2.4 の略号等一覧

略語（略称）	英語	日本語
ADA	Anti-drug antibodies	抗薬物抗体
ADC	Antibody-drug conjugate	抗体薬物複合体
ADCC	Antibody-dependent cellular cytotoxicity	抗体依存性細胞傷害作用
ADCP	Antibody-dependent cellular phagocytosis	抗体依存性細胞貪食作用
AEs	Adverse events	有害事象
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APRIL	A proliferation-inducing ligand	－
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the curve	濃度－時間曲線下面積
BAFF	B-cell activating factor	B 細胞活性化因子
BCMA	B-cell maturation antigen	B 細胞成熟抗原
BMSC	Bone marrow stromal cells	骨髄間質細胞
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白質
BPd	Belantamab mafodotin in combination with pomalidomide and dexamethasone	ベランタマブ　マホドチン＋ポマリドミド＋デキサメタゾン
BSEP	Bile salt export pump	胆汁酸排出ポンプ
BVd	Belantamab mafodotin in combination with bortezomib and dexamethasone	ベランタマブ　マホドチン／ボルテゾミブ／デキサメタゾン
CIC	Circulating immune complex(es)	循環性免疫複合体
Cmax	Maximum observed plasma drug concentration	最高血漿中薬物濃度
CRP	C-reactive protein	C 反応性蛋白質
CRT	Calreticulin	カルレティキュリン
CYP	Cytochrome	チトクロム P450
Cys	Cysteine	システイン
Cys-mcMMAF	Cysteine maleimidocaproyl MMAF, the active cytotoxic moiety released from belantamab mafodotin (also known as SGD-1362)	システインマレイミドカプロイル MMAF、ベランタマブ　マホドチンから放出される細胞傷害性活性部分（別名 SGD-1362）
DAMP	Damage associated molecular pattern	ダメージ関連分子パターン
DAR	Drug-antibody ratio	薬物抗体比
DC	Dendritic cell(s)	樹状細胞
DP	Drug product	製剤
DS	Drug substance	原薬
ECG	Electrocardiogram	心電図
EIPA	5-(N-Ethyl-N-isopropyl)amiloride	5-(N-エチル-N-イソプロピル)アミロリド
eIF2α	Eukaryotic initiation factor 2	真核生物翻訳開始因子 2
EL4-hBCMA	EL4 lymphoma tumors expressing human BCMA	ヒト BCMA 発現させた EL4 リンパ腫細胞株
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法

略語（略称）	英語	日本語
FcRn	Neonatal Fc receptor	胎児性 Fc 受容体
FcγRs	Fc gamma receptors	Fcγ 受容体
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GSI(s)	Gamma secretase inhibitors	γ セクレターゼ阻害剤
hERG	Human ether-à-go-go-related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
HCEC	Human corneal epithelial cells	ヒト角膜上皮細胞
HMGB1	High mobility group box 1	非ヒストン DNA 結合蛋白質
HSA	Human serum albumin	ヒト血清アルブミン
HSP	Heat shock protein	熱ショックタンパク質
IC50	Concentration that demonstrates 50% inhibition	50%阻害濃度
ICD	Immunogenic cell death	免疫原性細胞死
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
ICOS	Inducible T cell co stimulator	－
Ig	Immunoglobulin	免疫グロブリン
IFN-γ	Interferon-gamma	インターフェロン-γ
IHC	Immunohistochemistry	免疫組織化学
IL	Interleukin	インターロイキン
INN	International non-proprietary name	医薬品国際一般名称
IP	Intraperitoneal	腹腔内
IV	Intravenous	静脈内
IVIG	Intravenous immunoglobulin	静注用免疫グロブリン
KC/GRO	Keratinocyte chemoattractant/ growth-regulated oncogene	ケラチノサイト化学誘引因子／成長制御がん遺伝子
Kd	Equilibrium dissociation constant	平衡解離定数
LC/MS/MS	Liquid chromatography tandem mass spectrometry detection	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析計
mAb	Monoclonal antibody	モノクローナル抗体
MALDI-MSI	Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging	マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析イメージング
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein	多剤・毒性化合物排出蛋白質
MDR	Multidrug resistance protein	多剤耐性蛋白質
MCP-1	Monocyte chemotactic protein-1	単球走化性タンパク質-1
MM	Multiple myeloma	多発性骨髄腫
MMAE or MMAF	Monomethyl auristatin E /F	モノメチルアウリスタチン E/F
MRP	Multidrug resistance associated protein	多剤耐性関連蛋白質
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor	マクロファージコロニー刺激因子
nano-LCMS	nano-liquid chromatography mass Spectrometry	ナノ液体クロマトグラフィー質量分析
NF-κB	Nuclear factor-kappaB	核内因子 κB
NK	Natural killer	ナチュラルキラー

略語（略称）	英語	日本語
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
OAT	Organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells	末梢血単核細胞
PD	Pharmacodynamic(s)	薬力学
PD-1	Programmed cell death protein 1	－
PERK	PKR like ER kinase	PKR 様小胞体キナーゼ
P-gp	P-glycoprotein	P-糖蛋白質
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態
RBC(s)	Red blood cell(s)	赤血球
RPTEC	Renal proximal tubule epithelial cells	腎近位尿細管上皮細胞
RRMM	Relapsed/refractory multiple myeloma	再発又は難治性の多発性骨髄腫
SC	Subcutaneous	皮下
SCID	Severe combined immune-deficientimmunodeficiency	重症複合免疫不全
SEND	Standard Exchange of Nonclinical Data	非臨床試験データの標準
t1/2	Terminal elimination half-life	消失半減期
Tmax	Time at which Cmax occurred	最高血中濃度到達時間
TLR4	Toll-like receptor 4	Toll 様受容体 4
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha	腫瘍壊死因子 α
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
Vss	Volume of distribution at steady state	定常状態分布容積
WBC	White blood cell	白血球

2.4. 非臨床試験の概括評価

2.4.1. 非臨床試験計画概略

2.4.1.1. 緒言

ベランタマブ　マホドチン（遺伝子組換え）（GSK2857916）は、B 細胞成熟抗原（BCMA）に特異的に結合するヒト化 IgG1 抗体に微小管阻害剤であるモノメチルアウリスタチン F（MMAF）を結合させた抗体薬物複合体（ADC）である。ベランタマブ　マホドチンは、低フコース化した抗 BCMA 親抗体（GSK2857914）を部分的に還元し、鎖間システイン残基に MMAF をプロテアーゼ耐性マレイミドカプロイル（mc）リンカーで結合させることにより製造する。細胞内で抗体部分が蛋白質分解を受けて活性型細胞傷害性薬物（cys-mcMMAF；SGD-1362 とも表される）が放出されると、微小管が崩壊することにより細胞周期停止及びアポトーシスが誘導され、細胞が殺傷される[Doronina, 2006]。ベランタマブ　マホドチンの平均薬物抗体比（DAR）は 4 である［2.3.S.1.3. 一般特性（ベランタマブ　マホドチン）］。

ADC の毒性はペイロードによって引き起こされ、抗原発現細胞に対する作用だけではなく、マクロピノサイトーシス等の過程による非特異的な取り込みによっても発現する。ベランタマブ　マホドチンの非切断型 mc リンカーは安定しており、cys-mcMMAF のような荷電システインを有する毒性ペイロード（MMAF）を放出するには、抗体部分がリソソームでタンパク質分解を受ける必要がある[Doronina, 2006]。この安定性は、細胞内外への受動拡散を制限する C 末端フェニルアラニン残基による低い細胞透過性とともに、バイスタンダー効果を低下させる[Staudacher, 2017]。しかし、Fcγ 受容体（FcγR）やヒト胎児性 Fc レセプター（FcRn）に対する結合及びマクロピノサイトーシス等を介した ADC の非特異的な取り込みが、オフターゲット毒性につながる可能性が存在する。ADC のオフターゲット毒性は主にペイロードの安全性プロファイルに関連するものであり、広範囲の標的抗原に共通している[Hinrichs, 2015; Saber, 2015]。ベランタマブ　マホドチンが BCMA を発現していない細胞へ非特異的に取り込まれる機序は、マクロピノサイトーシスを介した取り込み[Zhao, 2018]である可能性が高い。患者では、BCMA 受容体発現細胞とベランタマブ　マホドチンが結合することにより、速やかに細胞内へ取り込まれ、正確かつ効率的な腫瘍細胞殺傷を促進するが、正常細胞における毒性は限定的である（2.4.2.1.2）。動物では、ベランタマブ　マホドチンと結合する標的抗原が少ないため、特に投与量が比較的高い場合には、ベランタマブ　マホドチンが非特異的に取り込まれる可能性が高くなる。

臨床では、アウリスタチン［モノメチルアウリスタチン E 及び F（MMAE 及び MMAF）］をペイロードとする ADC で高頻度に発現する重篤な事象は、一般的にペイロードに関連したものであり、血液毒性（貧血、好中球減少症、白血球減少症及び血小板減少症）及びそれに関連する変化、肝毒性（肝酵素上昇を含む）並びに末梢神経障害（MMAE のみ）であることが知られている[Masters, 2018]。ベランタマブ　マホドチンを含む MMAF 結合型 ADC では、眼毒性も報告されている[Eaton, 2015; Cohen, 2016; Trudel, 2019]。ADC で治療した患者では、タンパク質組成と分子の大きさに関連した注入に伴う反応も報告されている[Wolska-Washer, 2019]。抗原が限定的又は存在しないげっ歯類やカニクイザルの非臨床

試験でみられたアウリスタチン関連の毒性は、造血系、肝臓、腎臓、生殖器等、ベランタマブ　マホドチンと類似の器官で報告されており[Saber, 2015; Nilsson, 2010]、コルヒチンやビンブラスチンなどの他の微小管阻害薬で報告されている毒性と類似している[Creasy, 2001; Harris, 2000]。非臨床試験では、ADC 投与後に免疫原性（ヒト又はヒト化抗体に基づく）が生じ、免疫原性に伴う曝露量の低下、注入に伴う反応及び免疫複合体症が認められる。しかし、これらの所見は、一般的にヒトにおける免疫原性や関連事象を予測するものではないと考えられている[Kronenberg, 2017]。

多発性骨髄腫（MM）は、形質細胞の単クローン性／腫瘍性増殖及び形質細胞から産生される免疫グロブリン蛋白（M 蛋白）の増加を特徴とする難治性疾患である[Fukui, 2016; Furukawa, 2015; Kumar, 2004]。MM の特徴的な症状として、骨痛や病的骨折、高カルシウム血症、腎不全、貧血、血小板減少及び感染症等が知られている[Kumar, 2004; Rajkumar, 2011]。

近年、MM に対する治療法は急速に進歩しているものの、以下の特徴を有する新たな治療選択肢が依然として必要とされている。

（1）高い有効性を有し、患者の関連症状を改善可能である

（2）現行治療に対する耐性を克服できる新規の作用機序を有する

BCMA は、184 のアミノ酸から成る膜貫通型受容体であり[Laabi, 1994; Rickert, 2011]、2 種類の既知のリガンド［BAFF（又は BLyS とも呼ばれる）及び APRIL］のシグナルを伝達することで細胞の生存に関与している。BCMA は、B 細胞の分化段階後期に限定して発現しており、扁桃胚中心 B 細胞、血中形質芽細胞及び長期生存形質細胞に認められ、正常組織にはほとんど発現がみられない[Darce, 2007; Tai, 2015]。B 細胞の関与する疾患において過剰発現がみられることから、BCMA を標的とした ADC は、細胞傷害性分子を標的細胞に特異的に送達させ、BCMA 発現細胞を選択的に殺傷することが可能となる。ベランタマブ　マホドチンは、MM 細胞表面に発現している BCMA に結合すると速やかに細胞内に取り込まれ、細胞内で抗体部分が蛋白質分解を受けて活性型細胞傷害性薬物（cys-mcMMAF）が放出されると、微小管が破壊することにより細胞周期停止及びアポトーシスが誘導され、細胞が殺傷される。ベランタマブ　マホドチンは低フコース化された抗体であるため、免疫細胞（NK 細胞及びマクロファージ等）に存在する FcγR への結合親和性が増強しており、MM 細胞に対して強力な ADCC 及び ADCP 活性を有する。ベランタマブ　マホドチンのペイロード部分である MMAF は、微小管形成阻害作用を有する天然化合物ドラスタチンの合成アナログであるが、ドラスタチンは免疫原性細胞死（ICD）を誘導することが知られている[Doronina, 2003]。ドラスタチンと同様に、ベランタマブ　マホドチンによって ICD が誘導されるかについて検討したところ、ベランタマブ　マホドチンによる ADC 誘導性アポトーシスによって ICD マーカーの誘導及び樹状細胞の活性化が認められたことから、ベランタマブ　マホドチンの作用機序に T 細胞を介した腫瘍免疫応答が関与する可能性が考えられた。

ベランタマブ　マホドチンは B 細胞系列の細胞に発現する BCMA を標的としているため、再発又は難治性の多発性骨髄腫の新たな治療選択肢となりうる。再発又は難治性の成人

MM の患者を対象として実施した国際共同第Ⅲ相試験［ボルテゾミブ及びデキサメタゾンとの 3 剤併用療法（BVd）を評価した DREAMM-7 試験及びポマリドミド及びデキサメタゾンとの 3 剤併用（BPd）療法を評価した DREAMM-8 試験］で得られた有効性・安全性の結果（2.5.4 及び 2.5.5）から、「少なくとも 1 つの標準的な治療が無効又は治療後に再発した MM」を適応症として承認申請を行うこととした。

GSK は現在、上記以外にも、ベランタマブ　マホドチンを他剤と併用し、より早い段階から MM 治療薬として使用できるように臨床試験を実施中である。

ベランタマブ　マホドチンの推奨用量は 2.5 mg/kg（実測体重）であり、BVd 併用療法では、3 週間間隔で点滴静注する。BPd 療法では、初回は 2.5 mg/kg、2 回目以降は 1.9 mg/kg を 4 週間間隔で点滴静注する。患者の状態により適宜減量する。本用法・用量は安全性及び有効性データに基づき設定した（2.5）。

2.4.1.2. 非臨床試験プログラム

ベランタマブ　マホドチンの薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的プロファイルを、ICH ガイドラインに従い、ADC の特性を考慮して計画した試験により評価した。

2.4.1.2.1. 非臨床試験戦略

ベランタマブ　マホドチンの非臨床薬理試験、吸収・分布・代謝・排泄（ADME）試験及び毒性試験を実施した。ベランタマブ　マホドチンは抗悪性腫瘍薬であることから、非臨床試験は ICH S6(R1)、ICH S7A、ICH S9 及び ICH S9 Q&A ガイドラインに従い、ADC 治療薬の特性を考慮して計画・実施した。すなわち、低分子医薬品で通常実施する試験のうち、ベランタマブ　マホドチンの開発に適していると考えられる試験を実施した。

主要な毒性試験は GLP に従って実施し、また、OECD ガイドラインに従い OECD 加盟国で実施した。その他の試験は、一般的に科学的妥当性が認められた手法に従い、GLP の原則に従い実施した。非臨床試験の投与経路は、予定臨床投与経路である静脈内とした。

ベランタマブ　マホドチンの非臨床試験の多くは、市販予定製剤と同等の被験物質を使用した。本項では、ベランタマブ　マホドチンと表記した。非臨床試験で使用した種々の抗 BCMA 抗体及び ADC、並びに関連するその他の被験物質の詳細は 2.6.2 の表 2.6.2.1 に示した。ベランタマブ　マホドチンの非臨床プロファイルを更に明確にするために、cys-mcMMAF（細胞傷害性活性部分）及び GSK2857914（ベランタマブ　マホドチンの抗体部分）を用いて評価した。GSK2857914 については、国際一般名（INN）である belantamab とは表記せず、読みやすさ及び明確化のため、本項及び 2.6 では GSK2857914 と表記した。

2.4.1.2.2. 動物種の選択

In vivo における非臨床試験は、マウス、ラット、ウサギ及びサルを用いて実施した。ベランタマブ　マホドチンはサル BCMA に対して結合することが示されており、サル BCMA に対する親和性（Kd は 0.692 nM；25℃での検討）は、ヒト BCMA に対する親和性（Kd は 1.098 nM）よりもわずかに高いことが示されている（2013N175824）。カニクイザルを用いた単回投与薬理試験において、ベランタマブ　マホドチンの投与により BCMA 発現形質細

胞の有意な減少がみられ、それに関連して免疫グロブリン濃度が低下することが示された（2013N157994）。したがって、毒性試験に用いる動物種は、薬理学的に適切なカニクイザルを選択した。ベランタマブ　マホドチンはラットの BCMA には結合せず、ウサギの BCMA に結合する可能性は低い。しかし、アウリスタチン結合型 ADC の用量制限毒性はアウリスタチン単独での用量制限毒性と概ね類似しており、抗原結合に依存しないことから[Donaghy, 2016]、ラットを用いた毒性評価、並びにウサギを用いた眼毒性の評価を実施した。BCMA タンパク質の配列[UniProt website, 2024]に基づく相同性解析から、ベランタマブ マホドチンがウサギの BCMA と交差反応する可能性は低いことが示唆された。試験に使用した動物種及び系統に関しては、病理所見の背景データが豊富に存在しており、また、所見の評価及びヒトへの外挿性の検討に重要な種々の薬剤に対する反応も確認することが可能である。非臨床薬理試験では、ヒト MM 細胞株を重症複合免疫不全（SCID）マウスに移植したモデルを用いた。また、抗腫瘍効果への免疫学的機序の関与を評価する試験では、ヒト BCMA を発現させた EL4 マウスリンパ腫（EL4-hBCMA）細胞株を正常な免疫機能を有するマウスに移植したモデルを用いた。

2.4.1.2.3. 実施した非臨床試験の概要

効力を裏付ける試験では、in vitro 試験において BCMA に対する結合親和性及び種特異性、MM 細胞に対する増殖抑制作用並びに作用機序（ADC としての作用、ADCC 及び ADCP 活性並びに免疫原性細胞死の誘導）を検討した。また、in vivo 試験において、種々のヒト MM 細胞株異種移植マウス及び EL4-hBCMA 細胞株移植マウスにおいてベランタマブ マホドチンの抗腫瘍作用を評価した。更に、他の抗がん剤との併用したときのベランタマブ マホドチンの有効性を評価する in vitro 及び in vivo 試験も実施した。

副次的薬理試験では、BCMA とそのリガンドである BAFF 又は APRIL との結合に対する GSK2857914 の阻害作用を、無細胞プレートアッセイで検討した。また、ヒト培養細胞を用いて、ベランタマブ　マホドチンが NF-κB シグナル伝達経路に対する活性化作用を有するかを検討した。更に、ベランタマブ　マホドチンの標的が BCMA 発現 MM 細胞に選択的であるかを確認するため、MM 細胞以外のその他の細胞種に対するベランタマブ　マホドチンの作用を検討した。

ベランタマブ　マホドチンの安全性薬理試験として独立した試験は実施していないが、ICH S9、ICH S7A 及び S7B ガイドラインに従い、サルを用いたベランタマブ　マホドチン、GSK2857914 及び cys-mcMMAF の反復投与毒性試験において、心血管系及び／又は呼吸系に対する影響を評価した。中枢神経系に対する作用は、ラット及びサルを用いたベランタマブ　マホドチンの反復投与毒性試験の IV 投与後にケージサイドで一般状態の観察を行って評価した。また、cys-mcMMAF については、in vitro において hERG アッセイを実施し、QT 間隔を延長する可能性を評価した。

ベランタマブ　マホドチンの吸収・分布・代謝・排泄（ADME）試験では、ベランタマブ マホドチンの薬物動態学的特性を評価し、毒性試験に使用する動物種の適切性について検討した。

ベランタマブ　マホドチンの Wistar Han ラット及びカニクイザルを用いた静脈内投与による単回投与毒性試験及び最長 13 週間の反復投与毒性試験を実施した。これらの試験では、最長 12 週間の休薬期間を設け回復性を評価した。また、免疫原性についても評価した。更に、ベランタマブ　マホドチンの特性を明らかにするために、GSK2857914 のカニクイザルを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験並びに線形異性体 cys-mcMMAF の SD ラット及びカニクイザルを用いた 5 日間反復投与毒性試験を実施した。ベランタマブ　マホドチンのヒト組織結合能を評価するための ex vivo 組織交差反応性試験、ヒト末梢血単核細胞（PBMC）を用いた in vitro のサイトカイン放出試験、眼毒性の発現機序を検討するための探索的 in vitro 及び in vivo 試験、並びにベランタマブ　マホドチン（in vitro 小核試験）及び cys-mcMMAF の遺伝毒性試験を実施した。ベランタマブ　マホドチンの局所刺激性並びに適応免疫応答（免疫フェノタイピング）及び雌雄受胎能（組織学的評価のみ）に対する影響については、ラット及びサルの単回及び反復投与毒性試験成績を基に評価した。ベランタマブ　マホドチンの免疫毒性については、非臨床及び臨床データ並びに予想される薬理作用に基づき評価した。本項における用量及び濃度は、ベランタマブ　マホドチン、cys-mcMMAF 又は GSK2857914 として表示した。

ベランタマブ　マホドチン、cys-mcMMAF 及び GSK2857914 の毒性試験で使用した被験物質のロット番号及び媒体に関する情報を、2.6.6 の表 2.6.6.3、表 2.6.6.5、表 2.6.6.7 及び表 2.6.6.9 に示す。毒性試験で使用したベランタマブ　マホドチン原薬のすべてのロットの規格は、臨床試験で使用したロット並びに市販予定用原薬及び製剤ロットの規格を代表するものであった。開発期間を通じて実生産に向けて製造工程の頑健性及び拡張性を改善するために製造工程の変更が行われたが、包括的評価により実生産工程と変更前工程との同等性が確認されている。

ベランタマブ　マホドチンの生殖発生毒性試験及び幼若動物を用いた毒性試験、GLP 適用下での遺伝毒性試験並びにがん原性試験は実施していないが、ヒトリンパ球を用いた in vitro 小核試験により、染色体構造異常及び異数性誘発能を評価している[ICH, 2009; ICH, 2016; ICH, 1995]。Cys-mcMMAF の変異原性及び染色体異常誘発性については、細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）、哺乳類細胞を用いるマウスリンフォーマ TK 試験及びラットを用いた静脈内投与による小核試験により評価した。また、ベランタマブ　マホドチン（mcMMAF を含む）の合成経路を基に遺伝毒性不純物が原薬又は製剤に含まれる可能性について評価した。

ベランタマブ　マホドチンは ADC 製剤であるため、光毒性試験は必要ないと考えられる[ICH, 2013]。しかし、リンカー複合体である SGD-1269（mcMMAF）の UV／可視光領域の吸収スペクトルを測定した。その結果、290～700 nm の波長において吸収がみられたが、モル吸光係数は 1000 L mol^{-1} cm^{-1} 未満であった。このことから、患者における光安全性の懸念はなく、光安全性試験は必要ないと考えられた。

本項には市販予定用の原薬／製剤と非臨床試験用ロットの原薬／製剤間の同等性及び不純物に関する考察も含まれている。

2.4.1.2.4. モジュール 4 に含まれない非臨床試験

ベランタマブ　マホドチンの非臨床試験報告書はモジュール 4 に添付した。本申請時に最終報告書を添付しなかった試験の一覧を Appendix 1 に示した。

2.4.1.2.5. 試験物質

GSK2857914 は、現行の医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理に関する基準（cGMP）に従って製造され、原薬中間体として試験される。遺伝子組換え哺乳類細胞株により、[redacted]を用いた細胞培養工程で製造される。GSK2857914 は、ウイルス不活化及び除去工程を含む多段階の連続クロマトグラフィー精製工程により精製される。GSK2857914 の製造に使用するセルバンクは、外来性ウイルス汚染がないことを実証するために広範に試験されている。製造工程で動物を起源とする原材料は使用していない。GSK2857914 の製造工程は、3.2.S.2.2（belantamab）に示す。

mcMMAF（SGD-1269）は、cGMP に従って中間体として製造され、試験されている。mcMMAF の cGMP 合成は、[redacted]からなる。mcMMAF の製造に動物を起源とする原材料は使用していない。mcMMAF の製造工程は 3.2.S.2.2（SGD-1269）に示す。

ベランタマブ　マホドチンは、[redacted]等の種々のプロセスを経て製造される。ベランタマブ　マホドチンの製造に動物を起源とする原材料は使用していない。ベランタマブ　マホドチンの製造工程については、3.2.S.2.2（原薬）に示す。

市販用製剤（ブーレンレップ点滴静注用）は、有効成分としてベランタマブ　マホドチン（遺伝子組換え）を含有する点滴静注用凍結乾燥製剤である。製剤は、50 mg/mL ベランタマブ　マホドチン、[redacted] mmol/L クエン酸ナトリウム／クエン酸、[redacted] mmol/L トレハロース、[redacted] mmol/L エデト酸ナトリウム及び [redacted]ポリソルベート 80（pH [redacted]）を含む製剤バルク溶液から製造する。凍結乾燥製剤は、未処理のタイプ I の透明ガラスバイアルに充てんし、凍結乾燥後、[redacted]ゴム栓で打栓し、[redacted]で密封する（3.2.P.1）。

2.4.2. 薬理試験

多発性骨髄腫を適応症として承認申請するにあたり、効力を裏付ける試験として、一連の in vitro 及び in vivo 試験を実施した。In vitro 試験では、BCMA に対する結合親和性及び種特異性、MM 細胞増殖抑制作用並びに作用機序を検討した。In vivo 試験では、種々のヒト MM 細胞株異種移植マウス及び EL4-hBCMA 細胞株移植モデルにおいてベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍作用を検討した。

副次的薬理試験では、BCMA とそのリガンドである BAFF 又は APRIL との結合に対する GSK2857914 の阻害作用を、無細胞プレートアッセイで検討した。また、ヒト培養細胞を用いた検討において、ベランタマブ　マホドチンが NF-κB シグナル伝達経路を活性化するかを検討した。また、ベランタマブ　マホドチンの標的が BCMA 発現 MM 細胞に選択的であ

るかを確認するため、MM 細胞以外のその他の細胞種に対するベランタマブ　マホドチンの作用を検討した。

ベランタマブ　マホドチンの安全性薬理試験として独立した試験は実施していないが、ICH S9、ICH S7A 及び S7B ガイドラインに従い、サルを用いたベランタマブ　マホドチン、GSK2857914 及び cys-mcMMAF の反復投与毒性試験において、心血管系及び／又は呼吸系に対する影響を評価した。中枢神経系に対する作用は、ラット及びサルを用いたベランタマブ　マホドチンの反復投与毒性試験の IV 投与後にケージサイドで一般状態の観察を行って評価した。また、cys-mcMMAF については、in vitro において hERG アッセイを実施し、QT 間隔を延長する可能性を評価した。

実施した試験の詳細は 2.6.2 に記載し、試験の一覧は 2.6.3 に示した。薬理試験の最終報告書はすべて 4.2.1 に添付した。

2.4.2.1. 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1. 結合親和性及び種交差性

25℃での遺伝子組換えサル及びヒト BCMA に対するベランタマブ　マホドチンの結合親和性（Kd）はそれぞれ 0.692 nM（0.105 µg/mL）及び 1.098 nM（0.167 µg/mL）であった。別の試験で、25 及び 37℃での遺伝子組換えヒト BCMA に対するベランタマブ　マホドチンの結合を検討したところ、Kd はそれぞれ 1.6 nM（0.24 µg/mL）及び 3.1 nM（0.47 µg/mL）であった。ベランタマブ　マホドチンのヒト BCMA に対する結合親和性は、GSK2857914（ベランタマブ　マホドチンの抗体部分）と同程度であった（2013N175824）。

ベランタマブ　マホドチンの遺伝子組換えヒト FcγRIIIa 及びサル FcγRIII に対する結合親和性は、低フコース型抗体であることから予想されたとおり、GSK2800525（MMAF 非結合の野生型フコース付加抗体）と比較して約 10～20 倍高いことが示された。ベランタマブ　マホドチン、GSK2800525 及び GSK2857914 の間でヒト FcRn、FcγRI 及び FcγRIIa への結合に対する親和性は同程度であり、FcγRIIIa 以外の FcγR への結合親和性は、低フコース化及び mcMMAF 結合による影響はみられなかった（2013N175824）。

2.4.2.1.2. ADC による細胞傷害作用の発現機序

ベランタマブ　マホドチンは、細胞傷害作用を有する低分子 MMAF が非切断型の mc リンカーを介して抗体に結合した ADC であり、抗体部分の抗原特異性により、BCMA 発現細胞に cys-mcMMAF を選択的に送達することが可能である。ベランタマブ　マホドチンが標的細胞に取り込まれ、リソソームで蛋白質分解を受けると、細胞内に活性型薬物 cys-mcMMAF が放出され、標的細胞が特異的に殺傷される[Doronina, 2006]。

