イムルリオ錠 200mg

2.6.1　緒言

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.1　緒言 1

2.6.1　緒言

第 2.2 項参照

イムルリオ錠 200mg

2.6.2　薬理試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.2　薬理試験の概要文 1
2.6.2.1　まとめ 1
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 3
2.6.2.2.1　In vitro 試験 3
2.6.2.2.1.1　完全長ヒト野生型 ERα、変異型 ERα、及び野生型 ERβ に対するイムルネストラントの in vitro 結合活性 3
2.6.2.2.1.2　ヒト核内ホルモン受容体に対するイムルネストラントの in vitro 選択性 3
2.6.2.2.1.3　細胞内の野生型（ESR1-WT）及び変異型（ESR1-Y537N、ESR1-Y537S）ERα に対するイムルネストラントの分解作用 4
2.6.2.2.1.4　ESR1 野生型及び変異型 MCF7 細胞でのイムルネストラントの ERα に対する機能的拮抗作用 5
2.6.2.2.1.5　ESR1 野生型 MCF7 乳癌細胞での ERα を介した遺伝子転写に対するイムルネストラントの阻害作用 6
2.6.2.2.1.6　ESR1 野生型及び変異型乳癌細胞の増殖に対するイムルネストラントの in vitro 阻害作用 7
2.6.2.2.1.7　ER 陽性乳癌細胞株でのアベマシクリブとの in vitro 併用効果 9
2.6.2.2.1.8　代謝物の in vitro 薬理活性 10
2.6.2.2.2　In vivo 試験 11
2.6.2.2.2.1　ESR1 野生型乳癌異種移植モデル及び ESR1 変異型（ESR1-Y537S）乳癌 PDX モデルでのイムルネストラントの in vivo 標的阻害作用 11
2.6.2.2.2.2　ESR1 野生型乳癌異種移植モデル及び ESR1 変異型乳癌 PDX モデルでのイムルネストラントの in vivo 腫瘍増殖抑制作用 14
2.6.2.2.2.3　マウスの MCF7-fLuc 乳癌脳移植モデルでのイムルネストラントの in vivo 腫瘍増殖抑制作用 18
2.6.2.2.2.4　乳癌細胞株又は患者由来の ER 陽性乳癌異種移植モデルにイムルネストラントとアベマシクリブを併用投与したときの in vivo 腫瘍増殖抑制作用 19
2.6.2.3　副次的薬理試験 25
2.6.2.3.1　In vitro 試験 25
2.6.2.3.1.1　イムルネストラントの in vitro 選択性 25
2.6.2.3.2　In vivo 試験 28
2.6.2.3.2.1　ラットにイムルネストラントを投与したときの子宮重量に対する影響 28
2.6.2.4　安全性薬理試験 28
2.6.2.4.1　心血管系 29
2.6.2.4.1.1　hERG 電気生理学的パッチクランプアッセイ（GLP 適用） 29
2.6.2.4.1.2　Nav1.5 電気生理学的パッチクランプアッセイ（非 GLP 適用） 29
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用 29
2.6.2.6　考察及び結論 29
2.6.2.7　図表 32
2.6.2.8　参考文献 32

2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

エストロゲン受容体 1（Estrogen Receptor 1：ESR1）遺伝子にコードされるエストロゲン受容体（estrogen receptor：ER）αは ER 陽性かつヒト上皮成長因子受容体 2 陰性（human epidermal growth factor receptor 2 negative：HER2 陰性）乳癌の主要なドライバーである。また、ESR1 遺伝子の体細胞変異は、ER 陽性乳癌の内分泌療法（endocrine therapy：ET）に対する獲得耐性の主要なドライバーとして認識されている(Ring and Dowsett 2004; Robinson et al. 2013; Toy et al. 2013; Jeselsohn et al. 2015)。ほとんどの ER 陽性乳癌では、ET に対する耐性が発現した場合でも、ER 及びその下流シグナル伝達経路は重要な治療標的である。

ER シグナル伝達を阻害する既存の ET には以下のものがある。

- 選択的エストロゲン受容体モジュレーター（selective estrogen receptor modulator：SERM、タモキシフェン）：組織特異的に混合性の ER 作動活性及び拮抗活性を示す
- アロマターゼ阻害薬（aromatase inhibitor：AI、レトロゾール、アナストロゾール、エキセメスタン）：全身でのアンドロゲンからエストロゲンへの変換を抑制する
- 選択的エストロゲン受容体分解薬（selective estrogen receptor degrader：SERD、フルベストラント及び elacestrant）：ER を直接阻害し、分解する

イムルネストラント（LY3484356）は、経口投与可能な非共有結合型の SERD である。イムルネストラントは野生型（wild-type：WT）及び変異型の ERα に高い親和性で結合し、ERα への直接的な拮抗及び分解作用により ER の活性を阻害することで、ER 依存性の遺伝子転写及び細胞増殖を持続的に阻害する。また、非臨床試験においてイムルネストラントの忍容性は良好で、ESR1 野生型及び変異型の両方のがんに対して、単剤で強力な抗腫瘍活性を示し、アベマシクリブとの併用で効果の増強が認められた。さらに、イムルネストラントは ESR1 変異型のがんにも抗腫瘍活性を示したことから、ET に対する耐性を獲得した患者においても抗腫瘍活性を示す可能性が示唆される。

イムルネストラントの薬理試験では、遊離塩基及びトシル酸塩（LY3484356 tosylate 又は LSN3513322）を使用した。薬効薬理試験での用量は実際の値で記載した。

以下に、非臨床薬理試験での主要な所見を示す。

- イムルネストラントは、野生型及び変異型（ESR1-Y537S）ERα のリガンド結合ドメインに高い親和性で結合し、K_i 値はそれぞれ 0.64 及び 2.8 nM であった（報告書 QSB111）。
- イムルネストラントは高度に選択的な ERα 拮抗薬であり、アンドロゲン受容体（androgen receptor：AR）、グルココルチコイド受容体（glucocorticoid receptor：GR）、ミネラルコルチコイド受容体（mineralocorticoid receptor：MR）、及びプロゲステロン受容体（progesterone receptor：PGR）といった他の核内ホルモン受容体と比較して ERα に 1734 倍以上の選択性を示した（報告書 QSB111）。
- イムルネストラントは、乳癌細胞株で、野生型及び変異型（ESR1-Y537N/S）ERα タンパク質を強力に分解した。MCF7 細胞での野生型 ERα タンパク質分解作用の IC_{50} 値は 3 nM であった（報告書 QSB112 及び ONCO149）。
- イムルネストラントは、ESR1 野生型及び変異型の MCF7 細胞で ER を介した PGR の転写を強力に阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 41 及び 13 nM であった。イムルネストラントは ER 陽

性の MCF7 細胞株で、PGR 誘導を指標とする作動活性を示さず（IC_{50} が 2 μM 超）、完全な ER 拮抗薬であることが示された（報告書 QSB112 及び ONCO150）。

- イムルネストラントは、野生型及び変異型（ESR1-Y537N）ERα を持つ MCF7 細胞株の細胞増殖を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 3.5 及び 17 nM であった。乳癌オンコパネルスクリーニングでは、12 の ER 陽性乳癌細胞株のうち 11 株がイムルネストラントに感受性を示した（IC_{50} が 100 nM 未満）。一方、ER 陰性乳癌細胞株（N=22）はいずれも非感受性であった（IC_{50} が 2 μM 超）（報告書 QSB113 及び QSB129）。
- In vitro の ER 陽性乳癌細胞株に対し、イムルネストラントは CDK4/6 阻害剤のアベマシクリブとの併用により相乗又は相加的な細胞増殖抑制作用を示した（報告書 QSB129）。
- イムルネストラントの 2 つの主要代謝物は、イムルネストラントと比較して、野生型及び変異型 ERα 分解、PGR 阻害、並びに細胞増殖抑制を指標とした薬理活性は低かった（報告書 ONCO204）。
- マウスの ESR1 野生型乳癌異種移植モデル（MCF7）及び ESR1-Y537S 変異型患者由来異種移植（patient-derived xenograft：PDX）モデル（ST941/C）にイムルネストラントを 1 日 1 回経口投与したとき、用量及び時間依存的かつ持続的な in vivo 標的阻害作用（投与後 96 時間まで PGR 転写を 75%以上阻害）が認められた（報告書 ONCO151）。
- マウスの ESR1 野生型乳癌異種移植モデル（MCF7、T47D、ZR-75-1、及び HCC1428）及び ESR1-Y537S 変異型 PDX モデル（ST941-HI）で、イムルネストラントは良好な忍容性を示すとともに、有意な腫瘍増殖抑制作用及び腫瘍退縮作用を示した（報告書 ONCO152）。
- マウスの ER 陽性乳癌異種移植モデル（T47D）で、イムルネストラントは CDK4/6 阻害剤のアベマシクリブとの併用による抗腫瘍効果の増強及び良好な忍容性を示した（報告書 ONCO220）。
- 臨床的に重要な ESR1 変異及びパルボシクリブ耐性を有するモデルを含む ER 陽性乳癌 PDX モデルで、イムルネストラントは単剤で有効性を示し、CDK4/6 阻害剤アベマシクリブとの併用により抗腫瘍効果の増強が認められた（報告書 ONCO228）。
- イムルネストラントはマウスの脳に移植した MCF7-fLuc 乳癌細胞の増殖を阻害し、生存期間を改善したことから、マウスの血液脳関門を通過し、単剤で脳内に転移した乳癌に対して有効性を示すことが示唆された（報告書 ONCO167）。
- イムルネストラントは、in vitro 酵素アッセイで検討した 33 のキナーゼ及び 8 つのヒト G タンパク質共役受容体（G-protein coupled receptor：GPCR）と比較して ERα に高い選択性を示した（報告書 QSB128）。
- 未成熟雌ラットでイムルネストラントは子宮重量増加作用を示さず、また、子宮、子宮頸部、及び膣の病理組織学的検査で毒性所見は認められなかったことから、これらの組織で作動活性を示さないことが確認された（報告書 8393708）。
- イムルネストラントはサルの心血管系（心電図測定）、呼吸系、及び中枢神経系（central nervous system：CNS）に影響を及ぼさなかった。ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネル発現細胞のカリウムイオン電流（hERG 電流）阻害作用における IC_{50} は 1 μM 超

であり、Nav1.5 に対しては 10 μM までの濃度で活性を示さなかった（報告書 190112.FMD 及び QSB128）。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　In vitro 試験

2.6.2.2.1.1　完全長ヒト野生型 ERα、変異型 ERα、及び野生型 ERβ に対するイムルネストラントの in vitro 結合活性

報告書 QSB111（4.2.1.1.1）

完全長のヒト野生型 ERα、変異型 ERα、及び野生型 ERβ に対するイムルネストラントの結合親和性（affinity：K_i）を競合的放射性リガンド結合アッセイで測定した。競合的結合アッセイはトリチウム標識エストラジオール存在下で、様々な濃度のイムルネストラントを用いて実施した。非特異的結合は、1 μM 17β-エストラジオールを添加することにより測定した。その結果、イムルネストラントは野生型 ERα、変異型 ERα（Y537S）、及び野生型 ERβ に高い親和性で結合した（表 2.6.2-1）。

表 2.6.2-1.　完全長ヒト野生型 ERα、変異型 ERα（Y537S）、及び野生型 ERβ に対するイムルネストラントの結合親和性（K_i）

	野生型 ERα			変異型 ERα（Y537S）			野生型 ERβ		
被験物質	K_i (nM)	SEM	N	K_i (nM)	SEM	N	K_i (nM)	SEM	N
イムルネストラント	0.637	0.322	6	2.80	1.10	6	0.111	0.042	3

略号：ERα = エストロゲン受容体 α、ERβ = エストロゲン受容体 β、K_i = 平衡解離定数（親和性）、N = 独立したアッセイで測定した回数、SEM = 平均値の標準誤差
K_i 値は幾何平均値を有効数字 3 桁で示し、SEM は幾何平均値と同じ小数点以下の桁数で示した。

2.6.2.2.1.2　ヒト核内ホルモン受容体に対するイムルネストラントの in vitro 選択性

報告書 QSB111（4.2.1.1.1）

ERα 以外の核内ホルモン受容体と比較したイムルネストラントの ERα に対する選択性を in vitro で検討した（QSB111 試験）。ヒト AR、GR、MR、又は PGR を過剰発現するヒト胎児腎臓細胞（human embryonic kidney cell：HEK293）の細胞溶解物を用いて、競合結合アッセイを行った。イムルネストラントは ERα に対して強力に結合し、K_i は 0.64 nM であったが、検討した他の核内ホルモン受容体に対する結合活性は低かった（表 2.6.2-2）。

表 2.6.2-2.　ERα 及び他の核内ホルモン受容体に対するイムルネストラントの結合親和性

ヒト核内ホルモン受容体	K_i (nM)	ERα と比較した倍数
hERα	0.64	-
hAR	5020	7844 倍
hGR	1110	1734 倍
hMR	>6550	10234 倍
hPGR	>6870	10734 倍

略号：AR = アンドロゲン受容体、ERα = エストロゲン受容体 α、GR = グルココルチコイド受容体、h = ヒト、K_i = 平衡解離定数（親和性）、MR = ミネラルコルチコイド受容体、PGR = プロゲステロン受容体

2.6.2.2.1.3　細胞内の野生型（ESR1-WT）及び変異型（ESR1-Y537N、ESR1-Y537S）ERα に対するイムルネストラントの分解作用

報告書 QSB112（4.2.1.1.2）
報告書 ONCO149（4.2.1.1.3）

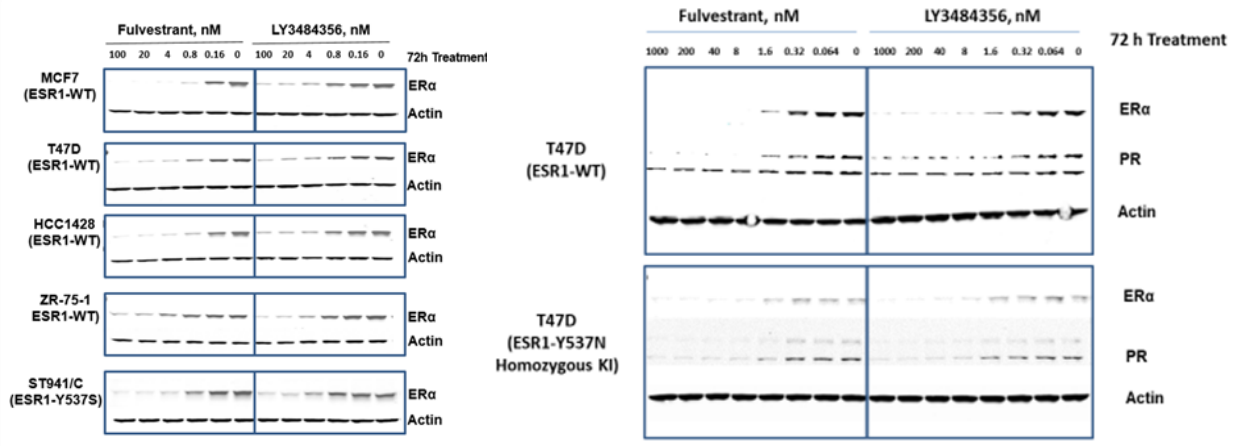
2 つの実験系（QSB112 及び ONCO149 試験）において、ESR1 野生型の MCF7 乳癌細胞株及び ESR1 変異型の乳癌細胞株に対するイムルネストラントの ERα 分解作用を検討した。QSB112 試験では、ESR1 野生型 MCF7 細胞を、イムルネストラント（遊離塩基）又はイムルネストラントトシル酸塩（それぞれ 2000 nM からの 3 倍希釈系列）で 24 時間処理し、免疫染色して ERα を検出した。ハイコンテントイメージングにより、イムルネストラント及びイムルネストラントトシル酸塩は MCF7 細胞内 ERα を強力に分解することが示された（表 2.6.2-3）。

表 2.6.2-3.　MCF7 細胞内 ERα に対するイムルネストラント及びイムルネストラントトシル酸塩の分解作用の IC_{50} 値

被験物質	MCF7 細胞での hERα 分解作用 相対的 IC_{50} ± SEM (nM)
イムルネストラント	3.09 ± 1.52、N=19
イムルネストラントトシル酸塩	4.22 ± 1.62、N=5

略号：hERα = ヒトエストロゲン受容体 α、IC_{50} = 特定の反応（リガンド結合、酵素反応）を 50%減少させる化合物の濃度、N = 独立したアッセイの回数、SEM = 平均値の標準誤差

