目次

2.4.1 非臨床試験計画概略 3
2.4.1.1 背景 3
2.4.1.2 非臨床試験計画 3
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 ヒト正常組織における GPRC5D の発現 7
2.4.2.2 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.3 副次的薬理試験 8
2.4.2.4 サロゲート抗体の毒性試験にカニクイザルを用いることの適切性 8
2.4.2.5 安全性薬理試験 9
2.4.3 薬物動態試験 10
2.4.3.1 薬物動態及び免疫原性 10
2.4.3.2 分布，代謝，排泄及び薬物相互作用 10
2.4.4 毒性試験 11
2.4.4.1 反復投与毒性試験 11
2.4.4.2 生殖発生毒性試験 11
2.4.4.3 局所刺激性試験 12
2.4.4.4 その他の毒性試験 12
2.4.5 総括及び結論 14
2.4.6 参考文献 16

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
ADA	抗薬物抗体（anti-drug antibody）
AUC	血清中濃度－時間曲線下面積（area under the serum concentration versus time curve）
CD3	cluster of differentiation 3
cGPRC5D	カニクイザル GPRC5D（cynomolgus monkey GPRC5D）
CFR	連邦規則集（Code of Federal Regulations）
C_{max}	最高血清中濃度（maximum observed serum concentration）
CRS	サイトカイン放出症候群（cytokine release syndrome）
CYP	チトクローム P450（cytochrome P450）
DNA	デオキシリボ核酸（deoxyribonucleic acid）
EC_{20}	20%有効濃度（20% maximal effective concentration）
EC_{50}	50%有効濃度（half-maximal effective concentration）
FDA	米国食品医薬品局（Food and Drug Administration）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
GPRC5D	G タンパク質共役受容体ファミリーC グループ 5 メンバーD（G protein-coupled receptor family C group 5 member D）
hGPRC5D	ヒトGPRC5D（human GPRC5D）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation）
IFN-γ	インターフェロンγ（interferon gamma）
IgG	免疫グロブリン G（immunoglobulin G）
IHC	免疫組織化学（immunohistochemistry）
IL	インターロイキン（interleukin）
ISH	*in situ* ハイブリダイゼーション（*in situ* hybridization）
mRNA	メッセンジャーRNA（messenger RNA）
NSG	NOD/scid$\gamma_c^{-/-}$
OECD	経済協力開発機構（Organisation for Economic Co-operation and Development）
PAA	プロリン，アラニン，アラニン（proline, alanine, alanine）
PBS	リン酸緩衝食塩液（phosphate buffered saline）
RNA	リボ核酸（ribonucleic acid）
TNF-α	腫瘍壊死因子 α（tumor necrosis factor alpha）
WOE	証拠の重み付け（weight of evidence）

2.4.1 非臨床試験計画概略

2.4.1.1 背景

トアルクエタマブは，多発性骨髄腫細胞上に発現する GPRC5D 及び T 細胞上に発現する CD3 を標的とするヒト化 IgG4-PAA 二重特異性抗体であり，多発性骨髄腫の治療薬として開発している。トアルクエタマブは，CD3 陽性 T 細胞を GPRC5D 発現細胞近傍に動員することで T 細胞を活性化し，GPRC5D 発現多発性骨髄腫細胞に対する傷害を誘導する（図 2.4.1-1）。トアルクエタマブによる T 細胞活性化は，T 細胞上の T 細胞受容体の抗原特異性に依存せず，抗原提示細胞上の MHC クラス I 分子非拘束的に誘導される。

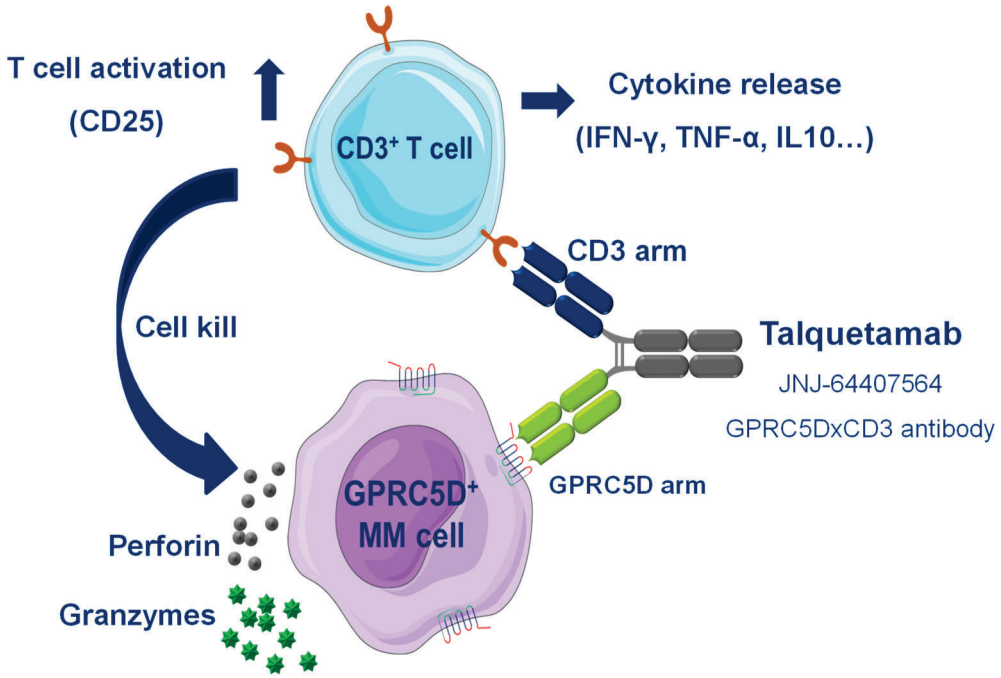


図 2.4.1-1 トアルクエタマブの作用機序

CD3 = cluster of differentiation 3; CD25 = cluster of differentiation 25; GPRC5D = G protein-coupled receptor family C group 5 member D; IFN-γ = interferon gamma; IL-10 = interleukin-10; MM = multiple myeloma; TNF-α = tumor necrosis factor alpha