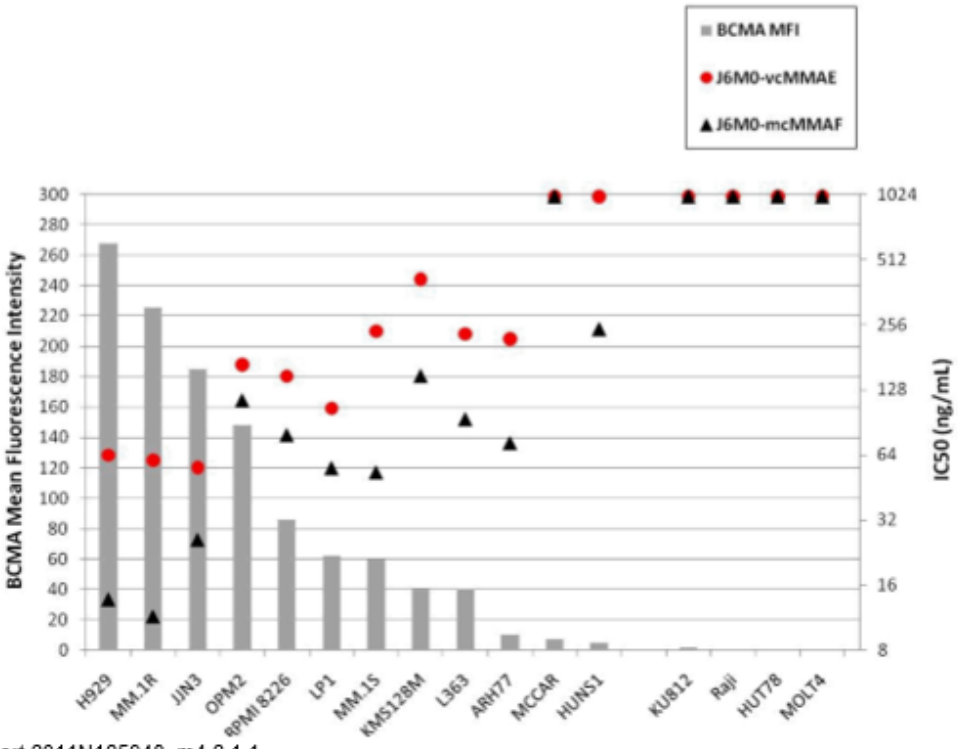
天然化合物であるドラスタチン 10 並びにその合成アナログである MMAE 及び MMAF 等のアウリスタチンは、チューブリンの重合による微小管形成を阻害することが知られている[Doronina, 2003]。MMAE は細胞透過性が高いため、がん細胞内で放出された MMAE が細胞膜を透過し、周囲の細胞に対しても細胞傷害活性を示すことが知られている（バイスタンダー効果）が、MMAF は C 末端フェニルアラニン基が帯電していることによって細胞膜透過性が低下しているため、標的細胞以外への細胞傷害活性は低いことが in vitro において示さ

れている[Doronina, 2006]。ベランタマブ　マホドチンの標的細胞が存在する骨髄では、バイスタンダー効果によって骨髄毒性が増強される可能性があるため、そのような効果がないことが望ましいと考えられる。

ヒト MM 細胞株 NCI-H929 の細胞表面 BCMA への GSK2857914 の結合、細胞内への取り込み及び BCMA の細胞表面における再発現速度を共焦点顕微鏡で視覚的に評価した（2013N177426）。NCI-H929 細胞株を細胞表面の BCMA 受容体がすべて飽和すると想定される濃度の GSK2857914 でパルス処理すると、細胞表面に結合している抗体量が 3 時間以内に著しく減少し、同時に細胞内部に移行した抗体が検出された。細胞において検出される総 GSK2857914 量（細胞表面及び細胞内部に移行した抗体の総量）はパルス処理の開始から 7 時間後まで減少し続けた。マウス抗 BCMA 抗体（GSK2857914 によって占有されていない受容体のみを検出可能）の添加により、細胞表面における BCMA の再発現が確認された。この抗体で検出される細胞表面における GSK2857914 によって占有されていない BCMA の再発現は、GSK2857914 処理の 3 時間後には認められ、その後 4 時間にわたって増加し続けた（2013N177426 及び 2013N176113）。

MM 細胞株を用いた細胞生存アッセイ、フローサイトメトリーよる細胞周期の解析及び切断型カスパーゼ 3（CC3）陽性細胞の検出により、ベランタマブ　マホドチンの作用機序から予想される細胞周期の G2/M 期での停止及びアポトーシス誘発作用を評価した。細胞生存アッセイでは、MMAF 結合型 GSK2800525（野生型フコース付加抗体）の MM 細胞株に対する増殖抑制作用（IC50 を算出）を評価したところ、BCMA 発現レベルが高い細胞株では概して ADC（MMAF 結合型 GSK2800525）による増殖抑制作用が強く、BCMA 発現レベルが低い細胞株（MC/CAR 及び HuNS1 等）における増殖抑制作用は弱かった（図 2.4.1）。また、本試験において、MMAE 結合型 ADC と MMAF 結合型 ADC の増殖抑制活性を比較したところ、MMAF 結合型 ADC でより強力な増殖抑制作用がみられた（2011N125948）。別の試験では、細胞表面の BCMA 発現量の影響を評価するため、BCMA 高発現の NCI-H929 細胞株と、BCMA 低発現の MM 細胞株 KMS-12-BM に対するアポトーシス誘導作用を比較した。その結果、BCMA 高発現の NCI-H929 及び低発現の KMS-12-BM 細胞株のいずれにおいても、ベランタマブ　マホドチンの曝露時間とともにアポトーシス細胞が増加したが、BCMA 発現レベルの高い細胞では速やかにアポトーシスが誘導されるのに対し、低発現細胞での誘導には長時間の処理が必要であることが示された（2013N176113）。

また、患者由来 CD138 陽性 MM 細胞をベランタマブ　マホドチン存在下でインキュベートしたのち、アネキシン V／ヨウ化プロピジウム（PI）染色を行い、フローサイトメトリーによりアポトーシス細胞の出現、並びにカスパーゼ 3/7 活性を測定してアポトーシス誘導作用の有無について検討した。その結果、患者由来 CD138 陽性 MM 細胞を用いた検討においても、ベランタマブ　マホドチンによる濃度依存的なアポトーシス誘導作用が示された（2013N176111）。



Note: Report 2011N125948, m4.2.1.1
Key:
BCMA = B cell maturation antigen; J6M0-mcMMAF = GSK2800525 conjugated to MMAF; J6M0-vcMMAE = GSK2800525 conjugated to MMAE; IC50 = Concentration that demonstrates 50% inhibition; mc = maleimidocaproyl; vc = valine citrulline.

図 2.4.1 MMAE 又は MMAF 結合型 GSK2800525 の各種 MM 細胞株に対する増殖抑制作用と細胞表面 BCMA の発現レベルとの関係

ベランタマブ　マホドチン存在下で NK 細胞及び骨髄間質細胞（BMSC）を単独又は共培養しても、NK 細胞又は BMSC の生存に対する影響は認められなかったが、MM 細胞株 MM1Sluc をベランタマブ　マホドチンで処理すると、単独培養及び BMSC との共培養のいずれにおいても MM1Sluc 細胞株の生存が完全に阻害された。また、別の試験において、ベランタマブ　マホドチン存在下で CD14 陽性単球を単独又は BMSC と共培養しても、CD14 陽性単球の生存に影響を及ぼさなかったが、NCI-H929 細胞株と CD14 陽性単球及び BMSC を共培養すると NCI-H929 細胞株の生存のみが阻害された。以上の結果から、ベランタマブ マホドチンの細胞傷害作用は、BCMA を発現しない細胞との共培養実験においても BCMA 発現細胞に対して選択的であることが示され、MM 細胞の周囲に存在する BMSC 及びエフェクター細胞に対するバイスタンダー効果はほとんどみられないと考えられた（2013N176111）。

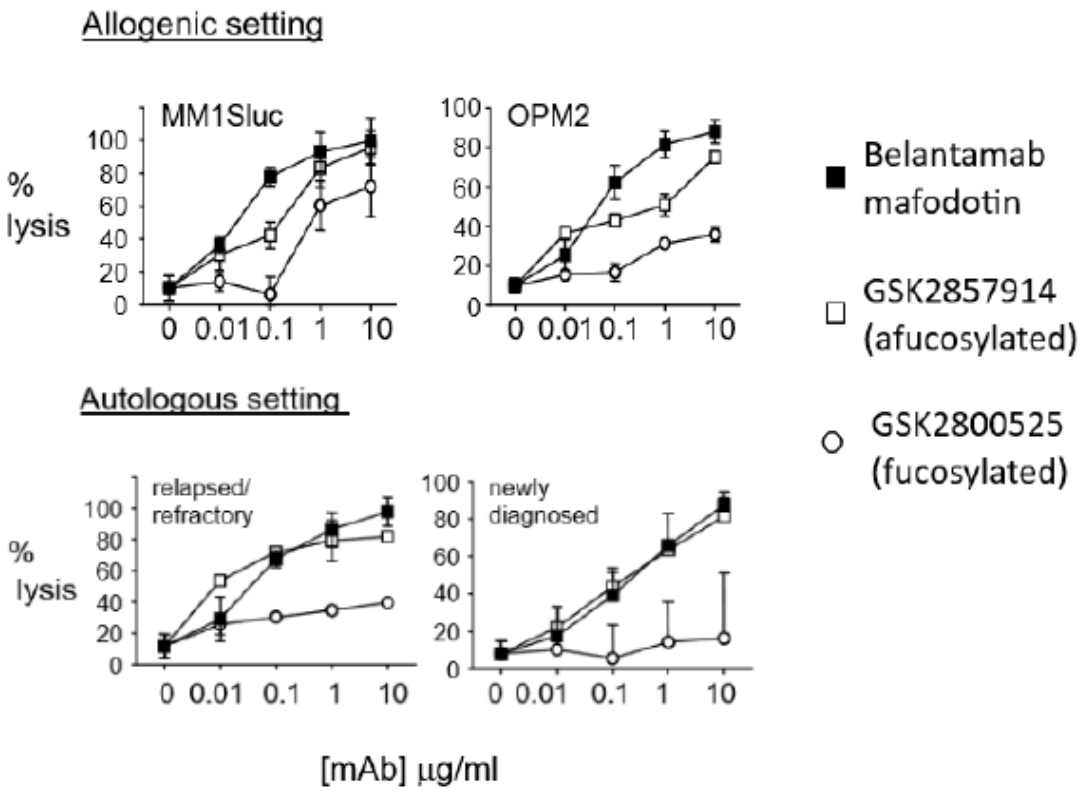
2.4.2.1.3. ADCC 及び ADCP 活性

ADCC 活性は、抗体の Fc 領域と NK 細胞等のエフェクター細胞上の FcγRIIIa との結合を介して発現することが知られている。そこで、ベランタマブ　マホドチン、GSK2857914 又は GSK2800525 を用いて、種々の MM 細胞株に対する ADCC 活性を評価した。

BCMA 発現 MM 細胞株（標的細胞）を GSK2857914 とともにインキュベートしたのち、エフェクター細胞である PBMC（11 例の健常ドナーから得た）を添加した（エフェクター細胞：標的細胞＝50：1）。更にインキュベートしたのち、生存細胞を蛍光標識した抗 CD138 抗体で染色し、フローサイトメトリー法で検出することにより細胞傷害作用（%）を求め、得られた濃度反応曲線から、EC50 を算出した。GSK2857914 は、検討したいずれの細胞株に対しても ADCC 活性を示したが、用いた PBMC ドナー及び標的細胞株によって活性にばらつきがみられ、EC50 は 0.57 ng/mL（NCI-H929 細胞株）～111 ng/mL（JJN3 細胞株）の範囲であった（2013N176111）。

また、ヒト BCMA を発現させた MM 細胞株 ARH77-10B5 を用い、ベランタマブ　マホドチンの ADCC 活性を GSK2857914 と比較した。ユーロピウム標識した ARH77-10B5 細胞をウェルに添加し、GSK2857914 又はベランタマブ　マホドチンとともにインキュベートしたのち、エフェクター細胞として PBMC を添加した（エフェクター細胞：標的細胞＝50：1）。その後、傷害細胞から遊離される培養上清中のユーロピウムの蛍光を検出して、ADCC 活性を評価した。その結果、ベランタマブ　マホドチンは濃度依存的な ADCC 活性を示した。その作用は 100 ng/mL で最大反応に達し、EC50 は 1.8 ng/mL であった。GSK2857914 でも同様の結果が得られ、抗体に MMAF を結合させることによる影響はみられなかった。ベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 はいずれも、FcγRIIIa への結合親和性が増強された低フコース型抗体であることから想定されたとおり、GSK2800525（MMAF 非結合の野生型フコース付加抗体）よりも強力な ADCC 活性を示すことが確認された（2011N125945）。

更に、MM 細胞株を用いた検討と同様に、患者由来 MM 細胞に対してもベランタマブ　マホドチンによる ADCC 活性がみられるかを、傷害された細胞から放出されるカルセイン AM（細胞透過性のある生細胞染色用色素）を測定する細胞溶解アッセイで検討した。ターゲット細胞として MM 患者（10 例）の骨髄由来 CD138 陽性細胞を用い、エフェクター細胞として健康ドナー由来の PBMC（n=2）又は CD138 陽性 MM 細胞を得たのと同じ患者由来の PBMC（n=8）を用いて検討した。その結果、ベランタマブ　マホドチンは、エフェクター細胞として健康ドナーの PBMC を使用した同種異系条件及び CD138 陽性 MM 細胞を得たのと同じ患者の PBMC を使用した自家条件のいずれにおいても同程度の ADCC 活性を示した（図 2.4.2）。本試験においても、低フコース化抗体であるベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 は、GSK2800525（MMAF 非結合の野生型フコース付加抗体）よりも強力な ADCC 活性を示すことが確認された（2013N176111）。



Note：
Report 2013N176111, m4.2.1.1

図 2.4.2 MM 細胞株及び患者由来 MM 細胞に対するベランタマブ　マホドチン、GSK2857914 又は GSK2800525 の ADCC 活性

ADCP 活性は、抗体の Fc 領域とマクロファージ等のエフェクター細胞上の FcγRIII との結合を介して発現することが知られている。そこで、標的細胞として種々の MM 細胞株（ADCC 活性を評価した細胞株と同じ株）、エフェクター細胞としてヒト PBMC から得た単球を M-CSF で刺激することによって得たマクロファージを用い（エフェクター細胞：標的細胞＝4：1）、ベランタマブ　マホドチンの ADCP 活性を評価した。その結果、いずれの MM 細胞株においても、ベランタマブ　マホドチン処理によりマクロファージによる MM 細胞の貪食が顕著に促進されることが示された（2013N176111）。

2.4.2.1.4. ICD マーカーの誘導

ICD は小胞体ストレスと関連する細胞死の一種であり、その過程においてカルレティキュリン（CRT）や HMGB1（high mobility group box 1；非ヒストン DNA 結合蛋白質）等の DAMPs と呼ばれる分子の細胞表面への表出又は細胞からの放出がみられる[Galluzzi, 2017]。ドラスタチン類は ICD を誘導し、DC の成熟と T 細胞のプライミングを促進することが示されている[Muller, 2014]。

最初の試験では、小胞体ストレスを反映する早期 ICD マーカーである eIF2α（リン酸化）、BAP31（切断）及び PERK（リン酸化）に及ぼす影響をウエスタンブロット法で検討

した。NCI-H929 細胞株をベランタマブ　マホドチン存在下でインキュベートしたところ、eIF2α のリン酸化並びに BAP31 蛋白質の切断が認められた。また、ベランタマブ　マホドチン処理により、リン酸化 PERK が検出された。NCI-H929 細胞株をベランタマブ　マホドチン存在下でインキュベートしたのち、培養液中の HSP70 及び HSP90α（ER ストレスを表す早期 ICD マーカー）、IL-8（免疫応答の変化及び炎症反応の開始を表す中期 ICD マーカー）及び HMGB1（アポトーシスの指標である中後期 ICD マーカー）濃度を ELISA 法により測定したところ、細胞外に放出される HSP70 及び HSP90α、IL-8 及び HMGB1 濃度の上昇がみられた（2019N397960）。別の試験において、NCI-H929 細胞株をベランタマブ　マホドチン存在下でインキュベートしたのち、ICD マーカー（CRT、HSP90、HSP70 及び HMGB1）の変化をフローサイトメトリーで評価したところ、CRT、HSP90、HSP70 及び HMGB1 の細胞膜への移行が増強されることが示された（2019N400866）。

NCI-H929 細胞株をベランタマブ　マホドチン存在下でプレインキュベートしたのち、ベランタマブ　マホドチン非存在下でヒト未熟樹状細胞と共培養し、ベランタマブ　マホドチンによって誘導される細胞死が樹状細胞の活性化／成熟に及ぼす影響（活性化／成熟マーカーである CD40、CD83 及び CD86 をフローサイトメトリーで解析）を評価した。その結果、NCI-H929 細胞株をプレインキュベートした際のベランタマブ　マホドチンの濃度に依存的して、樹状細胞の細胞表面における CD40、CD83 及び CD86 の発現増加がみられ、ベランタマブ　マホドチンによる NCI-H929 細胞株の殺傷によって樹状細胞が活性化／成熟されることが示唆された（2016N304715）。

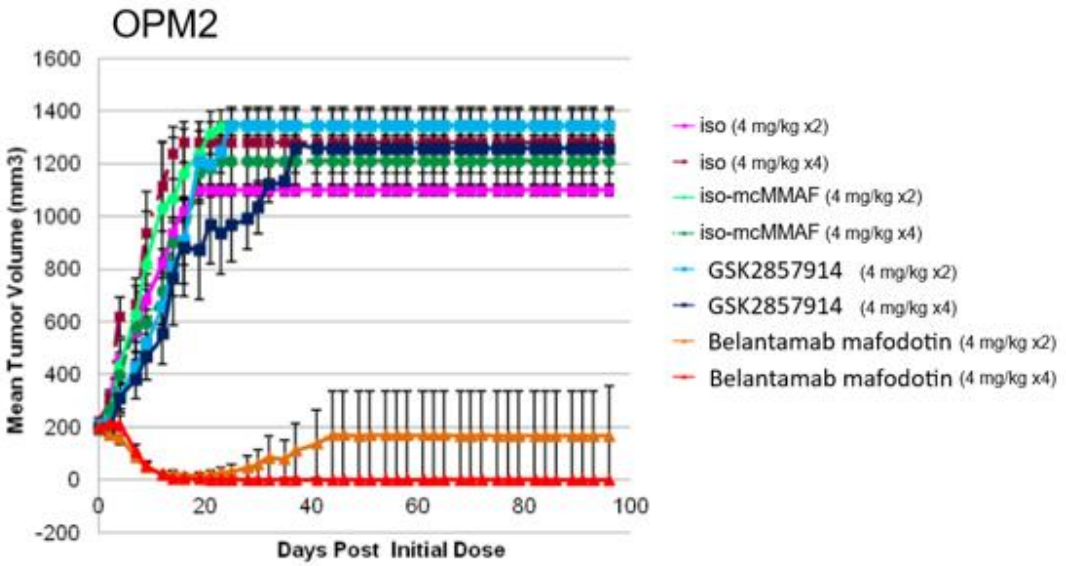
2.4.2.1.5. In vivo 試験

種々のヒト MM 細胞株を皮下移植したマウスを用いて、ベランタマブ　マホドチン及び／又は関連する ADC の抗腫瘍効果を評価した。本試験に使用する細胞株として、抗 BCMA 抗体に微小管阻害薬を結合させた ADC に対する感受性の異なる MM 細胞株を選択した（2011N125948）。BCMA の発現レベルが高い NCI-H929 細胞株では、in vitro において強力な抗腫瘍活性が認められ、BCMA の発現レベルが中程度～高い細胞株である OPM-2 では NCI-H929 に比べて、ベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍活性が弱いことが示されている（図 2.4.1）。また、ヒト MM1Sluc 細胞株を注入した播種性同所移植モデルを用いて抗腫瘍効果及び免疫学的機序の関与を評価した。更に、ヒト BCMA を発現させた EL4 マウスリンパ腫（EL4-hBCMA）細胞株を正常な免疫機能を有するマウスに皮下移植し、ベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍効果への免疫学的機序の関与を評価した。これらの in vivo 試験において、対照群には IgG 抗体、IgG1-mcMMAF 及び／又は媒体を投与した。ベランタマブ　マホドチンはマウス BCMA には結合しないため、検討したすべてのモデルでみられたベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍効果は、主にヒト BCMA を発現する MM 細胞を標的とした ADC としての作用であると考えられた。使用したマウスはヒト IgG 抗体による ADCC 活性を評価するために最適化された系統ではない。また、ベランタマブ　マホドチンのマウス FcγR に対する親和性は検討していないが、ヒト IgG1 及びマウス FcγR 間の相互作用により ADCC 及び ADCP 作用が引き起こされることが報告されている[Smith, 2012]。

2.4.2.1.5.1. NCI-H929 及び OPM-2 細胞株を用いた異種移植モデルにおける抗腫瘍効果

MM 細胞株 NCI-H929 を皮下移植した雌の CB17 SCID マウスに、ベランタマブ　マホドチンの 4 mg/kg（100 μg/匹）を週 2 回 1 又は 2 週間 IP 投与（計 2 又は 4 回投与）することにより完全な腫瘍退縮が認められた（2013N175478）。また、NCI-H929 細胞株移植マウスにベランタマブ　マホドチンを投与したのち、血清中の遊離 sBCMA 及び sBCMA―薬剤複合体濃度を測定したところ、IgG1-mcMMAF 投与群と比較して、ベランタマブ　マホドチン投与群では遊離 sBCMA 濃度の低下及びベランタマブ　マホドチンと複合体を形成した sBCMA 濃度の上昇がみられた（2013N167720）。更に、NCI-H929 細胞株移植マウスを用いてベランタマブ　マホドチンの DAR の抗腫瘍効果への影響について評価した。DAR が 2.1～5.7 のベランタマブ　マホドチン（2 mg/kg）の抗腫瘍効果を比較したところ、DAR の違いによる影響はみられなかった。DAR が 3.5～4.6 のベランタマブ　マホドチン（4 mg/kg）を用いた試験においても、DAR の相違による抗腫瘍効果への影響はみられなかった（2017N317971）。これらの結果から、検討した DAR の範囲内では、ベランタマブ　マホドチンの in vivo での抗腫瘍効果に対して DAR の相違による明らかな影響はないことが示された。なお、臨床バッチにおけるベランタマブ　マホドチンの平均 DAR は約 4 である［2.3.S.1.3. 一般特性（ベランタマブ　マホドチン）］。

OPM-2 細胞株を皮下移植した雌の CB17 SCID マウスにベランタマブ　マホドチンの 4 mg/kg（100 μg/匹）を週 2 回 1 又は 2 週間 IP 投与（計 2 又は 4 回投与）したとき、全例で腫瘍の退縮が認められた（図 2.4.3）。また、ベランタマブ　マホドチン（4 mg/kg）を週 1 回 2 週間又は週 2 回 1 週間投与したところ、週 2 回 1 週間投与したときの方が抗腫瘍効果は強かった。試験最終日（試験 36 日）に完全な腫瘍の退縮が認められたのは週 2 回投与群で 5 例中 3 例であったのに対し、週 1 回投与群では 5 例中 2 例であった（2013N175478）。OPM-2 細胞株移植マウスにおいても血清中の遊離型及び薬物結合型 sBCMA 濃度を測定した。その結果、NCI-H929 細胞株移植マウスを用いた検討と同様に、ベランタマブ　マホドチン投与群では、IgG1-mcMMAF 投与群と比較して遊離 sBCMA 濃度の低下、ベランタマブ　マホドチンと複合体を形成した sBCMA 濃度の上昇がみられた（2013N167720）。



Note:
Report 2013N175478, m4.2.1.1

図 2.4.3 OPM-2 細胞株を皮下移植したマウスにおけるベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍効果

2.4.2.1.5.2.　MM1Sluc 細胞株を用いた播種性同所移植モデルにおける抗腫瘍効果及び免疫組織化学的解析

T 細胞、B 細胞及び NK 細胞が機能不全である雌の CB17 SCID-beige マウスにヒト MM1Sluc 細胞株を注入して播種性同所移植モデルを作製し、ベランタマブ　マホドチンの生存期間に及ぼす影響及び抗腫瘍作用を検討した。本マウスにベランタマブ　マホドチン（0.4 及び 4 mg/kg）を週 2 回の頻度で、計 9 回（約 1 ヵ月）IP 投与したとき、媒体群及び IgG1-mcMMAF 投与群では腫瘍量の増加がみられたのに対し、ベランタマブ　マホドチン投与群では腫瘍量の増加がみられず、試験最終日（試験 120 日）まで腫瘍の退縮がみられた。また、ベランタマブ　マホドチン投与群では、媒体群及び IgG1-mcMMAF 投与群と比較して、生存期間の延長（カプランマイヤー曲線の比較で有意差あり）が認められ、試験期間を通して体重減少はみられなかった（2013N176111）。試験最終日に採取した大腿骨における BCMA 及び CD138 の免疫組織化学染色では、ベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍効果を裏付けるように、BCMA の染色強度の低下及び CD138 陽性腫瘍細胞の減少がみられた。また、ベランタマブ　マホドチン又は GSK2857914 投与群では腫瘍周囲へのマクロファージの浸潤（F4/80 マーカーを指標）の増加がみられた。本モデルにおいて GSK2857914 の抗腫瘍効果についても検討したところ、GSK2857914（4 mg/kg）の腫瘍量に対する効果は、ベランタマブ　マホドチン（0.4 及び 4 mg/kg）よりも弱かったが、媒体群及び IgG1-mcMMAF 投与群と比較して有意な腫瘍量の抑制及び生存期間の延長がみられた。本モデルは NK 細胞の機能不全を示す CB17 SCID-beige マウスを用いていることから、本試験でみられたベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍効果には ADCP が寄与している可能性が示唆された。

2.4.2.1.5.3. EL4-hBCMA 細胞株移植モデルにおける抗腫瘍効果

ヒト BCMA を発現させた EL4 マウスリンパ腫細胞株（EL4-hBCMA）を正常な免疫機能を有する C57BL/6 マウスに皮下移植した同種移植モデルを用い、ベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍効果を検討した（2019N396819）。ベランタマブ　マホドチン投与群（1、3、10、15、20 及び 30 mg/kg）では、用量依存的な腫瘍増殖抑制作用及び媒体投与群と比較して有意な生存期間の延長がみられた。検討したすべての用量で忍容性が認められ、体重への影響はほとんどみられなかった。EL4-hBCMA 細胞株移植モデルの腫瘍の完全退縮には、ヒト MM 細胞株異種移植モデルと比較して、より高用量のベランタマブ　マホドチンが必要であった。ベランタマブ　マホドチンの最高用量（30 mg/kg）群では、10 例中 10 例で完全な腫瘍の退縮がみられた。そのうち 9 例が試験最終日（試験 60 日）まで生存し、いずれの動物においても腫瘍は検出されなかった。

続いて、本モデルでのベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍効果における CD4 及び CD8 陽性 T 細胞の関与について、抗 CD4 抗体及び抗 CD8 抗体を用いて検討した（2018N359715）。その結果、本モデルにおいて CD8 陽性 T 細胞を枯渇させると、ベランタマブ　マホドチン投与群でみられた生存期間の延長作用が減弱したことから、ベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍効果には CD8 陽性 T 細胞が関与していることが示唆された。一方、CD4 陽性 T 細胞を枯渇させたときは、ベンランタマブ　マホドチン投与群でみられた生存期間の延長作用に影響を及ぼさなかった。本試験は正常な免疫機能を有するマウスを用いて実施しており、免疫不全マウスにヒト MM 細胞株を異種移植したモデルとは CD8 陽性 T 細胞の関与は異なる。

更に、EL4-hBCMA 細胞株移植モデルにおいてベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 の抗腫瘍効果を比較したところ、ベランタマブ　マホドチン投与群では持続的な腫瘍退縮作用がみられたのに対し、naked 抗体である GSK2857914 投与群では腫瘍退縮作用は認められなかったことから、腫瘍退縮作用の発現には cys-mcMMAF によるチューブリンの重合阻害が必要であることが示唆された（2019N396819）。

EL4-hBCMA 細胞株モデルにおいて病理組織学的評価及び免疫組織化学的評価を行ったところ、ベランタマブ　マホドチン投与群では、非投与対照群と比較して腫瘍におけるネクローシスの割合が増加し、腫瘍の周囲において腫瘍浸潤リンパ球（TIL）及び CD8 陽性 T 細胞が増加した（2019N395916）。腫瘍細胞における CRT 発現レベルは、GSK2857914 投与群よりもベランタマブ　マホドチン投与群の方が高く、ベランタマブ　マホドチンの最終投与（計 3 回投与）後、5 及び 7 日目に採取した腫瘍で最も高かった。ベランタマブ　マホドチンの投与によって腫瘍に浸潤した TIL を介するシグナル伝達が CRT 発現レベルの増加に関連している可能性が示唆された。本結果でみられた TIL 及び CRT 発現レベルの増加は、in vitro で観察された ICD マーカー誘導及び樹状細胞の成熟化と一致した結果であった。抗腫瘍効果を検討した上述の試験において、ベランタマブ　マホドチンの抗腫瘍活性の発現には CD8 陽性 T 細胞及び微小管阻害剤による殺細胞作用が関与している可能性が示されており、病理組織学的評価及び免疫組織化学的評価で得られた結果と考え合わせると、正常な免疫機能を有する本モデルにおいてベランタマブ　マホドチン投与群でみられた腫瘍の完全退