ESR1 野生型（MCF7、T47D、HCC1428、及び ZR-75-1）及び変異型（ESR1-Y537N 変異 T47D 及び ST941/C［ESR1-Y537S 変異のある患者由来乳癌細胞株］）の乳癌細胞株パネルを用いて免疫ブロッティングを行い、イムルネストラントの ERα 分解作用を更に検討した（ONCO149 試験）。段階希釈したイムルネストラント（遊離塩基）又はフルベストラントで細胞を 72 時間処理し、細胞抽出物中の ERα を免疫ブロット法で測定した。その結果、フルベストラントとほぼ同等の効果で、イムルネストラントは、検討したすべての細胞株で、強力かつ用量依存的な ERα 分解作用を示した（図 2.6.2-1）。さらに、イムルネストラントは ESR1 野生型及び ESR1-Y537N 変異型の T47D 細胞株の PGR タンパク質発現レベルを低下させたことから、野生型、変異型に関わらず ERα 活性を機能的に抑制することが示された（図 2.6.2-1 の右図）。これらのデータから、イムルネストラントは野生型及び変異型 ERα の強力な SERD であり、in vitro においてフルベストラントに匹敵する ERα 分解活性を示すことが確認された。



略号：actin = アクチン、ERα = エストロゲン受容体 α、fulvestrant= フルベストラント、homozygous KI = ホモ接合型ノックイン、LY3484356 = イムルネストラント、PR = プロゲステロン受容体、72 h treatment = 72 時間処理、WT = 野生型

図 2.6.2-1.　ESR1 野生型（MCF7、T47D、HCC1428、ZR-75-1）及び変異型（ESR1-Y537N 変異 T47D、ESR1-Y537S 変異 ST941/C）乳癌細胞株に対するイムルネストラント又はフルベストラントの ERα 分解作用

2.6.2.2.1.4　ESR1 野生型及び変異型 MCF7 細胞でのイムルネストラントの ERα に対する機能的拮抗作用

報告書 QSB112（4.2.1.1.2）

イムルネストラントの作動活性について評価するため、ERα の下流分子への作用の指標として PGR の発現レベルに及ぼす影響を検討した（QSB112 試験）。被験物質が完全な拮抗活性を有する場合は PGR の発現を減少させるが、作動活性を有する場合は受容体を活性化し、PGR の発現を増加させると考えられる。段階希釈したイムルネストラント（遊離塩基）又はイムルネストラントトシル酸塩で ESR1 野生型（ESR1-WT）及び ESR1-Y537N 変異型の MCF7 細胞を 72 時間処理し、PGR を免疫染色した後、ハイコンテントイメージングを行い、DMSO 対照に対する PGR タンパク質発現レベルを測定した。その結果、イムルネストラント及びイムルネストラントトシル酸塩は ESR1-WT 及び ESR1-Y537N 変異型の MCF7 細胞において強力に PGR 発現レベルを低下させた（表 2.6.2-4）。PGR 発現の誘導作用は、野生型 MCF7 細胞で 2 μM までの濃度で認められなかった（表 2.6.2-4）。これらの結果から、イムルネストラントは ERα の完全な機能的拮抗薬であることが示された。

表 2.6.2-4.　ESR1-WT 及び ESR1-Y537N MCF7 細胞でのイムルネストラント及びイムルネストラントトシル酸塩の PGR 阻害作用の IC_{50} 値

被験物質	PGR 阻害作用 Rel IC_{50} ± SEM (nM)		PGR 誘導作用 Rel IC_{50} (nM)
	ESR1-WT	ESR1-Y537N	ESR1-WT
イムルネストラント	41.3 ± 33.7、N=16	13.0 ± 5.9、N=14	>2000、N=8
イムルネストラントトシル酸塩	26.3 ± 4.5、N=3	7.9 ± 3.2、N=4	>2000、N=1

略号：IC_{50} = 特定の反応（リガンド結合、酵素反応）を 50%減少させる化合物の濃度、N = 独立したアッセイの回数、PGR = プロゲステロン受容体、Rel = 相対的、SEM = 平均値の標準誤差、WT = 野生型

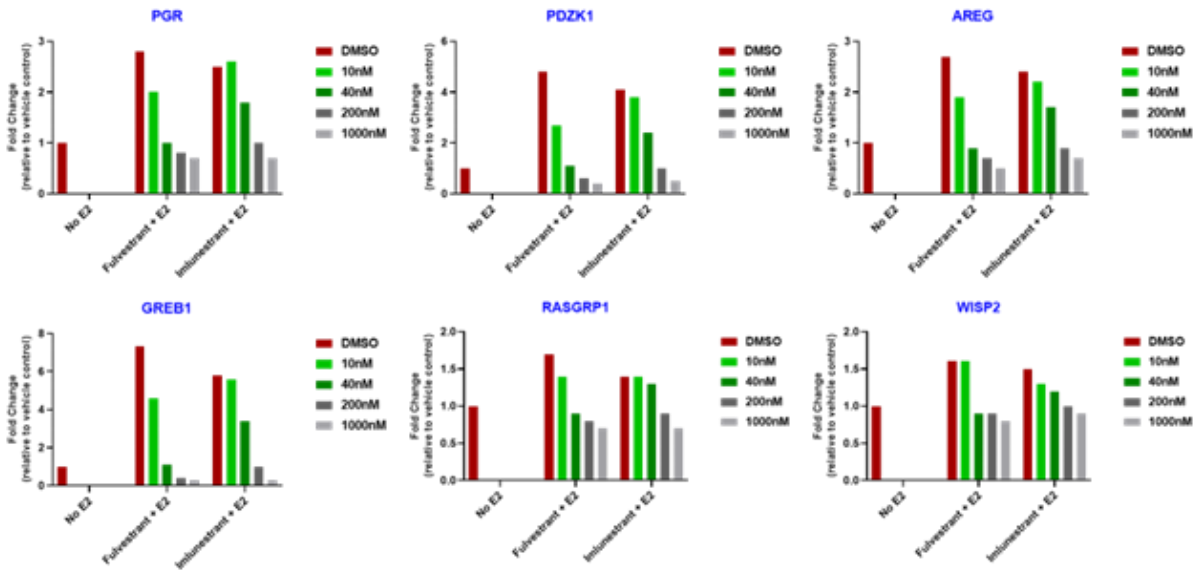
2.6.2.2.1.5　ESR1 野生型 MCF7 乳癌細胞での ERα を介した遺伝子転写に対するイムルネストラントの阻害作用

報告書 ONCO150（4.2.1.1.4）

ERα により制御されることが知られている遺伝子のパネルを用いて、MCF7 細胞での ERα を介した遺伝子転写に対するイムルネストラントの阻害作用を評価した（ONCO150 試験）。検討した 6 つの遺伝子を以下に示す。

- PGR (Lee et al. 1996)
- PDZK1 (Ghosh et al. 2000)
- AREG (Martínez-Lacaci et al. 1995)
- GREB1 (Ghosh et al. 2000)
- RASGRP1 (Cheng et al. 2020)
- WISP2 (Fritah et al.2008)

MCF7 細胞を 1 nM の 17β-エストラジオールの存在下及び非存在下で 30 分間刺激した後、段階希釈したイムルネストラント（遊離塩基）又はフルベストラントで 24 時間処理した。全 RNA を単離し、cDNA に逆転写した後、定量的リアルタイム PCR（quantitative real-time PCR：RT-qPCR）を用いて各遺伝子の発現レベルを定量し、ハウスキーピング遺伝子である GAPDH に対して正規化した。次に、各処理について算出した発現量を、DMSO 対照に対する変化倍率として表示した。17β-エストラジオールの添加により 6 つの遺伝子のいずれも発現が上昇し、ERα により転写が制御されていることが示された（図 2.6.2-2）。イムルネストラントは、17β-エストラジオールの存在下でも、フルベストラントと同様に、検討したすべての ERα 介在性遺伝子発現を用量依存的に阻害した。以上より、イムルネストラントは ERα を介した遺伝子転写を用量依存的に阻害し、ERα の完全拮抗薬であることが裏付けられた。



略号：E2 = 17β-エストラジオール
縦軸：変化倍率（媒体対照との比較）、横軸：no E2 = E2 なし、fulvestrant + E2 = フルベストラント+ E2、imlunestrant + E2 = イムルネストラント+ E2

図 2.6.2-2.　MCF7 乳癌細胞での ERα 介在性遺伝子発現に対するイムルネストラントの阻害作用

2.6.2.2.1.6　ESR1 野生型及び変異型乳癌細胞の増殖に対するイムルネストラントの in vitro 阻害作用

報告書 QSB113（4.2.1.1.5）
報告書 QSB129（4.2.1.1.6）

ESR1 野生型及び変異型の MCF7 又は T47D 乳癌細胞株、並びに ESR1 変異型患者由来乳癌細胞株の ST941/C を用いて、イムルネストラントの細胞増殖抑制作用を評価した（QSB113 試験）。使用した細胞株を以下に示す。

- ESR1 野生型（ESR1-WT）MCF7 細胞
- ESR1-Y537N ヘテロ接合型ノックイン MCF7 細胞
- ESR1 野生型（ESR1-WT）T47D 細胞
- ESR1-Y537N ヘテロ接合型ノックイン T47D 細胞
- ESR1-Y537N ホモ接合型ノックイン T47D 細胞
- ESR1-Y537S ST941/C 細胞

ESR1 野生型及び変異型の MCF7 又は T47D 細胞をそれぞれプレートに播種し、定着させた後、段階希釈したイムルネストラント（遊離塩基）又はイムルネストラントトシル酸塩（最終濃度 2000～0.1 nM）で 7 日間処理した。その後、プレートを固定してヨウ化プロピジウム溶液で染色し、Acumen Explorer（レーザースキャニング蛍光マイクロプレートリーダー）でスキャンすることにより抗増殖活性を測定した。

ST941/C 細胞は段階希釈したイムルネストラント（遊離塩基、1μM からの 3 倍希釈系列）で処理し、6 日間インキュベートした後、蛍光標識色素を用いて DNA 含量を測定することにより抗増殖活性を測定した。

表 2.6.2-5 に示すように、イムルネストラントは、野生型（ESR1-WT）及び変異型（ESR1-Y537N）の MCF7 両細胞株、並びに ST941/C（ESR1-Y537S）患者由来乳癌細胞で、抗増殖活性を示した。イムルネストラントトシル酸塩は、いずれの MCF7 細胞株においても遊離塩基と同程度の抗増殖活性を示した。

表 2.6.2-5.　ERα 野生型及び変異型 MCF7 細胞株並びに ERα 変異型 ST941/C 患者由来乳癌細胞株でのイムルネストラントの抗増殖活性

被験物質	MCF7 ESR1-WT Rel IC_{50} ± SEM (nM)	MCF7 ESR1-Y537N Rel IC_{50} ± SEM (nM)	ST941/C ESR1-Y537S Rel IC_{50} ± SEM (nM)[a]
イムルネストラント	3.5 ± 2.3、N=11	16.7 ± 9.1、N=12	6.8 ± 3.0 (10.1, 3.5)、N=2
イムルネストラントトシル酸塩	4.4、N=1	10.6、N=1	測定せず

略号：IC_{50} = 特定の反応（リガンド結合、酵素反応）を 50%減少させる化合物の濃度、N = 独立したアッセイの回数、Rel = 相対的、SEM = 平均値の標準誤差、WT = 野生型
[a] n = 2 の場合、表中の括弧内に個別値を記載した。

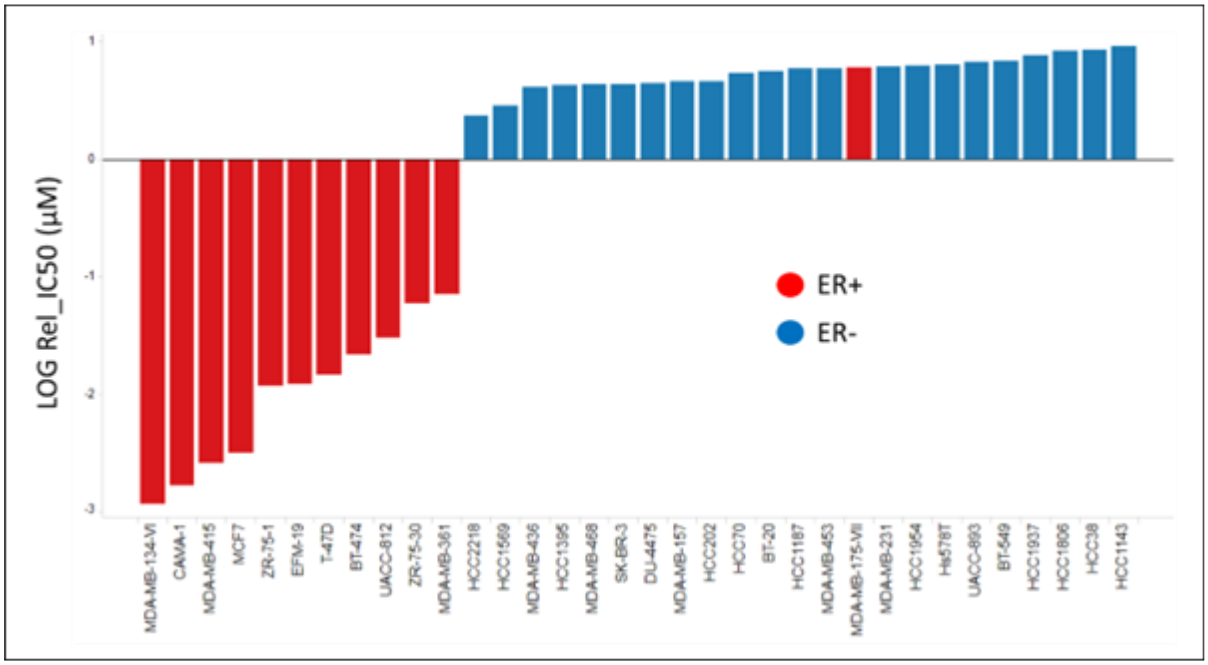
イムルネストラントは、野生型（ESR1-WT）並びに変異型（ESR1-Y537N ヘテロ接合型及びホモ接合型）の T47D 細胞株で抗増殖活性を示した（表 2.6.2-6）。その活性の程度は、イムルネストラントトシル酸塩についても遊離塩基と同程度であった。

表 2.6.2-6.　ERα 野生型及び変異型 T47D 細胞株でのイムルネストラントの抗増殖活性

被験物質	T47D ESR1-WT Rel IC_{50} ± SEM (nM)[a]	T47D ESR1-Y537N （ヘテロ接合型） Rel IC_{50} ± SEM (nM)	T47D ESR1-Y537N （ホモ接合型） Rel IC_{50} ± SEM (nM)
イムルネストラント	7.0 ± 13.0 (1.9, 25.9)、N=2	2.9 ± 0.9、N=8	3.6 ± 1.5、N=9
イムルネストラント トシル酸塩	18.0、N=1	3.5 ± 1.5、N=4	4.2 ± 2.2、N=5

略号：IC_{50} = 特定の反応（リガンド結合、酵素反応）を 50%減少させる化合物の濃度、N = 独立したアッセイの回数、Rel = 相対的、SEM = 平均値の標準誤差、WT = 野生型
[a] n = 2 の場合、表中の括弧内に個別値を記載した。
データは幾何平均値±SEM で示す。

次に、乳癌細胞パネルを用いてイムルネストラントの抗増殖活性を評価した（QSB129 試験）。各細胞株を段階希釈したイムルネストラント（遊離塩基、2000～0.1 nM）で各細胞の倍加時間の 2 倍の時間処理し、抗増殖活性は、上述の ESR1 野生型及び変異型の MCF7 又は T47D 細胞株と同様に評価した。その結果、ER 陽性乳癌細胞株 12 株のうち 11 株がイムルネストラントに感受性を示した（IC_{50} が 100 nM 未満）のに対し、ER 陰性乳癌細胞株はいずれもイムルネストラントに対して感受性を示さなかった（IC_{50} は 2 µM 超）（図 2.6.2-3）。



略号：ER = エストロゲン受容体
横軸：細胞株名、縦軸：相対的 IC_{50}（µM）の対数値

図 2.6.2-3.　イムルネストラントの in vitro 抗増殖活性とエストロゲン受容体発現との相関

以上のデータを総合すると、イムルネストラントは ER 陽性乳癌細胞株に感受性を示し、ESR1 野生型及び変異型細胞株に対して強力かつ選択的な細胞増殖抑制作用を示すことが確認された。

2.6.2.2.1.7　ER 陽性乳癌細胞株でのアベマシクリブとの in vitro 併用効果

報告書 QSB129（4.2.1.1.6）

ER 陽性の進行性又は転移性乳癌は、その不均質性及び ET に対する耐性獲得が見られることから、治療効果を得る又は獲得耐性を克服するために併用療法が多く用いられており、CDK4/6 阻害剤とフルベストラント等の ET との併用療法が ER 陽性転移性乳癌の内分泌療法における標準療法となっている。一方で、ESR1 に変異が生じることにより、ET に対する耐性を発現する患者の割合が高いことも報告されている(Toy et al. 2013; Jeselsohn et al. 2014)。イムルネストラントは ESR1 野生型のみならず、変異型に対する作用も期待できることから、まず、CDK4/6 阻害剤であるアベマシクリブとの併用効果について検討した（QSB129 試験）。試験には、以下に示す 5 つの ER 陽性乳癌細胞株を使用した。