GPRC5D は多発性骨髄腫細胞に発現するが，正常組織での発現は主に形質細胞，皮膚の毛包及び汗腺，並びに舌の糸状乳頭に限定される。このことから，GPRC5D は多発性骨髄腫の治療標的となり得る。

CD3 陽性 T 細胞を動員する免疫療法の有用性は臨床的に確認されており，二重特異性 T 細胞誘導薬及びキメラ抗原受容体 T 細胞を含む複数の T 細胞免疫療法が多発性骨髄腫患者において高い有効性を示している（Huehls 2015; Strohl 2019）。

2.4.1.2 非臨床試験計画

トアルクエタマブの非臨床プログラムは，ICH S9，S6 (R1)，M3 (R2)，S7A，S3A 及び S5 (R3) に従って実施した。全ての非臨床試験は，最良の科学的原則に従い実施され，重要な安全性試験

は，FDA の GLP 規則 21 CFR Part 58 及び OECD 加盟国における OECD の GLP 原則を遵守して実施した。

非臨床試験は，1）トアルクエタマブの作用機序及び薬理作用の評価，並びに毒性試験に用いる薬理学的に適切な動物種を特定すること，2）薬物動態／トキシコキネティクス及び免疫原性を評価すること，及び 3）トアルクエタマブに関連する潜在的な毒性を評価することを目的に実施した。GLP 適用及び試験施設情報を含む薬理，薬物動態及び毒性試験の概要は，それぞれ【2.6.3.1，2.6.5.1 及び 2.6.7.1】に示す。

2.4.1.2.1 薬理試験

効力を裏付ける試験

広範な *in vitro* 及び *in vivo* 試験でトアルクエタマブの作用機序及び薬理作用を検討した。*In vitro* 試験では，ヒト正常組織における GPRC5D の発現，ヒト全血及び多発性骨髄腫細胞株に対するトアルクエタマブの結合，並びに複数の GPRC5D 発現細胞株又は多発性骨髄腫患者の骨髄腫細胞に対するトアルクエタマブの細胞傷害活性及び T 細胞活性化作用を評価した。*In vivo* 試験では，GPRC5D を発現するヒト多発性骨髄腫細胞株を異種移植したマウスモデルを用いて，トアルクエタマブの抗腫瘍効果を評価した。

薬理学的に適切な動物種の同定及びサロゲート抗体の作製

トアルクエタマブの毒性試験に用いる薬理学的に適切な動物種を同定するため，配列相同性，標的結合親和性及び *in vitro* 機能活性を動物種間で比較した。トアルクエタマブは，非臨床動物種に対する交差反応性を示さなかったことから，薬理学的に適切な動物種を特定することはできなかった。そのため，cGPRC5D に結合し，機能活性を示すサロゲート抗体（JNJ-64024701；トアルクエタマブと同じ CD3 結合アームを有するが GPRC5D 結合アームは異なる）を開発した。cGPRC5D 発現細胞に対する JNJ-64024701 の結合親和性及び *in vitro* 機能活性は，hGPRC5D 発現細胞に対するトアルクエタマブの結合親和性及び *in vitro* 機能活性と同程度であった。これらのデータに基づき，GPRC5D×CD3 二重特異性抗体のハザードを特定する上で，JNJ-64024701 は適切なサロゲート抗体であると判断した（2.4.2.4）。

副次的薬理試験及び安全性薬理試験

副次的薬理試験では，*in vitro* ヒト細胞膜タンパク質アレイを用いて，トアルクエタマブの標的結合特異性を評価した。安全性薬理評価は，ICH S6(R1)，S7A 及び S9 に従い，サロゲート抗体（JNJ-64024701）を用いたカニクイザルの 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験（GLP）に，心血管系，呼吸系及び中枢神経系の評価項目を組み込んで実施した。

2.4.1.2.2 薬物動態試験

カニクイザルにおけるトアルクエタマブの薬物動態／トキシコキネティクスプロファイルは，単回静脈内投与薬物動態試験（ADA 評価を含む）及び探索的な週 1 回 4 週間反復静脈内投与忍容性試験で評価した。

カニクイザルにおけるサロゲート抗体（JNJ-64024701）のトキシコキネティクスプロファイルは，探索的な週 1 回 2 週間反復静脈内投与忍容性試験（非 GLP）及び週 1 回 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験（GLP）（ADA 評価を含む）において評価した。

トアルクエタマブは分子量が約 147 kDa の IgG ベースの抗体であるため，ICH S6 (R1)に従い，分布，代謝，排泄及び薬物相互作用に関する非臨床試験は実施しなかった。

