmol/L), H1975 (L858R/T790M) (9.0 nmol/L) and Ba/F3 (del19/T790M) cells (1.5 nmol/L), but its metabolite YH28746 (a metabolite of lazertinib) showed weaker inhibition in PC9 (31.0 nmol/L), H3255 (246.8 nmol/L), H1975 (21.6 nmol/L) and Ba/F3 (del19/T790M) cells (2.0 nmol/L) compared to lazertinib.	RDTD[redacted]001/ 4.2.1.1.3
Inhibition of EGFR phosphorylation	Human H1975, PC9, H2073 cells	Western blot assay, 2h incubation	Lazertinib (YH25448) 4.6 nmol/L - 3.3 µmol/L Afatinib, Osimertinib, AZ5104, CO-1686, Erlotinib 1.5 nmol/L - 3.3 µmol/L	Lazertinib showed marked down-regulation of EGFR phosphorylation in PC9 (del19) cells (IC_{50} 2.7 nmol/L) and H1975 (L858R/T790M) cells (IC_{50}, 3.6 nmol/L), and weaker effect on H2073 cells (wild type EGFR) (IC_{50}, 318.1 nmol/L)	[redacted]-1480_1501/ 4.2.1.1.1

(Continued)

Confidential

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: Lazertinib[a]

In Vitro Studies	Test System	Method	Test Article Dose	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Inhibition of EGFR phosphorylation	Human PC9, H3255, H1975, Ba/F3-hEGFR (del19/T790M) cells	Western blot assay, 2h incubation	Osimertinib, Lazertinib (YH25448), Lazertinib mesylate (YH25448A), YH28746(M7) 3 nmol/L – 100 nmol/L	Lazertinib showed marked down-regulation of EGFR phosphorylation in H3255 (L858R), PC9 (del19), H1975 (L858R/T790M) and Ba/F3 (del19/T790M) cells.	RDTD[redacted]001/ 4.2.1.1.3
Induction of apoptosis	Human H1975, PC9 cells	Caspase3/7 activity assay and Bim EL Western blot assay	Lazertinib (YH25448) 0.2 nmol/L - 2.5 µmol/L Afatinib, Osimertinib, CO-1686, Erlotinib 0.2 nmol/L - 2.5 µmol/L	Lazertinib showed more than 2- and 10-fold induction of caspase-3/7 in H1975 (L858R/T790M) and PC9 (del19) cells at 40 nmol/L, respectively. Lazertinib showed marked induction of Bim EL protein at 8-1000 nmol/L in H1975 cells.	[redacted]-1480_1501/ 4.2.1.1.1

In Vivo Studies	Species/Strain Sex/No. Group	Test Article	Route	Dose (mg/kg)	Duration of Treatment	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Subcutaneous human NSCLC PC9 xenograft mouse model efficacy	Mouse/ BALB/c nude 10F/group	Lazertinib (YH25448) Osimertinib	Oral, QD Oral, QD	0.3, 1, 3 3	25 days	Lazertinib showed significant and dose-dependent inhibition of subcutaneous tumor growth at the doses of 0.3, 1, and 3 mg/kg/day (TGI = 60%, 96%, 104%, respectively).	E0403-U1502-CP-T001-1/ 4.2.1.1.4
Ba/F3-hEGFR-L858R subcutaneous allograft mouse model efficacy	Mouse/ BALB/c nude 8F/group	Lazertinib (YH25448A) Osimertinib	Oral, QD Oral, QD	1, 3, 10 1, 3, 10	11 days	Lazertinib showed significant and dose-dependent inhibition of subcutaneous tumor growth at the doses of 1, 3, and 10 mg/kg/day (TGI = 72%, 108%, 118%, respectively).	RDTE[redacted]037/ 4.2.1.1.5
Subcutaneous human NSCLC H1975 xenograft mouse model efficacy	Mouse/ BALB/c nude 6 or 12M/group	Lazertinib (YH25448) Osimertinib CO-1686 Lazertinib (YH25448)	Oral, QD Oral, BID Oral, QD Oral, QD Oral, QD	1, 3, 10 3 1, 3, 10 10 0.3, 1, 3	14 days	Lazertinib showed significant and dose-dependent inhibition of subcutaneous tumor growth at the doses of 1, 3, 10 mg/kg/day QD and 3 mg/kg BID (TGI = 101%, 111%, 112 and 112%, respectively) and in additional low dose study at the doses of 0.3, 1, 3 mg/kg/day QD (TGI = 56%, 95% and, 112% respectively). Complete regression of tumor mass at 3, 10 mg/kg (QD) or 3 mg/kg (BID).	[redacted]-1480_1502/ 4.2.1.1.6
H1975 human NSCLC subcutaneous xenograft mouse model efficacy	Mouse/ BALB/c nude 8F/group	Lazertinib (YH25448A)	Oral, QD	1→10 3→0→30 10→0	140 days	Lazertinib showed significant and dose-dependent inhibition of subcutaneous tumor growth at the doses of 1, 3, and 10 mg/kg/day (TGI = 101%, 109%, and 109%, respectively). Complete regression of tumor mass at 10 mg/kg/day.	RDTE[redacted]144/ 4.2.1.1.7