- MCF7
- T47D
- ZR-75-1
- ZR-75-30
- EFM-19

各細胞株をイムルネストラント又はアベマシクリブ単剤（20 μM からの 3 倍希釈系列、10 濃度）並びに両剤の併用（各被験物質について 1 μM からの 3 倍希釈系列、10 濃度）で各細胞の倍加時間の 2 倍の時間処理した。その後、プレートを固定してヨウ化プロピジウムで染色し、Acumen Explorer マイクロプレートリーダーでスキャンし、抗増殖活性を測定した。単剤及び併用で処理したときの IC_{50} 値から 50%阻害の併用係数（combination index at 50% inhibition : CI_{50}）を算出した。この 50%阻害の併用係数の生物学的解釈基準を以下に示す。

- **相乗的** - CI_{50} が 0.5 より小さい
- **相加的** - CI_{50} が 0.5 より大きく 2 より小さい
- **拮抗的** - CI_{50} が 2 より大きい

イムルネストラントとアベマシクリブの併用効果は、検討した細胞株 5 株中 4 株で相乗的、1 株で相加的であった（表 2.6.2-7）。これらの結果から、進行性 ER 陽性乳癌での併用療法の有効性が示唆された。

表 2.6.2-7.　ER 陽性乳癌細胞株に対する抗増殖活性のイムルネストラントとアベマシクリブの in vitro 併用効果

乳癌細胞株	処理 1	処理 2	併用係数（CI_{50}）	生物学的解釈
MCF7	イムルネストラント	アベマシクリブ	0.6387	相加的
T47D	イムルネストラント	アベマシクリブ	0.2693	相乗的
ZR-75-1	イムルネストラント	アベマシクリブ	0.2067	相乗的
ZR-75-30	イムルネストラント	アベマシクリブ	0.3960	相乗的
EFM-19	イムルネストラント	アベマシクリブ	0.3455	相乗的

略号：CI_{50} = 50%阻害の併用係数

2.6.2.2.1.8　代謝物の in vitro 薬理活性

報告書 ONCO204（4.2.1.1.7）

ヒトの代謝物として同定され、ラット及びサルの代謝物としても検出されている LSN3517019（M1）及び LSN3527840（M2）について（CTD 第 2.6.4.5 項）、in vitro での生物学的活性を評価した（ONCO204 試験）。本試験では、ESR1 野生型及び変異型の乳癌細胞株での抗増殖作用、並びに PGR 転写活性を指標として ERα 分解及び ERα 経路活性化調節作用を評価した。ERα 分解アッセイ、PGR 阻害アッセイ、及び細胞での抗増殖アッセイは、それぞれ CTD 第 2.6.2.2.1.3 項、第 2.6.2.2.1.4 項、及び第 2.6.2.2.1.6 項に示した方法で実施した。

表 2.6.2-8 に示すように、 ESR1 野生型の MCF7 細胞では、代謝物 M1 及び M2 の ERα 分解活性は低く、IC_{50} 値はそれぞれイムルネストラントトシル酸塩の約 66 倍及び 36 倍であった。PGR 誘導を指標とする作動活性は、いずれの化合物でも認められなかった。また、表 2.6.2-9 に示すように、ESR1-Y537N 変異型の MCF7 細胞では、代謝物 M1 及び M2 の ERα 分解活性並びに PGR 阻害作用はいずれもイムルネストラントトシル酸塩よりも低かった（IC_{50} 値は、M1 でそれぞれ約 83 倍及び 66 倍、M2 でそれぞれ約 25 倍及び 46 倍）。ESR1-D538G 変異型の MCF7 細胞では、イムルネストラントトシル酸塩の ERα 分解活性及び PGR 阻害作用は、ESR1 野生型及び ESR1-Y537N 変異型の MCF7 細胞と比較して低かったが、両代謝物の PGR 阻害作用は更に低く、ERα 分解活性の IC_{50} 値は検討した最高濃度の 2 μM を超えていた。

ESR1 野生型及び変異型の MCF7 細胞を用いた細胞増殖アッセイでは、イムルネストラントトシル酸塩と比較して、M1 及び M2 の抗増殖活性は低かった（表 2.6.2-10）。

これらの結果から、両代謝物は、イムルネストラントトシル酸塩と比較して、ESR1 野生型及び変異型の MCF7 細胞株での薬理活性（ERα 分解活性、PGR 阻害活性、及び細胞増殖抑制活性）が低いことが示された。

表 2.6.2-8.　ESR1 野生型 MCF7 細胞でのイムルネストラントトシル酸塩又は 2 つの代謝物 M1 及び M2 による ERα 分解作用及び PGR 誘導作用

被験物質	hERα 分解作用 Rel IC_{50} ± SEM (nM)	PGR 誘導作用 Rel IC_{50} (nM)
イムルネストラントトシル酸塩	3.2 ± 1.3、N=9	>2000、N=1
LSN3517019 (M1)	211.0 ± 69.2、N=4	>2000、N=1
LSN3527840 (M2)	115.0 ± 18.4、N=4	>2000、N=1

略号：ERα = エストロゲン受容体 α、IC_{50} = 特定の反応（リガンド結合、酵素反応）を 50%減少させる化合物の濃度、N = 独立したアッセイの回数、PGR = プロゲステロン受容体、Rel = 相対的、SEM = 平均値の標準誤差

表 2.6.2-9.　ESR1 変異型 MCF7 細胞でのイムルネストラントトシル酸塩又は 2 つの代謝物 M1 及び M2 による ERα 分解作用及び PGR 阻害作用

被験物質	PGR 阻害作用 Rel IC_{50} ± SEM (nM)		hERα 分解作用 Rel IC_{50} ± SEM (nM)	
	ESR1-Y537N	ESR1-D538G	ESR1-Y537N	ESR1-D538G
イムルネストラント トシル酸塩	7.1 ± 2.6、N=7	41.3 ± 20.6、N=8	3.4 ± 2.4、N=4	84.1 ± 14.8、N=6
LSN3517019 (M1)	470.0 ± 58.0、N=3	1900 ± 181.0、N=6	281.0 ± 94.8、N=2	>2000、N=4
LSN3527840 (M2)	330.0 ± 116.0、N=3	2060 ± 222.0、N=6	84.0 ± 23.9、N=2	>2000、N=4

略号：ERα = エストロゲン受容体 α、IC_{50} =特定の反応（リガンド結合、酵素反応）を 50%減少させる化合物の濃度、N = 独立したアッセイの回数、PGR = プロゲステロン受容体、Rel = 相対的、SEM = 平均値の標準誤差

表 2.6.2-10.　ESR1 野生型及び変異型 MCF7 細胞でのイムルネストラントトシル酸塩又は 2 つの代謝物 M1 及び M2 の抗増殖活性

被験物質	ESR1-WT Rel IC_{50} ± SEM (nM)	ESR1-Y537N Rel IC_{50} ± SEM (nM)	ESR1-D538G Rel IC_{50} ± SEM (nM)
イムルネストラント トシル酸塩	5.0 ± 2.9、N=9	10.9 ± 8.1、N=8	917.0 ± 774.0、N=8
LSN3517019 (M1)	550.0 ± 238.0、N=6	1500.0 ± 966.0、N=4	>20000、N=8
LSN3527840 (M2)	518.0 ± 49.9、N=3	702.0 ± 389.0、N=4	>20000、N=8

略号：IC_{50} = 特定の反応（リガンド結合、酵素反応）を 50%減少させる化合物の濃度、N = 独立したアッセイの回数、Rel = 相対的、SEM = 平均値の標準誤差、WT = 野生型

2.6.2.2.2　In vivo 試験

2.6.2.2.2.1　ESR1 野生型乳癌異種移植モデル及び ESR1 変異型（ESR1-Y537S）乳癌 PDX モデルでのイムルネストラントの in vivo 標的阻害作用

報告書 ONCO151（4.2.1.1.8）

ヒト ER 陽性乳癌細胞株を用いた試験で、イムルネストラントは ERα により制御を受ける遺伝子の転写を用量依存的に阻害することが示された（CTD 第 2.6.2.2.1.5 項）。このことから、ESR1 野生型乳癌異種移植モデル、及び ESR1 変異型乳癌 PDX モデルを用いて、ERα により制御を受ける遺伝子に対するイムルネストラントの in vivo 標的遺伝子阻害作用を評価した（ONCO151 試験）。

MCF7（ESR1-WT）細胞は雌の NOD SCID マウス、ST941/C（ESR1-Y537S）患者由来乳癌細胞は雌の無胸腺ヌードマウスの側腹部の皮下にそれぞれ移植した。腫瘍の大きさが平均 200～300 mm^3 に達した時点でマウスを各用量群に無作為に割り付け、イムルネストラント（遊離塩基）を 3、10、又は 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回（once daily：QD）、3 日間経口投与した。最終投与から 4、12、24、48、96、及び 168 時間後に腫瘍を採取し、遺伝子発現解析及び薬物曝露量の測定に使用した。血漿及び脳組織も腫瘍採取と同じ時点で採取し、曝露量解析を行った。

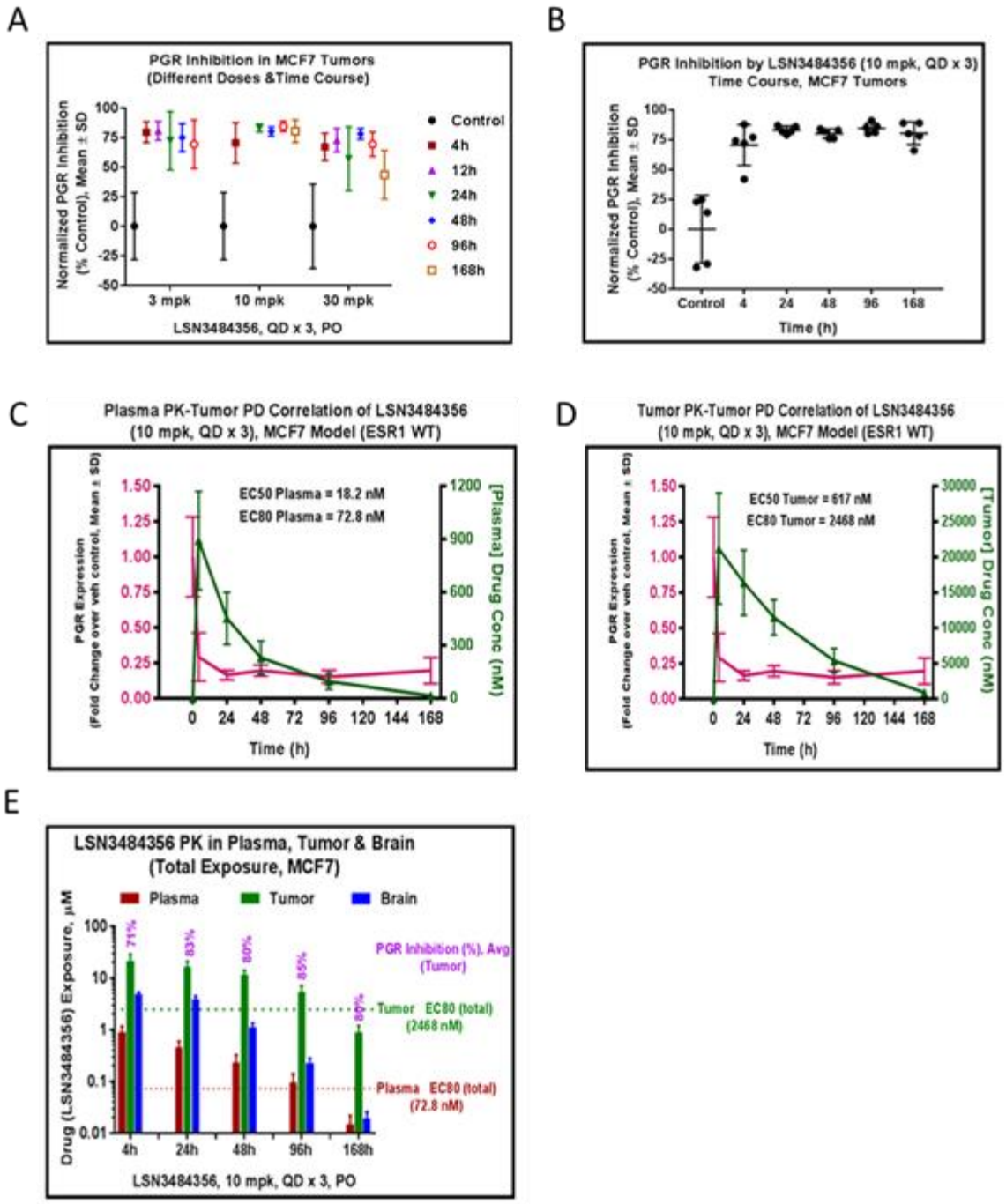
各腫瘍から全 RNA を単離して逆転写を行い、cDNA を調製した。PGR の発現レベルを解析するために RT-qPCR を行い、GAPDH ハウスキーピング遺伝子で正規化した。各検体について、媒体に対する相対的な発現量を算出し、媒体対照に対する変化倍率で表した。次に、発現データを、血漿中又は腫瘍内の薬物曝露量と重ね合わせてグラフを作成した。

イムルネストラントを1日1回、3日間経口投与したとき、いずれの用量でもMCF7腫瘍内PGR発現は持続的に阻害された（投与後96時間まで75%を超える阻害、図2.6.2-4のパネルA）。イムルネストラントのin vivo標的阻害作用には、全期間にわたって良好なPK‐PD関係が認められた（図2.6.2-4、パネルC及びD）。イムルネストラントの曝露量は血漿中よりも腫瘍内の方が高く（24～56倍）、腫瘍内での標的阻害作用の持続に寄与したと考えられた。また、イムルネストラントは脳内においても持続的な曝露が得られ、血液脳関門を通過することが示された（図2.6.2-4、パネルE）。

ST941/C（ESR1-Y537S）PDXモデルでも、イムルネストラントの1日1回、3日間経口投与により、PGRが持続的に阻害されることが示され（投与後96時間まで75%を超える阻害、図2.6.2-5、パネルC）、全期間にわたって良好なPK‐PD関係が認められた（図2.6.2-5、パネルA及びB）。イムルネストラントの濃度は血漿中よりも腫瘍内の方が高く（12～175倍）、標的阻害作用の持続に寄与したと考えられた（図2.6.2-5、パネルD）。

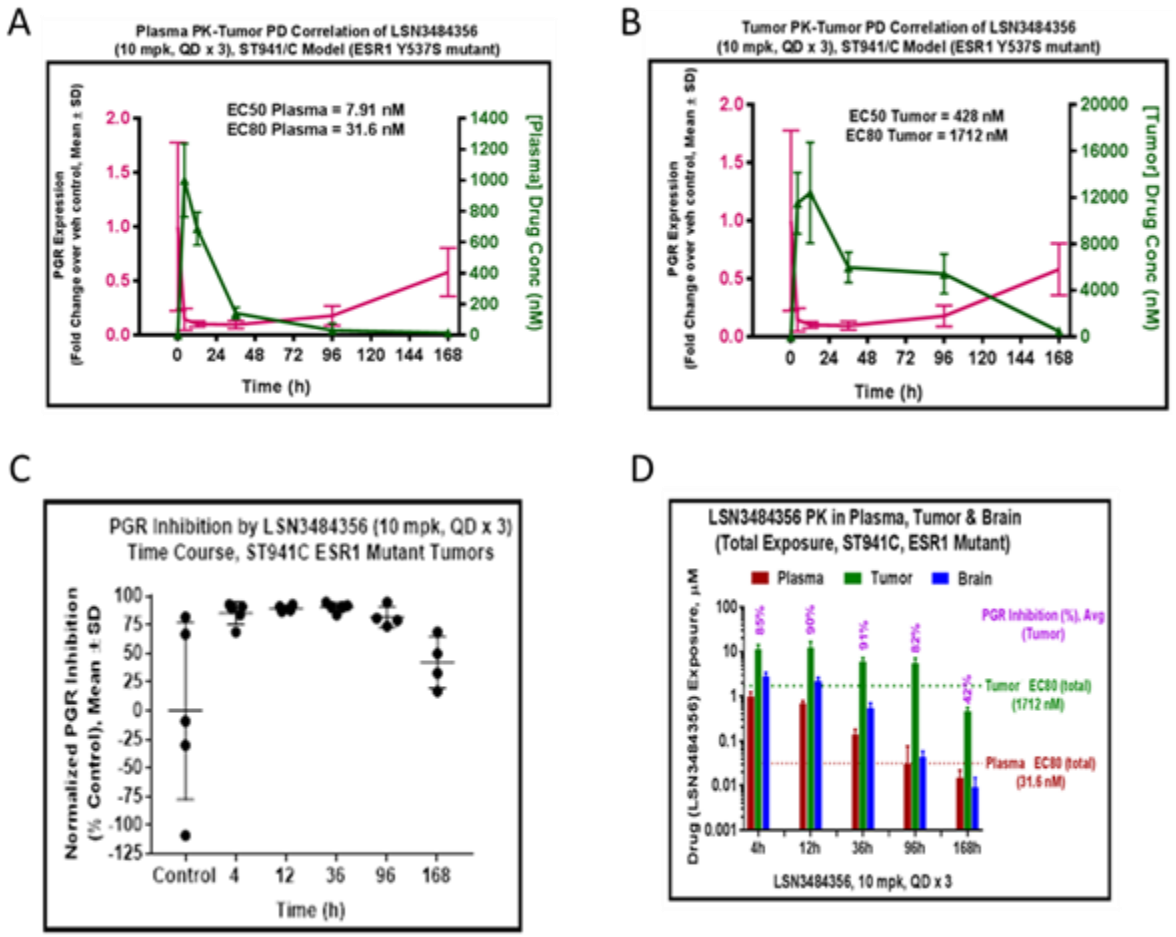
ESR1野生型及び変異型モデルを用いたこれらの結果から、以下のことが示された。

- イムルネストラントはERα介在性遺伝子転写を阻害し、腫瘍内ERαに対して強力に拮抗する。
- イムルネストラントはマウスの腫瘍及び脳で持続的な曝露が得られた。