縮には、微小管阻害剤によって生じる ICD によって誘発される適応免疫応答も寄与している可能性が示唆された。

2.4.2.1.5.4. サルを用いた単回投与薬理試験

ベランタマブ　マホドチンのサル BCMA に対する結合親和性は、ヒト BCMA よりもわずかに高いことが示されている（2013N175824）。形質細胞に対する薬力学的作用を評価するため、サルにベランタマブ　マホドチンを単回急速 IV 投与したのち、骨髄及び血液サンプルを採取した［2013N157994（PK 試験における検体採取）及び 2013N163514（バイオマーカー分析）］。フローサイトメトリーを用いて、骨髄（投与前及び投与後 14 日）及び全血（投与前並びに投与後 1 及び 14 日）における形質細胞（CD138 及び CD38 陽性）数を測定し、血液細胞中の形質細胞の割合を算出した。また、CD138 及び CD38 陽性細胞を抗 BCMA 抗体で染色して、薬物非結合の形質細胞数を測定し、形質細胞中の薬物非結合細胞の割合を算出した。更に、骨髄及び血液中（それぞれ投与前並びに投与後 14 及び 70 日）の T 細胞、B 細胞及び NK 細胞数についても測定した。血清中の炎症性サイトカインも投与後 70 日まで測定した。

ベランタマブ　マホドチン単回投与群では、投与前と比較して、血液（投与後 1 及び 14 日に測定）及び骨髄中（投与後 14 日に測定）の形質細胞の減少がみられた。薬物非結合の形質細胞の割合は投与後 14 日に採取した血液及び骨髄サンプルで減少がみられたが、骨髄中での減少は軽微であった。また、遊離 sBCMA はベランタマブ　マホドチン投与後速やかに（5 分後）減少後、投与 30 分後から投与後 2 日まで増加し、投与後 7 日まで高値が維持された後、それ以降の時点ではベースラインレベルまで減少した。本試験で GSK2857914 の単回 IV 投与による影響も検討したところ、ベランタマブ　マホドチン投与群と同様に、薬物非結合の形質細胞の減少がみられた。ベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 を単回投与することによって、炎症性サイトカイン、T 細胞、単球、NK 細胞数に対する明らかな影響はみられなかった。ベランタマブ　マホドチン投与によって抗体を産生する形質細胞の減少がみられることから、免疫グロブリン濃度が低下する可能性が考えられるが、想定された通り、ベランタマブ　マホドチン投与の平均 IgE 濃度は投与 5 分後（ベースライン）と比較して 50～75%減少し、IgG、IgA 及び IgM 濃度は軽度に減少した。以上の結果から、ベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 の単回投与群では、BCMA 発現細胞である形質細胞を減少させるが、BCMA を発現していない T 細胞、単球及び NK 細胞には影響を与えないことが示された。

2.4.2.1.6. 他剤と併用したときの抗腫瘍効果

ヒト MM 細胞株又は EL4-hBCMA 細胞株移植マウスにベランタマブ　マホドチンを単独投与又は MM に対する標準治療薬、免疫チェックポイント阻害剤並びにエピジェネティック抗がん剤と併用投与したときの抗腫瘍効果を検討した。

2 種類のヒト MM 細胞株（OPM-2 又は MOLP-8）を皮下移植したマウスを用いて、ベランタマブ　マホドチンを MM に対する標準治療薬であるボルテゾミブ、レナリドミド、ポマリドミド又はデキサメタゾンと 2 剤又は 3 剤で併用投与したときの腫瘍増殖抑制作用及び生

存期間に及ぼす影響を評価した（2019N395340）。ベランタマブ　マホドチンをボルテゾミブ又はレナリドミドと併用投与したところ、ベランタマブ　マホドチンを単独投与したときと比較して有意な腫瘍増殖抑制作用がみられた。OPM-2 細胞株移植マウスにおいては、ベランタマブ　マホドチンとポマリドミドとの併用投与により、ベランタマブ　マホドチンを単独投与したときと比較して、生存期間の延長がみられた。上記の検討では、デキサメタゾンを追加投与することによる腫瘍増殖抑制作用の増強及び生存期間の更なる延長はみられなかった。

EL4-hBCMA 細胞株移植モデルにおいて、サロゲート抗体である抗マウス OX40 アゴニスト抗体又はエピジェネティック抗がん剤［蛋白質アルギニンメチルトランスフェラーゼ 1 もしくは 5（PRMT1 又は 5）阻害剤又は Bromodomain and Extra-Terminal motif（BET）阻害剤］をベランタマブ　マホドチンと併用投与したところ、ベランタマブ　マホドチンを単独投与したときと比較して、生存期間の延長がみられた（2017N348146、2018N393779 及び 2019N398490）。一方、ベランタマブ　マホドチンを抗 PD-1 抗体、抗 ICOS アゴニスト抗体又は TLR4 アゴニストと併用したところ、ベランタマブ　マホドチンを単独投与したときと比較して明らかな併用効果は認められなかった（2017N345016 及び 2017N348146）。また、エピジェネティック抗がん剤［Enhancer of zeste homolog 2（EZH2）、リジン特異的ヒストン脱メチル化酵素 1（LSD1）又は、DNA メチルトランスフェラーゼ 1（DNMT1）の阻害剤］とベランタマブ　マホドチンとの併用投与においても、明らかな併用効果はみられなかった（2018N393779）。

MM 細胞株及びリンパ腫細胞株を用いた in vitro 試験では、ベランタマブ　マホドチンを種々の GSI と併用したところ、ベランタマブ　マホドチンを単独で処理したときと比較して、細胞増殖抑制作用及び ADCC 活性の増強がみられた（2019N415573）。

2.4.2.1.7. 作用機序

ベランタマブ　マホドチンは、MM 細胞表面に発現している BCMA に結合すると速やかに細胞内に取り込まれ、細胞内で抗体部分が蛋白質分解を受けて活性型細胞傷害性薬物（cys-mcMMAF）が放出されると、微小管が崩壊することにより細胞周期停止及びアポトーシスが誘導され、細胞が殺傷される（2.4.2.1.2）。ベランタマブ　マホドチンは低フコース化された抗体であるため、免疫細胞（NK 細胞及びマクロファージ等）に存在する FcγR への結合親和性が増強しており（2.4.2.1.1）、MM 細胞に対して強力な ADCC 及び ADCP 活性を有する（2.4.2.1.3）。MM 細胞をベランタマブ　マホドチンで処理することにより CRT の細胞表面への移行並びに HMGB1 及び ATP の分泌がみられたことから、ベランタマブ　マホドチンによる ADC 誘導性アポトーシスは免疫原性細胞死を誘導する可能性がある（2.4.2.1.4）。In vitro 試験においてベランタマブ　マホドチンによって誘導される細胞死によって樹状細胞を活性化させることが示されたことから、ベランタマブ　マホドチンの作用機序に T 細胞を介した腫瘍免疫応答が関与する可能性が考えられた（2.4.2.1.4 及び 2.4.2.1.5）（図 2.4.4）。

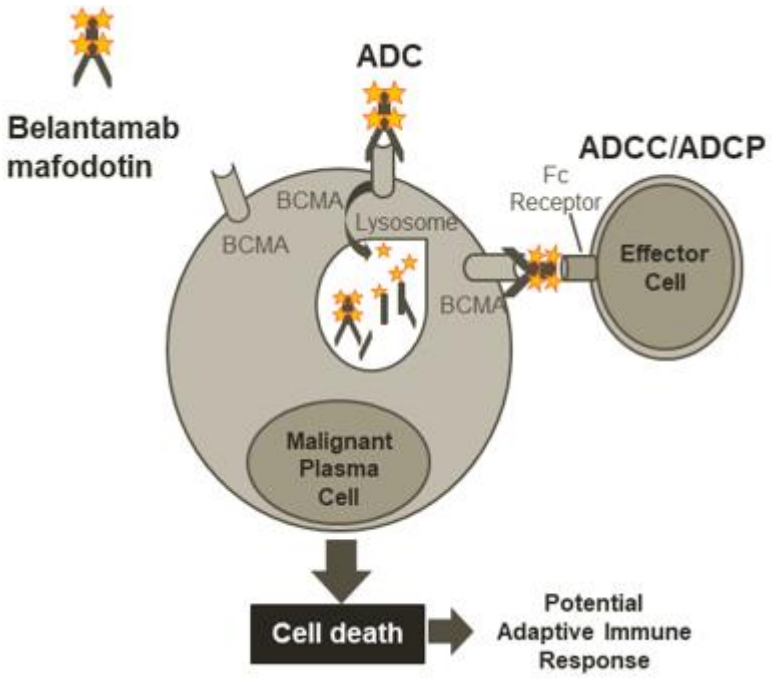


図 2.4.4 ベランタマブ　マホドチンの作用機序

2.4.2.2.　副次的薬理試験

BCMA とそのリガンドである BAFF 又は APRIL との結合に対する GSK2857914 の阻害作用を、無細胞プレートアッセイで検討した結果、GSK2857914 は BAFF 及び APRIL 両リガンドの BCMA への結合を阻害した。また、MM 細胞株を用いたアッセイでは、GSK2857914 は BAFF 誘導性 NF-κB の活性化を完全に抑制し、sBCMA 存在下でも同様に抑制した。APRIL 誘導性 NF-κB の活性化に対しては、sBCMA 非存在下でのみ抑制作用を示した（2011N125952）。

NF-κB は炎症性サイトカインによって活性化され、それによって抗アポトーシス経路がアップレギュレートされることで、細胞の生存に関与することが知られている。そこで、細胞表面に発現している BCMA を介して GSK2857914 が NF-κB シグナルに及ぼす影響（アゴニスト作用）を検討した。その結果、種々の BCMA 発現 MM 細胞株において、GSK2857914 はアゴニスト作用を示さなかった。しかし、GSK2857914 に抗ヒト IgG を添加し架橋結合させると、NCI-H929 及び OPM-2 細胞株では、GSK2857914 のみで処理したときと比較して NF-κB シグナル伝達がそれぞれ約 2 及び 5 倍に増強された。一方、JJN3 細胞株では同様の変化はみられなかった。GSK2857914 をプレートに固定化後に NCI-H929 細胞株を添加した試験では、対照抗体（IgG 抗体）と比較して NF-κB シグナルのわずかではあるが有意な活性化がみられた。以上より、GSK2857914 は、IgG を添加しない又はプレートに固定化させない場合、NF-κB シグナルに影響（アゴニスト作用）を及ぼさなかった（2013N175851）。

ベランタマブ　マホドチンの標的が BCMA 発現 MM 細胞に選択的であるかを確認するため、MM 細胞以外のその他の細胞種に対するベランタマブ　マホドチンの結合及び ADC 又

は ADCC による細胞傷害作用を、健康ドナー及び MM 患者から単離した細胞を用いて検討した。ベランタマブ　マホドチンは、MM 患者から単離した PBMC、NK 細胞、CD14 陽性単球又は BMSC の生存に影響を及ぼさなかった。また、健康ドナー及び骨髄腫患者由来の形質細胞様樹状細胞に対するベランタマブ　マホドチンの ADCC 活性は、MM 細胞でみられた作用と比較して弱く、これらの細胞における BCMA の発現レベルは CD138 陽性形質細胞よりも低いことが確認された（2013N176111）。メチルセルロースベースの半固形培地を用いた長期のコロニー形成細胞アッセイにおいて、ベランタマブ　マホドチンは、正常ヒト骨髄由来骨髄前駆細胞又は患者骨髄由来 MM 前駆細胞数に影響を及ぼさなかった（2013N176110）。以上の結果から、ベランタマブ　マホドチンの細胞傷害作用が BCMA 発現細胞に特異的な作用であることが示された。

2.4.2.3. 安全性薬理試験

2.4.2.3.1. In vivo 評価

ICH S9、ICH S7A 及び S7B ガイドラインに従って、サルを用いた反復投与毒性試験において、ベランタマブ　マホドチン、cys-mcMMAF 及び GSK2857914 投与による心血管系及び／又は呼吸系に対する影響を評価した。実施した試験一覧、最終報告書の添付場所及び GLP 適用状況を 2.6.3 に記載した。

カニクイザルにベランタマブ　マホドチン（1、3 又は 10 mg/kg、週 1 回 IV 投与）を 3 又は 13 週間反復投与したとき、ベランタマブ　マホドチンによる ECG 波形異常、不整脈及び QTc の変化はみられなかった（2013N158643 及び 2018N275127）。Cys-mcMMAF 及び GSK2857914 を用いた試験においても、投薬に関連した心電図波形異常はみられなかった（2013N177530 及び 2012N150466）。サルを用いた 13 週間反復投与毒性試験では、ベランタマブ　マホドチンの 10 mg/kg/週群の雄において、5 回目の投与後に心拍数の増加（16%）がみられたが、これは一般状態の悪化に関連するものと考えられた。Cys-mcMMAF の 5 日間反復投与毒性試験では、血圧、呼吸数並びに心拍数への影響は認められなかった（2013N177530）。

呼吸系・中枢神経系に対するベランタマブ　マホドチンの影響について、ラット及びサルを用いたベランタマブ　マホドチンの 3 及び 13 週間反復投与毒性試験の IV 投与後にケージサイドで一般状態の観察を行って評価したところ、いずれの試験においても呼吸系・神経行動への影響を示唆する一般状態の変化は認められなかった（2013N174857、2018N374327、2013N158643 及び 2018N375127）。また、ラット及びサルを用いた cys-mcMMAF の反復投与毒性試験でも神経行動への影響を示唆する一般状態の変化は認められなかった（2013N177527 及び 2013N177530）。更に、GSK2857914 のサルを用いた 13 週間反復投与毒性試験においても、神経行動への影響を示唆する一般状態の変化は認められなかった（2023N536587）。

2.4.2.3.2. QT 間隔延長の可能性

ベランタマブ マホドチンのような分子量の大きい蛋白質複合体が細胞膜を透過して、hERG チャネル又は hERG 阻害の機序とされる他のイオンチャネルを阻害する可能性は低い

と考えられる[Sanguinetti, 2005; Vargas, 2008]ことから、ベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 を用いた心室再分極遅延の可能性を評価する in vitro 電気生理学的試験（hERG アッセイ等）は実施していない。また、ベランタマブ　マホドチンの BCMA に対する特異性を考慮すると、イオンチャネルの細胞外ドメインとの相互作用する可能性は低い（2013N176111）。Cys-mcMMAF については、in vitro において hERG アッセイを実施し、QT 間隔を延長する可能性を評価したところ、hERG テール電流に影響を及ぼさなかった（2.6.3-Table 4.1、2018N376608）。

ベランタマブ　マホドチンは in vivo で心血管系パラメータに影響を及ぼさなかった（2.4.2.3.1）ことからも、ヒトにおいて QT 間隔に直接的な影響（hERG チャネルへの結合）又は間接的な影響（心毒性）を及ぼす可能性は低いと考えられる。臨床において、thorough QT 試験等の QTc への影響を評価する試験は実施していないが、ベランタマブ　マホドチンの臨床試験において、3.4 mg/kg までの用量を IV 投与しても QT/QTc 間隔への影響及び心血管系の所見は認められなかった（ヒトに 2.5 mg/kg で IV 投与したときと非臨床試験の曝露量の比較及びマージンについては表 2.4.4.2 及び表 2.4.4.3、臨床試験の結果については 2.5.3 を参照）。

2.4.2.4. 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用を検討する試験は実施していない。ベランタマブ　マホドチンは BCMA に対して高い特異性と親和性を有しており、その他の分子に作用して影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる（2.4.2.1.1、2.4.2.2 及び 2.4.4.2.6.6）。

2.4.3. 薬物動態

ベランタマブ　マホドチンの反復静脈内投与後の TK プロファイルを、Wistar Han ラット及びカニクイザルを用いた 3 及び 13 週間 GLP 毒性試験並びにウサギを用いた探索的眼毒性試験において評価した。ベランタマブ　マホドチン投与後の動物及びヒトの、血漿及び/又は尿中の ADC［ベランタマブ　マホドチン（ADC）］、総モノクローナル抗体［ベランタマブ　マホドチン（総 mAb）］（mcMMAF 結合及び非結合の GSK2857914 と定義）及び遊離型の低分子ペイロード［システインマレイミドカプロイル MMAF（cys-mcMMAF）］を定量した。本項では、ベランタマブ　マホドチン及び cys-mcMMAF の PK、分布、代謝及び排泄、並びに非結合型親抗体である GSK2857914 の PK の評価結果を示す。各試験結果については 2.6.4「薬物動態試験の概要文」の 2.6.4.2～2.6.4.8 で詳述し、概要を 2.6.5「薬物動態試験概要表」に示した。薬物動態試験報告書は 4.2.2「薬物動態試験報告書」に添付した。

2.4.3.1. 分析法

2.4.3.1.1. ベランタマブ　マホドチン（ADC）

GLP 適用の毒性試験でベランタマブ　マホドチンを投与した後のラット及びサル血漿中ベランタマブ　マホドチン（ADC）濃度は、[redacted]を用いて、蛍光又は化学発光標識体のいずれかと組み合わせた免疫測定法により測定した。こ

の分析法では、[redacted]を用いることで DAR が 1 以上のベランタマブ　マホドチン（ADC）が検出可能となり、遊離型 BCMA に結合しているかどうかにかかわらずベランタマブ　マホドチン（ADC）を検出できる。これらの分析法について、分析時点で有効なガイドラインに従って、検量線、真度、精度及び様々な条件下での安定性に関するバリデーションを行った。また、予備的 PK 試験並びに GLP 非適用の毒性試験及び PK 試験を評価するため、血液：水（マウス）、血清（マウス、ラット及びサル）、血漿（ラット、ウサギ及びサル）及び涙液（ウサギ）中濃度測定用に同様の分析法を開発した。ベランタマブ　マホドチンの開発中に使用したベランタマブ　マホドチン（ADC）用の PK 分析法は 2.6.4.2.1 で詳述し、概要を 2.6.4 Appendix 1-Table A1.2 及び Table A1.6 に示した（2012N156879、2013N175800、2018N369048、2013N159339 及び 2013N183711）。それ以前の方法はバリデーションされていないが、各試験で得られた PK パラメータに一貫性があることから、目的に適合していることが確認されている。

2.4.3.1.2. ベランタマブ　マホドチン（総 mAb）

GLP 適用の毒性試験においてベランタマブ　マホドチンを投与した後のラット及びサル血漿中ベランタマブ　マホドチン（総 mAb）濃度は、捕捉試薬として[redacted]、検出抗体として[redacted]を用いて、蛍光又は化学発光標識体のいずれかと組み合わせた免疫測定法により測定した。捕捉試薬として [redacted] を用いることで、mcMMAF 付加の有無にかかわらずベランタマブ　マホドチン（総 mAb）が検出可能となり、遊離型 BCMA に二価結合していない場合にのみベランタマブ　マホドチン（総 mAb）を検出できる。これらの分析法について、分析時点で有効なガイドラインに従って、検量線、真度、精度及び様々な条件下での安定性に関するバリデーションを行った。また、予備的 PK 試験並びに GLP 非適用の毒性試験及び PK 試験を評価するため、血液：水（マウス）、血清（マウス、ラット及びサル）及び血漿（ラット、ウサギ及びサル）中濃度測定用に同様の分析法を開発した。ベランタマブ　マホドチンの開発中に使用したベランタマブ　マホドチン（総 mAb）用の PK 分析法は 2.6.4.2.1 で詳述し、概要を 2.6.4 Appendix 1-Table A1.3 及び Table A1.7 に示した（2012N156875、2013N175799、2018N369049、2013N160140 及び 2013N183813）。それ以前の方法はバリデーションされていないが、各試験で得られた PK パラメータに一貫性があることから、目的に適合していることが確認されている。

2.4.3.1.3. Cys-mcMMAF

Cys-mcMMAF は 2 種類の異性体として存在する。Cys-mcMMAF の直鎖異性体（SGD-1362 と命名）は、マレイミド環部分で化学的加水分解され、その後、脱水反応を経て、直鎖異性体に比べて安定な環状異性体（SGD-1462 と命名）となる。Cys-mcMMAF 用の分析法では、分析対象物質の安定性を保証するため、SGD-1462 となるように加水分解を促進させる。したがって、cys-mcMMAF 用の分析法では、SGD-1362 と SGD-1462 の合計として定量される。

GLP 適用毒性試験及び PK 試験においてベランタマブ　マホドチン又は cys-mcMMAF を投与した後のラット及びサルの血漿中、並びにラット尿中 cys-mcMMAF 濃度は、除タンパ

クもしくは固相抽出（SPE）後、LC/MS/MS 法を用いて定量した。これらの分析法について、分析時点で有効なガイドラインに従って、検量線、真度、精度、選択性、回収率及び様々な条件下での安定性に関するバリデーションを行った。初期の GLP 適用毒性試験をサポートするために実施した cys-mcMMAF 投与ラット及びサルの血漿中濃度測定では、バリデーション中の凍結血漿の安定性について評価しなかった。しかし、重要なベランタマブ　マホドチンの GLP 毒性試験をサポートするために実施した cys-mcMMAF 投与ラット及びサルの血漿中濃度測定、並びに cys-mcMMAF の GLP 適用 PK 試験のバリデーションパッケージでは、初期の試験とは異なる濃度範囲ではあるものの、凍結血漿の安定性を評価した。また、GLP 非適用の毒性試験及び PK 試験を評価するため、血漿（ラット、ウサギ及びサル）、尿（ラット）及び涙液（ウサギ）中濃度測定用に同様の分析法を開発した。ベランタマブ　マホドチンの開発中に実施した cys-mcMMAF 用の PK 分析法については 2.6.4.2.1 で詳述し、概要を 2.6.4 Appendix 1-Table A1.4 及び Table A1.8 に示した（2018N376609、2013N171243、2013N173108、2019N415409、2019N415376、2018N376610、2013N173798、2019N415366 及び 2019N415308）。それ以前の方法はバリデーションされていないが、各試験で得られた PK パラメータに一貫性があることから、目的に適合していることが確認されている。

2.4.3.1.4. GSK2857914

GLP 適用の毒性試験でサルに GSK2857914 を投与したときの血漿中 GSK2857914 濃度は、捕捉試薬として[redacted]、検出抗体として[redacted]を用いて、化学発光標識体を組み合わせた免疫測定法により定量した。この測定法は、血中の遊離型 BCMA に二価結合していない場合にのみ GSK2857914 を検出する。なお、この測定法は DAR がゼロを含むベランタマブ　マホドチン（総 mAb）の測定法と同様である。これらの分析法について、分析時点で有効なガイドラインに従って、検量線、真度、精度及び様々な条件下での安定性に関するバリデーションを行った。また、予備的 PK 試験を評価するため、マウス、ラット及びサル血清中濃度測定用に同様の分析法を開発した。ベランタマブ　マホドチンの開発中に実施した GSK2857914 の PK 測定法については 2.6.4.2.1 に詳述し、概要を 2.6.4 Appendix 1-Table A1.10 に示した（2012N155837 及び 2014N198075）。それ以前の方法はバリデーションされていないが、各試験で得られた PK パラメータに一貫性があることから、目的に適合していることが確認されている。

2.4.3.1.5. 抗薬物抗体

PK データの解釈及び安全性評価のために、13 週間の毒性試験において、ベランタマブ　マホドチン投与後のラット及びサル血清中の ADA の有無について検討した。ラット及びサル血清中の ADA の検出には、バリデーション済みの電気化学発光ブリッジング法を用いた。この方法では、[redacted]。ADA 複合体形成の前に[redacted]を設定した。最初にバリデートされたサルを用いた分析法には[redacted]が組み込まれていなかったが、[redacted]を有するバリデーション済みの分析法に変更することにより、drug

tolerance が改善した。免疫原性測定法では段階的に評価を行い、screening assay で陽性の可能性があると判定された検体について、confirmatory assay でベランタマブ　マホドチンに対する特異的抗体が陽性か陰性かを評価した。陽性と確認された検体について抗体価測定を行い、抗ベランタマブ　マホドチン抗体反応の大きさを評価した。これらの分析法について、分析時点で有効なガイドラインに従って、カットポイント、精度、感度、選択性、特異性並びに drug tolerance 及び target tolerance に関するバリデーションを行った。ラット及びサルを用いたベランタマブ　マホドチンの非 GLP 毒性試験及びサルを用いた GSK2857914 の 4 週間試験には、[redacted]同様の電気化学発光ブリッジング法を使用した。これらの分析法は 2.6.4.2.2 に詳述し、概要を 2.6.4 Appendix 1-Table A1.5 及び Table A1.9 に示した（2018N371901、2018N365647 及び 2018N371414）。

2.4.3.1.6. 循環性免疫複合体

免疫原性の影響を更に理解するために、ベランタマブ　マホドチンを投与したサルにおける循環性免疫複合体の有無について検討した。循環性免疫複合体の検出方法として、[redacted]。本法は、分析時点で有効なガイドラインに従って、検出限界、精度、選択性、特異性並びに drug tolerance 及び tartget tolerance に関するバリデーションを行った。この分析法は 2.6.4.2.2 に詳述し、概要を 2.6.4 Appendix 1-Table A1.9 に示した（2018N371395）。

2.4.3.2. 吸収

2.4.3.2.1. ベランタマブ　マホドチンの PK/TK

マウス、ラット及びサルを用いたベランタマブ　マホドチンの単回静脈内（1 mg/kg）又は腹腔内（4 mg/kg、マウスのみ）投与試験を実施し、ベランタマブ　マホドチンの PK の予備評価を実施した（2.6.5-Table 3.1 及び Table 3.2；2013N175927、2013N176011、2012N140200、2013N157994 及び 2012N143303）。

非臨床試験に用いた動物種におけるベランタマブ　マホドチン（ADC）及びベランタマブ　マホドチン（総 mAb）の血漿中濃度は同程度であったことから、ADC は循環血中で安定であることが示唆された。動物におけるベランタマブ　マホドチンのクリアランスは緩徐であった（8～26 mL/kg/日）。これは、糸球体濾過量（3000～20000 mL/kg/日；Davies, 1993）に比べてかなり小さく、腎排泄によるベランタマブ　マホドチンのクリアランスがほとんどないことを示している。動物におけるベランタマブ　マホドチンの Vss は 103～129 mL/kg と小さかった。これは細胞外液量（200～300 mL/kg；Davies, 1993）に比べて小さく、ベランタマブ　マホドチンが主に全身循環血中に留まっていることを示唆している。マウス、ラット及びサルにおけるベランタマブ　マホドチンの血清中 t1/2 は、それぞれ約 9、11 及び 4 日

であった。雄マウスへの腹腔内投与試験でも同様の結果が得られた。また、腹腔内投与後のベランタマブ　マホドチンの相対的バイオアベイラビリティは約 80%であった。

ベランタマブ　マホドチンを静脈内投与したときの PK について、以下に示す単回投与毒性試験 2 試験、反復投与毒性試験 4 試験及び忍容性／眼毒性試験 2 試験において評価した。

- ラット（10、30 及び 100 mg/kg；2.6.7-Table 5.1；2012N134122）及びサル（3、10 及び 30 mg/kg；2.6.7-Table 5.2；2012N133495）の単回投与試験
- ラット（3、10 及び 30 mg/kg/週；2.6.7-Table 7.1；2013N174857）及びサル（1、3 及び 10 mg/kg/週；2.6.7-Table 7.3、2013N158643）の 3 週間投与試験、並びにラット（3、10 及び 30 mg/kg/3 週；2.6.7-Table 7.2；2018N374327）及びサル（1、3 及び 10 mg/kg/週；m2.6.7-Table 7.4；2018N375127）の 13 週間投与試験
- NZW ウサギ（15 及び 30 mg/kg/週；2.6.7-Table 17.12；2018N385412）の 2 又は 4 週間投与試験、並びに DB ウサギ（30 mg/kg/週；2.6.7-Table 17.13；2021N465838）の 7 週間投与試験

ラット及びサルの単回投与毒性試験では、ベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）の全身曝露量は用量にほぼ比例して増加し、顕著な性差は認められなかった。低用量で実施した PK 試験と同様に、ベランタマブ　マホドチン（ADC）とベランタマブ　マホドチン（総 mAb）の濃度は同程度であったことから、循環血中の薬物複合体が安定であることが示唆された。これは、血漿及び尿（ラットのみ）中で比較的低濃度の cys-mcMMAF が検出されたことと合致した。

ラットの反復投与毒性試験では、ベランタマブ　マホドチン（ADC 又は総 mAb）の全身曝露量に顕著な性差は認められなかった。雌雄平均全身曝露量は用量にほぼ比例して増加した。3 週間試験では、試験 15 日の全身曝露量が試験 1 日の全身曝露量と比較してわずかに増加したが、13 週間試験では試験 10 週と試験 4 週の全身曝露量に顕著な差は認められなかった。3 週間試験で算出されたベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）の t1/2 の平均値は約 11 日であった。

ラット 13 週間試験では 30 mg/kg 群の雄 2 例が ADA 陽性であった。これは ADA/薬物複合体のクリアランスの増加と一致して、ADC 及び総 mAb の血漿中濃度の低下と関連していたため、いずれの動物も ADC 及び総 mAb の全身曝露量の平均値の算出には含めなかった。3 週間試験では ADA の測定は実施しなかったが、ベランタマブ　マホドチン（ADC 又は総 mAb）の TK に対する ADA の影響は認められなかった。

