目次

2.4 非臨床試験の概括評価 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 3
2.4.2 薬理試験 3
2.4.2.1 ヒト HEI193 又はマウス *Nf2*$^{-/-}$シュワン細胞腫をヌードマウスに移植したモデルにおけるベバシズマブ及び他の抗 VEGF 治療の効果 4
2.4.3 総括及び結論 4
2.4.4 参考文献一覧 5

略語一覧

略語	英名	和名
NF2	neurofibromatosis type 2	神経線維腫症 II 型
NRP	neuropilin	ニューロピリン
SEMA	semaphorin	セマフォリン
VEGF	vascular endothelial growth factor	血管内皮増殖因子
VEGFR	vascular endothelial growth factor receptor	血管内皮増殖因子受容体

2.4 非臨床試験の概括評価

ベバシズマブ（遺伝子組換え）（以下，ベバシズマブ）は，ヒト血管内皮増殖因子（Vascular Endothelial Growth Factor，VEGF）に対するマウスモノクローナル抗体 A4.6.1[1)] を遺伝子工学的にヒト化した組換え型モノクローナル抗体[2)] であり，米国 Genentech 社により創製された。VEGF は VEGF-A とも呼ばれ，血管内皮細胞の増殖並びに生存を維持し，血管新生と血管透過性を制御するとともに，腫瘍の増悪・転移にも関わっている[3) -6)]。VEGF にベバシズマブが結合することにより，VEGF と受容体（VEGFR-1及び VEGFR-2）との結合が阻害され，VEGF により誘導される血管内皮細胞の増殖を抑制することが in vitro 試験において示されている[1) ,2)]。また，in vivo 試験では腫瘍組織における血管新生等の VEGF の生物活性を阻害し，腫瘍の増殖を抑制することが認められている[1) ,7)]。2026年1月現在，ベバシズマブは本邦において，結腸・直腸癌，非小細胞肺癌，乳癌，悪性神経膠腫，卵巣癌，子宮頸癌，肝細胞癌の適応で製造販売承認を取得している。

今般，神経線維腫症 II 型（neurofibromatosis type 2，NF2）患者を対象とした第 II 相多施設共同ランダム化二重盲検実薬対照並行群間比較試験（FMU2019-01-NF2試験［BeatNF2試験］）においてベバシズマブの有効性及び安全性が確認されたことから，「神経線維腫症2型」の効能又は効果及び用法及び用量（5 mg/kg，2週間間隔投与）を追加するため，製造販売承認事項一部変更承認申請を行うこととした。

2.4.1 非臨床試験計画概略

（1）薬効薬理試験

医薬品医療機器総合機構との対面助言の結果を踏まえ，今回の申請にあたり，薬効薬理について新たな試験は実施していない（1.13.2-2）。

（2）その他の非臨床試験

今回の申請にあたり，副次的薬理試験，安全性薬理試験，薬物動態試験，毒性試験について，新たな試験は実施していない。

NF2に対するベバシズマブ及びその他の VEGF 阻害剤の有効性を示唆する非臨床薬理試験成績としては，ヒト HEI193又はマウス *Nf2*$^{-/-}$シュワン細胞腫をヌードマウスの頭蓋内及び坐骨神経に移植して，頭蓋内及び坐骨神経腫瘍モデルを作製し，ベバシズマブとバンデタニブ（VEGFR2と EGFR の二重チロシンキナーゼ阻害薬）の効力を検証した Wong ら[8)] の論文が2010年に報告されている。また，2015年には，ヒト HEI193又はマウス *Nf2*$^{-/-}$細胞の頭蓋内及び坐骨神経腫瘍モデルを用いた B20.4.4（ヒト及びマウスの両 VEGF を中和する抗体）治療において，本中和抗体の効力を検証した論文が Gao ら[9)] によって報告されている。

薬効薬理試験成績として，Wong及びGaoらの公表論文知見[8) ,9)] を整理し纏め，2.6.1 緒言，2.6.2 薬理試験の概要文及び2.6.3 薬理試験概要表を作成した。以上二つの論文[8) ,9)] については，4.3 参考文献として提出する。

2.4.2 薬理試験

近年，VEGF 及び VEGF 受容体を標的とする抗血管新生療法は，標準的な細胞傷害性化学療法に対して抵抗性があると考えられている良性腫瘍の治療にも使用されるようになってきている。NF2の特徴である左右両側の前庭神経に発生する神経鞘腫（シュワン細胞腫）を有する患者を対象とした最近の研究において，抗 VEGF 療法が聴力の改善と腫瘍増殖の安定化をもたらすことが報告されている一方で，VEGF 阻害剤の作用機序の詳細は明らかとなっていない[8)]。

Wong[8)] 及び Gao ら[9)] がそれぞれ2010年及び2015年に論文報告したヒト HEI193又はマウス *Nf2*$^{-/-}$シュワン細胞腫を用いた二つのモデル動物での試験成績は，VEGF 又は VEGFR2のいずれ

かを阻害して VEGF 経路を標的とすることが，NF2の病状の改善につながる可能性を示している。したがって，NF2におけるベバシズマブの作用機序及び効力を推定する際に，Wong 及び Gao らの論文知見に基づいて考察することは妥当であると考えられる。