2.4.1.2.3 毒性試験

トアルクエタマブは cGPRC5D に対する結合親和性が非常に低く，カニクイザルを用いた探索的 4 週間反復静脈内投与忍容性試験において，トアルクエタマブ投与に関連した有害作用は認められず，明らかな薬力学的作用も認められなかった。トアルクエタマブの毒性評価に用いる薬理学的に適切な動物種を特定できなかったことから，カニクイザルで薬理学的に活性を有すると考えられるサロゲート抗体（JNJ-64024701）を用い，2 週間反復静脈内投与忍容性試験及び 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験を実施した。JNJ-64024701 のカニクイザルを用いた 1 カ月間反復投与毒性試験では，標準的な毒性学的評価に加えて，安全性薬理評価（心血管系，呼吸系及び中枢神経系）及び ADA の評価を組み込んだ。臨床投与経路は皮下投与であるため，局所刺激性評価としてウサギを用いた単回皮下投与局所刺激性試験を実施した。ウサギ CD3 とヒト CD3 の配列相同性が低いため，ウサギはトアルクエタマブの毒性を評価する上で薬理学的に適切な動物種ではない。しかしながら，ウサギは局所刺激性試験に汎用される動物種であり，全身毒性は一般に皮下投与よりも高曝露が期待される静脈内投与により評価していることから，当該試験において第 1/2 相試験用製剤を用いて皮下投与における局所忍容性のみを評価した。*In vitro* 毒性試験として，ヒト組織交差反応性，ヒト血清適合性，ヒト溶血性，及びヒト血液におけるサイトカイン放出を実施した。

カニクイザルを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験は，以下の理由により実施しなかった。

- トアルクエタマブ単回投与薬物動態試験では 50%以上，JNJ-64024701 を用いた 1 カ月間反復投与毒性試験においては 80%以上の動物で ADA が発現し，それに伴う曝露量低下が認められたことから，長期間の毒性試験において曝露量の維持が困難と予想されたこと。
- JNJ-64024701 を用いたカニクイザルの 1 カ月間反復投与毒性試験において薬力学的作用がほとんど認められず，これは正常サルにおいて GPRC5D を発現する形質細胞の量が少ないこと（Carter 2017）に起因すると考えられること。
- いずれの試験でも明らかな毒性所見は認められず，JNJ-64024701 の 1 カ月間反復投与毒性試験でも有害な作用は認められなかった。さらに，トアルクエタマブのヒトにおける安全性プロファイルは 64407564MMY1001 試験【2.5.5.3】で明らかにされており，一連の *in vitro* 及び *in vivo* 非臨床試験で既に得られている情報を上回るヒトのリスク評価に有用な情報は得られないと考えられたこと。

トアルクエタマブの遺伝毒性及びがん原性を評価する試験は実施しなかった。ICH S6 (R1)では，従来の医薬品について通常実施されてきた遺伝毒性試験は，バイオテクノロジー応用医薬品に対しては必要とされないこと，ICH S9 では，進行がん患者の治療を目的とした医薬品の製造

販売承認申請には，がん原性試験は必要とされないことが示されている。また，トアルクエタマブのような抗体医薬品は，分子量が大きいため，正常な細胞の細胞膜や核膜を通過して DNA や他の染色体成分と相互作用するとは考えにくい。

トアルクエタマブは進行がん患者の治療を目的として開発しているバイオテクノロジー応用医薬品であるため，ICH S9，S6 (R1)及び S5 (R3)に基づき，受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，並びに出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった。胚・胎児発生毒性のリスクについては，対象患者集団，組織における GPRC5D の発現プロファイル，胚発生における GPRC5D の役割，CD3 リダイレクト分子の作用機序に基づく潜在的リスク，カニクイザルを用いた毒性試験，並びに ADA の発現及び胎児への潜在的曝露に関する公表文献を考慮した WOE に基づき評価した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 ヒト正常組織における GPRC5D の発現

GPRC5D は，ファミリーC の G タンパク質共役受容体に分類される 7 回膜貫通型受容体タンパク質であり，リガンド及びシグナル伝達機構が解明されていないオーファン受容体である（Bräuner-Osborne 2001）。*GPRC5D* mRNA は，主に形質細胞表現型を有する細胞に発現し，多発性骨髄腫患者の悪性形質細胞でも高発現している（Atamaniuk 2012; Frigyesi 2014; Pillarisetti 2020）。*GPRC5D* mRNA の発現量は，健康ドナーの形質細胞と比較して多発性骨髄腫患者の悪性形質細胞で高く，また，特定の遺伝子異常（Rb-1 遺伝子欠損及び t(4; 14)転座）と正に相関する（Atamaniuk 2012，4.2.1.1.8/DD[redacted]024）。

公表文献及び公開データ，社内データベース，並びに組織切片を用いたタンパク質（IHC）及び RNA（ISH）発現解析により，ヒト正常組織における GPRC5D の発現を検討した。その結果，GPRC5D は形質細胞，並びに皮膚及び舌などの角化した上皮細胞に限定して発現することが示唆された【2.6.2.2.1.2】。

ISH では，脳幹（延髄）の下オリーブ核の運動ニューロンにおいて低レベルの *GPRC5D* RNA が検出されたが，IHC では小脳，脳幹（延髄），上衣細胞及び脈絡叢において GPRC5D タンパク質は認められなかった。このことと一致して，Smith（2019）らの報告でも脳における GPRC5D タンパク質の発現は認められなかった【2.6.2.2.1.2】。