投与間隔が異なる点を考慮すると、ラットにおけるベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）の TK は、2 試験間で一致していた。

NZW ウサギの忍容性及び眼毒性試験において、ベランタマブ　マホドチン（ADC）とベランタマブ　マホドチン（総 mAb）の全身曝露量は同程度であった。ADC 及び総 mAb の曝露量は用量に比例して増加した。30 mg/kg/週投与時の平均曝露量（AUC0-t）は、試験 1 日と比較して試験 8 日は 2 倍弱、試験 22 日は約 2 倍と、一貫して高かった。DB ウサギの眼毒性試験において、曝露量（AUC0-t 及び Cmax）は、30 mg/kg/週では試験 1 日と 22 日で同程度（2 倍未満の差）であった。30 mg/kg/週群の試験 1 日と 15 mg/kg/週群の試験 36 日目の曝

露量は同程度であった。各投与期間の曝露量は動物間で一貫していた。ベランタマブ　マホドチンは投与後 168 時間まで定量可能であった。

サルの反復投与毒性試験では、ベランタマブ　マホドチン（ADC 又は総 mAb）の全身曝露量に顕著な性差は認められなかった。雌雄平均全身曝露量は用量にほぼ比例して増加し、3 週間試験の試験 1 及び 15 日の間、並びに 13 週間試験の試験 4 及び 13 週の間で全身曝露量に顕著な差は認められなかった。3 週間試験で算出したベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）の t1/2 の平均値は約 4 日であった。

サル 13 週間試験において、免疫原性反応により血漿中ベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）濃度が低下した雄 1 例については、全身曝露量の平均値の算出から除外した。ADA は大部分のサルで検出されたが、これによりベランタマブ　マホドチン（ADC 又は総 mAb）の血漿中曝露量が必ずしも減少しなかった。ADA の測定はサルの 3 週間試験では実施しなかったが、ベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）の TK に対する ADA の影響は認められなかった。

サルにおけるベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）の TK は、2 試験で一致していた。

概して、ベランタマブ　マホドチンの PK はヒトの mAb で予想される特徴[Wang, 2008]と一致し、クリアランスと Vss が低く、血漿中 t1/2 が数日であった。ラット、ウサギ及びサルを用いた非臨床 PK/TK 試験において、ベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）の PK は、評価した用量範囲で概ね用量比例性があり、ラット及びサルの血漿中濃度には顕著な性差は認められなかった。ラット及びウサギでは、反復投与後に蓄積性が認められた。

2.4.3.2.2. ベランタマブ　マホドチン投与後の cys-mcMMAF の PK/TK

ベランタマブ　マホドチン静脈内投与後の cys-mcMMAF の PK は、2.4.3.2.1 に記載した単回及び反復投与毒性試験で検討した。

ラットを用いた 3 及び 13 週間の反復投与毒性試験では、いずれの試験でも低用量 3 mg/kg 群では cys-mcMMAF 濃度の定量が不十分であり、全身曝露量を算出できなかった。より高用量のベランタマブ　マホドチン投与群では、cys-mcMMAF の全身曝露量に顕著な性差は認められず、用量にほぼ比例した。3 週間試験での cys-mcMMAF の全身曝露量は、試験 1 日に比べて試験 15 日で高く、13 週間試験での cys-mcMMAF の全身曝露量は、試験 3 週に比べて試験 10 週でわずかに高かった。これらの結果から cys-mcMMAF は血漿中でわずかに蓄積し、ベランタマブ　マホドチンを 2～3 回投与後に定常状態に達することが示唆された。ベランタマブ　マホドチン静脈内投与後の cys-mcMMAF の Tmax は 0.25～48 時間であった。

NZW ウサギの忍容性及び眼毒性試験において、cys-mcMMAF の全身曝露量は用量に比例して増加した。30 mg/kg/週群の平均曝露量は投与日間で同程度であった。Tmax の中央値は概ね 24 時間であった。DB ウサギの眼毒性試験において、30 mg/kg/週群の cys-mcMMAF の全身曝露量（AUC0-t、Cmax）は、試験 1 日と 22 日で同程度（2 倍未満の差）であった。30 mg/kg/週群の試験 1 日と 15 mg/kg/週群の試験 36 日の曝露量は同等であった。Tmax は概ね 24 時間であった。

サルの 3 及び 13 週間の反復投与毒性試験を比較すると、cys-mcMMAF の全身曝露量は 13 週間試験のほうが大幅に低かった。3 週間試験では、cys-mcMMAF の雌雄平均全身曝露量はベランタマブ　マホドチンの用量に比例して増加し、全身曝露量について雌雄間あるいは試験 1 週と 3 週の間に顕著な差は認められなかった。13 週間試験では、cys-mcMMAF の血漿中濃度は低用量の 1 mg/kg 群では非常に低く、高用量の 10 mg/kg 群ではデータの報告不可（試験 4 週）又は利用不可（試験 13 週）であったため、TK を評価することができなかった。定量可能な場合、cys-mcMMAF の全身曝露量は、顕著な性差はなく、用量に比例して増加し、投与 13 及び 4 週目では同程度であった。ベランタマブ　マホドチンの静脈内投与後の cys-mcMMAF の Tmax は 0.25～48 時間であった。

2.4.3.2.3. Cys-mcMMAF の静脈内投与後の PK/TK

ラットに cys-mcMMAF を単回静脈内ボーラス投与する 2 つの試験を実施した。毒性試験（最大用量 25 mg/kg）（2.6.7-Table 5.3；2013N177526）では、少量サンプリング（sparse sampling）により濃度データが限られていたため、PK パラメータは算出しなかった。PK 試験（最大用量 3 mg/kg）（2.6.5-Table 3.3；2019N415388）では、終末消失相から PK パラメータを算出するにはデータが不十分であったため、算出した PK パラメータは全身曝露量の評価に限られた。ラットの全身曝露量（AUC0-t 及び Cmax）は用量比をわずかに上回って増加した。

カニクイザルに最大 10 mg/kg の用量で cys-mcMMAF を単回静脈内ボーラス投与した 2 試験の PK データを統合した（2.6.7-Table 5.4；2013N177529 及び 2.6.5-Table 3.3；2019N415363）。その結果、cys-mcMMAF のクリアランス（262～1660 mL/h/kg）は低～中程度であり、Vss（45～2050 mL/kg）はばらつきが大きく、t1/2（4.6～14 時間）は中程度であった。PK パラメータに顕著な又は一貫した性差は認められなかった。PK 試験では全身曝露量は概ね用量に比例して増加したが、毒性試験では使用動物数が少なかったため（n＝1/性/投与量）、用量比例性は評価しなかった。

Cys-mcMMAF を、雌雄ラット（1、5 及び 10 mg/kg）（2.6.7-Table 7.5；2013N177527）又はカニクイザル（0.5、2 及び 5 mg/kg）（2.6.7-Table 7.6；2013N177530）に 1 日 1 回 5 日間静脈内ボーラス投与したとき、全身曝露量に一貫した性差は認められなかった。全身曝露量は用量に伴って増加し、試験 1 及び 5 日の血漿中濃度に差は認められなかった。

2.4.3.2.4. GSK2857914 の静脈内投与後の PK/TK

マウス、ラット及びサルを用いた GSK2857914 の単回静脈内投与（1 mg/kg）試験において、GSK2857914 の PK について予備検討を実施した（2.6.5-Table 3.1 及び Table 3.2；2013N175927、2012N140200、2013N157994 及び 2012N143303）。

GSK2857914 の薬物動態はベランタマブ　マホドチンと同様であった。クリアランス（7～15 mL/kg/日）はやや遅く、Vss（70～109 mL/kg）はやや小さく、血清 t1/2（マウス、ラット及びサルでそれぞれ 13、11 及び 4 日）は同程度であった。

雌雄のカニクイザルに GSK2857914 を 4 週間反復静脈内ボーラス投与（10、30 及び 100 mg/kg/週）したとき、全身曝露量に顕著な性差は認められず、試験 1 及び 4 週の雌雄平均全身曝露量は用量に比例して増加した（2.6.7-Table 7.7；2012N150466）。

2.4.3.3. 分布

非臨床試験で得られた PK パラメータ（2.6.5-Table 3.1 及び Table 3.2；2013N175927、2013N176011、2012N140200、2013N157994 及び 2012N143303）は、ベランタマブ　マホドチンが組織に広範に分布しないという予測と一致している。細胞外液量（200～300 mL/kg；Davies, 1993）と比較して、Vss が小さいこと（マウス、ラット、サルでは 103～129 mL/kg）は、ベランタマブ　マホドチンの分布が細胞外液量より小さな分画に限定されていることを示唆している。

Vivotag-680 標識ベランタマブ　マホドチン又は GSK2857914 の HCEC 及び RPTEC への取り込みをスピニングディスク共焦点顕微鏡により評価する、2 つの試験を実施した（2.6.5-Table 8.1；2019N409936 及び 2.6.5-Table 8.2；2020N451323）。更に、ベランタマブ　マホドチンの存在下で 12.5 μM EIPA による前処理を行ってマクロピノサイトーシスを阻害することにより、非特異的な取り込み機序を明らかにした。Vivotag-680 標識ベランタマブ　マホドチン又は GSK2857914 の HCEC 及び RPTEC への取り込みは、濃度及び時間依存性を示した。全体として、ベランタマブ　マホドチンの取り込みは、評価した濃度範囲において、HCEC に比べて RPTEC で高かった。

HCEC 及び RPTEC のリソソーム内において Vivotag-680 標識ベランタマブ　マホドチン及び LysoTracker green が共局在することが示された。

マクロピノサイトーシス阻害剤として一般的に使用されている EIPA で処理すると、ベランタマブ　マホドチンの HCEC への取り込みは約 23%有意に減少した。EIPA は RPTEC へのベランタマブ　マホドチンの取り込みには影響を及ぼさなかった。一方、EIPA はマクロピノサイトーシスの陽性対照である 10000 MW Alexa488 標識デキストランの HCEC 又は RPTEC への取り込みを有意に阻害しなかった。以上の結果から、ベランタマブ　マホドチンの HCEC への取り込みはマクロピノサイトーシスを介することが示唆されたが、デキストランの取り込みが有意に減少しなかったことから、使用した EIPA 濃度が低すぎた可能性が考えられた。しかし、HCEC 及び RPTEC に対する細胞毒性のため、高濃度の EIPA は検討できなかった（2.4.4.2.6.4）。

保存条件の異なる EIPA の 2 つのバッチを用いた探索的試験により、EIPA の凍結融解はその安定性に影響しないことが示されたため、EIPA を用いた in vitro 試験の結果は妥当であると考えられた（2.6.5-Table 8.3；2021N462413）。

蛍光標識ベランタマブ　マホドチン又は GSK2857914 のラットにおける生体内分布を評価するために、いくつかの組織を用いて、光学イメージング法による 2 つの試験を実施した（2.6.5-Table 5.1；2018N394006 及び 2.6.5-Table 8.12；2018N358667）。ベランタマブ　マホドチン又は GSK2857914 を 30 mg/kg で単回静脈内投与後の眼球、肝臓及び腎臓における蛍光強度は、ベランタマブ　マホドチンと GSK2857914 とで同程度であったことから、ベランタマブ　マホドチンの生体内分布は結合ペイロードによって影響されないことが示唆され

た。蛍光顕微鏡による観察では、ベランタマブ　マホドチンと GSK2857914 は眼球、眼瞼、涙腺及びハーダー腺の結合組織、肝臓並びに眼瞼の筋肉に分布していたが、角膜及び眼瞼腺では蛍光は観察されなかった。肝臓及び腎臓では、眼球に比べて蛍光シグナルが高値であった（2.4.4.2.6.4）。

Cys-mcMMAF の分布を、一連の in vitro 及び in vivo 試験で評価した。

NZW ウサギにベランタマブ　マホドチンを 30 mg/kg/週までの用量で最長 4 週間反復静脈内投与したとき、シルマー試験紙で採取した涙液中に ADC、総 mAb 及び cys-mcMMAF が検出された（2.6.7-Table 17.12；2018N385412）。DB ウサギに 30 mg/kg/週までの用量でベランタマブ　マホドチンを反復静脈内投与したとき、投与後 1、5 及び 25 時間のすべての涙液中でベランタマブ　マホドチン濃度が定量可能であった。Cys-mcMMAF は概ね投与後 144 時間まで定量可能であったが、これらの試料において cys-mcMMAF 濃度に一貫した傾向はみられなかった（2.6.7-Table 17.13；2021N465838）。

更に、本試験における涙液及び血漿中のベランタマブ　マホドチンと cys-mcMMAF のモル比から、各試料中のベランタマブ　マホドチンの割合が cys-mcMMAF に比べて一貫して高いことが示された。Cys-mcMMAF の相対モル比（ベランタマブ　マホドチンと比較した場合）は、血漿中よりも涙液中の方が高かった。

マウス、ラット、サル及びヒト血漿中の cys-mcMMAF（直鎖及び環状異性体）の in vitro 血漿蛋白結合率は低く、0.001～1 μM の範囲で濃度依存性は認められなかった。平均非結合率は、直鎖異性体についてはマウス、ラット、サル及びヒト血漿中でそれぞれ 68、33、88 及び 86%であり、環状異性体でも同程度であった（2.6.5-Table 6.2；2020N438179）。また、別の試験においては、cys-mcMMAF（直鎖異性体）のヒト血漿蛋白結合率は 0.5～50 ng/mL の濃度範囲で低かったが、濃度依存性が認められた（2.6.5-Table 6.1；2019N400355）。

ラットに 30 mg/kg の用量でベランタマブ　マホドチンを単回静脈内投与したときの cys-mcMMAF の濃度を、様々な質量分析法で測定した。MALDI-MSI 又は二次イオン質量分析では、cys-mcMMAF はいずれの組織でも検出されなかった。Nano-LCMS では、cys-mcMMAF は肝臓、骨髄、腎臓、ハーダー腺及び眼窩外涙腺において非常に低濃度で検出され、角膜、眼瞼及び眼球全体では検出されなかった（2.6.5-Table 5.1；2018N394006）。

mcMMAF が結合している ADC の標的発現細胞への取り込みは、マウス異種移植モデルで評価されている[Alley, 2009]。本検討では、抗体部分に 3H、MMAF 部分に 14C で二重放射性標識した ADC を用いて分布が評価されている。いずれの放射性同位体も速やかに腫瘍中に蓄積したが、抗体のピークは投与後 1 日であったのに対し、MMAF のピークは投与後 2 日であった。ADC に対する cys-mcMMAF の割合は、腫瘍中で経時的に増加した。ほとんどの正常組織では、抗体と MMAF のいずれも血清中濃度と連動して経時的に減少した。肝胆汁クリアランスに関与する臓器では投与後 4 時間にピークがあり、その後急速に減少した。ADC 及び cys-mcMMAF の腫瘍中曝露量は、正常組織に比べて数十倍から数百倍高かった。このデータから、アウリスタチンは腫瘍中に留まり、全身循環血中において ADC は安定であることが示唆される。

総じて、正常動物で得られたデータは、ベランタマブ　マホドチンが主に全身循環血中に留まり、非特異的に細胞内に取り込まれることと一致している。ベランタマブ　マホドチン

は腫瘍発現細胞に選択的に取り込まれる。また、ベランタマブ　マホドチンの生体内分布は、結合ペイロードの存在に影響されなかった。

2.4.3.4. 代謝

抗体は代謝されて小さなペプチドやアミノ酸に分解されると予測される[Han, 2014; Wan, 2016; Shadid, 2017]。したがって、代謝経路は一般的に理解されており、ベランタマブ　マホドチンの抗体部分について標準的な代謝試験は実施していない。

Cys-mcMMAF の放出様式を検討するために、ベランタマブ　マホドチンの化学的及び生物学的安定性に関する in vitro 及び in vivo 試験を実施した。

ベランタマブ　マホドチンをラット、サル又はヒト血漿中において 37℃で 96 時間までインキュベートしたとき、遊離 cys-mcMMAF として放出された MMAF は総 MMAF の約 3%未満であり、ベランタマブ　マホドチンは in vitro でほぼ安定であった（2.6.5-Table 10.1；2014N206529）。ベランタマブ　マホドチンとヒト血清をインキュベートしたとき、マレイミド交換が認められ、ベランタマブ　マホドチンから HSA へ mcMMAF が移行して HSA-mcMMAF が生成した（2.6.5-Table 10.2；2018N388212）。マレイミド交換は、他の mcMMAF 含有 ADC でも報告されている[Alley, 2008; Shen, 2012; Tumey, 2014]。

HCEC 及び RPTEC を用いた in vitro 試験で、ベランタマブ　マホドチンの異化により cys-mcMMAF が遊離することが、LC/MS/MS 法を用いた分析によって確認された（2.6.5-Table 8.1；2019N409936）。Cys-mcMMAF は、未処理の対照細胞及び GSK2857914 処理細胞では検出されなかったが、ベランタマブ　マホドチン処理 RPTEC 及び HCEC ではすべての測定試料において検出されたことから、これらの細胞はベランタマブ　マホドチンを異化し、cys-mcMMAF を遊離させる作用があることが示された。

[3H]-cys-mcMMAF（[3H]-SGD-1362）をラット、サル及びヒト肝 S9 とインキュベートしたとき、代謝は主に非酵素的であり、酸化的及び抱合代謝もわずかにみられた（2.6.5-Table 10.3；2018N393077）。Cys-mcMMAF（直鎖異性体、SGD-1362）は、主にその飽和マレイミド環上で加水分解を受け、次いで脱水して 3-オキソチオモルホリン（cys-mcMMAF の環状異性体、SGD-1462）が生成した。加水分解過程で様々な立体異性体が生成し、また、グリシン抱合、N-及び O-脱メチル化、並びに酸化などのいくつかの副次的代謝経路が同定されたが、これらの代謝物の総量は総放射能の 5%未満であった。Cys-mcMMAF の酵素的反応がないことは、ヒト組換え CYP（1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A4）及び FMO3 酵素を用いた別の試験でも確認した（2.6.5-Table 10.4；2020N438184）。酵素的代謝物において、ヒト特有の代謝物は認められなかった。また、酵素的及び非酵素的反応による、システインと mc の結合又は mc と MMAF の結合の切断は認められなかった（2.6.4.5.1.3 及び 2.6.4.5.1.4）。

ラットに[3H]-cys-mcMMAF（[3H]-SGD-1362）を 10 mg/kg の用量で単回静脈内投与したとき、尿中の主成分は直鎖異性体 SGD-1362 であり、その他の同定された代謝物はいずれも投与放射能の 1%未満であった。糞中の主成分は環状異性体 SGD-1462 であり、その他の同定された糞中代謝物はいずれも投与放射能の 5%未満であった（2.6.5-Table 13.1；2018N393078）。これらのデータは、前述のように、ADC が分解してペイロードを放出する

こと[Doronina, 2006; Adair, 2012]、遊離 cys-mcMMAF の代謝クリアランスがわずかであること及びシステインと MMAF 間のリンカーの切断がみられないことと合致している。

2.4.3.5. 排泄

IgG は主に細胞内異化反応により消失するため[Wang, 2008]、腎排泄及び胆汁排泄は IgG 抗体にとって比較的重要ではない。

ラットを用いたベランタマブ　マホドチンの 3 週間試験では、尿中の cys-mcMMAF は定量可能であり、尿中に回収された cys-mcMMAF の平均総量は、ベランタマブ　マホドチンの用量に比例して増加した（2.6.7-Table 7.1；2013N174857）。

ラットに[3H]-cys-mcMMAF を単回静脈内投与したとき、薬物関連物質の大部分（約 83%）は糞中に排泄された。尿中排泄（約 13%）はマイナーな経路であった。放射能は速やかに排泄され、投与後 48 時間で投与量の 94%が回収された（2.6.5-Table 13.1；2018N393078）。

Cys-mcMMAF は、in vitro で OATP1B1、OATP1B3、MRP1、MRP2 及び MRP3 の基質であり、BSEP の候補基質であった。これは、cys-mcMMAF が肝臓へ取り込まれ、胆汁排泄されることと一致している。

動物及びヒトのデータに基づき、cys-mcMMAF は主に胆汁を介してヒトの糞中に排泄され、尿中排泄はわずかであると考えられる。しかし、ベランタマブ　マホドチン投与後の cys-mcMMAF の排泄は、抗体の異化作用による放出によって制限されるため、長時間続く可能性が高い。

2.4.3.6. 薬物動態学的薬物相互作用

2.4.3.6.1. ベランタマブ　マホドチン及び cys-mcMMAF に対する併用薬剤の影響

蛋白質医薬品の全身曝露の変化が臨床的に重大な結果をもたらすことは稀である[Zhou, 2016; Schrieber, 2019]。そのため、併用薬がベランタマブ　マホドチンの薬物動態に臨床的に意義のある影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

Cys-mcMMAF は、in vitro で OATP1B1、OATP1B3、MRP1、MRP2 及び MRP3 の基質であり、BSEP の候補基質であった。Cys-mcMMAF が P-gp（MDR1 としても知られる）の基質となる可能性に関して矛盾するデータが得られたが、P-gp の基質であると判断した（2.6.5-Table 8.9、Table 8.10 及び Table 8.11；2013N177541、2018N393080 及び 2019N398699）。したがって、これらのトランスポーターの阻害薬との併用により、cys-mcMMAF の血中濃度が変化するリスクが考えられる。

In vitro では、CYP による cys-mcMMAF の酸化的代謝はわずかであり、cys-mcMMAF は MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、BCRP、MRP4 及び MRP5 の基質ではなかった（2.6.5-Table 8.9、Table 8.10、Table 8.11 及び Table 10.3；2013N177541、2018N393080、2019N398699 及び 2018N393077）。したがって、併用薬による CYP 又はこれらのトランスポーターの阻害が cys-mcMMAF の PK に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

2.4.3.6.2. ベランタマブ マホドチン及び cys-mcMMAF の併用薬に対する影響

一般的に蛋白質医薬品が DDI を引き起こすリスクは低い。しかし、理論上、ベランタマブ マホドチンがサイトカインを介して CYP 発現を調節し、間接的に DDI を引き起こす可能性は考えられる。病態時においてサイトカインが増加すると CYP（例えば CYP3A4）の発現に影響し、基質となる薬物の曝露量を増加させる可能性があるが、その程度は一般的に小さく（2 倍未満）、ワルファリン、シクロスポリンなどの治療域が狭い薬物についてのみ臨床的に意義があると考えられる[Coutant, 2023]。

In vitro で cys-mcMMAF は CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 の直接的、時間依存的及び代謝依存的阻害剤ではなく、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4/5 の誘導を示さなかった。更に、cys-mcMMAF は in vitro で MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、BCRP、BSEP、P-gp、MRP1、MRP2、MRP3、MRP4 及び MRP5 の阻害剤ではなかった（2.6.5-Table 12.1、Table 12.2 及び Table 8.10；2013N177537、2013N177532 及び 2018N393080）。これらのデータから、cys-mcMMAF がこれらの機序を介して併用薬の PK に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

2.4.4. 毒性試験

2.4.4.1. 毒性試験プログラム

ベランタマブ マホドチンの予定臨床投与経路が静脈内投与であることを踏まえ、静脈内投与による一連の毒性試験を実施した。ベランタマブ マホドチンの Wistar Han ラット及びカニクイザルを用いた静脈内投与による単回投与毒性試験（それぞれ最大 100 及び 30 mg/kg）及び最長 13 週間の反復投与毒性試験（それぞれ最大 30 及び 10 mg/kg）を実施した。これらの試験では、最長 12 週間の休薬期間を設け回復性を評価した。また、免疫原性についても評価した。更に、ベランタマブ マホドチンの特性を明らかにするために、ベランタマブ マホドチンの抗体部分である GSK2857914 のカニクイザルを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験並びに線形異性体である cys-mcMMAF（SGD-1362）の SD ラット及びカニクイザルを用いた 5 日間反復投与毒性試験を実施した。ベランタマブ マホドチンのヒト組織結合能を評価するための ex vivo 組織交差反応性試験、ヒト末梢血単核細胞（PBMC）を用いた in vitro のサイトカイン放出試験、眼毒性の発現機序を検討するための探索的 in vitro 及び in vivo 試験、並びにベランタマブ マホドチン（in vitro 小核試験）及び cys-mcMMAF の遺伝毒性試験を実施した。

ベランタマブ マホドチンの局所刺激性並びに適応免疫応答（免疫フェノタイピング）及び雌雄受胎能（組織学的評価のみ）に対する影響については、Wistar Han ラット及びカニクイザルの単回及び反復投与毒性試験成績を基に評価した。ベランタマブ マホドチンの免疫毒性については、非臨床及び臨床データ並びに予想される薬理作用に基づき評価した。

ベランタマブ マホドチン、cys-mcMMAF 及び GSK2857914 の心血管系及び／又は呼吸系に対する影響については、サルの反復投与毒性試験で評価した。詳細については 2.6.2.4 に示す。

ベランタマブ　マホドチンの開発をサポートするために実施した主要毒性試験の一覧を表 2.4.4.1 に示す。ベランタマブ　マホドチンの反復投与時にみられた主要な毒性所見の影響量／無影響量の要約を表 2.6.6.11 に示す。ベランタマブ　マホドチンの静脈内投与時における全身曝露量の比較を表 2.4.5.2（ベランタマブ　マホドチン ADC 及び総 mAb）及び表 2.4.5.3（cys-mcMMAF）に示す。

ベランタマブ　マホドチンの無毒性量は、サルの 3 及び 13 週間反復静脈内投与毒性試験（GLP）では 1 mg/kg/週並びにラット 3 週間反復静脈内投与毒性試験（GLP）では 3 mg/kg/週と推定された。ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験（GLP）では、全投薬群の肺に悪影響と考えられる組織学的変化が認められたため、3 mg/kg 未満と判断した。臨床推奨用量である 2.5 mg/kg をヒトに投与したときの曝露量と、13 週間反復静脈内投与毒性試験における主要毒性所見／最小影響量を表 2.4.5.1 に示す。

ベランタマブ　マホドチンは、その作用機序から遺伝毒性を示すことが予想されるため標準的な一連の遺伝毒性試験を実施しなかったが、染色体構造異常／異数性の誘発能の有無を評価するためにヒトリンパ球を用いた in vitro 小核試験を実施した。また、cys-mcMMAF の変異原性及び染色体構造異常／異数性の誘発能を評価するために、標準的な細菌を用いる復帰突然変異試験、哺乳類細胞を用いるマウスリンフォーマ TK 試験、及びラットを用いた静脈内投与による小核試験を実施した。ベランタマブ　マホドチンのがん原性試験は実施しなかった。硫酸ビンブラスチン（ビンカアルカロイド）とブレンツキシマブ　ベドチン［CD30 抗体とモノメチルアウリスタチン E（MMAE）の複合体］の公表データを用いて科学的根拠の重要度に基づく評価を実施した。

原薬及び製剤中に遺伝毒性不純物が存在する可能性についてベランタマブ　マホドチンの合成経路をもとに評価した。

ベランタマブ　マホドチンは進行がん患者の治療を目的とした抗悪性腫瘍薬であり、分裂の速い細胞、特に骨髄細胞を標的とし、胚・胎児発生への影響や催奇形性が予想されることから、ICH S9 ガイドラインに従い、ベランタマブ　マホドチンの生殖発生毒性試験は実施しなかった。ラット及びサルの単回及び反復投与毒性試験の結果から、雄雌生殖能（組織学的評価のみ）に対するベランタマブ　マホドチンの影響を検討した。

ベランタマブ　マホドチンは抗体医薬品であるため、光毒性試験は実施しなかった。リンカー複合体である SGD-1269（mcMMAF）の UV／可視光領域の吸収スペクトルを測定した［3.2.S.1.3（原薬）］。その結果、290～700 nm の波長において吸収がみられたが、モル吸光係数は 1000 L mol-1 cm-1 未満であった。このことから、患者における光安全性に関する懸念はなく、光安全性試験は必要ないと考えられた[ICH S10, 2013]。

ベランタマブ　マホドチンの TK プロファイルは、すべての反復投与毒性試験（GLP）において対照群の動物から採取した試料も含めて評価した（2.4.3.2.2）。ベランタマブ　マホドチン投与後の動物及びヒトの、血漿中及び尿中の ADC［ベランタマブ　マホドチン（ADC）］、総モノクローナル抗体［ベランタマブ　マホドチン（総 mAb）］（mcMMAF 結合及び非結合型の GSK2857914）及び遊離型の低分子ペイロード（cys-mcMMAF）を定量

した。更に、ベランタマブ　マホドチンの非臨床開発プログラムをサポートするため、非結合型親抗体である GSK2857914 の PK も評価した。

毒性試験の投与経路は静脈内とし、約 1 分間のボーラス投与又は 10 分間の点滴静脈内投与を行った。なお、臨床試験では約 30～60 分の点滴静注を行った。非臨床試験における投与間隔は 1 又は 3 週間間隔、臨床試験では 3 週間間隔であった。