(Continued)

Test Article: Lazertinib[a]

In Vivo Studies	Species/Strain	Test Article	Route	Dose (mg/kg)	Duration of Treatment	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Human NSCLC NCI-H1975 orthotopic lung cancer mouse efficacy model	Mouse/ BALB/c nude 7F/group	Lazertinib (YH25448)	Oral, QD	25, 50	24 days	Lazertinib showed significant orthotopic lung tumor growth inhibition at doses of 25 and 50 mg/kg/day (TGI = 133% and 142%, respectively)	RDTE[redacted]016/ 4.2.1.1.8
Human NSCLC H1975 subcutaneous xenograft mouse model pharmacodynamics	Mouse/ BALB/c nude 5 or 9F/group	Lazertinib (YH25448)	Oral, QD	1, 3, 10; 50, 75	3 days; 14 days	3 days: Complete inhibition of p-EGFR in tumors by 3 and 10 mg/kg lazertinib for 24h after the last dose; dose-dependent inhibition of p-ERK and p-AKT	RDTE[redacted]201/ 4.2.1.1.9
		Osimertinib	Oral, QD	1, 3, 10; 50, 75	3 days; 14 days	14 days: minimal inhibition of p-EGFR in hair follicles of skin tissue by 75 mg/kg lazertinib	
Human epidermoid carcinoma A431 (wild-type EGFR) subcutaneous xenograft mouse model efficacy	Mouse/ BALB/c nude 7F/group	Lazertinib (YH25448A)	Oral, QD	1, 3, 10	19 days	Lazertinib showed moderate tumor growth inhibition of subcutaneous tumor growth at the doses of 1, 3, and 10 mg/kg/day (TGI = 10%, 51%, and 84%, respectively).	RDTE[redacted]073/ 4.2.1.1.10
		Osimertinib	Oral, QD	1, 3, 10			
Human NSCLC H1975 subcutaneous and intracranial dual implantation mouse model efficacy	Mouse/ BALB/c nude 7F/group	Lazertinib (YH25448)	Oral, QD	1, 3, 10	88 days	Lazertinib showed significant and dose-dependent increase in median survival time at the doses of 1, 3, and 10 mg/kg/day, with significant subcutaneous tumor growth inhibition at 9 days of treatment (TGI = 93%, 121%, and 124%, respectively).	RDTE[redacted]229/ 4.2.1.1.11
		Osimertinib	Oral, QD	1, 3, 10			
Human NSCLC H1975 subcutaneous and intracranial dual implantation mouse model efficacy	Mouse/ BALB/c nude 4F/group	Lazertinib (YH25448)	Oral, QD	3	13 days	Lazertinib showed significant tumor growth inhibition in both subcutaneous (TGI = 136%) and intracranial tumors (TGI = 103%).	RDTE[redacted]176/ 4.2.1.1.12
Human NSCLC H1975 brain metastasis mouse model efficacy	Mouse/ BALB/c nude 7F/group	Lazertinib (YH25448)	Oral, QD	10, 25, 50	168 days	Median survival time of lazertinib at the doses of 10, 25, and 50 mg/kg/day were 107, 165, and >181 days, respectively.	RDTE[redacted]075/ 4.2.1.1.13
		Osimertinib	Oral, QD	10, 25			
Human NSCLC H1975 intracranial implantation mouse model efficacy	Mouse/ BALB/c nude 8F/group	Lazertinib (YH25448A)	Oral, QD	10→50, 25, 50	161 days	Median survival time of lazertinib at the dose range of 10-50 mg/kg/day was >173 days. Lazertinib showed complete regression of tumor mass at 50 mg/kg/day.	RDTE[redacted]143/ 4.2.1.1.14
		Osimertinib	Oral, QD	50			