以上，GPRC5D は骨髄腫細胞で高発現するが，ヒト正常組織における GPRC5D の発現は形質細胞及び特定の細胞（皮膚の毛包及び汗腺，舌の糸状乳頭）に限られていることから，多発性骨髄腫のような形質細胞疾患に対する治療において適切な標的であると考えられる。

2.4.2.2 効力を裏付ける試験

In vitro 及び *in vivo* 薬理試験結果から，トアルクエタマブはヒト GPRC5D 発現細胞特異的に T 細胞介在性の細胞傷害を誘導する二重特異性抗体であることが示された。

一連の *in vitro* 試験において，トアルクエタマブの標的結合，並びに細胞傷害，T 細胞活性化及びサイトカイン放出の誘導能を検討した。トアルクエタマブは，GPRC5D を発現するヒト多発性骨髄腫細胞株（H929，MM.1R 及び OPM-2）に濃度依存的に結合したが，GPRC5D 陰性細胞株（NALM-6 及び Daudi）には結合しなかった。標的細胞にがん細胞株，エフェクター細胞に健康ドナー由来 T 細胞を用いた共培養試験で，トアルクエタマブは GPRC5D 発現多発性骨髄腫細胞株に対して濃度依存的な細胞傷害を誘導し，H929，MM.1R 及び OPM-2 に対する平均 EC_{50} 値は，それぞれ 0.057，0.015 及び 0.214 nmol/L であった。同時に，トアルクエタマブは T 細胞の活性化を強力に誘導し，H929，MM.1R 及び OPM-2 と共培養したときの平均 EC_{50} 値は，それぞれ 0.082，0.014 及び 0.288 nmol/L であった。一方，GPRC5D 陰性細胞株との共培養，又は標的細胞の非存在下ではトアルクエタマブの T 細胞活性化作用は認められなかったことから，当該作用は GPRC5D 特異的であることが示された【2.6.2.2.1.3，2.6.2.2.1.4】。

よりヒト生体内を反映すると考えられる複数のモデルを用いてトアルクエタマブの機能活性を評価した。エフェクター細胞の供給源として全血を用いたモデルにおいて，トアルクエタマブは GPRC5D 発現細胞株（H929）に対して，細胞傷害（EC_{50} = 0.389 nmol/L）及び T 細胞活性化（EC_{50} = 0.236 nmol/L）を誘導した。また，標的細胞として多発性骨髄腫患者由来の骨髄単核細

胞を用いた *ex vivo* モデルにおいても，トアルクエタマブは骨髄腫細胞に対して，細胞傷害（EC_{50} = 0.124 nmol/L）及び T 細胞活性化（EC_{50} = 0.061 nmol/L）を誘導した。上記の *in vitro* 試験系において，陰性対照抗体（null×CD3 及び GPRC5D×null）は明らかな細胞傷害及び T 細胞活性化を誘導しなかったことから，トアルクエタマブが機能活性を発揮するには T 細胞及び標的発現細胞の両者に結合する必要があることが示された【2.6.2.2.1.5，2.6.2.2.1.6】。

BCMA を欠損する多発性骨髄腫細胞株（BCMA 標的治療に対する耐性機序の一つ）に対するトアルクエタマブの細胞傷害活性を評価した。トアルクエタマブは，BCMA 欠損多発性骨髄腫細胞株に対して濃度依存的な T 細胞介在性の細胞傷害を誘導し，野生型 H929（BCMA 及び GPRC5D 発現）及び H929-BCMA-KO（GPRC5D 発現）に対する平均 EC_{50} 値は，それぞれ 0.243 及び 0.761 nmol/L であった【2.6.2.2.1.8】。

ヒト末梢血単核球又は T 細胞を移植した NSG マウスを用いた GPRC5D 発現多発性骨髄腫マウスモデル（予防及び治療モデル）で，トアルクエタマブの *in vivo* 抗腫瘍効果を評価した。H929 の皮下移植と同時に被験薬の投与を開始した予防モデルにおいて，トアルクエタマブ（0.05 及び 0.5 mg/kg）は腫瘍形成及び増殖を完全に抑制した。MM.1S を皮下移植し，腫瘍の生着を確認後に被験薬の投与を開始した治療モデルにおいて，トアルクエタマブは用量依存的な抗腫瘍効果を示し，PBS 投与群と比較して 0.05，0.5 及び 2.5 mg/kg で腫瘍増殖をそれぞれ 65%，100%及び 100%抑制した。試験終了時点において 0.5 及び 2.5 mg/kg では全例（10 例/群）の腫瘍が消失した。陰性対照抗体（null×CD3 及び GPRC5D×null）では明確な抗腫瘍効果は認められなかった【2.6.2.2.2】。

2.4.2.3 副次的薬理試験

In vitro ヒト細胞膜タンパク質アレイにおいて，トアルクエタマブの GPRC5D 結合アームは GPRC5D にのみ結合し，オフターゲット結合は認められなかった【2.6.2.3】。このことから，トアルクエタマブによるオフターゲット作用のリスクは低いことが示唆された。