MCF7（ESR1-WT）モデルでの（A）PGR 阻害作用の用量反応性、縦軸：正規化した PGR 阻害率（対照に対する%）、平均値 ± SD、横軸：イムルネストラントの用量（PO、QD×3）、（B）イムルネストラント（10 mg/kg、QD×3）の PGR 阻害作用の経時変化、縦軸：正規化した PGR 阻害率（対照に対する%）、平均値 ± SD、横軸：時間（C）イムルネストラント（10 mg/kg、QD×3）の血漿中 PK と腫瘍内 PD の相関、縦軸：左：PGR 発現レベル（媒体対照と比較した変化倍率、平均値 ± SD）、右：血漿中薬物濃度（nM）、横軸：時間、0 時間は媒体対照のデータを示す、（D）イムルネストラント（10 mg/kg、QD×3）の腫瘍内 PK と腫瘍内 PD の相関、縦軸：左：PGR 発現レベル（媒体対照と比較した変化倍率、平均値 ± SD）、右：腫瘍内薬物濃度（nM）、横軸：時間、0 時間は媒体対照のデータを示す、（E）イムルネストラントの血漿中、腫瘍内、及び脳内 PK（総曝露量）、縦軸：イムルネストラント曝露量（µM）、横軸：イムルネストラント（10 mg/kg PO、QD×3）の投与後時間
略号：EC = 有効濃度、LSN3484356 = イムルネストラント、mpk = mg/kg、QD = 1 日 1 回、PGR = プロゲステロン受容体、PO = 経口

図 2.6.2-4.　MCF7 乳癌異種移植モデルでのイムルネストラントの in vivo 標的阻害作用



ST941/C（ESR1-Y537S）モデルでの（A）イムルネストラント（10 mg/kg、QD×3）の血漿中 PK と腫瘍内 PD の相関、縦軸：左：PGR 発現レベル（媒体対照と比較した変化倍率、平均値 ± SD）、右：血漿中薬物濃度（nM）、横軸：時間、0 時間は媒体対照のデータを示す、（B）イムルネストラント（10 mg/kg、QD×3）の腫瘍内 PK と腫瘍内 PD の相関、縦軸：左：PGR 発現レベル（媒体対照と比較した変化倍率、平均値 ± SD）、右：腫瘍内薬物濃度（nM）、横軸：時間、0 時間は媒体対照のデータを示す、（C）イムルネストラント（10 mg/kg、QD×3）の PGR 阻害作用の経時変化、縦軸：正規化した PGR 阻害率（対照に対する%）、平均値 ± SD、横軸：時間、（D）イムルネストラントの血漿中、腫瘍内、及び脳内 PK（総曝露量）、縦軸：イムルネストラント曝露量（µM）、横軸：イムルネストラント（10 mg/kg、QD×3）の投与後時間
略号：EC = 有効濃度、LSN3484356 = イムルネストラント、mpk = mg/kg、QD = 1 日 1 回、PGR = プロゲステロン受容体、PO = 経口

図 2.6.2-5.　ST941/C（ESR1-Y537S）PDX モデルでのイムルネストラントの in vivo 標的阻害作用

2.6.2.2.2.2　ESR1 野生型乳癌異種移植モデル及び ESR1 変異型乳癌 PDX モデルでのイムルネストラントの in vivo 腫瘍増殖抑制作用

報告書 ONCO152（4.2.1.1.9）

ESR1 野生型乳癌異種移植モデル及び ESR1 変異型乳癌 PDX モデルを用いてイムルネストラントの単剤での有効性を検討した（ONCO152 試験）。本試験では、4 つのがん細胞由来異種移植（cancer cell-derived xenograft：CDX）（ESR1-WT）モデル及び 1 つの PDX（ESR1-Y537S）モデルを使用した（表 2.6.2-11）。

表 2.6.2-11.　イムルネストラントの単剤投与による有効性試験に用いた in vivo モデル

モデル	ESR1 の状態	起源	系統	エストロゲンの補充
MCF7	WT	CDX	NOD SCID 雌	17β-エストラジオールペレット（0.18 mg）[a]
T47D	WT	CDX	NOD SCID 雌	17β-エストラジオールペレット（0.38 mg）[a]
ZR-75-1	WT	CDX	NOD SCID 雌	Delestrogen®注射剤 [b]
HCC1428	WT	CDX	NOD SCID 雌	17β-エストラジオールペレット（0.18 mg）[a]
ST941-HI	Y537S	PDX	無胸腺ヌード	補充なし

略号：CDX = がん細胞由来異種移植、HI = ホルモン非依存性、PDX = 患者由来異種移植、WT = 野生型
[a] 細胞移植の 24 時間前に 17β-エストラジオールペレット（90 日間放出、Innovative Research）を皮下に移植した。
[b] エストラジオール吉草酸エステル（Delestrogen®）筋肉内注射液（10 mg/mL）50 μL を試験期間中 14 日ごとに投与した。

CDX モデルでは、NOD SCID 雌マウスの右乳腺脂肪組織又は右側腹部後方にがん細胞株を移植し、腫瘍体積及び体重を移植後 7 日目から週 2 回測定し、腫瘍の大きさが 250～350 mm^3 に達した時点で、動物を各群に 5 例ずつ無作為に割り付けた。また試験期間中、外因性エストラジオールを補充した（表 2.6.2-11）。イムルネストラント（遊離塩基）は 3（HCC1428 モデルは除く）、10、及び 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回 28～42 日間経口投与し、フルベストラントは 5 mg の用量で週 1 回皮下投与した。ST941-HI PDX モデルでは腫瘍片を免疫不全マウスに移植し、平均腫瘍体積が約 125～250 mm^3 になった時点で各群に 3 例ずつ無作為に割り付けた。イムルネストラント（遊離塩基）は 28 日間経口投与し、フルベストラントは週 1 回皮下投与した。投与期間中、腫瘍体積及び体重を週 2 回測定し、腫瘍増殖抑制作用及び体重を指標とした忍容性を評価した。抗腫瘍効果は、媒体対照群に対する被験薬投与群の腫瘍体積変化量の比（$\%\Delta T/C = 100 \times \Delta T/\Delta C$）を用いて評価した。ΔT が負（腫瘍退縮）の場合、腫瘍退縮率（tumor regression：TR）は被験薬投与群のベースラインの平均腫瘍体積に対する被験薬投群の腫瘍体積変化量の比（退縮率［%］ = $\Delta T/T_{BL} \times 100$）を用いて評価した。

図 2.6.2-6 及び表 2.6.2-12 に示すように、イムルネストラントを投与した 4 種の CDX モデルのいずれにおいても、媒体対照群と比較して統計学的に有意な腫瘍増殖抑制又は退縮が認められた。MCF7 モデルでは、検討したイムルネストラントの 3 つの用量すべてで退縮が認められた。T47D モデルでは、10 及び 30 mg/kg の用量で腫瘍の退縮が、3 mg/kg の用量で腫瘍増殖抑制が認められた。ZR-75-1 モデルでは 3 つの用量すべてで同程度の効果であり、%ΔT/C 値は 0%～19%であった。HCC1428 モデルでは 10 及び 30 mg/kg の用量のみを検討したところ、いずれの用量でも腫瘍の退縮が認められた。

表 2.6.2-12.　ER 陽性乳癌異種移植モデル及び PDX モデルでのイムルネストラントの in vivo 有効性

腫瘍モデル	用量 (mg/kg)	スケジュール	%ΔT/C 又は退縮率(%)	p 値
MCF7	3	QD×28	-26	0.001*
	10	QD×28	-46	<0.001*
	30	QD×28	-36	<0.001*
T47D	3	QD×28	30	0.008*
	10	QD×28	-11	<0.001*
	30	QD×28	-28	<0.001*
ZR-75-1	3	QD×42	4	<0.001*
	10	QD×42	0	<0.001*
	30	QD×42	19	<0.001*
HCC1428	10	QD×42	-45	<0.001*
	30	QD×42	-22	<0.001*
ST941-HI （ESR1-Y537S 乳癌 PDX モデル）	3	QD×28	66	0.213
	10	QD×28	15	<0.001*
	30	QD×28	6	<0.001*

略号：C = 対照群の投与期間終了時の平均腫瘍体積、ER = エストロゲン受容体、ESR1 = エストロゲン受容体 α、HI = ホルモン非依存性、PDX = 患者由来異種移植、QD = 1 日 1 回、T = 投与群の投与期間終了時の平均腫瘍体積、T_{BL} = ベースライン日の全群の腫瘍体積の総平均値
腫瘍体積の分析は、Log_{10} 及び Spatial Power 共分散構造分析に基づいて行った。
* 媒体対照と比較して統計学的に有意（p<0.05、二元配置反復測定分散分析）
%ΔT/C は、投与群の投与期間終了時の腫瘍体積がベースラインの腫瘍体積以上である場合に算出した。計算式は $100\times(T-T_{BL})/(C-T_{BL})$を用いた。
退縮率は、投与群の投与期間終了時の腫瘍体積がベースラインの腫瘍体積を下回った場合に算出した。計算式は $100\times(T-T_{BL})/T_{BL}$ を用いた。

MCF7、T47D、及び HCC1428 モデルでは、イムルネストラントはフルベストラントと同程度の効果が認められた。ZR-75-1 モデルではフルベストラントによる腫瘍増殖抑制作用は見られなかったが、イムルネストラントの腫瘍増殖抑制活性が認められた。検討したモデルのいずれの用量においても、イムルネストラント投与による体重への明らかな影響は認められなかったことから、マウスでの良好な忍容性が示された。これらの試験から、in vitro において ER 陽性乳癌細胞で認められたイムルネストラントの抗増殖活性（図 2.6.2-3）が in vivo でも確認され、イムルネストラントはマウスの ER 陽性乳癌異種移植モデルで有効性及び良好な忍容性を示すことが明らかになった。

ST941-HI（ESR1-Y537S）PDX モデル（図 2.6.2-6 及び表 2.6.2-12）で、イムルネストラントは 10 及び 30 mg/kg の用量で統計学的に有意な腫瘍増殖抑制作用を示したが、3 mg/kg の用量では示さなかった。また、10 及び 30 mg/kg の用量でのイムルネストラントの腫瘍増殖抑制作用は、フルベストラントを 5 mg の用量で週 1 回投与したときよりも強い傾向が見られた。イムルネストラントのいずれの用量でも体重への明らかな影響は認められなかったことから、マウスでの良好な忍容性が示された。ESR1 変異は ET に対する耐性の主要なドライバーであると報告されていること(Jeselsohn et al. 2014)から、イムルネストラントが ET に対する耐性を獲得した患者においても抗腫瘍活性を保持していることが期待される。

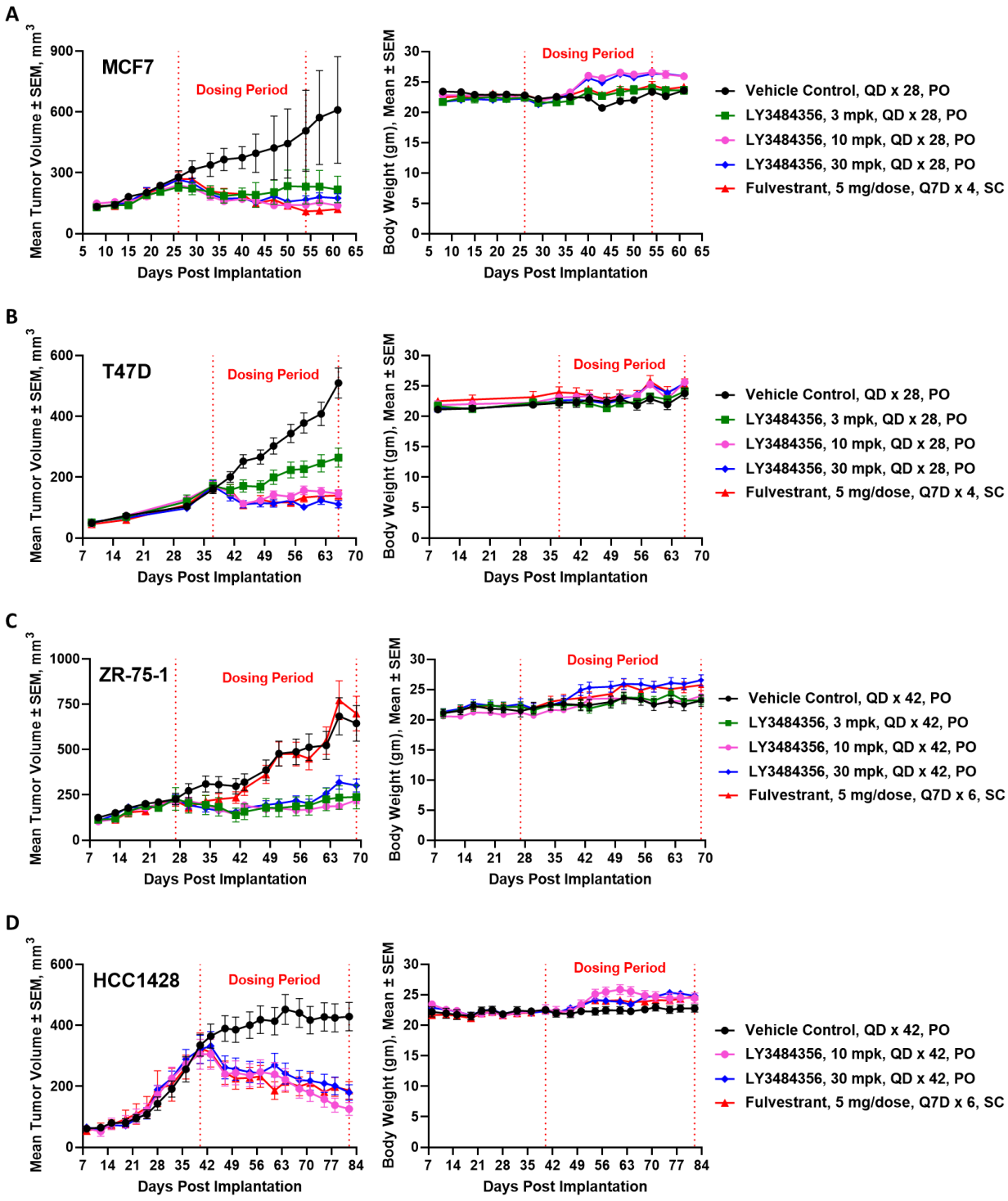
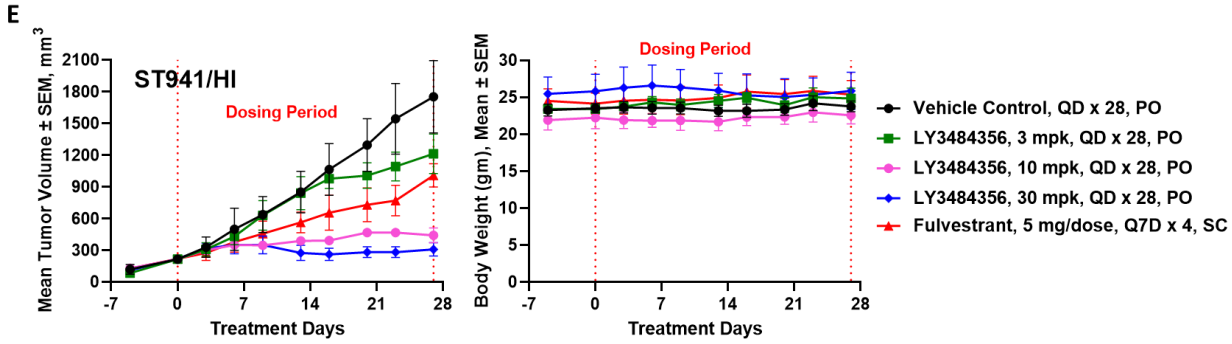