ラット及びサルに 3 mg/kg のベランタマブ　マホドチンを投与したときのベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）及び cys-mcMMAF の Cmax は、ヒトに 2.5 mg/kg を投与したときの値と同程度であった。更に、投与間隔がヒトと同じ 3 週間のラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、3 mg/kg 投与時のベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）の AUC0-τ は、ヒトに 2.5 mg/kg を投与したときの値と同程度であった。この 3 mg/kg 群の cys-mcMMAF 濃度は極めて低く、AUC を算出することができなかった。投与間隔が 1 週間のラット 3 週間反復静脈内投与毒性試験並びにサル 3 及び 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、ヒトでの投与間隔が 3 週間であることを考慮すると、動物で同程度の AUC0-τ を得ることは困難であると考えられる。しかし、3 週間の投与間隔における AUC0-τ を推定（3 倍）したところ、動物に 3 mg/kg を 3 週間間隔で投与したときのベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）及び cys-mcMMAF の推定 AUC は、ヒトに 2.5 mg/kg を 3 週間間隔で投与したときの AUC と概ね同程度であった。

開発当初の製剤は凍結液剤であり、遮光下-15～-50°C で保存するため、試験実施施設に凍結保存設備が必要であった。そこで、凍結保存の必要性をなくすため、遮光下 2～8°C で保存する凍結乾燥製剤を開発した。両製剤には同じ原薬及びバルク製剤を使用する。非臨床試験では、凍結液剤及び凍結乾燥製剤（クエン酸緩衝液、EDTA、トレハロース、ポリソルベート 80 で調製）の 2 種類の製剤を使用した。毒性試験で使用した被験物質の詳細を表 2.4.4.1 に示す。非臨床試験用ロット、臨床試験用ロット並びに市販予定用の原薬及び製剤間で生物物理学的、生化学的及び機能的完全性の同等性が示された［3.2.S.2.6.2（原薬）及び 3.2.P.2.3（製剤）］。ベランタマブ　マホドチンの製剤に使用される医薬品添加物は、日本薬局方（JP）に準拠している。

ベランタマブ　マホドチンの毒性試験の詳細は、2.6.6.2～2.6.6.8 及び 2.6.7 に示し、すべての毒性試験の報告書は 4.2.3 に添付した。

表 2.4.4.1 ベランタマブ マホドチンの主要毒性試験一覧

Study Type and Duration	Test Material	Species	Route	Dose mg/kg or concentration (dosing regimen)	Batch Numbers
Repeat dose toxicity					
3 weeks	Belantamab mafodotin	Rat	IV (infusion)	3, 10, 30 (weekly)	[redacted]
	Belantamab mafodotin	Monkey	IV (bolus)	1, 3, 10 (weekly)	[redacted]
13 weeks	Belantamab mafodotin	Rat	IV (Infusion)	3, 10, 30 (every 3 weeks)	[redacted]
	Belantamab mafodotin	Monkey	IV (bolus)	1, 3, 10 (weekly)	[redacted]
Other toxicity					
Human Tissue Binding (Immunohistochemistry)	Belantamab mafodotin	Human tissues	Ex vivo	2.5, 5, 10 µg/mL	[redacted]

Key:
a = Preformulated solution in 25 mM aqueous Citrate Buffer containing 0.05mM EDTA, 200mM Trehalose and 0.02% (w/w) Polysorbate 80, pH 6.
b = Reconstituted with 23 mM Sodium Citrate, 2 mM Citric Acid, 200 mM Trehalose dihydrate, 0.05 mM Edetate disodiumdihydrate, 0.02% (w/w) Polysorbate 80, pH 6.2
c = Biotinylated Lot [redacted] Solution in 25 mM aqueous Citrate Buffer containing 0.05mM EDTA, 200 mM Trehalose and 0.02% (w/w) Polysorbate 80, pH 6.
IV = Intravenous

2.4.4.2. 毒性試験

2.4.4.2.1. 単回投与毒性試験

各群雌雄各 4 匹のラット及び各群雌雄各 1 匹のサルにそれぞれ最大 100 及び 30 mg/kg のベランタマブ マホドチンを投与し、単回静脈内投与毒性試験を実施した。また、動物を追加し、14 日間の休薬期間を設け、所見の回復性を検討した。

ラットの 100 mg/kg 群では、休薬群の雄 2 例で一般状態の悪化が認められたため、試験 9 及び 10 日に安楽死させた。同群では更に数例で後肢の腫脹が観察されたため、残りの雄全例を試験 11 日に安楽死させた。

サルの 30 mg/kg 群では、尿蛋白及び尿中逸脱酵素の増加を伴う明らかな糸球体腎炎及び尿細管変性／再生性変化が認められた。また、プロトロンビン時間（PT）及び活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長並びに赤血球量及び血小板数の低値が認められ、病理組織学的検査では複数の器官で出血もみられた。本用量は最大耐量を超えると判断された。

単回静脈内投与毒性試験（2.6.7-Table 5.1 及び 5.2；2012N134122 及び 2012N133495）で認められた悪影響は、反復静脈内投与試験で観察された変化と概ね同様であった（2.6.6.2）。

2.4.4.2.2. 反復投与毒性試験

ベランタマブ マホドチンのラット及びサル 3 及び 13 週間反復静脈内投与毒性試験を実施した（2.6.7-Table 7.1～7.4；2013N174857、2018N374327、2013N158643 及び

2018N375127）。3 週間の試験期間はヒトにおける 1 回の投与サイクルに相当する。また、投与間隔は 2 種類とし、ラット及びサル 3 週間反復静脈内投与毒性試験（いずれも計 3 回）並びにサル 13 週間反復静脈内投与毒性試験（計 13 回）では週 1 回、ラット 13 週反復静脈内投与毒性試験（計 4 回）では 3 週間間隔でベランタマブ　マホドチンを投与した。各試験では 12 週間の休薬期間を設け、回復性を評価した。ラット及びサルの投与量（それぞれ 3、10 及び 30 mg/kg 並びに 1、3 及び 10 mg/kg）は、ヒト単剤療法の用量 2.5 mg/kg における推定臨床曝露量、単回投与毒性試験で推定された最大耐量を基に、また、サルでは無毒性量を推定するための用量（臨床用量以下の 1 mg/kg）を考慮して設定した。

また、ウサギに 15 mg/kg 又は 30 mg/kg のベランタマブ　マホドチンを週 1 回、2 又は 4 週間反復静脈内投与し、眼毒性を評価した。詳細は 2.4.4.2.6.4 で考察した。

更に、GSK2857914 のサルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験（2.6.7-Table 7.7；2012N150466）及び 13 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験（2.6.7-Table 7.8；2023N536587）並びに cys-mcMMAF のラット及びサル 5 日間反復静脈内投与毒性試験（2.6.7-Table 7.5 及び 7.6；2013N177527 及び 2013N177530）を実施した。

一般状態の悪化／死亡（2.6.6.3 及び 2.6.6.9.2.2；表 2.6.6.11）：

ベランタマブ　マホドチンのサル 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、一般状態悪化のため、10 mg/kg/週群の雄 1 例を試験 33 日（5 回投与後 4 日）に安楽死させた。また、同群の残りの動物も早期に投与を中止した。早期安楽死例（試験 33 日）でみられた膜増殖性糸球体腎炎、血管フィブリノイド壊死及び組織における顆粒沈着は、免疫複合体症の発現を示唆するものであり、この早期安楽死例の一般状態悪化の主な原因は、ADA 発現に関連した免疫複合体形成の関与が考えられる[Frazier, 2015]。3 及び 10 mg/kg/週群の全例及び 1 mg/kg/週群の数例において、ADA、補体活性化及び血中免疫複合体が検出された。早期安楽死例を考慮し同群の残りの動物も 5 回投与後に投与を中止し、一般状態悪化及び赤血球量／形態学的変化を含む変化の程度に基づき、試験 7 週に安楽死させた。10 mg/kg 群でも、程度は低いものの、同様の腎臓の変化が認められた。なお、動物試験の結果を基に、ヒトの免疫原性及び関連事象を予測することは困難とされている[Kronenberg, 2017]ことから、前述の早期安楽死に至る一般状態の悪化がベランタマブ　マホドチンの臨床使用に関連する可能性は低い。

体重／摂餌量への影響（2.6.6.3 及び 2.6.6.9.2.1；表 2.6.6.11）：

ベランタマブ　マホドチンのサル 3 週間反復静脈内投与毒性試験では、1 mg/kg/週以上の群で体重減少（最大 0.9 倍）がみられ、1 mg/kg/週群では一過性、3 mg/kg/週以上の群では持続的に認められた。10 mg/kg/週群では投与期間を通して摂餌量減少が散見され、3 mg/kg/週以上の群で雌の柑橘類に対する食欲減退がみられた。サルの 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、10 mg/kg/週群で 5 週目に食欲減退がみられ、一般状態の変化として削痩／背骨の顕在化が観察されたが、投薬に関連した体重変化は認められなかった。ラットでは、10 及び／又は 30 mg/kg 群で、投与後毎回又は時折、摂餌量及び／又は体重増加量の低値が認められた。

肝臓及び骨格筋への影響（2.6.6.3 及び 2.6.6.9.2.3；表 2.6.6.11）：

毒性試験において肝重量の高値並びに肝胆道系酵素及びトランスアミナーゼの高値が認められた。長期投与後、これらの所見に関連して、毒性用量と考えられる 3 mg/kg/週以上の群で軽微な多巣性の肝細胞壊死巣が観察された。また、ALT 上昇の程度と比べて優位な AST の上昇がみられ（ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験を除く）、骨格トロポニン I 高値がサルの単回投与毒性試験で、骨格トロポニン I 並びに／又はクレアチンホスホキナーゼ及びアルドラーゼ高値がラットの 3 週間反復静脈内投与毒性試験で認められたことから、骨格筋損傷が示唆された。サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験において、鼠径部の骨格筋又は脂肪組織に被包性血腫が認められたが、これらは大腿静脈からの採血に関連している可能性があると考えられた。しかし、高用量群の発現頻度を考慮すると、ベランタマブ　マホドチンの投与に関連した局所炎症反応の増悪による可能性を否定することはできない。

臨床試験（2.7.4.2）では、非臨床試験と同様に肝酵素の上昇がみられたが、肝機能に対する影響は認められなかった。

肺への影響（ラット）（2.6.6.3 及び 2.6.6.9.2.3；表 2.6.6.11）：

ラットの単回及び反復投与毒性試験において、全投薬群で肺に悪影響が認められた。肺胞腔内の好酸性物質凝集を伴う肺胞マクロファージの発現頻度及び程度の増加が用量依存的に認められた。また、3 mg/kg/回以上の投与では、血管周囲炎症性細胞浸潤もみられた。10 mg/kg/回群の雌 1 例で、II 型肺胞上皮細胞の肥大／過形成を伴う終末気道周囲の好中球性肺胞炎症が認められた。12 週間の休薬期間終了後、肺胞腔内好酸性物質の発現頻度は低下又は消失したが、肺胞マクロファージ増加及び炎症細胞浸潤の発現頻度及び程度は同程度であり、10 mg/kg/回以上の群では、肺胞中隔の肥厚及び II 型肺胞上皮細胞肥大／過形成を伴う軽微な肺胞炎症の発現頻度高値がみられた。好酸性物質及びマクロファージの所見は、サーファクタント分泌（主に II 型肺胞上皮細胞による）、サーファクタント物質の代謝回転又はその両方の変動に起因する可能性がある。サーファクタント分泌の変化は、微小管阻害薬により誘発されることが報告されている[Brown, 1985]。ベランタマブ　マホドチンを投与された被験者において死亡に至った有害事象として肺炎が報告されているが、治験薬との潜在的な因果関係は明らかでない（2.7.4.2）。

腎臓への影響（2.6.6.3 及び 2.6.6.9.2.3；表 2.6.6.11）：

ベランタマブ　マホドチンのすべての毒性試験で腎所見が認められた。病理組織学的な糸球体症及び／又は尿細管変性／再生性変化が、ラットでは 30 mg/kg 以上、サルでは 10 mg/kg/週以上の投与により認められた。更に、サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、10 mg/kg/週群で腎臓（腎盂）尿路上皮の軽微な壊死がみられ、3 mg/kg/週以上の群では腎臓及び／又は膀胱尿路上皮の単細胞壊死が認められた。これらの変化に関連して、尿中アルブミン及び総蛋白排泄量の高値並びに酵素排泄量の高値がみられた。上記の 13 週間反復静脈内投与毒性試験で観察された病理組織学的変化（回復性が期待できない免疫複合体形成に伴う糸球体腎炎を除く）及び尿検査パラメータの変化はすべて 12 週間の休薬期間終了後

に回復した。ベランタマブ　マホドチンに直接関連する腎所見は用量依存性を示し、投与中止により回復性を示したが、これらの所見と臨床試験で発現した有害事象との関連性は不明である。ベランタマブ　マホドチンを投与された患者では、腎関連有害事象の発現率は低く、多くの場合、疾患の進行と一致している（2.7.4.2）。多発性骨髄腫では病態の進行に伴って腎障害が発生する可能性があることが知られている。

骨髄への影響（ラット）（2.6.6.3 及び 2.6.6.9.2.3；表 2.6.6.11）：

ラット単回及び反復静脈内投与毒性試験のすべてにおいて、10 mg/kg/週以上の群で造血系に対する毒性と適応性変化がみられ、骨髄細胞密度低下が認められた。これらの変化は、胸骨と大腿骨／大腿脛骨関節における二次的な骨リモデリングを伴う骨髄の単細胞壊死と、肝重量高値を伴う肝臓における軽度の髄外造血及びビリルビン低値を特徴としていた。投与期間終了時、骨髄抑制を示唆する赤血球系パラメータ減少及び白血球数低値が認められた。早期の網状赤血球分画の絶対数に変化がみられたが、総網状赤血球数には影響は認められなかった。赤血球分布幅高値及び血小板数高値もみられた。休薬期間終了後、赤血球系パラメータの変化はすべて回復し、赤血球系の骨髄抑制からの回復を示す網状赤血球のリバウンドが認められた。回復性の変化として白血球数の高値も認められた。ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験でも投与期間終了時に同様の血液学的変化が主に 30 mg/kg/回群で、10 mg/kg/回群では一部のパラメータにみられたが、その程度はより軽度であり、網状赤血球増加と関連する M：E 比の変動を伴っていた。これらの変化は、ラット 3 週間反復静脈内投与毒性試験でみられた骨髄の組織学的変化及び肝臓の髄外造血を伴っていなかった。このことから、高用量のベランタマブ　マホドチンによる影響に対し骨髄は適応反応を示すことが示された。ラットで観察された骨髄毒性は、他のアウリスタチン ADC で観察された変化と同様であった［Nilsson, 2010］。

臨床試験では、ベランタマブ　マホドチンを投与した被験者のほぼ半数で血小板減少事象（血小板減少症及び血小板数減少）が報告されている。これらの有害事象の多くは重篤なものではなかった。血小板減少症は投与量の減量と輸血（血小板輸血等）で管理され、重篤な出血事象を伴った被験者の割合は低かった。そのほか、臨床試験では重篤及び非重篤な感染症も報告されている（2.5.5）。

炎症（2.6.6.3 及び 2.6.6.9.2.3、表 2.6.6.11）：

3 mg/kg/週以上を投与したサルでは、食細胞の活性化と一致する病理組織学的変化が多数の組織／器官に認められた。これらの変化に関連して 3 mg/kg/週以上の群で CRP 高値、アルブミン低値及び白血球数高値が認められた。全身性炎症反応に関連して、赤血球量パラメータ及び血小板数の低値等の血液学的変化がみられ、再生性反応も認められた。更に、10 mg/kg/週群で赤血球膜の損傷を示唆する血液塗抹標本の形態学的変化がみられ、赤血球量パラメータの低値と関連していた。cys-mcMMAF を 0.5 mg/kg/日以上の用量でラット及びサルに反復投与したときにも、亜急性炎症の増加が認められた。類似の病理組織学的及び臨床病理学的変化（血液塗抹標本の変化を除く）は、抗体の用量として同等以上の GSK2857914 をサルに最大 13 週間投与したときにも認められている（程度はより軽度）。これらの所見

には用量依存性がみられ、免疫複合体存在下の炎症反応及び／又は細胞傷害性薬物の投与による二次的な影響を反映していると考えられた。なお、臨床試験では、ベランタマブ　マホドチンの 3.4 mg/kg までの投与において、全身性炎症反応に関連する明らかな有害事象は認められていない（2.5.5）。

リンパ系器官への影響（2.6.6.3 及び 2.6.6.9.2.3；表 2.6.6.11）：

サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、3 mg/kg/週以上の群で脾臓及び種々のリンパ節においてリンパ系細胞密度低下／リンパ球壊死（程度は用量依存性あり）が認められた。リンパ球壊死は、10 mg/kg/回以上を単回及び反復投与したラットの脾臓でも認められ、髄外造血の発現頻度及び程度の低下もみられた。更に、胸腺の細胞密度低下がみられ、本所見に関連して胸腺重量低値及び／又は小型化を伴う軽微～重度のリンパ球溶解／リンパ系細胞密度低下が多くの動物で認められた。

眼、生殖器（下垂体に対する二次的影響を含む）及び投与部位でみられた悪影響については、2.6.6.9 並びに 2.4.4.2.6.4、2.4.4.2.4 及び 2.4.4.2.5 で詳細に考察する。

2.4.4.2.3. 遺伝毒性試験及びがん原性試験

ベランタマブ　マホドチンは、その作用機序から遺伝毒性を示すことが予想されるため GLP 適用下での一連の遺伝毒性試験を実施しなかった。ベランタマブ　マホドチンは、ヒトリンパ球を用いた in vitro 小核試験（GLP 非適用）において遺伝毒性を示した（2.6.7-Table 8.3、2019N416146）。また、cys-mcMMAF は、細菌を用いる復帰突然変異試験で変異原性を示さず、マウスリンフォーマ TK 試験で遺伝毒性を示さなかった（2.6.7-Table 8.1 及び 8.2；2019N406489 及び 2019N406496）。この結果は、モノメチルアウリスタチン E（MMAE）及びビンカアルカロイド（ビンブラスチン等）が細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ TK 試験で陰性を示したことと一致している[IARC, 1981; Adcetris, 2011; Lee, 2003]。Cys-mcMMAF は、ラットを用いる骨髄小核試験で遺伝毒性を示さなかったが、これは MMAF の細胞透過性が低いことを反映したものと考えられる（C 末端フェニルアラニンが帯電しているため）。細胞透過性が高い MMAE は異数性（動原体染色の結果：セントロメア陽性小核の出現頻度は 60～76%）を誘発する。この結果は、陽性対照として同時に用いられた異数性誘発性物質である carbendazim の結果（セントロメア陽性小核 68%）と一致していた。微小管阻害薬のような異数性を誘発する化合物については、多くの場合、in vivo 骨髄小核試験において異数性は限られた用量範囲でのみ検出可能とされており、その用量は毒性用量に近似している[Tweats, 2019]。ベランタマブ　マホドチンは、特に BCMA 受容体を介して、あるいはマクロピノサイトーシス等の機序により非特異的に細胞に取り込まれる可能性が高く、ベランタマブ　マホドチンの体内動態プロファイルは cys-mcMMAF とは異なる（2.6.5-Table 8.1、2019N409936）。この体内動態の違いを反映し、ベランタマブ　マホドチンと比べて cys-mcMMAF でみられた毒性は軽度であった（2.4.4.2.6.4）。

ベランタマブ　マホドチンの主たる作用機序は、特に骨髄内の急速に分裂する細胞を標的とした cys-mcMMAF を介した微小管の阻害であることから、哺乳類系に対しては異数性（遺伝毒性）を誘発する可能性がある。

異数性は発がんの様々な段階でみられるが、異数性誘発物質により誘発される異数性と腫瘍クローンで観察される異数性との関係は明らかにされていない。発がんに関連するその他の特性、例えば、変異原性や染色体異常誘発性等の特性を持たないチューブリン阻害剤では、げっ歯類においてがん原性を示さなかったことから、異数性は発がん性の主たる原因ではないと考えられている[Tweats, 2019]。同様に、ヒトにおいても、チューブリンのビンカアルカロイド結合部位とも結合するコルヒチン等、チューブリン阻害作用を有する異数性誘発物質と発がんリスク上昇との関連性は報告されていない[Kuo, 2015; Tweats, 2019]。

BCMA は、B 細胞系、特に胚中心の濾胞間領域、形質芽細胞や分化した形質細胞にのみ発現し[Tai, 2015]、また、形質細胞の長期生存に必須の役割を果たす[O'Connor, 2004]。その機能と一致して、BCMA の発現は、原発性腫瘍細胞及び MM 細胞株を含む多くの成熟 B 細胞腫瘍で報告されている[Coquery, 2012]。BCMA は成熟 B 細胞の生存に重要な役割を果たすため、ベランタマブ　マホドチンによる治療後に発現するような BCMA の枯渇は、多発性骨髄腫のようながんにおいて重要な治療法となる可能性がある。

ベランタマブ　マホドチンは再発又は難治性の多発性骨髄腫患者の治療を目的としており、進行がん患者に対する治療を目的とする医薬品についてはがん原性試験の実施は必須ではないとされている[ICH, 1995; ICH, 2009]ことから、ベランタマブ　マホドチン及び cys-mcMMAF のがん原性を評価するための試験は実施しなかった（2.6.6.5）。13 週間反復静脈内投与毒性試験（12 週間の休薬期間を含む）では、ラット及びサルのいずれにおいても増殖性変化及び前腫瘍病変は認められなかった（2.6.7-Table 7.2 及び 7.4；2018N374327 及び 2018N375127）。チューブリン阻害以外の発がんに至る特性を持たず、異数性を誘発するチューブリン阻害剤では、異数性と発がんリスクに関連性は認められていない。このことから、ベランタマブ　マホドチン投与による二次性悪性腫瘍の発症リスクは低いと考えられる。ベランタマブ　マホドチンの臨床試験では、観察期間が限られているものの、投薬に関連した腫瘍発生の増加は認められていない（2.5.5）。

2.4.4.2.4. 生殖発生毒性試験

ベランタマブ　マホドチンは進行がん患者の治療を目的とした抗悪性腫瘍薬であり、分裂の速い細胞、特に骨髄細胞を標的としている。そのため、胚・胎児発生への影響や催奇形性が予想されることから、ベランタマブ　マホドチンを用いた生殖発生毒性試験は実施しなかった[ICH, 2009]。多発性骨髄腫は高齢者で多く認められる疾患であることが、公表文献並びに米国（SEER；Surveillance Epidemiology and End Results）、英国及びドイツで集積されたがん患者に関するデータで示されており、診断年齢の中央値は約 70 歳であり[Blimark, 2018; Noone, 2018]、女性よりも男性の有病率がやや高い[Ferlay, 2018]。また、欧州で新たに多発性骨髄腫と診断された患者の 56%は 70 歳以上、患者の 96%は 50 歳以上[Ferlay, 2018]、多発性骨髄腫と診断された患者の約 2%は 40 歳未満[Blade, 1996]であり、30 歳未満の患者は極めて稀である[Blade, 1996]。

チューブリンに結合する cys-mcMMAF のような化学物質は、微小管の脱重合を引き起こし、紡錘体の形成を阻害し、染色体の配列と分離を変化させることで雌の生殖細胞に異数性が生じる結果、最終的に次世代の細胞に異数性が発生することが知られている[Marchetti, 2016]。したがって、ベランタマブ　マホドチンの投与により、生殖細胞に対する影響を介した遺伝性変化が発現する可能性が考えられる。科学的証拠の重要度に基づく評価の結果に基づき、ベランタマブ　マホドチンは遺伝毒性を有すると考えられる。

ベランタマブ　マホドチンはラットの BCMA には結合しないが、MMAF を介した細胞毒性により胚・胎児発生毒性に悪影響を示すことが予想される。非特異的な細胞傷害性による変化はラットの試験で認められており、持続的に成長する切歯においてエナメル芽細胞層及び象牙芽細胞層の変性等、分裂細胞に対する微小管阻害による影響がみられた（2.6.7-Table 7.1 及び 7.2；2013N174857 及び 2018N374327）。また、妊娠末期におけるヒト胎盤を構成する細胞［（ヒト絨毛組織から絨毛及び B 細胞を除いて得た）間葉細胞並びに胎盤絨毛の細胞性栄養膜細胞等］では、BAFF 及び APRIL 並びにそれらの受容体（BCMA 含む）の発現が報告されており[Langat, 2008]、妊娠中に BCMA 受容体を介してベランダマフ　マホドチンが特異的に取り込まれるリスクがある。MMAF は MMAE よりも強力な微小管阻害薬であり、GSK2857914 に MMAE を結合させた ADC の in vivo 活性は、概して MMAF を結合させたときと比較して弱かった（2.6.2.2.1.2；2011N125948）。抗 CD30 抗体に MMAE を結合させた ADC であるブレンツキシマブ　ベドチンでは、ラットにおいて胎盤通過性がみられ、早期胚吸収、着床後胚死亡、胎児生存率の低下及び外表異常（臍ヘルニア及び後肢の回転異常）を含む胚・胎児毒性を引き起こす[Adcetris, 2011]。ブレンツキシマブ　ベドチンはラットの CD30 に結合しないため、ラットは交差反応性を示す動物種ではない。ベランタマブ　マホドチンを妊娠ラットに投与した場合、同様の影響が認められることが予想される。

ベランタマブ　マホドチンの妊婦への使用実績はない。ベランタマブ　マホドチンは、母体への治療上の有益性が胎児への危険性を上回ると判断される場合にのみ、使用されるべきである（1.8.1）。

ラット及びサルの反復投与毒性試験結果から、ベランタマブ　マホドチン投与により雌雄の生殖機能及び受胎能に影響を及ぼす可能性が示唆された（2.6.7-Table 7.1、7.2 及び 7.4；2013N174857、2018N374327 及び 2018N375127）。ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験（3 週間間隔）では、10 mg/kg/回以上の群の雄全例の精巣で精細管に進行性の毒性変化（重度の変性／萎縮）が認められた。これらの変化は、投与 3 週でみられた精巣上体の無精子と関連しており、回復性は認められなかった（2.6.7-Table 7.1 及び 7.2；2013N174857 及び 2018N374327）。また、同試験の雄では、4 回投与後に下垂体分泌細胞の細胞質空胞化の増加がみられた。これは視床下部-下垂体-精巣軸の負のフィードバックに関連する精巣病理に伴う二次的な変化と考えられた（2.6.7-Table 7.2；2018N374327）。性的に未成熟なサルにおいて、10 mg/kg/週の週 1 回、計 5 回投与後に軽微～軽度の精細管変性がみられたが、12 週間の休薬期間終了後に完全に回復した（2.6.7-Table 7.4；2018N375127）。30 mg/kg/週群の雄ラットの乳腺でみられた上皮単細胞壊死は、10 mg/kg/回以上を 3 週間間隔で 4 回投与した雄では小葉萎縮に進行した（2.6.7-Table 7.1 及び 7.2；2013N174857 及び 2018N374327）。

10 mg/kg/週以上を週 1 回、計 3 回投与した雌ラットの卵巣では、限局性又は多巣性の黄体化未破裂卵胞も認められた（2.6.7-Table 7.1；2013N174857）。

幼若動物を用いたベランタマブ　マホドチンの毒性試験は実施していない。公表文献（症例報告はわずか）並びに米国（SEER）、英国及びドイツで集積されたがん患者に関するデータから、多発性骨髄腫は高齢者に多くみられる疾患であり、18 歳未満の患者における多発性骨髄腫の発現頻度は事実上皆無であることが示されている[Blade, 1996; Ferlay, 2018; de Queiroz Crusoe, 2015: Munoz, 2012]。

ベランタマブ　マホドチン又はその代謝物について、ヒト乳汁への移行に関するデータは得られていない。しかし、ベランタマブ　マホドチンはヒト化抗体（IgG1κ）であり、一般に IgG はヒト乳汁中へ移行することが知られているため、児へのリスクを排除することはできない（1.8.1）。

2.4.4.2.5. 局所刺激性試験

ベランタマブ　マホドチンの静脈内投与時の局所刺激性を評価するための独立した試験は実施しなかったが、ベランタマブ　マホドチン（凍結液剤及び凍結乾燥粉末剤のロット番号はそれぞれ [redacted] 及び [redacted]）のラット及びサルを用いた一般毒性試験における投与部位の一般状態観察及び病理組織学的検査の結果を基に評価した（2.6.7-Table 5.1 及び 5.2；2012N134122 及び 2012N133495、2.6.7-Table 7.1～7.4；2013174857、2013N158643、2018N374327 及び 2018N375127）。ラット 3 週間反復静脈内投与毒性試験並びにラット及びサルの単回静脈内投与毒性試験において、3 mg/kg 以上（投与濃度 0.3 mg/mL 以上）の用量で投与部位に局所刺激性がみられた。局所刺激性を示唆する変化として、AST、アルドラーゼ及びクレアチンキナーゼの変動を伴う限局性の表皮過形成、軽度の血管周囲出血及び／又は炎症／炎症細胞浸潤並びに散発的な骨格筋変性／壊死が認められた。投与部位の変化に対する感受性は、ラットの方がサルよりも高かった。しかし、ベランタマブ　マホドチンを最大 10 mg/kg（投与濃度 2.5 mg/mL まで）の用量でサルに週 1 回 13 週間静脈内投与、ラットには最大 30 mg/kg（投与濃度 3 mg/mL まで）を 3 週間間隔で 4 回静脈内投与したところ、投与部位に投薬に関連した変化は認められなかった。