2.4.2.4 サロゲート抗体の毒性試験にカニクイザルを用いることの適切性

カニクイザルを用いて，GPRC5D×CD3 サロゲート二重特異性抗体（JNJ-64024701）の毒性試験を実施した。

カニクイザル CD3ε は，ヒト CD3ε の細胞外ドメインと比較して 88%の配列相同性を有し，JNJ-64024701（トアルクエタマブと同一の CD3 結合アームを有する）のエピトープ部位の配列は完全に保存されている。そのため，JNJ-64024701 はカニクイザル CD3 に交差反応性を示した。一方，マウス，ラット，モルモット及びブタの CD3ε のヒトに対する配列相同性は 65%以下で，JNJ-64024701 のエピトープ部位の配列はほとんど保存されていないことから，JNJ-64024701 はこれらの動物種の CD3 に交差反応性を示さないと考えられる【2.6.2.2.3】。

cGPRC5D に対するトアルクエタマブの結合は非常に弱く，cGPRC5D 発現細胞に対するトアルクエタマブの *in vitro* 機能活性（T 細胞活性化及び細胞傷害活性）は，hGPRC5D 発現細胞に対する活性と比較して約 100 倍弱かった。一方，JNJ-64024701 は cGPRC5D に結合し，結合親和性（K_d）は hGPRC5D に対するトアルクエタマブの K_d 値と同程度であった。同様に，cGPRC5D 発現細胞を用いた共培養試験において，JNJ-64024701 は *in vitro* 機能活性（T 細胞活性化及び細胞

傷害活性）を誘導し，当該活性（EC_{50}）は，hGPRC5D 発現細胞に対するトアルクエタマブの機能活性の EC_{50} 値と同程度であった（表 2.4.2-1）。

以上のことから，カニクイザルを用いた JNJ-64024701 の毒性試験により GPRC5D×CD3 二重特異性抗体のハザードを適切に評価することが可能と判断した【2.6.2.2.3】。

表 2.4.2-1 ヒト又はカニクイザルの GPRC5D に対するトアルクエタマブ又は JNJ-64024701 の結合親和性及び機能活性

Antibody	Binding Affinity (K_d) to GPRC5D (nM)		Cytotoxicity EC_{50} (nM)[a]		T Cell Activation EC_{50} (nM)[a]	
	Human	Cyno	Human	Cyno	Human	Cyno
Talquetamab (JNJ-64407564)	189 (95% CI: 149-240)	Not determined (saturation not achieved)	0.03	4.01	0.03	1.85
Surrogate antibody (JNJ-64024701)	Not measured	280.6 (95% CI: 199.7-394.1)	0.04	0.12	0.03	0.19

CI = confidence interval; Cyno = cynomolgus monkey; EC_{50} = half-maximal effective concentration; GPRC5D = G Protein-coupled receptor family C group 5 member D; K_d = dissociation constant; nM = nmol/L.

[a] Human indicates the use of human GPRC5D and human T cells; cyno indicates the use of cynomolgus monkey GPRC5D and cyno T cells.

2.4.2.5 安全性薬理試験

ICH S9，S6 (R1)及び S7A に従い，トアルクエタマブ又はサロゲート抗体の独立した安全性薬理試験は実施しなかった。トアルクエタマブの安全性評価に用いる薬理学的に適切な動物種は存在しないことから，GPRC5D×CD3 二重特異性抗体のハザードを特定するために，サロゲート抗体（JNJ-64024701）を用いたカニクイザルの 1 カ月間反復投与毒性試験（GLP）に安全性薬理評価項目（心血管系，呼吸系及び中枢神経系）を組み込んだ。

検討した最高用量の 30 mg/kg/週まで，心血管系パラメータ（心電図，血圧及び心拍数），呼吸系パラメータ（呼吸数）及び中枢神経系パラメータ（一般状態及び体温）に JNJ-64024701 投与に関連した影響は認められなかった。剖検及び病理組織学的検査では，心臓重量に JNJ-64024701 に関連した影響はなく，心臓及び骨格筋に病理組織学的な影響は認められなかった。

他の CD3 リダイレクト分子をカニクイザルに投与した試験ではサイトカイン放出に関連すると考えられる低血圧及び頻脈が認められた（Saber 2017）が，本試験では血中サイトカインの明らかな増加，低血圧及び頻脈は認められなかった。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 薬物動態及び免疫原性

カニクイザルにトアルクエタマブを 0.5 及び 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与した薬物動態試験，並びに 0.5～30 mg/kg の用量で週 1 回反復静脈内投与した探索的な 4 週間忍容性試験において，トアルクエタマブの全身曝露量（C_{max} 及び AUC）は用量にほぼ比例して増加し，明らかな性差は認められなかった。カニクイザルを用いた単回投与薬物動態試験におけるトアルクエタマブの分布容積は 137.37～160.76 mL/kg の範囲であった。カニクイザルにおけるトアルクエタマブの血清中消失半減期は 9～12 日と推定された。

単回静脈内投与薬物動態試験では，トアルクエタマブを投与した 12 例中 8 例が ADA 陽性であった。トアルクエタマブを週 1 回反復静脈内投与した探索的な 4 週間忍容性試験では ADA を評価していないが，12 例中 2 例で血清中トアルクエタマブ濃度が同投与群の他の動物と比較して著しく低く，ADA の存在が示唆された。サロゲート抗体（JNJ-64024701）を用いた 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験では，JNJ-64024701 を投与した 12 例中 10 例で ADA が検出され，いずれも Day 22 の最終投与前の薬物曝露量が低い又は投与後の血清中濃度が速やかに減少した。ただし，動物で ADA の産生が誘導された場合でも，ヒトにおける免疫原性を予測するものではないことが報告されている［ICH S6 (R1)］。64407564MMY1001 試験では，ADA の産生が認められたが，トアルクエタマブの薬物動態に影響を及ぼさないと考えられた【2.7.2.3.1.1】。