A
MCF7
Dosing Period
Mean Tumor Volume ± SEM, mm3
Days Post Implantation
Body Weight (gm), Mean ± SEM
Vehicle Control, QD x 28, PO
LY3484356, 3 mpk, QD x 28, PO
LY3484356, 10 mpk, QD x 28, PO
LY3484356, 30 mpk, QD x 28, PO
Fulvestrant, 5 mg/dose, Q7D x 4, SC
B
T47D
C
ZR-75-1
Vehicle Control, QD x 42, PO
LY3484356, 3 mpk, QD x 42, PO
LY3484356, 10 mpk, QD x 42, PO
LY3484356, 30 mpk, QD x 42, PO
Fulvestrant, 5 mg/dose, Q7D x 6, SC
D
HCC1428

図 2.6.2.6（続く）



（A）MCF7、（B）T47D、（C）ZR-75-1、（D）HCC1428 乳癌異種移植モデル、及び（E）ST941-HI (ESR1-Y537S) PDX モデルでの、イムルネストラント及びフルベストラントの単剤での有効性（左）及び忍容性（右）
A～E の左のグラフの縦軸：腫瘍体積（mm^3）、平均値 ± SEM、右のグラフの縦軸：体重（g）、平均値 ± SEM、
A～D の左右のグラフの横軸：移植後日数、E の左右のグラフの横軸：投与日数
略号：LY3484356 = イムルネストラント、mpk = mg/kg、PO = 経口、Q7D = 週 1 回、QD = 1 日 1 回、SC = 皮下、SEM = 平均値の標準誤差

図 2.6.2-6.　ER 陽性乳癌異種移植モデル及び PDX モデルでのイムルネストラントの in vivo 腫瘍増殖抑制作用及び体重への影響

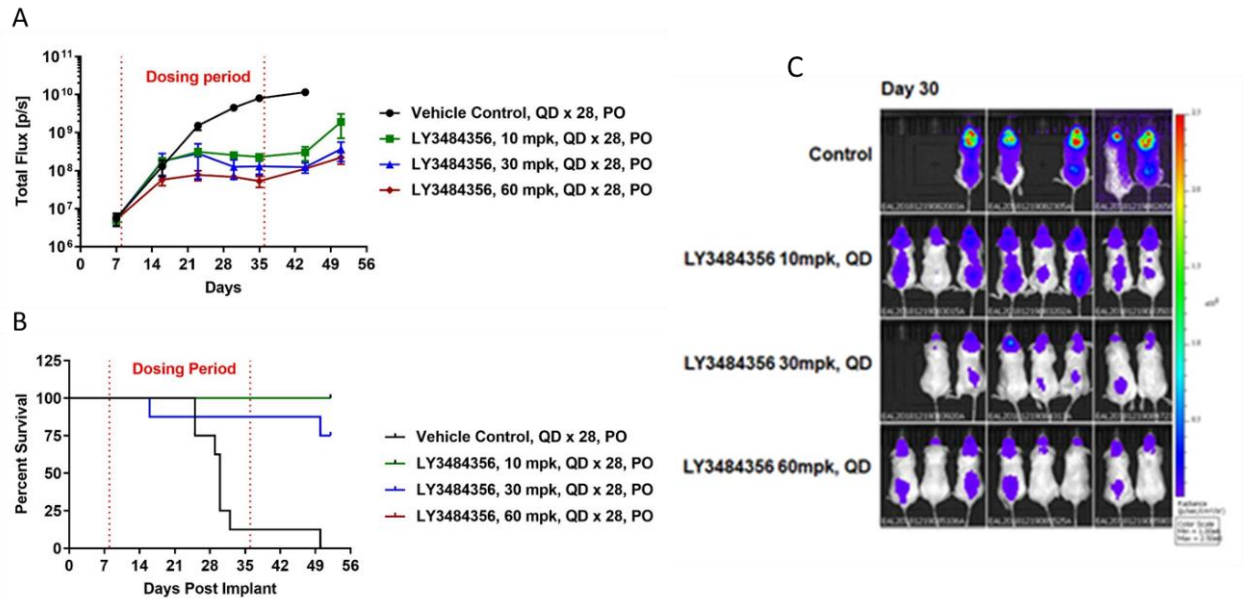
2.6.2.2.2.3　マウスの MCF7-fLuc 乳癌脳移植モデルでのイムルネストラントの in vivo 腫瘍増殖抑制作用

報告書 ONCO167（4.2.1.1.10）

乳癌は、すべての固形がんの中で 2 番目に多い脳転移の原因と考えられている。乳癌の脳転移は、乳癌患者の 10%～16%に認められ、剖検調査では 30%にも及び(Lin et al. 2013; Wang et al. 2019)、予後不良でもある。乳癌及びその脳転移を有する患者の中には、タモキシフェンやレトロゾールなどの ET や、フルベストラントなどの SERD が奏効した症例も報告されている(Colomer et al. 1988; Wang et al. 2019)。イムルネストラントをマウスに投与した際に脳内曝露が認められたことから（CTD 第 2.6.2.2.2.1 項参照）、マウスの ER 陽性頭蓋内腫瘍の移植モデルを用いてイムルネストラントの抗腫瘍活性及び生存率への影響を評価した（ONCO167 試験）。MCF7 細胞をルシフェラーゼレポーター遺伝子を発現するように改変し（MCF7-fLuc 細胞）、このルシフェラーゼ標識 MCF7 細胞（ESR1 野生型）を雌の NOD SCID マウスの脳内に定位的に移植した後、IVIS イメージングで腫瘍の進行を評価した。細胞移植の 24 時間前に 17β-エストラジオールペレット（0.18 mg、90 日間放出）を皮下移植した。その後、動物を無作為に割り付け（各群 8 例）、8 日目からイムルネストラント（遊離塩基）を 1 日 1 回、28 日間経口投与した。週 1 回、ルシフェリン注射の 10～15 分後に撮像し、総発光量を測定した。

イムルネストラントを 10、30、又は 60 mg/kg の用量で投与したとき、発光量を指標とする腫瘍細胞の増殖が抑制された（図 2.6.2-7、パネル A）。10 及び 60 mg/kg のいずれの群も、投与終了後 15 日間を含む試験期間を通して 100%の生存率を示し、30 mg/kg 群では 75%の動物が試験終了まで生存した。媒体対照群では、試験終了時に生存していた動物はいなかった（図 2.6.2-7、パネル B）。個々の動物の画像により、イムルネストラント投与による腫瘍の負荷量の顕著な減少が認められた（図 2.6.2-7、パネル C）。

以上より、イムルネストラント投与による頭蓋内腫瘍の増殖抑制及びそれに伴う生存効果が認められた。臨床では脳転移を有する患者の予後は不良であり、治療の選択肢は限られていることから、イムルネストラントはこのアンメットニーズの解決に寄与することが期待される。



（A）脳内に移植した MCF7-fLuc 乳癌細胞に対する腫瘍細胞増殖抑制作用、縦軸：Total Flux［p/s］、横軸：移植後日数（B）生存分析、60 mg/kg の用量の結果（赤）は 10 mg/kg の用量の結果と重なっている、縦軸：生存率、横軸：移植後日数（C）個々の動物の画像。画像は光量を色イメージで示す。赤＝高シグナル強度、青＝最も低いシグナル強度。
略号：LY3484356 = イムルネストラント、mpk = mg/kg、PO = 経口、QD = 1 日 1 回

図 2.6.2-7.　MCF7-fLuc 脳移植モデルでのイムルネストラントの in vivo 有効性

2.6.2.2.2.4　乳癌細胞株又は患者由来の ER 陽性乳癌異種移植モデルにイムルネストラントとアベマシクリブを併用投与したときの in vivo 腫瘍増殖抑制作用

報告書 ONCO220（4.2.1.1.11）
報告書 ONCO228（4.2.1.1.12）

ER 陽性の進行性又は転移性乳癌の治療では、腫瘍の不均質性及び ET に対する耐性獲得が見られることから、治療効果を得る又は自然及び獲得耐性を克服するために併用療法が多く用いられている。ONCO220 試験では、T47D 細胞株での ER 陽性乳癌異種移植モデルを用いてイムルネストラントと CDK4/6 阻害剤であるアベマシクリブを併用投与したときの抗腫瘍活性及び忍容性を検討した。T47D 細胞は雌の NOD SCID 免疫不全マウスの右側腹部後方に移植した。細胞移植の 24 時間前に 17β-エストラジオールペレット（0.72 mg、90 日間放出）を皮下に移植した。腫瘍の大きさが 250～350 mm^3 に達した時点で動物を各群に 5 例ずつ無作為に割り付け、イムルネストラント（トシル酸塩）、アベマシクリブ、又はそれらの併用を 28 日間経口投与した（表 2.6.2-13）。腫瘍体積及び体重の測定は、移植後 19 日目から週 2 回行い、腫瘍増殖抑制作用及び体重を指標とした忍容性を評価した。抗腫瘍効果は媒体対照群に対する被験薬投与群の腫瘍体積変化量の比を用いて評価した。解析には独自のデータ解析ツール（Zeus）を用い、併用効果の解析には Bliss Independence 法を用いた。

T47D 乳癌異種移植モデルにイムルネストラント又はアベマシクリブを単剤投与したとき、腫瘍増殖はそれぞれ 81.5%（%ΔT/C=18.5）及び 66%（%ΔT/C=34）抑制された（表 2.6.2-13 及び図 2.6.2-8 A）。イムルネストラントとアベマシクリブの併用投与では、各薬剤の単剤投与時と比較

して抗腫瘍効果が高まり、Bliss Independence 法による併用効果の解析で相加的と判定された。併用投与時において体重の明らかな減少は認められず、忍容性は良好であった。

ONCO228 試験では、様々な ER 陽性乳癌 PDX モデルを用いて、イムルネストラントの単剤投与並びにアベマシクリブとの併用投与の抗腫瘍活性及び忍容性を検討した。また、フルベストラントの単剤投与及びアベマシクリブとの併用投与も比較のため設定した。使用した PDX モデルを以下に示す。

- ST941/HI：ER 陽性、HER2 陰性、ESR1-Y537S 変異型
- ST941/PBR：ER 陽性、HER2 陰性、ESR1-Y537S 変異型、パルボシクリブ耐性発現
- CTG-2432：ER 陽性、HER2 陰性、ESR1-E380Q 変異型
- CTG-1211：ER 陽性、HER2 陰性、ESR1-D538G 変異型
- CTG-1260：ER 陽性、HER2 陰性、ESR1-D538G、PIK3CA H1047R 変異型

ST941/HI 及び ST941/PBR を用いた試験では、腫瘍片を雌の免疫不全マウスに移植し、平均腫瘍体積が約 125～250 mm^3 になった時点で試験を開始した。CTG-2432、CTG-1211、及び CTG-1260 を用いた試験では、腫瘍片を雌の免疫不全マウスに移植し、平均腫瘍体積が約 150～300 mm^3 になった時点で試験を開始した。試験開始時に、マウスを無作為に群に割り付けた（ST941/HI、ST941/PBR、CTG-2432、及び CTG-1211 モデルでは各群 3 例、CTG-1260 モデルでは各群 6 例）。試験期間中、イムルネストラント（遊離塩基又はイムルネストラントトシル酸塩）及びアベマシクリブは 1 日 1 回強制経口投与で、フルベストラントは週 1 回の皮下投与で投与した。投与期間中、腫瘍体積及び体重を週 2 回測定し、腫瘍増殖抑制作用及び体重を指標とした忍容性を評価した。抗腫瘍効果は、媒体対照群に対する被験薬投与群の腫瘍体積変化量の比（$\%\Delta T/C = 100 \times \Delta T/\Delta C$）を用いて評価した。ΔT が負（腫瘍退縮）の場合、腫瘍退縮率（TR）は被験薬投与群のベースラインの平均腫瘍体積に対する被験薬投群の腫瘍体積変化量の比（退縮率［%］ $= \Delta T/T_{BL} \times 100$）を用いて評価した。Bliss Independence 法を用いて腫瘍体積に対する投与の併用効果を解析した。

ESR1-Y537S 変異を有する ST941/HI モデルでは、イムルネストラント及びフルベストラントを単剤並びにアベマシクリブとの併用で 28 日間投与した（表 2.6.2-13 及び図 2.6.2-8 B）。イムルネストラント、フルベストラント、及びアベマシクリブの単剤投与により腫瘍増殖は抑制され、腫瘍増殖抑制率（tumor growth inhibition：TGI）はそれぞれ 78.7%（%ΔT/C=21.3）、67.4%（%ΔT/C=32.6）、及び 87.7%（%ΔT/C=12.3）であった。イムルネストラントとアベマシクリブを併用投与したとき、TGI は 98.2%（%ΔT/C=1.8）であり、フルベストラントとアベマシクリブとの併用投与では TGI は 84.1%（%ΔT/C=15.9）であった。Bliss Independence 法による統計学的に有意な併用効果は認められなかったが、イムルネストラントとアベマシクリブの併用投与時には、他の投与と比較して、投与中止後のより強力かつ持続的な抗腫瘍効果が認められた。いずれの投与も体重の明らかな減少は認められず、良好な忍容性を示した。

パルボシクリブ耐性及び ESR1-Y537S 変異を有する ST941/PBR モデルでは、イムルネストラントトシル酸塩及びフルベストラントを単剤並びにアベマシクリブとの併用で 28 日間投与した（表 2.6.2-13 及び図 2.6.2-8 C）。イムルネストラントトシル酸塩、フルベストラント、及びアベマシクリブの単剤投与による TGI は、それぞれ 46.9%（%ΔT/C=53.1）、42.1%（%ΔT/C=57.9）、及び 56.7%（%ΔT/C=43.3）であった。イムルネストラントとアベマシクリブを併用投与したとき、

TGIは95.2%（%ΔT/C=4.8）であり、フルベストラントとアベマシクリブとの併用ではTGIは75%（%ΔT/C=25）であった。Bliss Independence 法を用いた統計解析において、イムルネストラントとアベマシクリブとの併用には相加的な併用効果が認められたが、フルベストラントとアベマシクリブとの併用には併用効果は認められなかった。また、イムルネストラントとアベマシクリブとを併用投与したとき、他の投与と比較して、投与中止後のより強力かつ持続的な抗腫瘍効果が認められた。このST941/PBRモデルでは、いずれの投与も体重の明らかな減少は認められず、良好な忍容性を示した。

ESR1-E380Q 変異を有する CTG-2432 モデルでは、イムルネストラントトシル酸塩及びフルベストラントを単剤並びにアベマシクリブとの併用で 28 日間投与した（表 2.6.2-13 及び図 2.6.2-8 D）。イムルネストラントトシル酸塩の単剤投与により 61.9%の腫瘍退縮率（TR）が得られ、一方、フルベストラント又はアベマシクリブの投与では、TGI はそれぞれ 95.8%（%ΔT/C=4.2）及び 58.9%（%ΔT/C=41.1）であった。イムルネストラントとアベマシクリブとの併用では TR は 67%、フルベストラントとアベマシクリブとの併用では TR は 31.6%であった。Bliss Independence 法を用いた統計解析では、いずれの併用も併用効果は認められなかった。いずれの投与も体重の明らかな減少は認められず、良好な忍容性を示した。

CTG-1211 は、タモキシフェン、エキセメスタン、及びフルベストラント投与下で再発した患者に由来する PDX モデルであり、ESR1-D538G 変異を有する。CTG-1211 モデルでは、イムルネストラントトシル酸塩及びフルベストラントを単剤並びにアベマシクリブとの併用で 27 日間投与した（表 2.6.2-13 及び図 2.6.2-8 E）。イムルネストラントトシル酸塩を 15 mg/kg の用量で投与したとき、21.9%の TR が得られた。CTG-1211 モデルはフルベストラントの単剤投与に完全な耐性を示し、腫瘍増殖抑制は認められなかった（%ΔT/C=104.2）。アベマシクリブの単剤投与では TR は 10.5%であった。イムルネストラントとアベマシクリブとの併用では TR は 58.2%、フルベストラントとアベマシクリブとの併用では TR は 27.2%であった。イムルネストラントとアベマシクリブとを併用投与したとき、試験終了時（42 日目）まで持続的な抗腫瘍効果が認められた。Bliss Independence 法を用いた統計解析によると、アベマシクリブにイムルネストラントを追加したときの併用効果は、相加的な効果よりも弱く、アベマシクリブにフルベストラントを追加したときには、併用効果は認められなかった（表 2.6.2-13）。このモデルではフルベストラントに対する耐性が保持されていたが、イムルネストラントは単剤で抗腫瘍活性を示した。いずれの投与も体重の明らかな減少は認められず、良好な忍容性を示した。