臨床試験では、ベランタマブ　マホドチンを最高 2 mg/mL の濃度で 3 週間に 1 回、30 分又は 60 分間点滴静注した結果、点滴部位の局所反応は認められていない（2.5.5）。

2.4.4.2.6. その他の毒性試験

2.4.4.2.6.1. 免疫原性

ベランタマブ　マホドチンがヒトで免疫原性を示す可能性は低いと考えられる（2.5.3）。免疫原性評価の詳細は、「Integrated Summary of Immunogenicity」（5.3.5.3）に示した。

ベランタマブ　マホドチンのラット及びサルの 13 週間反復静脈内投与毒性試験、更に GSK2857914 のサルを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験並びに 13 週間反復静脈内及び皮下投与毒性試験において ADA の有無を評価した（2.4.3.2.1；2.6.7-Table 7.2、7.4、7.7 及び 7.8；2018N374327、2018N375127、2012N150466 及び 2023N536587）。これらの毒性試験では、サルにベランタマブ　マホドチン又は GSK2857914 を週 1 回投与し、ラットにはベラン

タマブ　マホドチンを 3 週間間隔で静脈内投与した。ADA の測定は、採取した血清試料を対象に酸解離工程を含む／含まない電気化学発光ブリッジング法を用いて実施した（2.4.3.1.5）。更に、ベランタマブ　マホドチンを投与したサルにおいて、循環性免疫複合体の有無について評価した（2.4.3.1.6）。

サルの 13 週間反復投与毒性試験において、低用量群である 1 mg/kg/週群の雄 1 例でベランタマブ　マホドチンに対する強力かつ特異的な抗体反応が認められた。本例では、時間経過とともに ADA の抗体価が上昇し（最大 12800）、循環性免疫複合体が検出され、その結果、曝露量が減少し、薬力学的（IgM）活性が低下した。また、この雄では、試験 11 及び 12 週投与時の一般状態観察で過度の流涎が認められ、MCP-1 並びに補体フラグメント Bb 及び C3a の高値（試験 13 週の投与 1 時間後）がみられた。サルに 10 mg/kg/週のベランタマブ　マホドチンを反復投与したところ、5 回投与後に雄 1 例で忍容性がみられなかったため、試験 5 週に安楽死させ、同群の残りの動物に対する投与も同時期に中止し試験 7 週に安楽死させた。試験 5 週に安楽死させた動物では、腎臓（尿細管変性／再生及び顕著な膜増殖性糸球体腎炎）並びに食道、腸管、腸間膜リンパ節及び胸腺（1 つ及び複数の血管の軽微～中等度のフィブリノイド壊死、出血及び／又は血栓形成）に病理組織学的変化が認められた。IHC 検査では、種々の器官の細胞質にサル IgG 及び／又は IgM 含有顆粒沈着が認められた。これらの所見から、免疫複合体形成の関与が示唆された。3 及び 10 mg/kg/週群の全例及び 1 mg/kg/週群では更に 6 匹中 3 例において、ADA、補体活性化及び循環性免疫複合体が検出されたが、曝露量や薬力学的活性には影響はみられなかった。10 mg/kg 群の試験 5 週に安楽死させた動物以外の動物でも、程度は低いものの、腎臓に同様の変化が認められた。更に、休薬期間中に ADA 及び循環性免疫複合体が陽性であった 10 mg/kg 群の 2 例において、薬物の消失の加速が観察された（2.6.7-Table 7.4；2018N375127）。

ラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験では雄 2 例で ADA 陽性が確認され、反復投与により免疫原性の増強がみられた。これらの動物では、血漿中濃度の急速な減少が認められた。また、この用量では別の雄 1 例でも休薬期間中に ADA 陽性が確認された。ベランタマブ　マホドチンの消失の加速がみられた動物を除き、ADA の存在による投与期間中の曝露量減少はみられず、ADA の発現例数が少なかったことから、3 及び 13 週間反復投与毒性試験では適切な毒性評価が行われたと考えられた。（2.6.7-Table 7.2；2018N374327）。

GSK2857914 のサル 4 週間反復静脈内投与毒性試験では抗 GSK2857914 抗体は検出されなかったが、本試験で用いた ADA 検出法の感度は薬物干渉により制限された。より最適化した ADA 検出法を用いたサル 13 週間静脈内及び皮下投与毒性試験では、試験 5 週にほとんどの動物で ADA が検出されたが、抗体価は試験 14 週までに低下した（2.6.6.3.4.1；2012N150466 及び 2023N536587）。

以上より、ベランタマブ　マホドチンは、ほとんどのサル及び数例のラットにおいて短期間の反復投与後に免疫原性を示したが、曝露量や薬力学的活性には概ね影響を及ぼさなかった。一方、サルでは、10 mg/kg/週の反復投与後に瀕死に至る免疫複合体症が認められ、病理組織学的及び免疫組織化学的検査結果に基づき、おそらく ADA に関連しているものと考えられた。一般的に、動物試験の結果から、ヒトにおける免疫原性及び免疫原性に関連した変化を予測することは適切ではないと考えられている[Kronenberg, 2017]。ベランタマブ　マホ

ドチンの臨床試験において ADA を測定したところ、ベランタマブ　マホドチンの投与後に ADA が認められた被験者は 2 例のみであった。このうち、投薬に関連すると判断された ADA 陽性例（すなわち、治験薬投与下で発現した ADA）は 1 例のみで、中和抗体も陽性であった。ベランタマブ　マホドチンはヒトにおいて免疫原性を示す可能性は低いことが示唆された。臨床試験の ADA 測定結果は 2.7.2.4.1 に示した。

2.4.4.2.6.2. サイトカインの変化

サイトカイン放出症候群は、モノクローナル抗体の臨床使用時における潜在的な有害事象である[Bugelski, 2009; Findlay, 2011; Stebbings, 2007; Walker, 2011]。サイトカイン放出症候群は、IFN-γ、TNF-α、IL-6、IL-10 等の複数のサイトカインの全身放出によるインフルエンザ様症状を特徴とする[Bugelski, 2009; Brennan, 2010]。サイトカイン放出の増加は、治療薬が免疫薬理活性を示した結果であり、目的とする細胞標的に特異的に結合することで誘発される。サイトカインは、脱フコシル化抗体が Fcγ RIIIa に結合した後、エフェクター細胞から放出される可能性もある[Abes, 2009]。

ヒト PBMC を NCI-H929 細胞と共培養して GSK2857914 を処理した結果、IFN-γ、TNF-α 及び IL-8 の誘導が濃度依存的にみられた。IFN-γ 及び TNF-α は主に NK 細胞で産生され、IL-8 は単球で産生された。サイトカイン放出は標的との結合及びエフェクター細胞活性化の両者に依存することから、MM 細胞表面上に高レベルで発現している BCMA 標的を有する患者では、サイトカイン放出のリスクがより高くなる。しかし、in vitro において GSK2857914 単独では認められなかったが、GSK2857914 を抗ヒト IgG と架橋結合させたところ、NF-κB の活性化を指標とする NCI-H929 細胞内の BCMA シグナル伝達が認められたことから、GSK2857914 は BCMA 陽性細胞に対してアゴニスト活性を示すことが示唆された（2.6.2.3.1.2；2013N175851）。

ベランタマブ　マホドチンの単回及び反復投与毒性試験において、サイトカイン（MCP-1、IL-1β、IL-6、TNF-α 及び／又は KC/GRO）の高値がみられたが、関連する体温変化及び一般状態への悪影響は認められなかった。サル 13 週間反復投与毒性試験では、ベランタマブ　マホドチンに関連した MCP-1 高値に伴い、補体フラグメント Bb 及び C3a の高値がみられた。GSK2857914 のサルへの単回及び反復投与後にも、IL-6、IL-8 及び／又は MCP-1 の高値が一部の動物で認められた。補体の活性化は免疫複合体症でみられる全身及び組織に対する影響に重要な役割を担っていることから、これらのサイトカインの変化は免疫複合体の存在下で進行する全身性炎症過程を反映している可能性がある[Vahle, 2018]。また、これらの変化は、cys-mcMMAF の非特異的な細胞傷害性による二次的な炎症に関与している可能性も考えられる。

GSK2857914 が標的及び FcγRIIIA の両方に結合したときに ADCC 活性が誘導されるリスクは、他の脱フコシル化抗体と同程度と考えられる[Abes, 2009]。また、ベランタマブ　マホドチン投与時には、cys-mcMMAF の非特異的細胞傷害性又は腫瘍細胞致死による二次的な炎症の結果として、サイトカイン放出を生じる可能性がある。抗体医薬品を含む生物学的製剤では、infusion related reaction（IRR）や過敏反応のリスクが存在する。ベランタマブ

マホドチンの臨床試験においても IRR が認められ、そのほとんどが Grade 1 又は 2 であった（2.7.4.2）。

2.4.4.2.6.3. 免疫毒性

ベランタマブ　マホドチンの免疫毒性について、薬理活性、毒性試験成績及び臨床試験成績を基に評価した。

ベランタマブ　マホドチンの反復投与毒性試験において、血液学的変化及び免疫に関連する病理組織学的変化が認められた（2.6.7-Table 7.1～7.4；2013N174857、2018N374327、2013N158643 及び 2018N375127）。サルでは CRP、MCP-1、総白血球数及び補体（Bb 及び C3a）の高値及びアルブミンの低値がみられ、複数の器官（肝臓、腎臓、脾臓、リンパ節、脳及び脈絡叢）において活性化マクロファージの増加が認められた。ベランタマブ　マホドチンを週 1 回、5 回以上投与したサルでは、1 例を除き全例で ADA が検出され、組織への免疫複合体沈着とともに個々の動物で免疫複合体が検出された。ラット及びサルで赤血球量パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）の低値がみられ、更にサルでは血液塗抹検査において赤血球膜損傷を示唆する赤血球の形態学的変化（破砕赤血球、球状赤血球及び／又は中央淡明）が認められた。これらの所見には用量依存性がみられ、12 週間の休薬により回復した。これらの病理組織学的所見及び臨床病理学的所見は、免疫複合体及び／又はベランタマブ　マホドチンの細胞毒性による全身性炎症反応の発現を示唆する所見と考えられた。臨床試験では、ベランタマブ　マホドチンの最大 2.5 mg/kg［ベランタマブ　マホドチン（ADC）の AUC0-t 及び Cmax はそれぞれ 6203 µg.h/mL 及び 51.8 µg/mL 並びに cys-mcMMAF の AUC0-t 及び Cmax はそれぞれ 82.5 ng.h/mL 及び 0.802 ng/mL］の投与において、全身性炎症反応の発現を示す明確なエビデンスは得られていない。しかし、貧血については、高頻度で発現する有害事象であるが、本事象は臨床的に管理可能であった（2.7.4.2）。

毒性試験で認められたその他の血液学的変化として、ベランタマブ　マホドチンを投与したサルにおいて NK 細胞の絶対数及び／又は相対比低値がみられたが、休薬により回復又は回復傾向を示した。ベランタマブ　マホドチンの薬理作用に一致して、IgM 及び IgG の低値がみられた。健康ドナー及び MM 患者から単離した細胞を用いて検討した試験において、活性化 CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞の機能（増殖、活性化及びサイトカイン産生）に対してベランタマブ　マホドチン添加による明らかな影響はみられなかった（2.6.2.3.1.3）。ベランタマブ　マホドチンの臨床使用においては、免疫グロブリン及びリンパ球数のモニタリングが実施される。多発性骨髄腫患者で観察される多面的な免疫機能障害は、治療効果に関する結果の解釈に影響を及ぼす可能性がある。臨床試験では、肺炎等の重篤及び非重篤な感染症が報告されている（2.7.4.2）。また、好中球減少症や好中球数減少がみられた。単剤及び併用療法試験において投薬中止には至らなかった（2.7.4.2）。

以上のように、薬理活性、毒性試験成績及び臨床試験成績を基に詳細に評価した結果、ベランタマブ　マホドチンに免疫毒性リスクが特定された。これらのデータに基づき、ベランタマブ　マホドチンの免疫毒性に関するリスクは十分に評価されており、患者への潜在的ベネフィットを考慮すると、モニタリングを行うことにより管理可能と考えられる。

2.4.4.2.6.4. ベランタマブ　マホドチンの角膜毒性を含む毒性発現機序

角膜症、霧視、ドライアイ、羞明等の角膜事象は、ベランタマブ　マホドチンに関連する有害事象として高頻度に報告された事象であった。角膜事象の発現頻度は、他の MMAF 結合型 ADC に関する文献的報告と一致している[Tannir, 2014; Moskowitz, 2015; Macsai, 2016; Reardon, 2016; Thompson, 2015]。ベランタマブ　マホドチンも含め、MMAF 結合型 ADC で報告されている角膜事象の重症度は主に軽度～中等度であり、通常は用量調節を含む支持療法後に回復又は改善している。そのため、患者はベランタマブ　マホドチンの投与を継続することが可能であり、明らかな有効性の消失は認められていない。現在までに、ベランタマブ　マホドチンや他の MMAF 結合型 ADC による重篤な長期にわたる後遺症は報告されていない[Eaton, 2015; Donaghy, 2016]。

ベランタマブ　マホドチンのラット及びウサギを用いた非臨床試験において、角膜上皮の両側性単細胞壊死及び／又は角膜上皮細胞の有糸分裂像の増加が認められた（2.6.7-Table 5.1、7.1、7.2、17.12 及び 17.13；2012N134122、2013N174857、2018N374327、2018N385412 及び 2021N465838）。ラットでは、詳細な眼科学的検査において変化は認められなかった。NZW ウサギでは、1 例において片側性の角膜表層混濁が認められたが、DB ウサギでは、2 例で角膜混濁及び表層血管新生が認められ（1 例は両側性、もう一例は片側性）、その変化の程度及び範囲は NZW ウサギで認められた変化を上回っていた（2.6.7-Table 17.12 及び 17.13；2018N385412 及び 2021N465838）。これら 2 例の DB ウサギの病理組織学的検査では、浮腫、血管新生及びうっ血並びにときに核濃縮を伴う混合性炎症細胞浸潤を特徴とする角膜実質の炎症が認められた。これらの組織学的変化は MMAF 結合型 ADC による治療を受けた患者で観察される角膜上皮細胞死の推定機序と同じ機序により発現したものと考えられるが、ベランタマブ　マホドチンの投与によって臨床で観察されるようなその他の変化は認められていない。患者と動物間でこのような違いが生じる理由は不明である。NZW ウサギを用いた試験では、媒体対照群と比較して、投薬群で涙液産生（シルマー試験紙を用いて測定）に影響は認められなかった。投薬群から採取した涙液試料の約半数でベランタマブ　マホドチン（ADC 及び総 mAb）及び cys-mcMMAF が定性又は定量的に検出された（2.6.4.4.2.2；2018N385412 及び 2021N465838）。血漿中のベランタマブ　マホドチン濃度は、投与後の同時点で採取した涙液検体よりも高かった。ウサギでみられた角膜病変はラットでみられた変化と一致していたが、高用量で週 1 回 4 回投与後のみ認められた。抗 BCMA 抗体に交差反応性を示すカニクイザルにおいて、ベランタマブ　マホドチンに関連した眼の変化は認められなかった。ベランタマブ　マホドチンはラット又はウサギの BCMA と交差反応せず、ヒト又はカニクイザルの眼組織に結合しない。

ラットの眼球及び一部組織における蛍光標識ベランタマブ　マホドチンの分布及び cys-mcMMAF の有無を評価した。なお、検討では、蛍光標識 GSK2857914 を比較対照に用いた（組織については 2.6.5-Table 5.1 及び 8.7；2018N394006 及び 2018N358667）。ラットに蛍光標識ベランタマブ　マホドチン又は GSK2857914 の 30 mg/kg を単回静脈内投与したところ、眼球、肝臓及び腎臓における蛍光シグナルはベランタマブ　マホドチンと GSK2857914 で同程度であった。このことから、ベランタマブ　マホドチンの分布は mcMMAF の有無に

よる影響を受けないことが示唆された。蛍光顕微鏡での観察の結果、ベランタマブ　マホドチン及び GSK2857914 の蛍光シグナルは眼球、眼瞼、眼窩外涙腺及びハーダー腺の結合組織、肝臓並びに眼瞼の筋肉において検出されたが、角膜及び眼瞼腺では認められなかった。投与 24 及び 48 時間後、眼球と比較して肝臓及び腎臓の蛍光シグナルは高値を示した。投与 35 日後の免疫測定法により測定したベランタマブ　マホドチン（ADC）の平均濃度は、血清中では 70 µg/mL であったのに対し、眼及び肝臓ではそれぞれ 749 ng/g 及び 462 ng/g であった。ナノ液体クロマトグラフィー／質量分析（nano-LC/MS）法を用いた検討において、cys-mcMMAF は角膜、眼球全体及び眼瞼に検出されなかったが、肝臓では高濃度、骨髄と腎臓では低濃度、ハーダー腺と眼窩外涙腺では低濃度又は極めて低濃度で検出された。

ウサギにベランタマブ　マホドチンを反復静脈内投与したところ、涙液中のベランタマブ　マホドチンは概ね定量可能であった。Cys-mcMMAF も概ね定量可能であったが、cys-mcMMAF 濃度には、ばらつきがみられた（2.6.7-Table 17.13；2021N465838）。更に、涙液中のベランタマブ　マホドチンと cys-mcMMAF のモル比を算出した結果、ベランタマブ　マホドチンは cys-mcMMAF と比べて一貫して高い割合で存在することが示された。Cys-mcMMAF の相対モル比（ベランタマブ　マホドチンと比較した場合）は血漿中よりも涙液中の方が高かった。HCEC 及び RPTEC に対する cys-mcMMAF 及び MMAE の細胞毒性を検討した結果、RPTEC と比較して HCEC ではより低い濃度で核数の減少が認められたことから、HCEC の方が cys-mcMMAF の細胞毒性に対する感受性が高いことが示唆された（2.6.7-Table 17.5 及び 17.6；2021N478152 及び 2022N506460）。また、cys-mcMMAF と MMAE の細胞毒性が発現する濃度を比較した結果、HCEC 及び RPTEC に対する MMAE の細胞毒性は cys-mcMMAF と比べて 100 倍以上強いことが示された。このことは cys-mcMMAF の細胞透過性が低いことに関連していると考えられる。涙液中の cys-mcMMAF が角膜細胞内の cys-mcMMAF 濃度に及ぼす影響は限定的であり、角膜毒性の主要な機序ではないと考えられる。

HCEC 及び RPTEC への vivotag-680 標識ベランタマブ　マホドチン又は GSK2857914 の取り込みに、濃度及び時間依存性が認められた（2.6.5-Table 8.1；2019N409936）。HCEC は 2 つの異なる供給業者（MatTek 又は American Type Culture Collection）から入手し、角膜の前駆細胞に富む角膜辺縁領域由来及び角膜強膜辺縁由来の細胞を用いた。リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応（PCR）解析により、HCEC 及び RPTEC は BCMA をほとんど、あるいは全く発現していないことを確認した。リソソームマーカーとして lysotracker green を使用して HCEC 及び RPTEC のリソソーム内に vivotag-680 標識ベランタマブ　マホドチンが局在することを確認した。プールした細胞における cys-mcMMAF 量を LC/MS/MS で測定したところ、HCEC と RPTEC ではともに cys-mcMMAF の存在が確認され、これらの細胞はベランタマブ　マホドチンを異化し、cys-mcMMAF を放出する能力を有することが示された。単離培養した初代培養 HCEC 及び RPTEC を用いた in vitro 試験では、ベランタマブ　マホドチンの処理により、濃度依存的にアポトーシスの顕著な増加が認められ、細胞生存率が低下することが示された（2.6.7-Table 17.3 及び 17.4；2019N410330 及び 2020N437131 並びに 2019N410329）。これらの影響は HCEC 及び RPTEC における複数のドナーのサンプルで認められ、HCEC では RPTEC よりも感受性が高い傾向がみられた。また、ベランタマブ　マ

ホドチンのヒト末梢血リンパ球細胞を用いた in vitro 小核試験でサイトカラシン B 処理により生じた二核細胞に小核が検出されたことから、ベランタマブ　マホドチンは in vitro 染色体損傷を誘発することが示された（2.6.7-Table 8.3；2019N416146）。これらのデータは、mcMMAF が誘導すると考えられている細胞死の機序に一致している[Waight, 2016]。

毒性発現機序を更に明らかにするために、マクロピノサイトーシス阻害剤として一般的に使用されている EIPA［5-(N-エチル-N-イソプロピル)アミロリド］[Tian, 2014; Zhao, 2018]を用いてベランタマブ　マホドチンの取り込み機構を検討した。EIPA の処理によりベランタマブ　マホドチンの HCEC への取り込みは約 23%有意（p≤0.001）に減少した（2.6.5-Table 8.1 及び 8.2；2019N409936 及び 2020N451323）。この結果は、ベランタマブ　マホドチンの HCEC への取り込みがマクロピノサイトーシスを介することを示唆している。一方、EIPA は、ベランタマブ　マホドチンの RPTEC への取り込みに影響を及ぼさなかった。EIPA はマクロピノサイトーシスの陽性対照である分子量 10000 の Alexa488 標識デキストランの、HCEC 及び RPTEC への取り込みを有意に阻害しなかった。この理由として、使用した EIPA の濃度が低すぎた可能性が考えられたが、より高濃度の EIPA は HCEC 及び RPTEC に対して細胞毒性を示すため、これ以上の検討は実施できなかった（2.6.7-Table 17.3；2019N410330）。しかし、同じ初代細胞を用いた試験では、EIPA の前処理／併用処理により、ベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシス誘導の明らかな減弱傾向がみられたことから、HCEC 及び RPTEC へのベランタマブ　マホドチンの取り込みには、マクロピノサイトーシスが関与していることが示唆された（2.6.7-Table 17.3 及び 17.4；2019N410330 及び 2020N437131）。

ベランタマブ　マホドチンの取り込み機構に関して、その他のエンドサイトーシス経路の寄与も評価した。バイオイメージング手法を用いた in vitro 試験により、初期エンドソームマーカーである Rab5-RFP を発現した HCEC において Rab5-RFP とトランスフェリン-488（クラスリン介在性エンドサイトーシスにより取り込まれる）の共局在がみられ、HCEC ではクラスリン介在性エンドサイトーシスが機能していることが示された。しかし、同じ細胞集団でベランタマブ　マホドチンはトランスフェリン-488 と共局在しなかったことから、異なるエンドサイトーシス経路で細胞内に取り込まれたことが示唆された（2.6.4.4.1.2；2.6.5-Table 8.4；2021N468100）。HCEC 及び RPTEC を用いて、マクロピノサイトーシスを含む、異なる取込み経路を阻害することが報告されている 5 種類の化合物［ワートマニン、イミプラミン及びフェノザイベンザミン（マクロピノサイトーシス阻害）、ナイスタチン（カベオリン介在性エンドサイトーシス阻害）並びにクロルプロマジン（クラスリン介在性エンドサイトーシス阻害）］[Lin, 2018]を、ベランタマブ　マホドチンと併用処理した。ナイスタチン又はクロルプロマジンとの共処理により、HCEC におけるベランタマブ　マホドチンの取り込みはそれぞれ 18.5%及び 20.4%減少した。更に、HCEC では、ナイスタチンとの併用処理により、ベランタマブ　マホドチンの細胞毒性（核数を測定）を減少させた。RPTEC におけるベランタマブ　マホドチンの取り込みは、ワートマニンを除くほとんどの阻害剤によって減少したものの、いずれの化合物もベランタマブ　マホドチンによる毒性に対し、明らかな影響を及ぼさなかった（2.6.5-Table 8.5；2021N483916）。更に、クロルプロマジン、ナイスタチン及びイミプラミンの 3 種の化合物を併用処理した結果、HCEC の細胞内ベランタ

マブ　マホドチン濃度が 31%低下し、細胞生存率の増加（43%）が認められた（2.6.5-Table 8.6；2022N506651）。エンドサイトーシス経路の阻害剤の対象経路に対する特異性は完全ではないため、複数のエンドサイトーシス経路（カベオリン、クラスリン、マクロピノサイトーシス、Arf6、フロチリン、CLIC/GEEC）が GSK2857914 の取り込みに関与している可能性について、HCEC において siRNA を用いた蛋白質ノックダウン法により検討した（2023N539431、4.2.2.3）。その結果、検討したいずれのエンドサイトーシス関連蛋白質をノックダウンさせても、GSK2857914 の取り込みに一貫した減少はみられなかった。これらのことから、GSK2857914 の HCEC への取り込みには、複数のエンドサイトーシス経路が関与している可能性が示唆された。

HCEC を過剰な免疫グロブリンで前処理／併用処理することにより、ベランタマブ　マホドチンの取り込みを競合的に減少させ、関連する細胞毒性が軽減するかどうかを検討した（2.6.7-Table 17.7 及び 17.9；2022N507716 及び 2023N528252）。その結果、HCEC では 15 及び 20 mg/mL の IVIG（ドライアイ患者を対象に臨床的に検討された濃度[Jain, 2019]）の前処理／併用処理により、IVIG はベランタマブ　マホドチンの 50 µg/mL 以上で認められたアポトーシスを濃度依存的に阻害した。GSK2857914 では HCEC において 2 mg/mL 以上で細胞毒性がみられたため、ベランタマブ　マホドチンの細胞毒性を軽減する競合的遮断薬として意義のある前処理／併用処理濃度を評価することはできなかった（2.6.7-Table 17.8；2022N508021）。また、HCEC では 100 µg/mL のベランタマブ　マホドチンを単独処理したときと比較して、IVIG との併用処理によりベランタブ　マホドチンの細胞内取込みは最大 36%減少し（併用処理した Vivotag-680 標識ベランタマブ　マホドチンの細胞内蛍光シグナル強度を指標として）、細胞数は 23%増加した（2.6.7-Table 17.9；2023N528252）。

いくつかの既知のヒスタミン H1 受容体拮抗薬について、ベランタマブ　マホドチンの HCEC 及び RPTEC への取り込みに対する影響を評価した。角膜細胞に発現しているヒスタミン H1 受容体は、刺激を受けると PKC を介してアップレギュレーションされることが報告されており、PKC はマクロピノサイトーシスを誘導すると考えられている[Fukui, 2016]。本検討で評価したヒスタミン H1 受容体拮抗薬は、ヒトへの点眼による局所投与が承認されている。そのうち、デスロラタジン、ケトチフェン及びフェキソフェナジンは、ベランタマブ　マホドチンの HCEC への取り込みをそれぞれ 34%、24.1%及び 26.6%減少させた。一方、レボカバスチンはベランタマブ　マホドチンの取り込みを 25.6%～27.8%増加させた。ベランタマブ　マホドチンの取り込みを減少させたにもかかわらず、ベランタマブ　マホドチン（10 µg/mL のみ）による細胞毒性の軽減がみられたのは、デスロラタジンのみであった（2.6.7-Table 17.9；2023N528252）。HCEC におけるベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスに対する影響を検討したところ、HCECH1 受容体拮抗薬であるケトチフェン、フェキソフェナジン及びデスロラタジンの前処理／併用処理により、複数のドナーの HCEC において、ベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの濃度依存的かつ有意な減少が認められている（2.6.7-Table 17.10；2023N528622）。H1 受容体が刺激を受けていると、PKC が活性化され、マクロピノサイトーシスが誘導される。H1 受容体拮抗薬を用いた試験間の違いについては、試験条件によって HCEC における H1 受容体が刺激されたかどうかを反映している可能性がある[Mizuguchi, 2021]。

HCEC は、不均一な細胞集団から構成される（採取方法に基づく）。ベランタマブ　マホドチンの処理により最も影響を受ける細胞種を特定するため、特にベランタマブ　マホドチンの細胞毒性に対する角膜輪部幹細胞の感受性を明らかにするため、遺伝子発現解析（GeneChip 解析、Affymetrix）を実施した。しかし、この試験で実施した解析では、増殖性の小型の細胞集団と大型の扁平上皮細胞集団との間にトランスクリプトーム上の違いは特定されず、文献で報告されている角膜輪部幹細胞様マーカー[Gonzalez, 2018]を選択的に発現する細胞集団はみられなかった。また、ベランタマブ　マホドチン又は GSK2857914 で処理した細胞集団では、3 ドナーすべてにおいて、両被験物質ともに最低濃度である 30 µg/mL を処理したときにみられた CTNNB1 のダウンレギュレーション及びベランタマブ　マホドチンの 30 µg/mL 以上を処理したときにみられた WDR74 のアップレギュレーションを除き、角膜輪部幹細胞様マーカー又はその他の遺伝子の発現に一貫した変化は認められなかった。更に、GSK2857914 で処理したときと比較して、ベランタマブ　マホドチンで処理したほとんどの細胞集団において微小管関連遺伝子 TUBA1A のダウンレギュレーションが認められた（2.6.7-Table 17.11；2022N502360）。