2.4.3.2 分布，代謝，排泄及び薬物相互作用

分子量が約 147 kDa の IgG ベースの抗体であるトアルクエタマブは，主に血管内に分布し，細胞間隙へ限定的に分布すると考えられる。

IgG をベースとする抗体であるトアルクエタマブは，内因性 IgG と同様に細網内皮系を介して異化され，ペプチド及びアミノ酸に分解されて消失すると考えられる。

トアルクエタマブは，代謝に基づく直接的な薬物相互作用を受けないと予想される。CYP を介した薬物相互作用は，トアルクエタマブの代謝経路及びその作用機序からは予想されない。ヒトでは CRS が安全性リスクとして特定されており，サイトカインによる CYP のダウンレギュレーションを介した間接的な薬物相互作用が認められる可能性がある【2.7.2.3.3 及び 2.7.2.3.6】。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 反復投与毒性試験

探索的忍容性試験においてカニクイザルにトアルクエタマブを 30 mg/kg までの用量で週 1 回 4 週間静脈内投与したが，トアルクエタマブは明らかな薬力学的作用及び有害作用を示さなかった【2.6.6.3.1】。トアルクエタマブの cGPRC5D への結合親和性が低く，cGPRC5D 発現細胞に対するトアルクエタマブの *in vitro* 機能活性（T 細胞活性化及び細胞傷害活性）は，hGPRC5D 発現細胞と比較して約 100 倍弱いことから，カニクイザルを用いたトアルクエタマブの非臨床毒性試験を実施しても，ヒトのリスク評価に有用な情報は得られないと考えられた。そのため，カニクイザルにおいてトアルクエタマブと同様の薬理学的活性を有するサロゲート抗体（JNJ-64024701）を用いてカニクイザルにおける反復投与毒性試験を実施した。

カニクイザルを用いた JNJ-64024701 の探索的 2 週間忍容性試験及び 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験では，それぞれ 10 mg/kg 及び 30 mg/kg の用量まで JNJ-64024701 を週 1 回反復静脈内投与した結果，30 mg/kg まで忍容性は良好であった【2.6.6.3.2 及び 2.6.6.3.3】。リンパ球数の減少が一過性に認められたが，CD3 リダイレクト分子において一般的に予想される明らかな薬力学的作用（Kamperschroer 2020; Saber 2017）は認められず，有害な作用も認められなかった。カニクイザルの正常組織で GPRC5D 遺伝子の発現が報告されている毛包及び皮膚への影響は認められず，カニクイザルで GPRC5D 発現が認められた爪に関連する一般状態の変化も認められなかった。JNJ-64024701 による薬力学的反応がほとんど認められなかったのは，正常サルにおいて GPRC5D を発現する形質細胞の量が少ないこと（Carter 2017）に起因すると考えられる。

ハザード特定のために実施した正常カニクイザルの毒性試験はサロゲート抗体を用いて実施したことから，推奨臨床用量における曝露量との比較は実施しなかった。正常サルで毒性所見が認められなかったことから，患者におけるトアルクエタマブの安全性を予見する上で，正常カニクイザルを用いた非臨床毒性試験の有用性は限定的と考えられ，患者におけるトアルクエタマブの潜在的な毒性が十分に明らかにされていない可能性がある。

2.4.4.2 生殖発生毒性試験

トアルクエタマブは進行がんの成人患者の治療を目的としているため，ICH S5 (R3)，S6 (R1) 及び S9 に従い，受胎能及び初期胚発生に関する試験，並びに出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験は実施しなかった。受胎能及び初期胚発生に関する試験は実施していないが，JNJ-64024701 を 30 mg/kg までの用量で週 1 回 1 カ月間反復静脈内投与しても，雌雄生殖器に有害な影響は認められなかった【2.6.6.6.1】。

カニクイザルを用いたトアルクエタマブ及び JNJ-64024701 の反復投与試験において薬力学的作用が軽微であり有害な作用が認められないこと，ADA 産生に伴う曝露量減少が認められたことから，カニクイザルを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施したとしてもヒトへの外挿性は限定的と考えられた。このため，胚・胎児発生に関する試験は実施せず，トアルクエタマブの胚・胎児発生並びに出生前及び出生後及び母体の機能については，WOE に基づいてリスクを評価した。以下に WOE 評価の概要を示す。

- 多発性骨髄腫は一般に高齢者に発症し，妊娠可能な女性ではまれである。

- GPRC5D のヒト正常組織における発現は限定的であり，雌雄生殖器での発現は低い，又は全く認められなかった。
- トアルクエタマブは非臨床動物種に対してヒトと同程度の交差反応性を示さないため，トアルクエタマブの毒性試験に用いる薬理学的に適切な動物種は特定することができなかった。
- トアルクエタマブ又は JNJ-64024701 を用いたカニクイザルの反復投与毒性試験において，薬力学的活性はほとんど認められず，雌雄の生殖器も含めて有害な影響は認められなかった。
- トアルクエタマブの単回投与薬物動態試験及び JNJ-64024701 の 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験において，ADA の発現によりトアルクエタマブ及び JNJ-64024701 の曝露量が低下したことから，カニクイザルを用いた胚・胎児発生毒性試験を実施しても，器官形成期を通して十分な薬物曝露量が維持されないと考えられる。
- GPRC5D は生理学的機能が不明のオーファン受容体であり，GPRC5D のノックダウン又はノックアウト動物モデルは報告されていない。また，マウス胚において GPRC5D は発現しておらず，胚発生における GPRC5D の既知の機能はない。
- サイトカイン放出及びサイトカインによる二次的作用などの CD3 リダイレクト分子による既知の薬理作用は，妊婦及び胎児に潜在的リスクをもたらす可能性がある。