CTG-1260 は、レトロゾール及びフルベストラントでの治療が最初は有効であったものの、後にそれらの投与下で進行した患者に由来し、ESR1-D538G 及び PIK3CA H1047R 変異を有する。CTG-1260 モデルでは、イムルネストラントトシル酸塩及びフルベストラントを単剤並びにアベマシクリブとの併用で 56 日間投与した（表 2.6.2-13 及び図 2.6.2-8 F）。イムルネストラントトシル酸塩の投与では、TGI は 88.4%（%ΔT/C=11.6）であり、フルベストラント又はアベマシクリブ投与の TGI はそれぞれ 65.3%（%ΔT/C=34.7）及び 90.3%（%ΔT/C=9.7）であった。イムルネストラントとアベマシクリブとの併用では TR が 39.9%、フルベストラントとアベマシクリブとの併用ではTGIが94.6%（%ΔT/C=5.4%）であった。Bliss Independence法を用いた統計解析によると、アベマシクリブにイムルネストラントを追加したとき相加的な併用効果が認められ、アベマシク

リブにフルベストラントを追加したときには、併用効果は認められなかった（表 2.6.2-13）。いずれの投与も良好な忍容性を示し、体重の明らかな減少は認められなかった。

これらの乳癌細胞株異種移植モデル及び PDX モデルにおけるイムルネストラントとアベマシクリブを併用投与したときの有効性及び忍容性、並びに in vitro で認められた抗増殖活性の併用による相乗又は相加効果（表 2.6.2-7）から、ESR1 変異を有する患者では、フルベストラントやアロマターゼ阻害剤の投与下で進行が認められた場合でも、イムルネストラントと CDK4/6 阻害剤の併用による治療効果が期待できる可能性があることが示唆された。

表 2.6.2-13.　ER 陽性乳癌異種移植モデル及び患者由来乳癌異種移植モデルでのイムルネストラントとアベマシクリブの腫瘍増殖に対する in vivo 併用効果

モデル	投与、スケジュール	腫瘍体積（平均±SE、mm^3）	%ΔT/C（正の値）又は退縮率(%)（負の値）	p 値（媒体との比較）	併用効果
T47D	媒体、QD×28、PO	746.00 ± 57.860	NA	NA	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 5 mg/kg、QD×28、PO	370.93 ± 32.408	18.5	<0.001*	NA
	アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	442.12 ± 31.421	34.0	<0.001*	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 5 mg/kg、QD×28、PO／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	264.94 ± 15.336	-7.3	<0.001*	相加的
ST941/HI	媒体、QD×28、PO	1848.15 ± 216.802	NA	NA	NA
	イムルネストラント 10 mg/kg、QD×28、PO	550.94 ± 254.162	21.3	0.008*	NA
	アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	401.83 ± 181.302	12.3	0.001*	NA
	フルベストラント 5 mg/回、Q7D×4、SC	736.47 ± 128.643	32.6	0.041*	NA
	イムルネストラント 10 mg/kg、QD×28、PO／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	228.96 ± 47.482	1.8	<0.001*	なし
	フルベストラント 5 mg/回、Q7D×4、SC／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	462.0 ± 68.369	15.9	0.003*	なし
ST941/PBR	媒体、QD×28、PO	1050.96 ± 173.165	NA	NA	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 15 mg/kg、QD×28、PO	663.39 ± 75.310	53.1	0.012*	NA
	アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	581.93 ± 48.809	43.3	0.002*	NA
	フルベストラント 5 mg/回、Q7D×4、SC	703.01 ± 94.501	57.9	0.027*	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 15 mg/kg、QD×28、PO／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	263.88 ± 33.554	4.8	<0.001*	相加的
	フルベストラント 5 mg/回、Q7D×4、SC／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	431.21 ± 48.188	25	<0.001*	なし

モデル	投与、スケジュール	腫瘍体積（平均±SE、mm^3）	%ΔT/C（正の値）又は退縮率(%)（負の値）	p 値（媒体との比較）	併用効果
CTG-2432	媒体、QD×28、PO	1642.86 ± 247.029	NA	NA	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 15 mg/kg、QD×28、PO	80.25 ± 46.829	-61.9	<0.001*	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 45 mg/kg、QD×28、PO	116.42 ± 37.249	-44.7	<0.001*	NA
	アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	799.23 ± 139.094	41.1	0.185	NA
	フルベストラント 5 mg/回、Q7D×4、SC	270.43 ± 151.904	4.2	0.001*	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 15 mg/kg、QD×28、PO／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	69.45 ± 23.089	-67.0	<0.001*	なし
	フルベストラント 5 mg/回、Q7D×4、SC／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×28、PO	143.99 ± 43.417	-31.6	<0.001*	なし
CTG-1211	媒体、QD×27、PO	999.96 ± 231.634	NA	NA	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 15 mg/kg、QD×27、PO	168.31 ± 54.859	-21.9	<0.001*	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 45 mg/kg、QD×27、PO	121.37 ± 25.729	-43.7	<0.001*	NA
	アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×27、PO	192.83 ± 25.809	-10.5	<0.001*	NA
	フルベストラント 5 mg/回、Q7D×4、SC	1033.14 ± 179.982	104.2	0.919	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 15 mg/kg、QD×27、PO／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×27、PO	90.08 ± 23.366	-58.2	<0.001*	相加的な効果よりも弱い
	フルベストラント 5 mg/回、Q7D×4、SC／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×27、PO	156.73 ± 35.487	-27.2	<0.001*	なし
CTG-1260	媒体、QD×56、PO	1480.49 ± 403.795	NA	NA	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 5 mg/kg、QD×56、PO	384.82 ± 61.477	11.6	<0.001*	NA
	アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×56、PO	360.87 ± 37.297	9.7	<0.001*	NA
	フルベストラント 5 mg/回、Q7D×6、SC	671.03 ± 101.393	34.7	0.002*	NA
	イムルネストラントトシル酸塩 5 mg/kg、QD×56、PO／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×56、PO	144.74 ± 22.380	-39.9	<0.001*	相加的
	フルベストラント 5 mg/回、Q7D×6、SC／アベマシクリブ 50 mg/kg、QD×56、PO	307.55 ± 62.012	5.4	<0.001*	なし

略号：ER＝エストロゲン受容体、HI＝ホルモン非依存性、PBR＝パルボシクリブ耐性、NA＝該当なし、PO＝経口、Q7D＝週 1 回、QD＝1 日 1 回、SC＝皮下、SE ＝標準誤差
腫瘍体積の分析は Log_{10} 及び Spatial Power 共分散構造分析に基づいて行った。
* 媒体対照と比較して統計学的に有意（$p<0.05$、二元配置反復測定分散分析）
併用効果の判定は Bliss Independence 法による統計学的解析により決定した。
%ΔT/C は、投与群の投与期間終了時の腫瘍体積がベースラインの腫瘍体積以上である場合に算出した。計算式は $100\times(T-T_{BL})/(C-T_{BL})$で、T 及び C はそれぞれ投与群及び対照群の投与期間終了時の平均腫瘍体積、T_{BL} はベースライン日の全群の腫瘍体積の総平均値である。
退縮率は、投与群の投与期間終了時の腫瘍体積がベースラインの腫瘍体積を下回った場合に算出した。計算式は $100\times(T-T_{BL})/T_{BL}$ で、T_{BL} はベースライン日の全群の腫瘍体積の総平均値である。

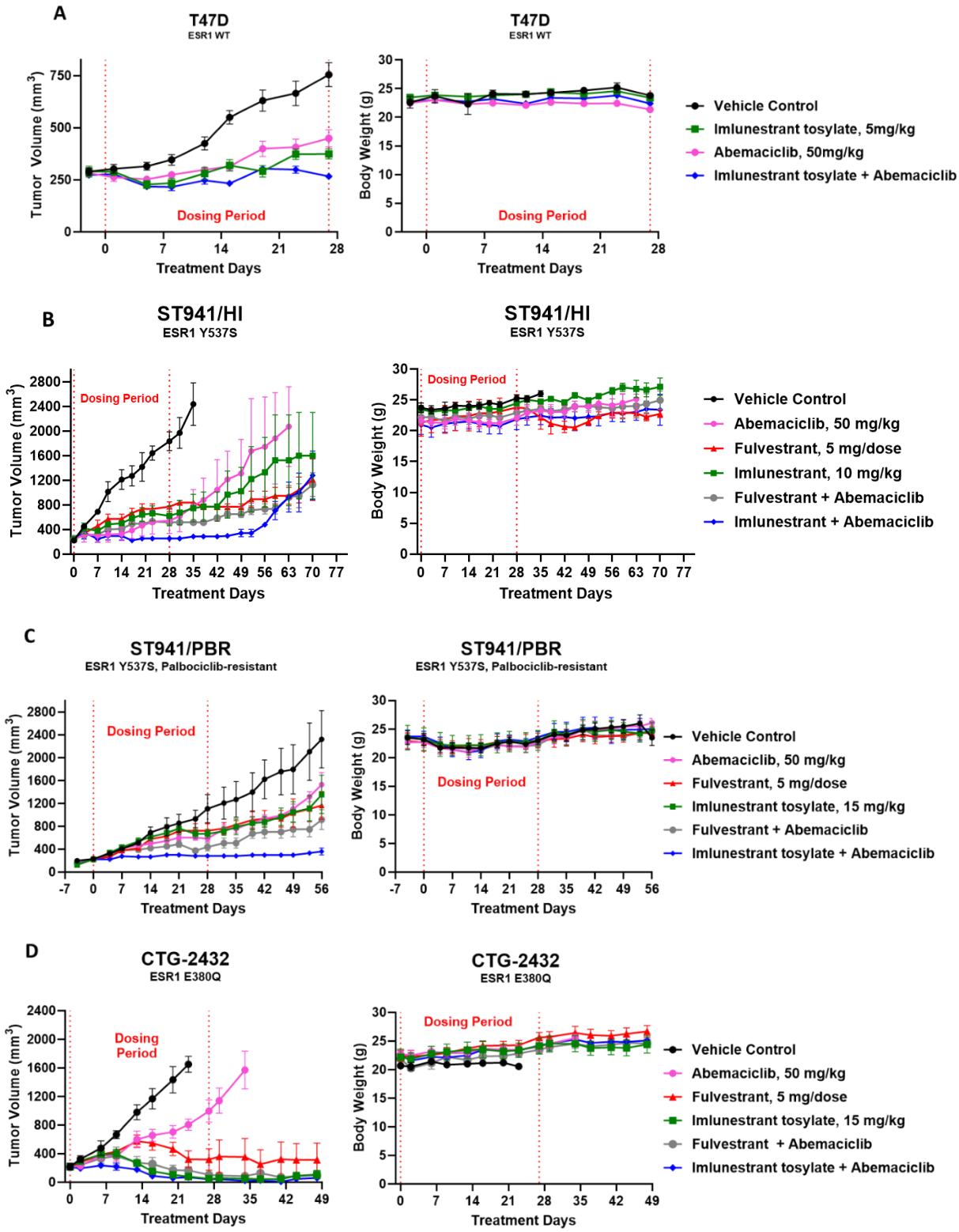
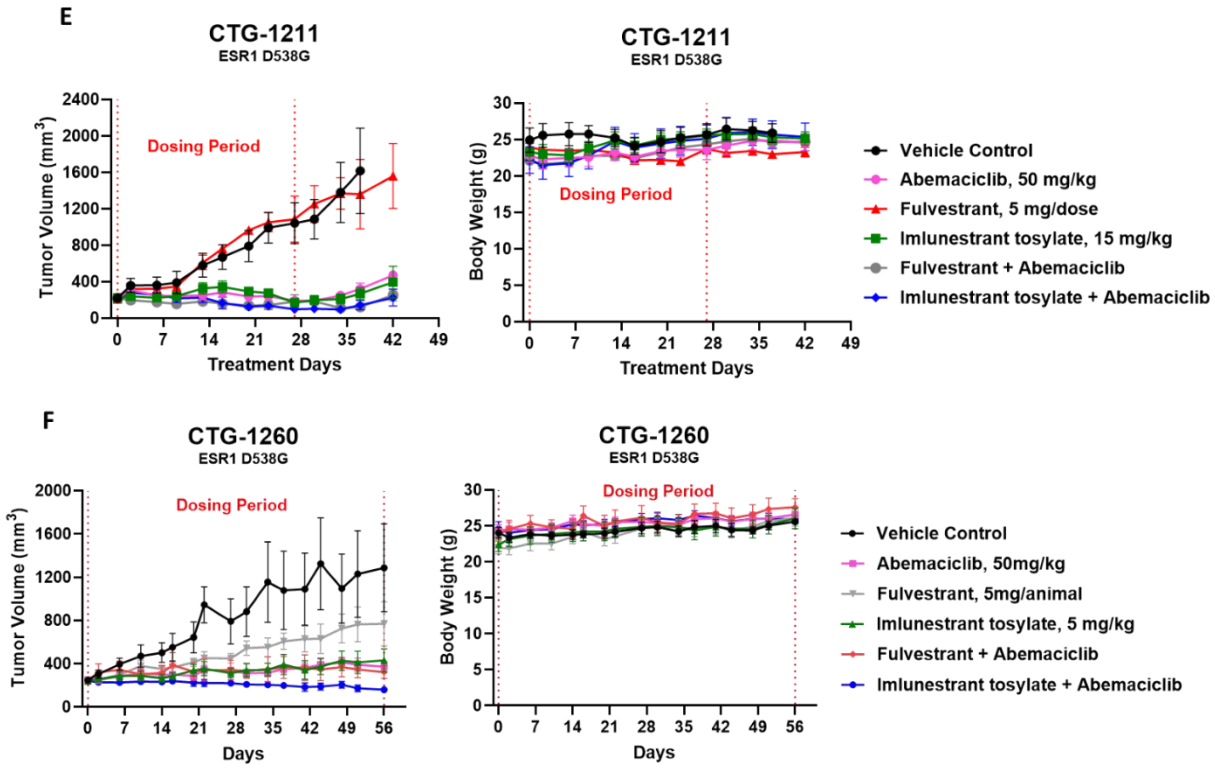

A
T47D
ESR1 WT
Tumor Volume (mm3)
Dosing Period
Treatment Days
T47D
ESR1 WT
Body Weight (g)
Dosing Period
Treatment Days
Vehicle Control
Imlunestrant tosylate, 5mg/kg
Abemaciclib, 50mg/kg
Imlunestrant tosylate + Abemaciclib
B
ST941/HI
ESR1 Y537S
Tumor Volume (mm3)
Dosing Period
Treatment Days
ST941/HI
ESR1 Y537S
Body Weight (g)
Dosing Period
Treatment Days
Vehicle Control
Abemaciclib, 50 mg/kg
Fulvestrant, 5 mg/dose
Imlunestrant, 10 mg/kg
Fulvestrant + Abemaciclib
Imlunestrant + Abemaciclib
C
ST941/PBR
ESR1 Y537S, Palbociclib-resistant
Tumor Volume (mm3)
Dosing Period
Treatment Days
ST941/PBR
ESR1 Y537S, Palbociclib-resistant
Body Weight (g)
Dosing Period
Treatment Days
Vehicle Control
Abemaciclib, 50 mg/kg
Fulvestrant, 5 mg/dose
Imlunestrant tosylate, 15 mg/kg
Fulvestrant + Abemaciclib
Imlunestrant tosylate + Abemaciclib
D
CTG-2432
ESR1 E380Q
Tumor Volume (mm3)
Dosing Period
Treatment Days
CTG-2432
ESR1 E380Q
Body Weight (g)
Dosing Period
Treatment Days
Vehicle Control
Abemaciclib, 50 mg/kg
Fulvestrant, 5 mg/dose
Imlunestrant tosylate, 15 mg/kg
Fulvestrant + Abemaciclib
Imlunestrant tosylate + Abemaciclib

図 2.6.2-8（続く）



（A）T47D、（B）ST941/HI、（C）ST941/PBR、（D）CTG-2432、（E）CTG-1211、（F）CTG-1260 乳癌異種移植モデルにイムルネストラント、フルベストラント、アベマシクリブ、又はそれらを併用投与したときの腫瘍細胞増殖抑制作用（左）及び忍容性（右）、左図縦軸：腫瘍体積（mm^3）、右図縦軸：体重（g）、左右横軸：投与日数
略号：HI＝ホルモン非依存性、PBR＝パルボシクリブ耐性、WT＝野生型

図 2.6.2-8.　ER 陽性乳癌細胞異種移植モデル又は患者由来乳癌異種移植モデルでのイムルネストラントとアベマシクリブ併用時の in vivo 抗腫瘍効果及び忍容性