(Continued)

Confidential

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

Test Article: Lazertinib[a]

In Vivo Studies	Species/Strain	Test Article	Route	Dose (mg/kg)	Duration of Treatment	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Human NSCLC H1975 intracranial implantation mouse model pharmacodynamics	Mouse/ BALB/c nude 3F/group	Lazertinib (YH25448A) Osimertinib	Oral, QD Oral, QD	10, 25, 50 25, 50	1 day	Lazertinib showed complete down-regulation of p-EGFR in intracranial tumor tissue up to 24 hours following single administration at dose range of 10-50 mg/kg/day.	RDTE[redacted]175/ 4.2.1.1.15
Human NSCLC H1975 intracranial tumor mouse model efficacy: histological examination	Mouse/ BALB/c nude 3F/group	Lazertinib (YH25448A)	Oral, QD	3, 10, 25	7 days	Lazertinib showed histologically dose-dependent tumor burden reduction at the dose range of 3-25 mg/kg/day.	RDTE[redacted]246/ 4.2.1.1.16
Human NSCLC H1975 and H1975/HGF subcutaneous implanted mouse efficacy models – Combination Dosing	Mouse/ NU(Ncr)-Foxn1^{nu} (Charles River Athymic Nude) 10F/group	Lazertinib (JNJ-73841937) Amivantamab Osimertinib Lazertinib + Amivantamab	Oral, QD IP, biweekly x 3 Oral, QD Oral, QD + IP, biweekly x 3	10 API 10 10 10 API + 10	21 days 6 doses 21 days 21 days + 6 doses	H1975: 112% TGI, 1 CR; H1975/HGF: 75% TGI, 2 CR H1975: 86% TGI, 0 CR; H1975/HGF: 70% TGI, 0 CR H1975: 111% TGI, 2 CR; H1975/HGF: 57% TGI, 0 CR H1975: 112% TGI, 7 CR; H1975/HGF: 109% TGI, 3 CR	DD[redacted]058/ 4.2.1.1.17
Human NSCLC H1975/HGF subcutaneous implanted mouse efficacy model – Combination Dosing	Mouse/ NU(Ncr)-Foxn1^{nu} (Charles River Athymic Nude) 10F/group	Lazertinib (JNJ-73841937) Amivantamab Lazertinib + Amivantamab	Oral, QD IP, biweekly x 11 Oral, QD + IP, biweekly x 11	5 API 10 5 API + 10	78 days 22 doses 78 days + 22 doses	76% TGI, 0 CR 89% TGI, 4 CR Continual dosing of combination Lazertinib/Amivantamab resulted in complete tumor regressions in all mice tested. 121% TGI, 10 CR	DD[redacted]087/ 4.2.1.1.18

[a] Nonclinical studies were conducted with lazertinib as the free base in early development and as the mesylate salt in later development.