以上より，GPRC5D に関連した胎児，妊婦及び授乳中の乳児に対する潜在的リスクは不明であるが，CD3 リダイレクト分子に関連する CRS 及びサイトカインによる二次的作用が妊婦に生じた場合，妊婦又は胎児に悪影響を及ぼす可能性がある【2.6.6.6.2】。

2.4.4.3 局所刺激性試験

ウサギを用いた局所刺激性試験では，[redacted] 試験で使用した 10 mg/mL バイアル入り緩衝液製剤を用いて，皮下投与の忍容性を評価した。雄 New Zealand White ウサギにトアルクエタマブ 20 mg（投与濃度：10 mg/mL，投与容量：2 mL）を単回皮下投与したところ，忍容性は良好であった【2.6.6.7.2】。投与部位に有害な皮膚所見は認められず，剖検及び病理組織学的検査において投与部位及び流入領域リンパ節に影響は認められなかった。

2.4.4.4 その他の毒性試験

ヒト正常組織パネルを用いたビオチン化トアルクエタマブの *in vitro* 組織交差反応性試験では，予期しない交差反応性は認められなかった。ヒトリンパ組織及び非リンパ組織の単核白血球の細胞膜に対する特異的結合は，CD3 への結合に起因すると考えられた【2.6.6.8.6.1】。

健康ヒトドナーの血液を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験（液相法）において，トアルクエタマブは陰性対照と比較して検討した 10 種類のサイトカインのうち 8 種類（IL-1β，IL-2，IL-6，IL-8，IL-10，IL-13，IFN-γ 及び TNF-α）を濃度依存的かつ統計学的に有意に増加させた【2.6.6.8.6.4】。当該試験で算出されたサイトカインの母集団 EC_{20} 推定値は，ヒト正常全血モデルにおける T 細胞活性化に関する EC_{20} 値よりも大きかった【2.6.2.2.1.5】。このことから，GPRC5D を発現する腫瘍細胞（標的細胞）の非存在下では，標的細胞が存在する場合に比べて，正常血液におけるサイトカイン放出のリスクは低いことが示唆される。

ヒト血清を用いた血清適合性試験及びヒト全血を用いた溶血性試験において，10 mg/mL の濃度までトアルクエタマブは血清の沈殿や溶血を示さず，血液適合性が確認された【2.6.6.8.6.2 及び 2.6.6.8.6.3】。

2.4.5 総括及び結論

トアルクエタマブは，GPRC5D 及び CD3 を標的とするヒト化 IgG4-PAA 二重特異性抗体である。トアルクエタマブは，CD3 陽性 T 細胞を GPRC5D 発現細胞近傍に動員することで T 細胞を活性化し，GPRC5D 発現細胞に対する傷害を誘導する。このことから，GPRC5D を発現する多発性骨髄腫に対する有効な治療法となる可能性がある。

カニクイザルを用いた単回静脈内投与薬物動態試験及び週 1 回 4 週間反復静脈内投与忍容性試験において，トアルクエタマブの全身曝露量（C_{max} 及び AUC）は，ほぼ用量に比例して増加し，明らかな性差は認められなかった。

IgG ベースの抗体であるトアルクエタマブは，生体内でペプチド及びアミノ酸に分解され消失すると考えられる。ICH S6 (R1)に従い，分布，代謝及び排泄試験は実施しなかった。

毒性試験で一般的に使用される動物種に対するトアルクエタマブの交差反応性が低いため，ハザードを特定するためのカニクイザルを用いた 1 カ月間反復静脈内投与毒性試験（安全性薬理評価及び ADA の評価を含む）は，サロゲート抗体（JNJ-64024701）を用いて実施した。カニクイザルに JNJ-64024701 を 30 mg/kg までの用量で週 1 回 4 週間反復静脈内投与したときの忍容性は良好であり，リンパ球数の減少が一過性に認められたが，CD3 リダイレクト分子において一般的に予想される明らかな薬力学的作用は認められず，有害な作用も認められなかった。これは正常カニクイザルにおける GPRC5D を発現する形質細胞の量が少ないことによると考えられる。したがって，多発性骨髄腫患者におけるトアルクエタマブの安全性を予見する上で，正常カニクイザルを用いた非臨床毒性試験の有用性は限定的であり，患者におけるトアルクエタマブの潜在的な毒性が十分に明らかにされていない可能性がある。

トアルクエタマブ又は JNJ-64024701 を用いた 3 カ月間毒性試験及び生殖発生毒性試験は実施しなかった。その理由として，1）トアルクエタマブ及び JNJ-64024701 を投与したカニクイザルを用いた反復投与毒性試験において，薬力学的活性及び有害作用がほとんど認められなかったこと，2）トアルクエタマブについては単回投与薬物動態試験で投与した動物の 50%以上，JNJ-64024701 については 1 カ月間反復投与毒性試験で投与した動物の 80%以上において ADA の産生が認められ，曝露量の減少も認められたことから，カニクイザルを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験又は生殖発生毒性試験の期間を通して十分な曝露量が維持される可能性は低いと考えられたこと，3）他に毒性試験に用いる薬理学的に適切な動物種がいないこと，4）トアルクエタマブのヒトにおける安全性プロファイルは，64407564MMY1001 試験【2.5.5.3】で明らかにされていることが挙げられる。