臨床試験で報告された角膜毒性は MMAF 結合型 ADC のクラスエフェクトである。非臨床試験で用いる動物種では角膜症（点状表層角膜症及び／又は微小細胞様上皮変化を含む）の予測性は低いと考えられている[Eaton, 2015]。MMAF 結合型 ADC の毒性に対する感受性がヒトの眼球で高い理由は不明である。ベランタマブ　マホドチンは、細胞膜上の BCMA 受容体発現とは無関係な機序によっても、全身の細胞に取り込まれる。その後、細胞はリソソーム内でベランタマブ　マホドチンを異化して cys-mcMMAF を放出する。そして、その作用機序と一致してアポトーシスを介した細胞毒性がもたらされる。EIPA の前処理／併用処理によりベランタマブ　マホドチンの取り込み及びベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの減少が認められた。このことから、マクロピノサイトーシスが HCEC 及び RPTEC におけるベランタマブ　マホドチンの取込みに関与していることが示唆される。マクロピノサイトーシス並びにカベオリン及びクラスリン介在性エンドサイトーシス経路に対する複数の阻害剤を併用処理しても、ベランタマブ　マホドチンを処理した HCEC の生存率が低かった。このことから、ベランタマブ　マホドチンの HCEC への取り込みにはその他のエンドサイトーシス経路も関与している可能性が示唆された。HCEC と RPTEC では標識ベランタマブ　マホドチンのリソソーム内への局在が認められた。また、プールした細胞における cys-mcMMAF 量を LC-MS/MS で測定した結果、cys-mcMMAF の存在が確認された。したがって、BCMA を発現していない細胞でも、ベランタマブ　マホドチンを異化し、cys-mcMMAF が放出されることが示された。血漿又は涙液中の cys-mcMMAF が角膜細胞内の cys-mcMMAF 濃度に及ぼす影響は限定的であり、角膜毒性の主要な機序ではないと考えられる。ベランタマブ　マホドチンを介した細胞毒性は、MMAF を介した細胞死の機序と同様に、微小管阻害によるアポトーシスを介して発現した。GSK2857914 で処理した HCEC と比較して、ベランタマブ　マホドチンで処理したほとんどの細胞集団において微小管関連遺伝子 TUBA1A のダウンレギュレーションが認められた。遺伝子発現解析では、ベランタマブ　マホドチンを処理した異なる細胞集団間にトランスクリプトーム上の違いは認められなかった。ベランタマブ　マホドチンの取り込み能及びアポトーシス作用に対する感

受性は、概して HCEC の方が RPTEC より高いことが示された。エクトヌクレオチドピロホスファターゼ／ホスホジエステラーゼ 3（ENPP3）を標的とする mcMMAF 結合型 ADC は、マクロピノサイトーシスを介して HCEC に取り込まれ、mcMMAF により細胞増殖を阻害することが示されている[Zhao, 2018]。前述のベランタマブ　マホドチンのデータは Zhao らの報告と一致している。IVIG による前処理／併用処理により、濃度依存的に HCEC におけるベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの有意な減少がみられた。これはおそらくベランタマブ　マホドチンの取り込みを競合的に阻害したことによるものと考えられる。H1 受容体拮抗薬であるケトチフェン、フェキソフェナジン及びデスロラタジンの前処理／併用処理でも、複数のドナーの HCEC において、ベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの濃度依存的かつ有意な減少がみられた。しかし、核数を測定した別の検討では、H1 受容体拮抗薬においてベランタマブ　マホドチンの細胞毒性を有意に軽減する作用は認められなかった。H1 受容体の刺激により PKC が活性化されると、マクロピノサイトーシスが誘導される。これらの H1 受容体拮抗薬を用いた試験結果の相違は、試験条件の違いによるもので、H1 受容体が刺激されたかどうかを反映している可能性がある。

2.4.4.2.6.5. 光毒性試験

ベランタマブ　マホドチンは ADC 製剤であるため、光毒性試験は不要と考えられる[ICH, 2013]。しかし、リンカー複合体である SGD-1269（mcMMAF）の UV／可視光領域の吸収スペクトルを測定した［3.2.S.1.3（原薬）］。その結果、290～700 nm の波長において吸収がみられたが、モル吸光係数は 1000 L mol^{-1} cm^{-1} 未満であった。このことから、患者における光安全性の懸念はないと考えられた[ICH, 2013]。これまでの臨床試験において、発疹や皮膚刺激性に関する重篤な報告を含め、ベランタマブ　マホドチンに関連する光線過敏症、光刺激性、光毒性を示唆する事象は報告されていない（2.7.4.2）。

2.4.4.2.6.6. 組織交差反応性

ベランタマブ　マホドチンのヒト組織への特異的及び非特異的結合性を評価するため、ex vivo 組織交差反応性試験を実施した。（2.6.7-Table 17.15；2013N176627）。IHC 解析の結果、ヒト脾臓では、ベランタマブ　マホドチンの抗原特異的染色が認められた。これは、ベランタマブ　マホドチンが分化後期の B 細胞に発現する BCMA 受容体と結合するためである。特異的な染色は、概して個々の細胞又細胞群、血管壁／血管周囲組織及び結合組織に認められた。染色のほとんどは細胞質に認められたが、細胞膜が染色されている可能性も完全に否定することはできない。組織結合自体は in vivo での生物活性を示すものではなく[ICH, 2011]、モノクローナル抗体の膜への結合は、細胞質や他の組織・細胞部位への結合よりも毒性学的意義が高いと考えられている[Hall, 2008; Leach, 2010]。ヒトの眼に対するベランタマブ　マホドチンの結合は認められなかった。

2.4.4.2.6.7. 同等性／同質性

臨床試験では、凍結液剤及び凍結乾燥粉末剤（市販用製剤）の 2 種類の製剤を使用した（表 2.4.4.1）。ベランタマブ　マホドチンの非臨床試験及び臨床試験で使用するために製

造したバッチの詳細及びロット分析データを 3.2.S.4.4（原薬）に示す。ベランタマブ　マホドチンの最初の製造工程が 20[redacted] 年に開発され、非臨床試験用及び臨床試験用物質の製造に使用された。ベランタマブ　マホドチンの市販が予想されたため、ベランタマブ　マホドチンの製造工程の変更を、無菌凍結液剤から無菌凍結乾燥粉末剤への製剤の変更に伴い実施した工程開発作業に基づいて実施した。工程の最適化、頑健性の改善及び市販規模での製造へのスケールアップのため、更なる変更を導入した。ベランタマブ　マホドチンの開発過程で実施した製造工程及び製剤の変更に関する詳細については、3.2.S.2.6.1（原薬）及び 3.2.P.2.2 に示す。これらの変更が製剤の品質に及ぼす影響を評価するため、ベランタマブ　マホドチン原薬の生物物理学的、生化学的及び機能的完全性を比較する同等性評価を実施した。[redacted]は実施せず、同等性評価に際しては主に[redacted]及び[redacted]を行った［3.2.S.2.6（原薬）］。製造工程変更後、ベランタマブ　マホドチンに意味のある差異は認められなかった。無菌凍結乾燥粉末剤を使用した臨床試験では、3.4 mg/kg において新たな安全性シグナルや予期しない安全性シグナルは認められず、無菌凍結液剤を使用した臨床試験における 3.4 mg/kg 群の安全性プロファイルと同様であった（2.7.6）。

以上、ベランタマブ　マホドチンの開発中に実施した製造工程変更は、原薬及び製剤の品質及び性能に悪影響を及ぼさなかった。非臨床試験用ロット、臨床試験用ロット並びに市販予定用の原薬及び製剤間で生物物理学的、生化学的及び機能的完全性の同等性が示された。市販用製剤プロファイルに関連する特有の安全性上の懸念はない。

2.4.4.2.6.8. 不純物

ベランタマブ　マホドチンバルク原薬の不純物プロファイルは、[redacted]、[redacted]及び[redacted]により決定した［3.2.S.3.1（原薬）］。不純物プロファイルには、ICH Q6B で述べられている製造工程由来不純物及び目的物質由来不純物が含まれる。原薬中に検出されたすべての目的物質由来不純物及び製造工程由来不純物については、3.2.S.3.2（原薬）で詳細に考察する。

患者への安全性リスクを明らかにするために、ベランタマブ　マホドチンの製造工程由来不純物についてリスク評価を実施した。リスク評価結果［3.2.S.3.2（原薬）］に基づくと、いずれの製造工程由来不純物についても、安全性上の懸念は認められていない。これらの不純物には[redacted]及び[redacted]が含まれるが、これまでのすべての出荷ロットの分析結果において、これらの不純物のレベルは試験方法の定量下限未満（[redacted]）であることが確認されている。したがって、患者に対する安全性リスクは極めて低い［3.2.S.4.4（原薬）］。

目的物質由来不純物及び[redacted]を含む物質がベランタマブ　マホドチン中に検出された。ベランタマブ　マホドチンの目的物質由来不純物及び原薬については、その同一性並びに安全性及び有効性への影響を判断するための詳細な特性検討が実施されている。ベランタマブ　マホドチンの重要品質特性及びこれらの特性をモニタリングするための管理戦略の詳細については 3.2.S.2.6（原薬）に示す。これらは許容レベルに管理されており、市販製剤中の不純物に関連する安全性上の懸念はない。

2.4.4.2.6.9. 添加物

ベランタマブ　マホドチンの製剤に使用される医薬品添加物は、日本薬局方（JP）に準拠している。

2.4.5. 総括及び結論

再発又は難治性の多発性骨髄腫の治療を目的としたベランタマブ　マホドチンの非臨床試験を実施した。非臨床試験データからは、ベランタマブ　マホドチンを予定臨床用法・用量（2.5 mg/kg を 3 週間間隔で点滴静注）使用することは可能と考えられた。毒性試験に使用した動物種は、曝露量及び代謝に関する情報から、ヒトの安全性予測に適切な動物種であることが示された。毒性試験の投与期間は、上記の適用及び用法・用量を考慮して、最長 13 週間[ICH, 2009]とした。

効力を裏付ける試験

ベランタマブ　マホドチンは、MM 細胞表面に発現している BCMA に結合すると速やかに細胞内に取り込まれ、細胞内で抗体部分が蛋白質分解を受けて活性型細胞傷害性薬物（cys-mcMMAF）が放出されると、微小管が崩壊することにより細胞周期停止及びアポトーシスが誘導され、細胞が殺傷される。ベランタマブ　マホドチンは低フコース化された抗体であるため、免疫細胞（NK 細胞及びマクロファージ等）に存在する FcγR への結合親和性が増強しており、MM 細胞に対して強力な ADCC 及び ADCP 活性を有する。これらの作用機序は、ベランタマブ　マホドチンが分裂期及び非分裂期の両方の BCMA 発現腫瘍細胞を標的することが可能であることを示している。MM 細胞をベランタマブ　マホドチンで処理することにより CRT の細胞表面への移行並びに HMGB1 及び ATP の分泌がみられたことから、ベランタマブ　マホドチンによる ADC 誘導性アポトーシスは免疫原性細胞死を誘導する可能性が示された。In vitro 試験においてベランタマブ　マホドチンによって誘導される細胞死が樹状細胞を活性化させることが示されたことから、ベランタマブ　マホドチンの作用機序に T 細胞を介した腫瘍免疫応答が関与する可能性が考えられた。

In vitro において、ベランタマブ　マホドチンは、BCMA の発現レベルが低い細胞株を含む検討したすべての MM 細胞株に対して cys-mcMMAF による殺細胞作用及び ADCC の両方の機序による細胞傷害作用を有することが示された。ベランタマブ　マホドチンは、ヒト標的細胞及び骨髄の微小環境を模倣するようデザインされた条件下（生理学的濃度の BCMA リガンド存在下／放出された sBCMA の存在下／様々な BCMA 発現レベルの細胞の使用／ヒトで到達可能と予想されるベランタマブ　マホドチン濃度条件下）で活性を示した。MM 細胞株と BCMA を発現しない細胞（NK 細胞、BMSC 及び CD14 陽性単球）との共培養実験において、ベランタマブ　マホドチンの細胞傷害作用は BCMA 発現細胞に対して選択的であることが示され、MM 細胞の周囲に存在する BMSC 及びエフェクター細胞に対するバイスタンダー効果はほとんどみられないと考えられた。

ベランタマブ　マホドチンと mcMMAF 非結合の親抗体（GSK2857914）の FcγR への結合親和性は同程度であり、mcMMAF 結合による影響はみられず、ADCC 及び ADCP 活性も同

程度であることが確認された。ベランタマブ　マホドチン及びGSK2857914と野生型フコース付加抗体のADC活性を比較した結果、抗体部分の低フコース化によるADC活性への影響は認められなかった。

ベランタマブ　マホドチンは、ヒトMM細胞株NCI-H929、OPM-2及びMM1Slucを移植した雌マウスにおいて腫瘍増殖を強力に抑制した。ヒトBCMAを発現させたEL4マウスリンパ腫細胞株（EL4-hBCMA）を正常な免疫機能を有するマウスに皮下移植した同種移植モデルを用いた試験でも同様にベランタマブ　マホドチンの投与によりICDマーカーが増加することが示された。本結果は、NCI-H929細胞株を用いたin vitro試験において、ベランタマブ　マホドチンの添加がATP、HMGB1及びCRT等のICDマーカーを増加させた結果と一致していた。また、本モデルマウスでみられたベランタマブ　マホドチンによる腫瘍退縮作用にはCD8陽性T細胞が関与していることが示された。

ヒトMM細胞株又はEL4-hBCMA細胞株移植マウスにおいて、ベランタマブ　マホドチンとMM標準治療薬、免疫チェックポイント阻害剤及びエピジェネティック抗がん剤を併用投与したときの作用を検討した。OPM-2及びMOLP-8細胞株を皮下移植したマウスモデルでは、ベランタマブ　マホドチンとMMに対する標準治療薬であるボルテゾミブ、レナリドミド、ポマリドミド又はデキサメタゾンと2剤又は3剤で併用投与したときの抗腫瘍効果を検討した。その結果、ベランタマブ　マホドチンをボルテゾミブ、レナリドミド又はポマリドミドと2剤で併用投与したときに、併用効果（ベランタマブ　マホドチン単独投与群と比較して有意な腫瘍増殖抑制作用又は生存期間の延長）が認められた。また、EL4-hBCMA細胞株移植モデルにおいて、サロゲート抗体である抗マウスOX40アゴニスト抗体、エピジェネティック抗がん剤（PRMT1もしくは5阻害剤又はBET阻害剤）との併用効果を検討したところ、ベランタマブ　マホドチンを単独投与したときと比較して抗腫瘍効果の増強がみられた。更に、in vitro試験においてGSIとの併用効果を検討したところ、ベランタマブ　マホドチンと種々のGSIを併用することにより、細胞増殖抑制作用が相乗的に増強された。Nirogacestat併用時におけるベランタマブ　マホドチンのEC50は、最も強い併用効果が認められた細胞株で単独処理した場合の1/3000であった。

雄のカニクイザルにベランタマブ　マホドチンを単回IV投与した試験では、血中において薬物非結合のBCMA発現細胞である形質細胞の減少がみられたが、BCMAを発現しない細胞には影響を及ぼさなかったことから、BCMA発現細胞に対して選択的に作用することが示された。また、ベランタマブ　マホドチン投与により、形質細胞の減少に伴うIgE濃度の顕著な減少並びにIgG、IgA及びIgM濃度の軽度な減少がみられた。

副次的薬理試験

ベランタマブ　マホドチンはBCMA発現レベルの低い/発現していない免疫細胞に対して明らかな傷害作用を示さなかった。また、ベランタマブ　マホドチン存在下でBCMA発現細胞とBCMAを発現していない細胞を共培養した試験においても、BCMA発現細胞に対してのみ細胞傷害作用がみられた。ベランタマブ　マホドチンがバイスタンダー効果を示さない理由の一つには、活性型細胞傷害性薬物であるMMAFがプロテアーゼ耐性のリンカーを介して抗体に安定的に結合していることが関与している可能性が考えられる。更に、ヒト培養細胞において、ベランタマブ　マホドチンによるNF-κB経路の活性化は認められなかっ

た。このように、ベランタマブ　マホドチンは、BCMA 発現細胞に特異的に作用することが示されたが、BCMA を発現していない細胞に対して非特異的に取り込まれる可能性がある。

安全性薬理試験

カニクイザルにベランタマブ　マホドチンを 3 又は 13 週間反復投与した毒性試験において、心血管系及び呼吸系への影響はほとんど認められなかったことから、ベランタマブ　マホドチンの臨床使用において心血管系及び呼吸系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。13 週間反復投与毒性試験の 10 mg/kg/週群の雄で、5 回目の投与後に心拍数の増加（16%）がみられたが、これは一般状態の悪化に関連するものと考えられた（2.6.2.4）。ラット及びサルを用いたベランタマブ　マホドチンの 3 及び 13 週間反復投与毒性試験では、いずれの試験においても神経行動への影響を示唆する一般状態の変化は認められなかった。Cys-mcMMAF を用いた hERG 試験において、hERG テール電流阻害作用は認められなかった。

以上の効力を裏付ける試験、副次的及び安全性薬理試験の成績は、再発／難治性多発性骨髄腫の患者への臨床使用を支持すると考えられた。

薬物動態試験

ベランタマブ　マホドチンの PK は、mAb として予想される特徴的なものであり、クリアランス及び Vss は小さく、血漿中 t1/2 は数日であった。ADC と総 mAb の濃度がほぼ同じであったことは、血漿及び尿中の cys-mcMMAF の濃度が比較的低いことと合致し、薬物複合体が循環血中で安定であることが示唆された。ベランタマブ　マホドチンは、ラット、サル又はヒト血漿中でインキュベートしたとき、ほぼ安定であった。ラット及びカニクイザルにベランタマブ　マホドチンを最長 13 週間静脈内投与したときの TK 評価では、全身曝露量に顕著な性差は認められず、ADC、総 mAb 及び cys-mcMMAF の曝露量は用量に比例して増加した。ベランタマブ　マホドチンの反復投与後に、ほとんどのサル及び数例のラットで免疫原性が認められたが、概して曝露量や薬力学的活性への影響は認められなかった。

In vitro では、ベランタマブ　マホドチンは HCEC 及び RTPEC のリソソームに局在していた。正常動物では、ベランタマブ　マホドチンは主に全身循環血中に留まり、非特異的に細胞内に取り込まれた。ベランタマブ　マホドチンの生体内分布は、結合ペイロードの存在に影響されなかった。これらのデータは、ベランタマブ　マホドチンが蛋白質分解を受けてペイロードが放出されること、遊離 cys-mcMMAF の代謝クリアランスがわずかであること及びシステインと MMAF の間のリンカーの切断がみられないことと合致している。

動物及びヒトのデータに基づくと、cys-mcMMAF は主に胆汁を介してヒトの糞中に排泄され、尿中排泄はマイナーな経路と考えられる。ベランタマブ　マホドチン投与後の cys-mcMMAF の排泄は、抗体の異化作用による放出によって制限されるため、長期間続く可能性が高い。

ベランタマブ　マホドチン及び cys-mcMMAF は、薬物相互作用を与える（相互作用薬となる）可能性、及び CYP 又は臨床的に重要な薬物トランスポーターの阻害薬又は誘導薬に

より薬物相互作用を受ける（被相互薬となる）可能性は低いと考えられる。しかし、cys-mcMMAF は P-gp、OATP1B1 及び 1B3 の in vitro 基質と考えられた。

以上の非臨床薬物動態試験の結果から、ベランタマブ　マホドチンは MM 患者に使用できると考えられた。

毒性試験

ベランタマブ　マホドチンのラット単回静脈内投与毒性試験では、100 mg/kg 群で忍容性は認められず、一部動物を安楽死させた。サル単回静脈内投与毒性試験では、最大耐量は 30 mg/kg 未満と推定された。

ベランタマブ　マホドチンを静脈内投与したときの動物／ヒト曝露量比並びに 13 週間反復静脈内投与毒性試験における主な標的器官／最小影響量を表 2.4.5.1 に示す。13 週間反復静脈内投与後に観察された毒性所見は、3 週間反復静脈内投与毒性試験で観察された所見と概ね同様であったが、より低用量から発現するようになった所見や新たな器官に対する影響を示唆する所見も認められた。ラット及びサルともに、精巣及び肺で認められた病理組織学的変化を除くほとんどの所見が、12 週間の休薬後に回復又は回復傾向を示した。ラット及びサルの生殖器に影響がみられたときのベランタマブ　マホドチン（ADC）の曝露量（AUC）はヒト推奨用量 2.5 mg/kg における曝露量の約 4 倍であった。

表 2.4.5.1 ベランタマブ マホドチンの静脈内投与時の曝露量比較並びに主な標的器官及び最小影響量

Study	Rat (Q3W for 13 weeks)[a]			Monkey (weekly for 13 weeks)		
	3 mg/kg/week	10 mg/kg/week	30 mg/kg/week	**1 mg/kg/week (NOAEL)**	3 mg/kg/week	10 mg/kg/week
Exposure multiple (animal:human)						
AUC[b]	1.7	6.0	14.5	**0.2**	1.1	3.5
Cmax	2.5	8.7	24.1	**0.5**	1.8	6.0[c]
Organ systems affected (lowest effect dose)[d]						
Liver[f]					X	
Lungs[h]	X					
Kidney[e]			X			X
Hematopoetic[g]		X				
Reproductive[i]		X				X

Key:
a= NOAEL **in bold**. The NOAEL was not defined in the rat 13-week study.
b = AUC0-τ over the dosing interval in Week 13 for animals, geometric mean data at 2.5 mg/kg from clinical Study 207495 Cycle 3; m5.3.5.1.
c = Week 4 exposure data as animals terminated early due to findings related to immune complex disease associated with ADAs.
d = Adverse findings not related to ADAs.
e = Tubular degeneration/regeneration and glomerulopathy in the kidney associated with proteinuria and enzymuria.
f = Increased hepatobiliary enzymes associated with hepatocellular necrosis.
g = Adaptive effects in rats only (nonadverse) 13-week study. Decreased bone marrow cellularity with toxic (including adverse) and adaptive effects in previous rat toxicity studies.
h = Alveolar macrophages associated with eosinophilic material in the lungs.
i = Male rats: seminiferous tubule degeneration/atrophy with secondary findings in the pituitary. Female rats: luteinized nonovulatory follicles in the ovaries (3-week study only) (nonadverse). Male monkeys: seminiferous tubule degeneration (following 5 weekly doses) that was fully reversible (nonadverse).
ADA = Anti-drug antibody; AUC = Area under the curve.
NOAEL = No observed adverse effect level; Q3W = every 3 weeks.

ベランタマブ マホドチンのラット 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、病理組織学的検査において全投薬群の肺に悪影響が認められたことから、無毒性量は推定できず、3 mg/kg/回未満［試験 10 週におけるベランタマブ マホドチン（ADC）の雌雄平均 AUC0-504 及び Cmax はそれぞれ 10500 µg.hr/mL 及び 131 µg/mL］であった。サル 13 週間反復静脈内投与毒性試験では、3 mg/kg/週群で肝酵素高値を伴う肝細胞壊死がみられたことから、無毒性量は 1 mg/kg/週［試験 13 週におけるベランタマブ マホドチン（ADC）の雌雄平均 AUC0-t 及び Cmax はそれぞれ 1130 µg.hr/mL 及び 27.3 µg/mL］と推定された。サルに無毒性量を投与したときの曝露量は、ベランタマブ マホドチン（ADC 及び総 mAb）の AUC は、ヒト 2.5 mg/kg（ヒト推奨用量）を静脈内投与したときのそれぞれ 0.2 及び 0.1 倍に相当する（表 2.4.5.2）。

ラット（3 mg/kg 以上）及びウサギ（15 mg/kg 以上）では、角膜上皮の単細胞壊死を伴った有糸分裂像増加が両側性にみられたが、悪影響ではないと考えられた。ウサギ（投与 1～

4 回目は 30 mg/kg/週、体重減少により投与 5～7 回目は 15 mg/kg/週）では、角膜実質の炎症、角膜表層混濁及び角膜表層血管新生が 6 例中 2 例に認められた。

ベランタマブ　マホドチンは、ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験で遺伝毒性を示した。この結果は、cys-mcMMAF がチューブリンに結合して微小管阻害を引き起こす cys-mcMMAF の薬理作用と一致している。これらのことから、ベランタマブ　マホドチンは細胞分裂が盛んな組織を有する発生段階の胚に悪影響を及ぼすと考えられる。がん原性試験は実施していない。異数性を誘発するチューブリン阻害剤では、異数性と発がんリスクに関連性は認められていない。このことから、ベランタマブ　マホドチン投与により二次性悪性腫瘍の発現する可能性は低いと考えられる。

薬理活性、毒性試験成績及び臨床試験成績を基に詳細に評価した結果、ベランタマブ　マホドチンの免疫毒性は適切に評価されている。ベランタマブ　マホドチンによる患者への潜在的ベネフィットを考慮すると、モニタリングを行うことによりこのリスクは容認可能と考えられる。ベランタマブ　マホドチンは、標的と FcγRIIIa の両者に結合し、ADCC 活性を発現する。そのため、免疫／サイトカイン刺激のリスクはその他の脱フコシル化抗体と同程度と考えられる[Abes, 2009]。しかし、ベランタマブ　マホドチン投与時には、cys-mcMMAF の非特異的細胞傷害性又は腫瘍細胞致死による二次的な炎症の結果として、サイトカイン放出を生じる可能性が考えられる。

ベランタマブ　マホドチンの毒性は、主に細胞傷害性薬物である cys-mcMMAF に関連している。臓器特異的な変化は、抗原発現細胞に対する作用だけではなく、マクロピノサイトーシス等の経路を介した非特異的な細胞への取り込みによっても発現する。ベランタマブ　マホドチンは、健康ドナー及び多発性骨髄腫患者から分離したヒト免疫細胞集団のうち、BCMA 発現細胞集団に対し特異的に細胞毒性を示した。サルでは、単回静脈内投与後、血液及び骨髄中の BCMA 発現形質細胞の減少がみられた。IHC 検査では、ベランタマブ　マホドチンのヒト組織への結合が観察されたが、染色のほとんどは細胞質に認められ、毒性学的意義はないと考えられた。ヒト眼球への結合は観察されなかった。これらのデータは、ベランタマブ　マホドチンが BCMA 受容体に特異的に結合することを示している。

ラットで観察された肺、精巣、眼球、歯、卵巣及び雄の乳腺並びにラット及びウサギの眼球で認められた抗原非依存的な悪影響は、ADC（マクロピノサイトーシス等を介した）及び cys-mcMMAF が抗原を介さずに取り込まれることを示唆している。ADC に結合する抗原が存在しない場合、この傾向はより顕著になることが予想される。腎尿細管変性／再生性変化、精巣精細管変性、切歯エナメル芽細胞／象牙芽細胞層の変性、肝酵素高値を伴う肝細胞単細胞壊死、骨髄、脾臓、雄の乳腺、眼及び胸腺におけるリンパ球溶解及び／又は細胞密度の変化並びに卵巣の黄体化未破裂卵胞は、細胞傷害性薬物である MMAF に関連した変化と考えられる。同様の変化は、アウリスタチン系薬剤又はコルヒチン及びビンブラスチン等の微小管阻害薬でも報告されている[Saber, 2015; Creasy, 2001; Harris, 2000]。

臨床における角膜毒性は、MMAF 結合型 ADC のクラスエフェクトである。角膜への影響は、非臨床試験で用いた動物種では、ほとんど観察されなかった。MMAF の毒性に対する感受性がヒト眼球で高い理由は不明である。バイオイメージング手法を用いた試験により、標識ベランタマブ　マホドチンが BCMA 発現とは無関係にマクロピノサイトーシス等の取

り込み機構によっても細胞内に取り込まれることが示された。ベランタマブ　マホドチンは細胞内に取り込まれた後にリソソーム内で異化されて cys-mcMMAF が放出される。その後、その作用機序と一致して、アポトーシスを介した細胞毒性が引き起こされる。HCEC では、IVIG の前処理／併用処理により、ベランタマブ　マホドチンを介したアポトーシスの濃度依存的かつ有意な減少がみられた。

投与部位の変化及び炎症がラット及びサルに高用量を単回投与したときに認められたが、サルに週 1 回反復静脈内反復投与及びラットに 3 週間間隔で短期間反復静脈内投与したところ、投与部位に影響は認められず、忍容性は良好であった。

以上のとおり、ベランタマブ　マホドチンの薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的特性については、ICH ガイドラインに従い、ADC の特性を考慮して計画した試験により評価した。最長 13 週間の毒性試験で認められた主な影響は、BCMA 受容体を介した特異的取り込み又はマクロピノサイトーシスを介した非特異的取り込み後、細胞内で異化されて放出される cys-mcMMAF の細胞毒性に関連する変化であった。ベランタマブ　マホドチンは良好なリスクベネフィットプロファイルを示すことから、再発又は難治性の多発性骨髄腫患者の治療薬として、予定臨床用法・用量で使用することは可能考えられた。

表 2.4.5.2　ベランタマブ　マホドチンの静脈内投与時の曝露量比較
（ADC 及び総 mAb）

Study	Dose (mg/kg/week)	End of study data				Exposure multiple (animal:human)[f]			
		AUC0-τ[a] (µg.h/mL)		Cmax (µg/mL)		AUC		Cmax	
		ADC	mAb	ADC	mAb	ADC	mAb	ADC	mAb
Rat 3 week[b]	**3**	**6100**	**7160**	**103**	**105**	**1.0 [1.1]**	**0.6 [0.7]**	**2.0 [2.2]**	**1.8 [1.9]**
2013N174857	10	21750	25750	303	300	3.5 [4.0]	2.0 [2.5]	5.8 [6.5]	5.2 [5.3]
(R30467G)	30	48600	57000	764	771	7.8 [8.9]	4.4 [5.5]	14.7 [16.4]	13.5 [13.6]
Rat 13 week[cg]	3	10500	12700	131	133	1.7 [1.9]	1.0 [1.2]	2.5 [2.8]	2.3 [2.3]
2018N374327	10	37300	42400	451	406	6.0 [6.8]	3.3 [4.1]	8.7 [9.7]	7.1 [7.2]
(R32025G)	30	90200	107000	1250	1160	14.5 [16.4]	8.2 [10.3]	24.1 [26.9]	20.2 [20.5]
Monkey 3 week[b]	**1**	**1240**	**1520**	**27.5**	**27.3**	**0.2 [0.2]**	**0.1 [0.1]**	**0.5 [0.6]**	**0.5 [0.5]**
2013N158643	3	3760	4620	63.3	68.2	0.6 [0.7]	0.4 [0.4]	1.2 [1.4]	1.2 [1.2]
(P70260G)	10	21500	25900	292	306	3.5 [3.9]	2.0 [2.5]	5.6 [6.3]	5.3 [5.4]
Human[di]	2.5[e]	6203 [5490]	12999 [10400]	51.8 [46.5]	57.3 [56.6]				

表 2.4.5.2 ベランタマブ マホドチンの静脈内投与時の曝露量比較（ADC 及び総 mAb）（続き）

Study	Dose (mg/kg/week)	End of study data				Exposure multiple (animal:human)[f]			
		AUC0-τ[a] (µg.h/mL)		Cmax (µg/mL)		AUC		Cmax	
		ADC	mAb	ADC	mAb	ADC	mAb	ADC	mAb
Monkey 13 week[b]	**1**	**1130**	**1500**	**27.3**	**29.0**	**0.2 [0.2]**	**0.1 [0.1]**	**0.5 [0.6]**	**0.5 [0.5]**
2018N375127	3	6720	8030	93.9	103	1.1 [1.2]	0.6 [0.8]	1.8 [2.0]	1.8 [1.8]
(P71346G)	10[h]	21500	29400	311	368	3.5 [3.9]	2.3 [2.8]	6.0 [6.7]	6.4 [6.5]
Human[di]	2.5[e]	6203 [5490]	12999 [10400]	51.8 [46.5]	57.3 [56.6]				

Key:
a = AUC0-τ – Area under the curve at steady state over the dosing interval.
b = Animals dosed once a week.
c = Animals dosed every three weeks.
d = Geometric mean data from clinical Study 207495 Cycle 3; m5.3.5.1. The values in square brackets are the Japanese exposure from clinical Study 207495 Cycle 3; m2.7.6. Table 41 and 42.
e = 2.5 mg/kg every 3 weeks.
f = Exposure multiples given to 2 significant figures or a maximum of 1 decimal place. No correction has been made to consider the difference in dosing interval between animals and human.
g = NOAEL not defined.
h = Exposure data from Week 4 as animals in this group were terminated early due to findings related to immune complex disease as a result of anti-drug antibodies. The values in square brackets are calculated based on the Japanese exposure.
i = Human exposure data from clinical studies 207503 and 207499 where belantamab mafodotin was given in combination settings were similar to human exposure data from clinical study 207495 where belantamab mafodotin was given in monotherapy setting.
ADC = Antibody-drug conjugate [belantamab mafodotin (ADC)].
mAb = Total monoclonal antibody [belantamab mafodotin (total mAb)].
NA = Not Applicable – animals were last dosed during Week 5
NOAEL = No observed adverse effect level (in **bold**).