API = active pharmaceutical ingredient; BID = twice a day; CR = complete response; EGFR = epidermal growth factor receptor; F = female; GI_{50} = half-maximal growth inhibitory concentration; IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration; IP = intraperitoneal; JNJ-73841937 = lazertinib mesylate; M = male; NSCLC = non-small cell lung cancer; p-AKT = phosphorylated AKT; p-EGFR = phosphorylated EGFR; p-ERK= phosphorylated ERK; QD = once a day; TGI = tumor growth inhibition; WT EGFR = wild type EGFR; YH25448 = lazertinib free base; YH25448A = YH25448 mesylate (lazertinib mesylate)

2.6.3.3 副次的薬理試験

Test Article: Lazertinib (YH25448)

Type of Study	Species/ Strain	Route	Dose (µmol/L)	Noteworthy Findings	GLP	Study Number/ CTD Location
Selectivity screening, radioligand binding, cellular and tissue functional assays	Human, 80 targets including receptors, ion channels, monoamine transporters	In vitro	1	Lazertinib inhibited the 5-HT transporter (antagonist) with IC_{50} values of 40 nmol/L for the receptor binding assay and 110 nmol/L for the 5-HT uptake functional assay. Lazertinib inhibited the $5\text{-}HT_{2B}$ receptor (agonist) with an IC_{50} value of 180 nmol/L for the receptor binding assay but did not show any meaningful agonistic or antagonistic functional activity in relevant cellular assays or tissue bioassays up to 500 nmol/L, demonstrating that this binding did not lead to functional consequences.	No	RDTE[redacted]124/ 4.2.1.2.1

5-HT = 5-hydroxytryptamine; GLP = Good Laboratory Practice; IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration; YH25448 = lazertinib free base

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test Article: Lazertinib[a]

Organ Systems Evaluated	Species/Strain Sex/No. Group	Route (Vehicle/Formulation)	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	GLP	Study Number/ CTD Location
hERG assay	hERG channel expressed in CHO cells	In vitro	Mean Analytical Concentration: 1.0, 2.5, 4.8, 9.3 µmol/L	IC_{50} of lazertinib was 5.3 µmol/L.	Yes	G115169/ 4.2.1.3.1
Cardiovascular	Rabbit/NZW, isolated heart 4F	Ex vivo (organ bath)	1, 3, 10, 30 µmol/L	No changes in proarrhythmic parameters at 1, 3, and 10 µmol/L at 750 ms, 500 ms, and 250 ms cycle length, respectively. Only a slight prolongation in $T_{peak}T_{end}$ at 30 µmol/L lazertinib at 750 ms.	No	057-1501/ 4.2.1.3.2
Cardiovascular	Dog/Beagle 4M (Latin square crossover design)	Oral, gavage (0.5% MC and 50 mM citric acid in RO water, pH 3.0-3.2)	0, 5, 10, 20	No qualitative ECG effects or quantitative changes in PR interval, QRS duration, QT interval, QTc interval, arterial pressures, or body temperature at up to 20 mg/kg. Lower heart rate at 20 mg/kg but with no physiological relevance due to minor magnitude and short duration.	Yes	8333738/ 4.2.1.3.3
Respiratory	Rat/SD 8M/group	Oral, gavage (0.5% MC and 50 mM citric acid in RO water, pH 3.0-3.2)	0, 25, 50, 79, 100	No drug-related effects on tidal volume, minute volume up to 50 mg/kg and respiration rate up to 100 mg/kg. Lower tidal volume and resultant minute volume at 79 and 100 mg/kg but with no clear biological relevance due to minor magnitude.	Yes	8333739/ 4.2.1.3.4
CNS	Rat/SD 8M/group	Oral, gavage (0.5% MC and 50 mM citric acid in RO water, pH 3.0-3.2)	0, 25, 50, 100	No drug-related effects on neurobehavioral function or body temperature at up to 100 mg/kg.	Yes	8333740/ 4.2.1.3.5

[a] Nonclinical safety pharmacology studies were conducted with lazertinib as the free base (YH25448).

CHO = Chinese hamster ovary; CNS = central nervous system; ECG = electrocardiogram; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; hERG = human ether-à-go-go-related gene; IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration; M = male; MC = methylcellulose; NZW = New Zealand White; RO = reverse osmosis; SD = Sprague-Dawley; YH25448 = lazertinib free base

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

No studies conducted.

Confidential