2.6.2.3　副次的薬理試験

2.6.2.3.1　In vitro 試験

2.6.2.3.1.1　イムルネストラントの in vitro 選択性

報告書 QSB128（4.2.1.2.1）

ヒトキナーゼパネル

イムルネストラントの in vitro 選択性を、広範な結合及び機能アッセイパネルでの活性に基づき評価した（QSB128 試験）。33 のヒトキナーゼからなるキナーゼパネルでは、イムルネストラントのいずれの濃度（0.2、2、20 µM）でも、30%を超える阻害は認められなかった（表 2.6.2-14）。したがって、イムルネストラントは検討した各キナーゼに対して不活性であると考えられる。

表 2.6.2-14.　33 のキナーゼのパネルに対するイムルネストラントの作用

キナーゼ [a]	Entrez ID[b]	説明 [c]	阻害率(%)[d]			[ATP] (μM)[e]	IC_{50}[f]
			0.2 μM	2 μM	20 μM		
ABL1 (JTK7)	25	c-abl がん遺伝子 1、非受容体型チロシンキナーゼ	-13	-4	-9	5	>20 μM
AKT1	207	v-akt マウス胸腺腫ウイルスがん遺伝子ホモログ 1	3	13	2	30	>20 μM
AXL	558	AXL 受容体型チロシンキナーゼ	-15	-19	-24	40	>20 μM
CDK4	1019	サイクリン依存性キナーゼ 4	-7	-5	-9		>20 μM
CDK7	1022	サイクリン依存性キナーゼ 7	-5	6	-5	10	>20 μM
CHK2 (CHEK2)	11200	チェックポイントキナーゼ 2	2	-5	2	30	>20 μM
CK1Ε	1454	カゼインキナーゼ 1、イプシロン	-16	-33	-5	25	>20 μM
DRAK1 (STK17A)	9263	セリン／スレオニンキナーゼ 17a	5	-6	14	10	>20 μM
DYRK2	8445	二重特異性チロシン（Y）リン酸化調節キナーゼ 2	-3	-4	-4	10	>20 μM
EPHB1	2047	エフリン受容体 B1	-15	-15	-29	25	>20 μM
ERK2 (MAPK1)	5594	マイトジェン活性化プロテインキナーゼ 1	5	8	4	10	>20 μM
FAK (PTK2)	5747	タンパク質チロシンキナーゼ 2	5	6	5	25	>20 μM
FGFR3	2261	線維芽細胞増殖因子受容体 3	5	-3	5	10	>20 μM
FLT3	2322	fms 関連チロシンキナーゼ 3	-2	-1	8	200	>20 μM
FMS (CSF1R)	1436	コロニー刺激因子 1 受容体	-1	10	6	50	>20 μM
GSK3b	2932	グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3 ベータ	10	-9	-14	10	>20 μM
HIPK2	28996	ホメオドメイン相互作用プロテインキナーゼ 2	5	4	-5	10	>20 μM
IKKa (CHUK)	1147	保存されたヘリックスーループーヘリックスユビキタスキナーゼ	-2	4	-9	5	>20 μM
IRAK1	3654	インターロイキン 1 受容体関連キナーゼ 1	-8	-3	-11	30	>20 μM
IRK	3643	インスリン受容体	-6	-2	34	30	>20 μM
JAK2	3717	ヤヌスキナーゼ 2	2	-5	2	10	>20 μM
JAK3	3718	ヤヌスキナーゼ 3	-13	-9	-22	0.5	>20 μM
JNK3 (MAPK10)	5602	c-Jun N 末端キナーゼ 3	5	3	-3	10	>20 μM
KDR	3791	キナーゼ挿入ドメイン受容体（タイプ III 受容体型チロシンキナーゼ）	-1	1	-14	25	>20 μM
MLK1	4293	マイトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼキナーゼ 9	-5	-7	-3	10	>20 μM
MNK2	2872	マイトジェン活性化プロテインキナーゼと相互作用するセリン／スレオニンキナーゼ 2	-6	-6	-1	100	>20 μM
MUSK	4593	筋肉、骨格、受容体型チロシンキナーゼ	-10	8	12	25	>20 μM
P70S6K (RPS6KB1)	6198	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ、70kDa、ポリペプチド 1	-4	-1	6	30	>20 μM
PKCb2	5579	プロテインキナーゼ C	-6	11	25	30	>20 μM
SIK (SNF1LK)	150094	塩誘導性キナーゼ 1	-12	-19	-21	30	>20 μM
SRC	6714	v-src トリ肉腫（Schmidt-Ruppin A-2）ウイルスがん遺伝子ホモログ	3	1	14	5	>20 μM
STK33	65975	セリン／スレオニンキナーゼ 33	-2	4	-1		>20 μM
TRKa (NTRK1)	4914	神経栄養因子チロシンキナーゼ、受容体、タイプ 1	0	7	28	100	>20 μM

略号：ATP = アデノシン三リン酸、IC_{50} = 50%阻害濃度

[a] キナーゼの略号

[b] National Center for Biotechnology Information Center（NCBI）データベースの遺伝子識別番号

[c] 1 列目のキナーゼの略号の定義

[d] 検討した濃度のイムルネストラント存在下での阻害率。データは 1 回の測定値（N=1）を表す。値は最も近い整数に四捨五入した。

[e] アッセイに使用した ATP の濃度。空欄は、情報が得られなかったことを示す。

[f] 検討した濃度で得られたデータに、傾き（1）、最大値（100%）、及び最小値（0%）を固定した 4 パラメータロジスティック方程式を当てはめて得られたイムルネストラントの IC_{50} 値。記号（>）は、検討した最高濃度での活性が 50%未満であったことを示す。

ヒト GPCR パネル

8 つのヒト GPCR からなるパネルを用いて刺激及び阻害作用を検討したところ、イムルネストラントは 1 又は 1.4 μM の濃度で検討したいずれの受容体にも明らかな（50%を超える）活性を示さなかった（QSB128 試験）。イムルネストラントが不活性であったこれらの濃度は、ヒトに 400 mg QD の用量で経口投与したときの C_{max} で得られた非結合濃度を 370 倍は上回っている。10 μM 以上の濃度では、イムルネストラントは以下の活性を示した（表 2.6.2-15）。

- $5HT_{2B}$ 受容体を 85%刺激及び 89%阻害
- アドレナリン α_{1A} 受容体を 104%阻害
- アドレナリン β_1 受容体を 86%阻害
- アドレナリン β_2 受容体を 51%阻害
- ドパミン D2L 受容体を 86%刺激
- ムスカリン M2 受容体を 53%阻害

表 2.6.2-15. GPCR パネルでのイムルネストラントの阻害又は刺激活性

受容体	アッセイ形式[a]	セカンドメッセンジャー[b]	濃度[c]	活性(%)[d]
$5HT_{2B}$	刺激	Ca 動員	13.8 μM	85
			1.4 μM	18
$5HT_{2B}$	阻害	Ca 動員	10 μM	89
			1 μM	7
アドレナリン α_{1A}	刺激	Ca 動員	13.8 μM	10
			1.4 μM	1
アドレナリン α_{1A}	阻害	Ca 動員	10 μM	104
			1 μM	31
アドレナリン α_{2A}	阻害	β-アレスチン	10 μM	-53
			1 μM	-18
アドレナリン α_{2A}	刺激	cAMP	10 μM	-4
			1 μM	1
アドレナリン β_1	阻害	β-アレスチン	10 μM	86
			1 μM	-27
アドレナリン β_1	刺激	cAMP	10 μM	-5
			1 μM	0
アドレナリン β_2	阻害	β-アレスチン	10 μM	51
			1 μM	36
アドレナリン β_2	刺激	cAMP	10 μM	-7
			1 μM	-1
ドパミン D1	阻害	β-アレスチン	10 μM	-102
			1 μM	-6
ドパミン D1	刺激	cAMP	10 μM	-15
			1 μM	-7
ドパミン D2L	阻害	β-アレスチン	10 μM	-5
			1 μM	-14
ドパミン D2L	刺激	cAMP	10 μM	86
			1 μM	18
ムスカリン M2	阻害	β-アレスチン	10 μM	53
			1 μM	-42
ムスカリン M2	刺激	β-アレスチン	10 μM	12
			1 μM	5

略号：$5HT_{2B}$ = 5-ヒドロキシトリプタミン 2B、Ca = カルシウム、cAMP = 環状アデノシン一リン酸、GPCR = G タンパク質共役受容体

[a] 使用したアッセイ形式：受容体作動活性を特定するための刺激、拮抗活性を特定するための対照作動薬の反応に対する阻害

[b] アッセイで測定したシグナル伝達分子（セカンドメッセンジャー）

c 検討したイムルネストラント濃度
d 検討した濃度のイムルネストラント存在下での阻害率。データは 1 回の測定値（n=1）を表す。値は最も近い整数に四捨五入した。

2.6.2.3.2 In vivo 試験

2.6.2.3.2.1 ラットにイムルネストラントを投与したときの子宮重量に対する影響

報告書 8393708（4.2.1.2.2）

未成熟ラットを用いた子宮重量試験で、イムルネストラントの ERα 作動活性の有無について検討した（8393708 試験）。ER 作動活性は、イムルネストラントを 30 又は 75 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 日間経口投与したときの子宮重量を測定することにより評価した。本試験で、陽性対照であるタモキシフェン（10 mg/kg）及びエチニルエストラジオール（0.01 mg/kg）は、媒体対照と比較して、子宮重量をそれぞれ 247%及び 452%増加させた。イムルネストラントを投与したラットでは、媒体対照と比較して子宮重量がわずかに減少したが、その減少は統計学的に有意なものではなかった（表 2.6.2-16）。いずれの投与においても体重の変化は認められなかった。子宮、子宮頸部、及び膣の病理組織学的検査でイムルネストラントに関連する毒性所見は認められず、組織像は媒体対照と同様で、未熟ラットに特徴的なものであった。これらのデータから、イムルネストラントは子宮に対して ERα 作動活性を示さないことが確認された。

表 2.6.2-16. ラットでの投与に関連する子宮重量の変化

投与：	媒体	エストラジオール	タモキシフェン	イムルネストラント	
用量(mg/kg)：	0	0.01	10	30	75
ラットの数/性	5/雌	5/雌	5/雌	5/雌	5/雌
子宮重量（内腔液除去後）の変化率、重症度	-	+452%、SE*	+247%、SE*	-11%、MI	-32%、MI
子宮（内腔液除去後）絶対体重(g) ± SD	0.0258 ± 0.00492	0.1400* ± 0.01844	0.0850* ± 0.00705	0.0232 ± 0.00410	0.0177 ± 0.00305

略号：SD = 標準偏差
* = 媒体対照の平均値と比較して統計的に有意な差（$p<0.05$）
重症度評価スケール：EQ = 不明瞭、MI = 軽微、SL = 軽度、MO = 中等度、MA = 重度、SE = 極めて重度

2.6.2.4 安全性薬理試験

イムルネストラントの安全性薬理評価として、独立した in vitro 安全性薬理試験を実施した（心血管系：CTD 第 2.6.2.4.1 項）。イムルネストラントはこれらの評価項目に影響（50%以上の阻害活性と定義）を及ぼさなかった。

また、イムルネストラントの反復投与毒性試験（GLP 適用）において、以下の安全性薬理評価（心血管系、中枢神経系、呼吸系）を行った（CTD 第 2.6.6.3 項）。イムルネストラントはこれらの安全性薬理評価項目に影響を及ぼさなかった。

- 一般状態の観察（ラット 1、3 及び 6 ヵ月間試験並びにサル 1 及び 3 ヵ月間試験）
- 体外ジャケット式テレメトリーによる定量的及び定性的心電図検査（サル 1 及び 3 ヵ月間試験）
- 呼吸系の評価（サル 3 ヵ月間試験）
- 運動機能、神経機能、及び姿勢反応の神経学的検査、並びに体温測定（サル 3 ヵ月間試験）

2.6.2.4.1 心血管系

2.6.2.4.1.1 hERG 電気生理学的パッチクランプアッセイ（GLP 適用）

報告書 190112.FMD（4.2.1.3.1）

目的

急速活性型遅延整流性心臓カリウムイオン電流であるIKrのサロゲートとして、in vitroのhERG電流に対するイムルネストラントの影響を検討した。hERG を安定的に発現している HEK293 細胞を用いて、hERG 電流に対するイムルネストラント（0.3、1、及び 3 μM）の影響を、生理学的温度に近い温度（33～35°C）でボルテージクランプ法にて検討した。媒体は 0.3% DMSO を含有する HEPES 緩衝生理食塩液であった。

結果及び結論

イムルネストラントは、評価した最高濃度の 1 μM で hERG 電流を最大 27.8%阻害した（表 2.6.2-17）。3 μM の濃度では、十分なシール抵抗が得られず、パッチクランプ測定のデータは得られなかった（N=4）。したがって、hERG 電流に対するイムルネストラントの阻害作用の IC_{50} は算出されず、1 μM超と推定された。試験系のhERG電流阻害に対する感度は、陽性対照のテルフェナジンに対する反応によって確認された。

表 2.6.2-17. hERG チャネル電流に対する阻害作用

被験物質	濃度 (μM)	平均阻害率 (%)	平均値の標準誤差 (%)	細胞数
イムルネストラント	0	2.9	0.5	3
	0.3	4.0	0.1	3
	1	27.8*	1.8	3
	3[a]	データなし	データなし	データなし
テルフェナジン	60 nM	75.1	4.2[b]	2

[a] 3 μMの濃度では、パッチクランプ測定に必要なシール抵抗が得られず、使用可能なデータは得られなかった（N=4）。イムルネストラントの溶解性により、3 μMを超える濃度は評価できなかった。
[b] 標準偏差（%）
*p<0.05（媒体［0 μM］のみと比較して統計学的に有意なhERG電流の減少）

2.6.2.4.1.2 Nav1.5 電気生理学的パッチクランプアッセイ（非 GLP 適用）

報告書 QSB128（4.2.1.2.1）

Nav1.5 を安定に発現している HEK293 細胞を用いたホールセル電気生理学的検査により、心臓ナトリウムチャネル Nav1.5 により誘導された電流に対するイムルネストラントの阻害作用を、10 μM までの 8 点の濃度曲線で評価した（N=2）。イムルネストラントは、いずれの濃度でもNav1.5を阻害しなかった。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

薬物相互作用を評価するための特別な薬力学的試験は実施しなかった。

2.6.2.6 考察及び結論

乳癌は女性で最も多いがんであり、乳癌の発生及び進行の主要なドライバーである ER の発現は乳癌の 3 分の 2 超で認められる。ほとんどの ER 陽性乳癌で、ER 及びその下流のシグナル伝達

経路は、前治療の ET に耐性が生じた後でも引き続き重要な治療標的である。ER 活性を低下させる現在の治療法には、以下のようなものがある。

- 直接的な ER 調節薬（SERM）
- アロマターゼ阻害薬（AI）を用いた全身でのアンドロゲンからエストロゲンへの変換の抑制
- ER を阻害及び分解する ER 分解薬（SERD）

ET は初期には有効であるが、ほとんどの患者は最終的には再発し、耐性を獲得する(Ring and Dowsett 2004)。

現在、フルベストラントがホルモン受容体陽性手術不能又は再発乳癌の治療薬として日本で承認されている唯一の SERD である。しかし、フルベストラントは筋肉内投与が必要であり、その投与経路により患者に投与できるフルベストラントの量が制限される。現在投与可能な最大用量でフルベストラントを投与しても ER を完全には分解できず、早期の進行に関連する可能性があることが示唆されている(van Kruchten et al. 2015)。このことから、高いバイオアベイラビリティ、受容体分解能、及び拮抗活性を有する経口投与可能な SERD の開発を望むアンメットメディカルニーズが存在する(Nardone et al. 2019)。

イムルネストラントの特性には、以下のようなものがある：

- 経口投与が可能
- 脳内曝露を含むバイオアベイラビリティの向上
- ESR1 変異型非臨床モデルでの有効性

ER 陽性乳癌は、現在利用可能な ET で治療しても進行した場合、更なるホルモン療法には反応しにくくなり、その後の治療選択肢は最終的に化学療法に限られる。しかし、ET に対する耐性が発現しても、ER 経路は依然として乳癌の進行に重要である。一般的な耐性機序は、ESR1 における変異の発生であり、この変異によってエストロゲン非依存的な ER 経路の活性化及び継続的な腫瘍増殖が引き起こされ、一般的に使用されているエストロゲン除去療法（アロマターゼ阻害薬など）への耐性が生じると考えられる。この ESR1 変異型に対する活性を示すイムルネストラントのような経口 SERD の開発は、患者のアンメットメディカルニーズを満たすことが期待される。