表 2.4.5.3 ベランタマブ マホドチンの静脈内投与時の曝露量比較（cys-mcMMAF）

Study	Dose of belantamab mafodotin (mg/kg/week)	End of study data		Exposure multiple (animal:human)[f]	
		AUC0-t[a] (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC	Cmax
Rat 3 week[b]	**3**	**258**	**3.90**	**3.1 [3.9]**	**4.9 [5.8]**
2013N174857	10	1245	16.6	15.1 [18.9]	20.7 [24.6]
(R30467G)	30	2785	53.4	33.8 [42.3]	66.6 [79.0]
Rat 13 week[c]	3	NC	NQ	NC	NC
2018N374327	10	66.0	1.71	0.8 [1.0]	2.1 [2.5]
(R32025G)	30	391	6.81	4.7 [5.9]	8.5 [10.1]
Monkey 3 week[b]	**1**	**12.1**	**0.499**	**0.1 [0.2]**	**0.6 [0.7]**
2013N158643	3	73.6	1.97	0.9 [1.1]	2.5 [2.9]
(P70260G)	10	350	5.40	4.2 [5.3]	6.7 [8.0]
Human[dh]	2.5[e]	82.5[g] [65.9]	0.802 [0.676]		

表 2.4.5.3 ベランタマブ マホドチンの静脈内投与時の曝露量比較（続き）
（cys-mcMMAF）

Study	Dose of belantamab mafodotin (mg/kg/week)	End of study data		Exposure multiple (animal:human)[f]	
		AUC0-t[a] (ng.h/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC	Cmax
Monkey 13 week[b]	**1**	**NC**	**0.125**	**NC**	**0.2 [0.2]**
2018N375127	3	25.3	0.415	0.3 [0.4]	0.5 [0.6]
(P71346G)	10	NA	NA	NA	NA
Human[dh]	2.5[e]	82.5[g] [65.9]	0.802 [0.676]		

Key:

a = AUC0-τ – area under the curve at steady state over the dosing interval.
b = Animals dosed once a week.
c = Animals dosed every three weeks
d = Geometric mean data from clinical study 207495 Cycle 3, m5.3.5.1. The values in square brackets are the Japanese exposure from clinical Study 207495 Cycle 3; m2.7.6. Table 43.
e = 2.5 mg/kg every 3 weeks.
f = Exposure multiples given to 2 significant figures or a maximum of 1 decimal place. No correction has been made to consider the difference in dosing interval between animals and human. The values in square brackets are calculated based on the Japanese exposure.
g = AUC0-168hr.
h = Human exposure data from clinical studies 207503 and 207499 where belantamab mafodotin was given in combination settings were similar to human exposure data from clinical study 207495 where belantamab mafodotin was given in monotherapy setting.
NA = Not Applicable – animals were last dosed during Week 5. NC = Not Calculated; NQ = Not Quantifiable.
NOAEL = No observed adverse effect level (in **bold**).

2.4.6. 参考文献

Reference Report

GlaxoSmithKline Document Number 2019N410329, m4.2.3.7.3
Characterisation of Three Different Primary Human Corneal Epithelial Cell Lines with limited characterisation of renal proximal tubule epithelial cells (MatTek, ScienCell and ATCC), (2019).

Key Literature References

Abes R, Dutertre C, Agnelli L, Teillaud J. Activating and inhibitory Fcγ receptors in immunotherapy: being the actor or being the target. Expert Rev Clin Immunol. 2009;5:735-47.

Adair J R, Howard P W, Hartley J A, Williams D G, and Chester K A. Antibody-drug conjugates - a perfect synergy. Expert Opinion on Biological Therapy. 2012;12:1191–1206.

Adcetris. Product Information: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/125388s000,125399s000lbl.pdf. 2011.

Adcetris. Product Monograph: https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00045998.PDF. 2018.

Alley S C, Benjamin D R, Jeffrey S C, Okeley N M, Meyer D L, Sanderson R J, Senter P D. Contribution of Linker Stability to the Activities of Anticancer Immunoconjugates. Bioconjugate Chemistry. 2008;19:759–765.

Alley S, Zhang X, Okeley N, Anderson M, Law C, Senter P, Benjamin D. The pharmacologic basis for antibody-auristatin conjugate activity. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2009;330:932-38.

Blade J, Kyle R A, and Greipp P R, Multiple Myeloma in Patients Younger Than 30 Years. Report of 10 cases and review of the literature; Cases and Review of the Literature. Archives of Internal Medicine, 1996;156, 1463-1468.

Blimark C H, Turesson I, Genell A, Ahlberg L, Björkstrand B, Carlson K et al. Outcome and survival of myeloma patients diagnosed 2008-2015. Real-world data on 4904 patients from the Swedish Myeloma Registry. Haematologica. 2018;103(3):506–513.

Brennan F R, Morton L D, Spindeldreher S, Kiessling A, Allenspach R, Hey A et al. Safety and immunotoxicity assessment of immunomodulatory monoclonal antibodies. MAbs. 2010 May-Jun; 2(3): 233–255.

Brown L, Pasquale S, Longmore W. Role of microtubules in surfactant secretion. Journal of Applied Physiology. 1985;58:1866-73.

Bugelski P J, Achuthanandam R, Capocasale R J, Treacy G, Bouman-Thio E. Monoclonal antibody-induced cytokine-release syndrome. Expert Review of Clinical Immunology. 2009 Sep;5(5):499-521.

Coquery C M, Erickson L D. Regulatory roles of the tumor necrosis factor receptor BCMA. Critical Reviews in Immunology. 2012;32(4):287-305.

Cohen A D, Popat R, Trudel S, Richardson P G, Libby E N, Lendvai N et al. First in human study with GSK2857916, an antibody drug conjugated to microtubule-disrupting agent directed against B-cell maturation antigen (BCMA) in patients with relapsed/refractory multiple myeloma (MM): Results from study BMA117159 Part 1 dose escalation. Blood 2016;128 (22):1148.

Coutant DE, Boulton DW, Dahal UP, Deslandes A, Grimaldi C, Pereira JNS, Säll C, Sarvaiya H, Schiller H, Tai G, Umehara K, Yuan Y, Dallas S. Therapeutic Protein Drug Interactions: A White Paper From the International Consortium for Innovation and Quality in Pharmaceutical Development. Clin Pharmacol Ther. 2023 Jun;113(6):1185-1198.

Creasy D. Pathogenesis of male reproductive toxicity. Toxicologic Pathology. 2001;29:64-76.

Darce J R, Arendt B K, Wu X, Jelinek D F. Regulated expression of BAFF-binding receptors during human B cell differentiation. Journal of Immunology. 2007;Dec(1);179(11):7276-86.

Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharmaceutical Research, 1993;Jul;10(7):1093-5.

de Queiroz Crusoe E Q, da Silva A M, Agareno J, Chauffaille M L, Bonfim C, Moraes HV. Multiple myeloma: a rare case in an 8-year-old child. Clinical lymphoma, myeloma and leukemia. 2015 Jan;15(1):e31-3.

Donaghy H. Effects of antibody, drug and linker on the preclinical and clinical toxicities of antibody-drug conjugates. MAbs, 2016;8(4):659–671.

Doronina, S O, Toki B E, Torgov, M Y, Mendelsohn, B A, Cerveny, C G, Chace D F et al. Development of potent monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy. Nature Biotechnology. 2003;21, 778-784.

Doronina S, Mendelsohn B, Bovee T, Cerveny C, Alley S, Meyer D, et al. Enhanced activity of monomethylauristatin F through monoclonal antibody delivery: effects of linker technology on efficacy and toxicity. Bioconjugate Chemistry. 2006;17:114-24.

Eaton J S, Miller P E, Mannis M J, Murphy C J. Ocular adverse events associated with antibody-drug conjugates in human clinical trials. J of Ocular Pharmacology and Therapeutics, 2015; 31(10): 589-604.

Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon France: International Agency for Research on Cancer CancerBase No. 15. Available from https://gco.iarc.fr/today. Accessed October 3, 2018.

Findlay L, Sharp G, Fox B, Ball C, Robinson C J, Bird C et al. Endothelial cells co stimulate

peripheral blood mononuclear cell responses to monoclonal antibody TGN1412 in culture. Cytokine, 2011;55:141-51.

Frazier K.S, Engelhardt J.A, Fant P, Guionaud S, Henry S.P, Leach M.W, Louden C, Scicchitano M.S, Weaver J.L, Zabka T.S. Scientific and regulatory policy committee points-to-consider paper: Drug-induced vascular injury associated with nonsmall molecule therapeutics in preclinical development: Part I. Biotherapeutics. Toxicologic Pathology, 2015;43:915-34.

Fukui, H., et al. Histamine H1 Receptor Gene Expression and Drug Action of Antihistamines. In: Hattori, Y., Seifert, R. (eds) Histamine and Histamine Receptors in Health and Disease (2016). Handbook of Experimental Pharmacology, vol 241. Springer, Cham.

Furukawa Y, Kikuchi J. Molecular pathogenesis of multiple myeloma. International Journal of Clinical Oncology, 2015;20:413-22.

Galluzzi L, Buque A, Kepp O, Zitvogel L, Kroemer G. Immunogenic cell death in cancer and infectious disease. Nature reviews. Immunology 2017;Feb;17(2):97-111.

Gonzalez, G., Sasamoto, Y., Ksander, B.R., Frank, M.H., Frank, N.Y. Limbal stem cells: identity, developmental origin, and therapeutic potential. Wiley Interdisciplinary Reviews Developmental Biology. 2018;7(2):e303.

Hall W, Price-Schiavi S, Wicks J and Rojko J L. Tissue Cross-Reactivity Studies for Monoclonal Antibodies: Predictive Value and Use for Selection of Relevant Animal Species for Toxicity Testing. In: Cavagnaro JA, editor. Preclinical Safety Evaluation of Biopharmaceuticals: A Science-Based Approach to Facilitating Clinical Trials. Wiley-Interscience, 2008:208-40.

Han T H and Zhao B. Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion Considerations for the Development of Antibody-Drug Conjugates. Drug Metabolism and Disposition, 2014;42:1914-1920.

Harris R. Marx G, Gillett M, Kark A, Arunanthy S. Colchicine-induced bone marrow suppression: treatment with granulocyte colony-stimulating factor. Journal of Emergency Medicine, 2000;18: 435-40.

Hinrichs M J, Dixit R. Antibody Drug Conjugates: Nonclinical Safety Considerations. AAPS J. 2015:Sep;17(5): 1055-1064. 2015.

IARC. Vinblastine sulphate, IARC Monograph Eval Carcinog Risk Chem Hum. 1981;26:349-363.

Jain S. A Phase I/II Randomized Placebo-Controlled, Double-Blind, Single-Center, Tolerability and Preliminary Efficacy Clinical Trial of Intravenous Immunoglobulin (IVIG) Eye Drops In Patients with Dry Eye Disease. Clinical Research Protocol. Version: 3.0; 04-09-2019. 2019.

Kronenberg S, Husar E, Schubert C, Freichel C, Emrich T, Lechmann M, et al. Comparative assessment of immune complex-mediated hypersensitivity reactions with biotherapeutics in the non-

human primate: Critical parameters, safety and lessons for future studies. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2017;88:125-137.

Kumar S K, Therneau T M, Gertz M A, Lacy M Q, Dispenzieri A, Rajkumar S V et al. Clinical course of patients with relapsed multiple myeloma. Mayo Clin Proc 2004;79(7):867-874.

Kuo M C, Chang S J and Hsieh M C. Colchicine significantly reduces incident cancer in gout male patients: a 12-year cohort study Medicine, 2015;94:1570.

Laabi Y, Gras MP, Brouet JC, Berger R, Larsen CJ, Tsapis A. The BCMA gene, preferentially expressed during B lymphoid maturation, is bidirectionally transcribed. Nucleic Acids Res. 1994 Apr 11:22(7); 1147-54.

Langat D L, Wheaton DA, Platt J S, Sifers T, Hunt J S. Signaling pathways for B cell-activating factor (BAFF) and a proliferation-inducing ligand (APRIL) in human placenta. American Journal of Pathology. 2008;172(5):1303-1311.

Leach M W, Halpern W G, Johnson C W, Rojko J L, MacLachlan T K, Chan C M, et al. Use of tissue cross-reactivity studies in the development of antibody-based biopharmaceuticals: history, experience, methodology, and future directions. Toxicologic Pathology, 2010;38(7):1138-66.

Lee M, Kwon J, Chung M K. Enhanced prediction of potential rodent carcinogenicity by utilizing comet assay and apoptotic assay in combination. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2003;Nov,10;541(1-2):9-19.

Lin, H-P et al., Identification of novel macropinocytosis inhibitors using a rational screen of Food and Drug Administration-approved drugs. BJP, 2018, 175 p.3640-3655.

Macsai M; Nariani A, Gan H, Lassman A, Merrell R, Gomez E, et al. Corneal Toxicity of ABT-414 in Glioblastoma (GBM): Clinical Manifestations, Ophthalmological Findings and Management. Investigative Ophthalmology and Visual Science. 2016 Sep:26;57(12):269.

Marchetti F, Massarotti A, Yauk CL, Pacchierotti F, and Russo A. The adverse outcome pathway (AOP) for chemical binding to tubulin in oocytes leading to aneuploid offspring. Environmental and Molecular Mutagenesis. 2016;57: 87-113.

Masters J C, Nickens D J, Xuan D, Shazer R L, Amantea M. Clinical toxicity of antibody drug conjugates: a meta-analysis of payloads. Investigational New Drugs. 2018 Feb;36(1):121-135.

Mizuguchi H, Miyamoto Y, Terao T, Yoshida H, Kuroda W, Kitamura Y, Takeda N, Fukui H. Signaling Pathway of Histamine H1 Receptor-Mediated Histamine H1 Receptor Gene Upregulation Induced by Histamine in U-373 MG Cells. Curr Issues Mol Biol. 2021 Sep 24;43(3):1243-1254. doi: 10.3390/cimb43030088. PMID: 34698097; PMCID: PMC8929123.

Moskowitz C H, Fanale M A, Shah B D, Advani R H, Chen R, Kim S, et al. A phase 1 study of

denintuzumab mafodotin (SGN-CD19A) in relapsed/refractory B-lineage non-Hodgkin lymphoma. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts) 2015; 126:182.

Muller P, Martin K, Theurich S, Schreiner J, Savic S, Terszowski G, et al. Microtubule-depolymerizing agents used in antibody-drug conjugates induce antitumor immunity by stimulation of dendritic cells. Cancer Immunology Research, 2014 Aug;2(8):741-55.

Munoz J and Hanbali A. A young patient with multiple myeloma. Blood. 2012;119(13):2979.

Nilsson R, Mårtensson, Eriksson S, Sjögren H, Tennvall J. Toxicity-reducing potential of extracorporeal affinity adsorption treatment in combination with the auristatin-conjugate monoclonal antibody BR96 in a syngeneic rat tumor model. Cancer. 2010;116:1033-42.

Noone A M, Howlader N, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2015. National Cancer Institute. https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/. National Cancer Institute, 2018.

O'Connor B P, Raman V S, Erickson L D, Cook W J, Weaver LK, Ahonen C, et al. BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. Journal of Experimental Medicine. 2004;199(1):91-98.

Rajkumar, S V, Harousseau J L, Durie B, Anderson K C, Dimopoulos M, Kyle R, et al. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. Blood. 2011 May 5;117(18):4691-5.

Reardon D A, Lassman AB, Van Den Bent M, Kumthekar P, Merrell R, Scott AM, et al. Efficacy and safety results of ABT-414 in combination with radiation and temozolomide in newly diagnosed glioblastoma. Neuro-oncology. 2016 Dec 30;19(7):965-75.

Rickert, R C, Jellusova, J and Miletic, A. V. Signaling by the tumor necrosis factor receptor superfamily in B-cell biology and disease. Immunological reviews, 2011;244(1):115-33.

Saber H and Leighton J K. An FDA oncology analysis of antibody-drug conjugates. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2015:71:444–452.

Sanguinetti M C, Chen J, Fernandez D, Kamiya K, Mitcheson J and Sanchez-Chapula J A. Physicochemical basis for binding and voltage-dependent block of hERG channels by structurally diverse drugs. In: The hERG Cardiac Potassium Channel: Structure, Function, and Drug-Induced Long QT Syndrome. West Sussex:J Wiley & Sons, 2005:159-70.

Schrieber S J, Pfuma-Fletcher E, Wang X, Wang Y C, Sagoo S, Madabushi R et al. Considerations for Biologic Product Drug– Drug Interactions: A Regulatory Perspective. Clinical Pharmacology and Therapeutics. 2019; June;105(6):1332-1334.

Shadid M, Bowlin S, Bolleddula J. Catabolism of antibody drug conjugates and characterization

methods. Bioorganic and Medicinal Chemistry. 2017 June;15;25(12):2933-2945.

Shen B Q, Xu K, Liu L, Raab H, Bhakta S, Kenrick M et al. Conjugation site modulates the in vivo stability and therapeutic activity of antibody-drug conjugates. Nature Biotechnology, 2012;30 (2); 184-189.

Smith P, DiLillo DJ, Bournazos S, Li F and Ravetch J. Mouse model recapitulating human Fcγ receptor structural and functional diversity. PNAS. 2012;109:6181-86.

Staudacher A and Brown M. Antibody drug conjugates and bystander killing: is antigen-dependent internalisation required? British Journal of Cancer 2017:117,1736–1742.

Stebbings R, Findlay L, Edwards C, Eastwood D, Bird C, North D et al. “Cytokine storm” in the phase I trial of monoclonal antibody TGN1412: better understanding the causes to improve preclinical testing of immunotherapeutics. Journal of Immunology. 2007;179:3325-31.

Tai Y T and Anderson K C. Targeting B-cell maturation antigen in multiple myeloma. Immunotherapy. 2015;7(11):1187-99.

Tannir N M, Forero-Torres A, Ramchandren R, Pal S K, Ansell S M, Infante JR, et al. Phase I dose-escalation study of SGN-75 in patients with CD70-positive relapsed/refractory non-Hodgkin lymphoma or metastatic renal cell carcinoma. Investigational New Drugs. 2014 Dec 1;32(6):1246-57.

Thompson, J A, Motzer R, Molina A M, Choueiri T K, Heath E I, Kollmannsberger C K, et al. A Phase I studies of anti-ENPP3 antibody drug conjugates (ADCs) in advanced refractory renal cell carcinomas (RRCC). Journal of Clinical Oncology. 2015; 33:2503.

Tian T, Zhu Y L, Zhou Y Y, Liang G F, Wang Y Y, Hu F H, Xiao Z D. Exosome uptake through clathrin-mediated endocytosis and macropinocytosis and mediating miR-21 delivery. Journal of Biological Chemistry, 2014. 289(32): p. 22258-67.

Trudel, S., Lendvai, N., Popat, R. et al. Antibody–drug conjugate, GSK2857916, in relapsed/refractory multiple myeloma: an update on safety and efficacy from dose expansion phase I study. Blood Cancer Journal. 2019:9, 37.

Tumey L N, Charati M, He T, Sousa E, Ma, D, Han X et al. Mild method for succinimide hydrolysis on ADCs: impact on ADC potency, stability, exposure, and efficacy. Bioconjugate Chemistry. 2014;25:1871-1880.

Tweats D, Eastmond D A, Lynch A M, Elhajouji A, Froetschl R, Kirsch-Volders M, et al. Role of aneuploidy in the carcinogenic process: Part 3 of the report of the 2017 IWGT workgroup on assessing the risk of aneugens for carcinogenesis and hereditary diseases. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2019 Nov:847:403032.

UniProt website. Accessed 1 Aug 2024. https://www.uniprot.org/

Vahle J L. Immunogenicity and immune complex disease in preclinical safety studies. Toxicologic Pathology, 2018; https://doi.org/10.1177/0192623318797070. 2018.

Vargas H M, Bass A S, Breidenbach A, Feldman H S, Gintant G A, Harmer A R et al. Scientific review and recommendations on preclinical cardiovascular safety evaluation of biologics. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2008;58:72-6.

Waight A B, Bargsten K, Doronina S, Steinmetz, M O, Sussman D and Prota A E. Structural Basis of Microtubule Destabilization by Potent Auristatin Anti-Mitotics. PloS one, 2016;11(8) e0160890.

Walker M R, Makropoulos D A, Achuthanandam R, Van Arsdell, S, Bugelski P J. Development of a human whole blood assay for prediction of cytokine release similar to anti-CD28 superagonists using multiplex cytokine and hierarchical cluster analysis. International Immunopharmacology. 2011:11;1697-1705.

Wan H. An overall comparison of small molecules and large biologics in ADME testing. ADMET and DMPK. 2016; 4(1):1-22.

Wang W, Wang E Q, Balthasar J P. Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. Clinical Pharmacology and Therapeutics. 2008; 84(5): 548-558.

Wolska-Washer A, Robak T. Safety and Tolerability of Antibody-Drug Conjugates in Cancer; Drug Safety. 2019 Feb;42(2):295-314.

Zhao H, Atkinson J, Gulesserian S, Zeng Z, Nater J, Ou J et al., Modulation of Macropinocytosis-Mediated Internalization Decreases Ocular Toxicity of Antibody–Drug Conjugates. Cancer Research, 2018;78(8): 2115-26.

Zhou H and Sharma A. Therapeutic protein-drug interactions: plausible mechanisms and assessment strategies. Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology, 2016;(12:11):1323-1331.

Guidelines (Not Provided)

ICH M7(R1) (EMA/CHMP/ICH/83812/2013). Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk. February 2018.

ICH Q6B Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products. September 1999.

International Conference on Harmonisation (ICH), “Guideline on Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals” (ICH S7A).

ICH S6(R1) (EMA/CHMP/ICH/731268/1998) Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals. July 2011.

ICH S9. Harmonised Tripartite Guideline, 2009. EMEA/CHMP/ICH/646107/2008. Nonclinical

Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals.

ICH S9. Implementation Working Group ICH S9 Guideline: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals Questions and Answers. 2016.

ICH S10 (EMA/CHMP/ICH/752211/2012). Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals. December 2013.

ICH S1A (CPMP/ICH/140/95): Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies, December, 1995.

Appendix 1 MODULE 4 SECTIONS WITHOUT STUDY REPORTS

The following provides a brief justification for the absence of studies in certain sections of Module 4.

Module 4 Sections Without Study Reports	Rationale for Omission
m4.2.1.4. Pharmacodynamic Drug Interactions	Pharmacodynamic drug interaction studies were considered unnecessary since belantamab mafodotin is a biologic with high specificity and is very unlikely to affect other pharmacologic targets.
m4.2.2.6. Pharmacokinetic Drug Interactions	No specific studies were conducted to assess the effects of other drugs or extrinsic factors on belantamab mafodotin, total mAb, or cys-mcMMAF pharmacokinetics. Conventional studies to investigate protein binding, whole body distribution, metabolism, excretion and the potential for pharmacokinetic (either metabolic or transporter-mediated) drug-drug interactions were not considered appropriate since belantamab mafodotin is an antibody. Some limited data on distribution/metabolism are available and are presented in Section 3.3 and 3.4 of the Nonclinical Overview. In vitro data suggest that belantamab mafodotin and cys-mcMMAF are unlikely to perpetrate a drug-drug interaction or to be a victim of a drug-drug interaction.
m4.2.2.7 Other Pharmacokinetic Studies	No other pharmacokinetic studies were performed beyond the study reports included in m4.2.2.1, m4.2.2.2, m4.2.2.3, m4.2.2.4 and m4.2.2.5; therefore, this section is not applicable.
m4.2.3.4. Carcinogenicity	Belantamab mafodotin is not believed to possess any direct carcinogenic potential. Indirect effects on carcinogenic potential (e.g. risk of secondary malignancies) is considered low based on current understanding of the lack of association of aneuploidy and cancer risk with tubulin-disrupting aneugens that do not possess other properties linked to carcinogenesis. See Section 4.2.3 of the Nonclinical Overview for a full discussion.
m4.2.3.5.1 Fertility and early embryonic development	Reproductive and developmental toxicity studies have not been conducted, this is in line with the ICH S9 guideline and for cytotoxic drugs such as belantamab mafodotin which target rapidly dividing cells, particularly in the bone marrow and are expected to be embryo/fetotoxic and teratogenic. Discussed in Section 4.2.4 of the Nonclinical Overview.

Module 4 Sections Without Study Reports	Rationale for Omission
m4.2.3.5.2 Embryofetal development	
m4.2.3.5.3 Prenatal and postnatal development	
m4.2.3.5.4 Juvenile toxicity	
m4.2.3.6. Local Tolerance	No separate local tolerance studies have been conducted. IV and SC injection sites were inspected in the toxicology studies, Section 4.2.5
m4.2.3.7.1. Antigenicity	No separate studies were conducted. Immunogenicity was assessed as part of the repeat toxicity studies. These data are discussed in Section 4.2.2 of the Nonclinical Overview.
m4.2.3.7.4 Dependence	There is no known role of BCMA in dependency. Based on the absence of signals in repeat dose toxicity studies, dependence studies were not considered necessary.
m4.2.3.7.5 Metabolites	Belantamab mafodotin is a protein for which the expected metabolic pathway is degradation to small peptides and individual amino acids by ubiquitous proteolytic enzymes. Therefore, the metabolic pathways are well understood, and conventional metabolism and elimination studies are not required for belantamab mafodotin. The chemical and/or biological stability of belantamab mafodotin with respect to release of cys-mcMMAF was investigated in a series of in vitro and in vivo studies and are presented in Section 3.4 of the Nonclinical Overview. No additional toxicological evaluations are considered necessary.
m4.2.3.7.6 Impurities	The belantamab mafodotin drug substance manufacturing process produces material with a high degree of purity. Product- and process-related impurities have been justified in m3. An assessment is presented in Section 4.2.6.8 of the Nonclinical Overview, no additional studies were considered necessary.