WOE 評価に基づくと，GPRC5D に関連する胎児，妊婦及び授乳中の乳児に対する潜在的リスクは不明である。しかし，CD3 リダイレクト分子に関連する CRS 及びサイトカインによる二次的作用が妊婦に生じた場合，妊婦又は胎児に悪影響を及ぼす可能性があるため，胚・胎児発生に関するリスクについて添付文書で適切に注意喚起する。

第 1/2 相試験用製剤と同様の成分組成のトアルクエタマブ製剤をウサギに皮下投与，又はカニクイザルに静脈内投与したとき，投与部位に有害な変化は認められず，忍容性は良好であった。市販用製剤における[redacted]及び[redacted]は，当該試験で使用した製剤中の濃度よりもわずかに[redacted]だが，他の抗体医薬品の皮下投与製剤で使用されている範囲内であることから

（Strickley 2021; Wang 2021），これらの成分の皮下投与における忍容性について懸念は低いと考えられる。

In vitro 試験では，トアルクエタマブは 10 mg/mL の濃度までヒト血液及び血清と適合性を示した。ヒト正常組織パネルを用いた組織交差反応性試験において，予期しない交差反応性は認められなかった。ヒト血液を用いた *in vitro* サイトカイン放出試験（液相法）において，トアルクエタマブは 8 種類（IL-1β，IL-2，IL-6，IL-8，IL-10，IL-13，IFN-γ 及び TNF-α）のサイトカイン放出を陰性対照と比較して濃度依存的かつ統計学的に有意に増加させた。トアルクエタマブの薬理作用は，腫瘍微小環境への T 細胞の動員及び活性化，並びに細胞傷害性サイトカインの放出に基づくものであり，サイトカイン放出は，CD3 二重特異性抗体の既知のリスクである（Saber 2017）。臨床試験においてサイトカイン放出に関連する有害事象として CRS が認められていることから，添付文書で適切に注意喚起する。

非臨床毒性試験は最良の科学的原則及び各種ガイダンスに従って実施したが，トアルクエタマブ又は JNJ-64024701 を用いた非臨床試験の多くは，多発性骨髄腫患者の安全性に関する直接的な情報を提供するものではなかった。しかしながら，CD3 リダイレクト分子の作用機序，組織における GPRC5D 発現のプロファイル（2.4.2.1），並びに 64407564MMY1001 試験【2.5.5.3】及び 64407564MMY1003 試験【2.5.5.4】の結果を総合的に判断すると，患者に対するトアルクエタマブ投与に関連する潜在的なリスクが示唆される。これらのリスクとして，CRS，神経系有害事象，GPRC5D を発現する正常細胞への傷害に関連する爪の脱落や変化，及び皮膚又は毛髪の所見，GPRC5D 発現との関連性は不明ではあるが口腔毒性（味覚障害及び口内乾燥を含む）を生じる可能性がある。また，CD3 を標的とする二重特異性抗体に関連する一般的なリスクとして，全身性投与関連反応，免疫関連有害事象及び腫瘍崩壊症候群などが挙げられる。

以上の非臨床薬理，薬物動態及び毒性評価から，トアルクエタマブは再発又は難治性の多発性骨髄腫患者に対する有効な GPRC5D 標的免疫療法であることが示唆され，患者にトアルクエタマブを皮下投与抗腫瘍薬として使用することを支持するものであった。

2.4.6 参考文献

Atamaniuk J, et al. Overexpression of G protein-coupled receptor 5D in the bone marrow is associated with poor prognosis in patients with multiple myeloma. Eur J Clin Invest. 2012;42(9):953-60.

Bräuner-Osborne H, et al. Cloning and characterization of a human orphan family C G-protein coupled receptor GPRC5D. Biochim Biophys Acta. 2001;1518(3):237-48.

Carter CM, et al. Cytological Bone Marrow Cell Differential Counts and Morphologic Findings in Healthy Cynomolgus Monkeys (Macaca fascicularis) from Nonclinical Toxicology Studies. Toxicol Pathol. 2017;45(2):267-74.

Frigyesi I, et al. Robust isolation of malignant plasma cells in multiple myeloma. Blood. 2014;123(9):1336-40.

Huehls AM, et al. Bispecific T cell engagers for cancer immunotherapy. Immunol Cell Biol. 2015;93(3):290-6.

Kamperschroer C, et al. Summary of a workshop on preclinical and translational safety assessment of CD3 bispecifics. J Immunotoxicol. 2020;17(1):67-85.

Pillarisetti K, et al. A T-cell-redirecting bispecific G-protein-coupled receptor class 5 member D x CD3 antibody to treat multiple myeloma. Blood. 2020;135(15):1232-43.

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

Smith EL, et al. GPRC5D is a target for the immunotherapy of multiple myeloma with rationally designed CAR T cells. Sci Transl Med. 2019;11(485):eaau7746.

Strickley RG, et al. A review of formulations of commercially available antibodies. J Pharm Sci. 2021;110(7):2590-608.

Strohl WR, et al. Bispecific T-cell redirection versus chimeric antigen receptor (CAR)-T cells as approaches to kill cancer cells. Antibodies (Basel). 2019;8(3):41.

Wang SS, et al. US FDA-approved therapeutic antibodies with high-concentration formulation: summaries and perspectives. Antib Ther. 2021;4(4):262-73.