無細胞系の生化学的アッセイでの結合親和性データから、イムルネストラントは野生型及び変異型（Y537S）の ERα に高い親和性で結合することが示された。核内ホルモン受容体、キナーゼ、及び GPCR を含むいくつかのパネルを用いたイムルネストラントの選択性の評価では、イムルネストラントは検討したいずれの受容体及びキナーゼに対しても、臨床的に到達可能な濃度で明らかな活性を示さなかった。ESR1 野生型の MCF7 細胞ではイムルネストラントにより ERα が強力に分解されることが示された。また、ESR1 野生型及び変異型 ER 陽性乳癌細胞株パネルを用いて ERα 分解作用を評価したところ、イムルネストラントはフルベストラントと同様に ERα を強力に分解するとともに、PGR 発現レベルを抑制した。ERα の下流分子への作用を更に分析するため、ESR1 野生型及び変異型（Y537N）MCF7 細胞の PGR 発現レベルについて検討したところ、イムルネストラントは ESR1 野生型及び変異型の両方の MCF7 細胞で PGR 発現レベルを低下させることが示され、2000 nM までのいずれの濃度でも PGR の誘導は認められなかった。ESR1 野生型の MCF7 細胞で、イムルネストラントはフルベストラントと同様に、エストラジオール存在下で

ERα を介した遺伝子転写を用量依存的に阻害した。これらのデータを総合すると、イムルネストラントは野生型及び変異型 ERα の強力で完全な拮抗薬及び分解薬であることが示された。

野生型又は変異型の ESR1 を含む ER 陽性乳癌細胞パネルでイムルネストラントの抗増殖活性を検討したところ、イムルネストラントは ESR1 変異の有無にかかわらず、検討した各細胞株で強力な抗増殖活性を示した。また、34 の乳癌細胞株からなるパネルを用いた抗増殖試験で、イムルネストラントは ER 陽性乳癌細胞株に対して選択的な抗増殖活性を示し、12 の ER 陽性乳癌細胞株のうち 11 株がイムルネストラントに感受性を示した（IC_{50} が 100 nM 未満）。ER 陰性乳癌細胞株はいずれもイムルネストラントに感受性を示さなかった（IC_{50} は 2 μM 超）。これらの試験での抗増殖プロファイルから、イムルネストラントは ER 陽性乳癌細胞株全体に広範な活性を示し、ESR1 野生型及び変異型の乳癌細胞株に強力かつ選択的な阻害作用を示すことが明らかになった。

現在、CDK4/6 阻害剤であるアベマシクリブは、ER 陽性 HER2 陰性の転移性再発乳癌に対してフルベストラントなどの ET との併用療法として使用でき(Sledge et al. 2020)、ER 陽性の進行性乳癌患者で ET とアベマシクリブの併用による転帰の改善が認められている。イムルネストラントとアベマシクリブを併用した in vitro 試験では、5 つの ER 陽性乳癌細胞株のうち 4 株で相乗的、もう 1 株で相加的な効果が認められた。T47D 細胞株の ER 陽性乳癌異種移植モデルを用いた in vivo 試験では、イムルネストラントとアベマシクリブの併用投与により、各薬剤の単剤投与と比較して抗腫瘍活性が増強することが示された。また、この併用投与によるマウスでの体重の減少は認められず、良好な忍容性が示された。

マウスの MCF7 又は ST941/C 異種移植モデルを用いた標的阻害試験では、イムルネストラントは投与後 96 時間にわたり、ER 経路活性化のバイオマーカーである PGR の転写を顕著に（75%以上）阻害した。イムルネストラントは良好な PK-PD 関係を示し、曝露量は血漿中よりも腫瘍内の方が高かった。また、これらのマウスの脳における曝露が認められ、イムルネストラントが血液脳関門を通過することが示された。イムルネストラントは、5 つの ESR1 野生型及び変異型 ER 陽性乳癌異種移植モデルで腫瘍増殖抑制効果を示し、使用したモデルのうち、ESR1-Y537S 変異型モデルを含む 2 つのモデルでフルベストラントよりも有効であることが示唆された。検討したいずれの用量でもマウスで体重の明らかな変化は認められず、良好な忍容性が認められた。

乳癌患者の 10%～16%では脳転移が見られ、治療の選択肢は依然として限られている。マウスにイムルネストラントを投与した in vivo 試験では、イムルネストラントによる持続的な脳内曝露が示された。頭蓋内に MCF7 ルシフェラーゼ標識腫瘍を移植したマウスでは、イムルネストラントは対照と比較して、検討した 3 つのすべての用量で腫瘍増殖抑制作用及び顕著な生存効果を示した。脳移植モデルにおいてイムルネストラントによる脳内曝露及び有効性が認められたことから、イムルネストラントは脳転移を有する患者で臨床効果を示す可能性があると考えられた。

タモキシフェンは乳癌治療に広く使用されている SERM である。タモキシフェンは乳癌の治療に有効であるが、子宮内での部分的な ERα 作動活性により、長期間のタモキシフェン投与は子宮内膜癌のリスクを増加させる(Bergman et al.2000)。子宮に対する薬理活性の in vivo 分析では、ラットにエストラジオール又はタモキシフェンを投与すると、子宮重量がそれぞれ 452%及び 247%増加した。一方、イムルネストラントを投与すると、子宮重量のわずかな減少が認められ、病理組織学的検査で子宮、子宮頸部、及び膣に毒性所見は認められず、イムルネストラント投与群で

観察された組織像は対照群と同様であった。これらの結果から、イムルネストラントは ERα の完全拮抗薬であり、子宮内膜で ERα に対する作動活性は示さないことが裏付けられた。

イムルネストラントの hERG 電流阻害作用における IC_{50} は 1 μM 超であり、Nav1.5 に対しては 10 μM までの濃度で活性を示さなかった。反復投与毒性試験で、定量的及び定性的心電図、呼吸系パラメータ、CNS 評価項目及び体温にイムルネストラントの影響は認められなかった。

以上、イムルネストラントは野生型及び変異型両方の ERα に対して強力かつ選択的な完全拮抗薬及び分解薬であり、in vitro 及び in vivo の広範な ER 陽性乳癌モデルで抗増殖活性を示し、許容可能な安全性プロファイル及び良好な PK-PD 関係を有することが示された。脳転移を模倣した ESR1 変異型の頭蓋内腫瘍移植モデルでイムルネストラントの抗腫瘍活性が認められたことから、イムルネストラントによる乳癌の脳転移に対する臨床効果も期待される。

2.6.2.7　図表

図表は適切な項に記載した。

2.6.2.8　参考文献

Bergman L, Beelen ML, Gallee MP, et al. Risk and prognosis of endometrial cancer after tamoxifen for breast cancer. Comprehensive Cancer Centres' ALERT Group. Assessment of Liver and Endometrial cancer Risk following Tamoxifen. Lancet. 2000 Sep 9;356(9233):881-887.

Cheng R, Qi L, Kong X, et al. Identification of the significant genes regulated by estrogen receptor in estrogen receptor-positive breast cancer and their expression pattern changes when tamoxifen or fulvestrant resistance occurs. *Front Genet.* 2020 Sep 29;11:538734.

Colomer R, Casas D, Del Campo JM, et al. Brain metastases from breast cancer may respond to endocrine therapy. *Breast Cancer Res Treat.* 1988 Sep;12(1):83-86.

Fritah A, Saucier C, De Wever O, et al. Role of WISP-2/CCN5 in the maintenance of a differentiated and noninvasive phenotype in human breast cancer cells. *Mol Cell Biol.* 2008 Feb;28(3):1114-1123.

Ghosh MG, Thompson DA, Weigel RJ. PDZK1 and GREB1 are estrogen-regulated genes expressed in hormone-responsive breast cancer. *Cancer Res.* 2000 Nov 15;60(22):6367-6375.

Jeselsohn R, Yelensky R, Buchwalter G, et al. Emergence of constitutively active estrogen receptor-α mutations in pretreated advanced estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2014 Apr 1;20(7):1757-1767.

Jeselsohn R, Buchwalter G, De Angelis C, et al. ESR1 mutations—a mechanism for acquired endocrine resistance in breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2015;12(10):573-583.

Lee YJ, Gorski J. Estrogen-induced transcription of the progesterone receptor gene does not parallel estrogen receptor occupancy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Dec 24;93(26):15180-15184.

Lin NU, Amiri-Kordestani L, Palmieri D, et al. CNS metastases in breast cancer: old challenge, new frontiers. *Clin Cancer Res.* 2013 Dec 1;19(23):6404-6418.

Martínez-Lacaci I, Saceda M, Plowman GD, et al. Estrogen and phorbol esters regulate amphiregulin expression by two separate mechanisms in human breast cancer cell lines. *Endocrinology.* 1995 Sep;136(9):3983-3992.

Nardone A, Weir H, Delpuech O, et al. The oral selective oestrogen receptor degrader (SERD) AZD9496 is comparable to fulvestrant in antagonizing ER and circumventing endocrine resistance. *Br J Cancer.* 2019;120(3):331-339.

Ring A, Dowsett M. Mechanisms of tamoxifen resistance. *Endocr Relat Cancer.* 2004;11(4):643-658.

Robinson D, Wu YM, Vats P, et al. Activating ESR1 mutations in hormone-resistant metastatic breast cancer. *Nat Genet.* 2013;45:1446–1451.

Sledge GW Jr, Toi M, Neven P, et al. The effect of abemaciclib plus fulvestrant on overall survival in hormone receptor-positive, ERBB2-negative breast cancer that progressed on endocrine therapy-MONARCH 2: a randomized clinical trial. *JAMA Oncol.* 2020 Jan 1;6(1):116-124.

Toy W, Shen Y, Won H, et al. ESR1 ligand-binding domain mutations in hormone-resistant breast cancer. *Nat Genet.* 2013 Dec;45(12):1439-1445.

van Kruchten M, de Vries EG, Glaudemans AW, et al. Measuring residual estrogen receptor availability during fulvestrant therapy in patients with metastatic breast cancer. *Cancer Discov.* 2015;5(1):72-81.

Wang Q, Sun B, Liu C, et al. Brain metastases from breast cancer may respond to endocrine therapy: report of two cases. *Onco Targets Ther.* 2019 Feb 19;12:1389-1393.

イムルリオ錠 200mg

2.6.3　薬理試験概要表

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.3. Pharmacology Tabulated Summary 1
2.6.3.1. Pharmacology: Overview 1
2.6.3.2. Primary Pharmacodynamics 4
2.6.3.3. Secondary Pharmacodynamics 4
2.6.3.4. Safety Pharmacology 5
2.6.3.5. Pharmacodynamic Drug Interactions 5

2.6.3. Pharmacology Tabulated Summary

Note: Imlunestrant may also be referred to as LY3484356 or LY3484356 tosylate in the tables and study reports.

2.6.3.1. Pharmacology: Overview

Table 2.6.3.1–1. Overview of Pharmacology Studies

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID	CTD section
Primary Pharmacodynamics					
Binding activity	Full length ERα (wild-type, Y537S mutant), ERβ, HEK293 cells overexpressing GR, AR, MR, or PR	In vitro	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	QSB111	4.2.1.1.1
Degradation and functional antagonism activity	MCF7 and MCF7 ESR1-Y537N cells	In vitro	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	QSB112	4.2.1.1.2
Dose-dependent degradation activity	MCF7, T47D, HCC1428, ZR-75-1, T47D ESR1-Y537N, and ST941/C cells	In vitro	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	ONCO149	4.2.1.1.3
Inhibition of ERα-mediated gene transcription	MCF7 ESR1 wild-type cells	In vitro	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	ONCO150	4.2.1.1.4
Inhibition of cell proliferation	MCF7, MCF7 ESR1-Y537N (heterozygous), T47D, T47D ESR1-Y537N (heterozygous), T47D ESR1-Y537N (homozygous) and ST941/C cells	In vitro	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	QSB113	4.2.1.1.5
Anti-proliferative activity and combination efficacy	34 breast cancer cell line panels - MCF7, T47D, ZR-75-1, ZR-75-30, EFM-19 cells	In vitro	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	QSB129	4.2.1.1.6

(continued)

Table 2.6.3.1–1.　Overview of Pharmacology Studies (Continued)

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID	CTD section
Primary Pharmacodynamics (continued)					
Pharmacological activity of metabolites	MCF7, MCF7 ESR1-Y537N, and MCF7 ESR1-D538G cells	In vitro	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	ONCO204	4.2.1.1.7
Potent dose-dependent transcriptional inhibition	Mice, MCF7, and ST941/C cells	In vivo	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	ONCO151	4.2.1.1.8
Tumor growth inhibition	Mice, MCF7, T47D, ZR-75-1, and HCC1428 cells ST941-HI PDX model	In vivo	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	ONCO152	4.2.1.1.9
Intracranial anti-tumor activity	Mice, and MCF7-fLuc cells	In vivo	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	ONCO167	4.2.1.1.10
Combination effects	Mice, and T47D cells	In vivo	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA	ONCO220	4.2.1.1.11
Anti-tumor activity and tolerability	Mice, and patient-derived xenografts	In vivo	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA [redacted] USA [redacted] USA [redacted] USA	ONCO228	4.2.1.1.12

(continued)

Table 2.6.3.1–1. Overview of Pharmacology Studies (Concluded)

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID	CTD section
Secondary Pharmacodynamics					
Selectivity	Biochemical assays for 33 recombinant human kinases;cell-based assays for 8 recombinant human GPCRs	In vitro	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA [redacted] USA [redacted] France	QSB128	4.2.1.2.1
Uterotrophic activity	Rat	In vivo	[redacted] USA	8393708	4.2.1.2.2
Safety Pharmacology					
Effects on CNS and body temperature[a,b]	Monkey	Oral gavage	[redacted] Canada	8003147	4.2.3.2.7
Effects on respiratory[a,b]	Monkey	Oral gavage	[redacted] Canada	8003147	4.2.3.2.7
Effects on cardiovascular system[a,b]	Monkey	Oral gavage	[redacted] Canada	8002569	4.2.3.2.6
Effects on cardiovascular system[a,b]	Monkey	Oral gavage	[redacted] Canada	8003147	4.2.3.2.7
Effects on hERG channel[a]	HEK293 cells	In vitro	[redacted] USA	190112.FMD	4.2.1.3.1
Effects on Nav1.5 ion channel	HEK293 cells	In vitro	Eli Lilly and Company Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana, USA [redacted] France	QSB128	4.2.1.2.1
Pharmacodynamic Drug Interactions					
Not applicable					

Abbreviations: AR = androgen receptor; CNS = central nervous system; ERα = estrogen receptor alpha; ERβ = estrogen receptor beta; GR = glucocorticoid receptor; GLP = Good Laboratory Practice; GPCRs = G-protein coupled receptors; HEK = human embryonic kidney; hERG = human ether–à-go-go-related gene; MR = mineralocorticoid receptor; PR = progesterone receptor.

[a] Contains a GLP compliance statement.

[b] Safety pharmacology endpoints evaluated in a repeat-dose toxicity study.

2.6.3.2. Primary Pharmacodynamics

Refer to Section 2.6.2 (Pharmacology Written Summary).

2.6.3.3. Secondary Pharmacodynamics

Refer to Section 2.6.2 (Pharmacology Written Summary).

2.6.3.4. Safety Pharmacology

Table 2.6.3.4–1. Safety Pharmacology Studies

Organ Systems Evaluated	Species, Strain	Route	Dose Levels[a]	Study Interval(s) Evaluated	N/Sex/ Group	Noteworthy Findings	GLP	Document ID
CNS, BT [b]	Monkey, cynomolgus	PO	0, 15, 100, 600	Predose; Days 1, 36, 105	4	No noteworthy findings	Yes	8003147
Respiratory [b]	Monkey, cynomolgus	PO	0, 15, 100, 600	Predose; Days 1, 36, 105	4	No noteworthy findings	Yes	8003147
Cardiovascular [b]	Monkey, cynomolgus	PO	0, 30, 150, 600	Predose; Days 3, 23	3	No noteworthy findings	Yes	8002569
Cardiovascular [b]	Monkey, cynomolgus	PO	0, 15, 100, 600	Predose; Weeks 4, 8, 15	4	No noteworthy findings	Yes	8003147
Cardiovascular, ion channel	HEK293 cells transfected with hERG clone	In vitro	0, 0.3, 1 µM	NA	NA	The IC_{50} could not be determined but is greater than 1 µM.	Yes	190112.FMD
Cardiovascular, ion channel	HEK293 cells stably expressing Nav1.5	In vitro	8-point concentration curve up to 10 µM	NA	NA	The IC_{50} could not be determined but is greater than 10 µM.	No	QSB128

Abbreviations: BT = body temperature; CNS = central nervous system; hERG = human ether-à-go-go-related gene; HEK = human embryonic kidney; IC_{50} = half maximal inhibitory concentration; N = number; NA = not applicable; PO = oral.

[a] mg/kg/day unless specified otherwise.

[b] Safety pharmacology endpoints evaluated in a repeat-dose toxicity study.

2.6.3.5. Pharmacodynamic Drug Interactions

Not applicable.