2.4.2.1 ヒト HEI193又はマウス *Nf2*$^{-/-}$シュワン細胞腫をヌードマウスに移植したモデルにおけるベバシズマブ及び他の抗 VEGF 治療の効果

ヒト HEI193又はマウス *Nf2*$^{-/-}$シュワン細胞腫を用いて，ベバシズマブ及び他の抗 VEGF 治療の効果を評価した論文の試験成績を以下に要約する。

- ヒト HEI193及びマウス *Nf2*$^{-/-}$の両細胞において，NF2の原因遺伝子産物である merlin 蛋白の発現はほとんどみられなかった。VEGF 活性の制御の役割を担っている semaphorin（SEMA）及び neuropilin（NRP）遺伝子の発現レベル解析では，SEMA3F 及び NRP1のダウンレギュレーションがみられた（4.3-8）[8)]。
- ヒト HEI193細胞を移植したモデルでは，ベバシズマブによるシュワン細胞腫の血管数と血管密度の減少，増殖遅延，細胞死の増加，及びマウスの生存期間の延長，並びに細胞腫血管の機能改善・回復がみられた（4.3-8）[8)]。
- ヒト HEI193又はマウス *Nf2*$^{-/-}$細胞をヌードマウスに移植したモデルにおける B20.4.4の治療において，神経機能の改善，腫瘍浮腫の軽減，筋萎縮の減少，神経再生の促進及び血管構造の正常化が観察された（4.3-9）[9)]。
- ヒト HEI193及びマウス *Nf2*$^{-/-}$の両細胞をヌードマウスに移植したモデルにおいて，放射線治療との併用は抗腫瘍効果を増強させた（4.3-9）[9)]。

2.4.3 総括及び結論

VEGF は血管内皮細胞の増殖を促進するとともに生存因子として作用するサイトカインであり，正常な生理的プロセスのみならず，腫瘍増殖などの病的プロセスにおける血管新生を制御している[3)-6)]。VEGF の発現は，結腸・直腸癌，非小細胞肺癌，腎細胞癌など様々なヒト腫瘍において認められている[4)]。腫瘍組織中の血管は正常な構造を有しておらず，不規則な分岐，蛇行などが認められるとともに，周皮細胞の数が少なく構造的に脆いとされている[10),11)]。この異常な脈管構造の形成には VEGF が重要な役割を担っていると考えられており，VEGF シグナルの伝達を阻害することにより，異常に亢進した血管新生は抑制され，未成熟な微小血管は退縮し，周皮細胞を伴う正常な構造を有する血管の比率は増加することが認められている[12),13)]。

ベバシズマブは，ヒト VEGF に対するヒト化した組換え型モノクローナル抗体であり，腫瘍組織の血管密度及び血管透過性を低下させる作用を有し（ベバシズマブ初回申請時 CTD2.4.5），ベバシズマブの親抗体であるマウス抗体（A4.6.1）は各種ヒト腫瘍細胞株移植モデルに抗腫瘍効果を発揮することが報告されている（ベバシズマブ初回申請時 CTD2.4.2.2）。

VEGF の発現はヒト前庭神経鞘腫においても確認されており，免疫組織化学的解析における発現率は100%と報告されている[14)]。近年，NF2患者へのベバシズマブの投与により，腫瘍が制御され，聴力が改善されることが報告[8),14)]されている一方で，ベバシズマブの神経機能に対する作用機序の詳細は不明であった[8)]。

2010年に Wong ら[8)]は，ヒト HEI193又はマウス *Nf2*$^{-/-}$シュワン細胞腫を用いて，NF2に対する抗 VEGF 治療薬（ベバシズマブとバンデタニブ）の効力を検証した in vitro 及び in vivo 試験成績について論文報告している。In vitro において，ヒト HEI193及びマウス *Nf2*$^{-/-}$の両細胞は VEGF を分泌しており，遺伝子又は蛋白質の発現レベル解析では，両細胞共に NF2の原因遺伝子産物である merlin 蛋白の発現はほとんどみられないこと，VEGF 活性の制御を担っている SEMA 及び NRP 遺伝子がダウンレギュレーションされていることを示している。近年の NF2患者における免疫組織化学的解析において，SEMA3F はシュワン細胞腫のわずか20%でのみに

発現し，その強度は低下していることが報告されている[14]。ヒトHEI193及びマウス *Nf2*$^{-/-}$シュワン細胞腫の両細胞では SEMA3F がダウンレギュレーションされており，上述のように in vitro で VEGF が分泌されていることから，両細胞は NF2患者における VEGF 及び SEMA の関与を反映していると考えられる。

In vivo では，ヒト HEI193細胞をヌードマウスに移植したモデルで，ベバシズマブの効力を検討し，ベバシズマブによるシュワン細胞腫の血管数と血管密度の減少，増殖遅延，細胞死の増加，及びマウスの生存期間の延長，並びに細胞腫血管の機能改善・回復がみられている。2015年には Gao ら[9] が，ヒト HEI193又はマウス *Nf2*$^{-/-}$の両細胞をヌードマウスに移植したモデルを用いた B20.4.4の治療において，神経機能の改善，腫瘍浮腫の軽減，筋萎縮の減少，神経再生の促進及び血管構造の正常化が観察されたことを報告している。

以上の Wong[8] 及び Gao ら[9] の試験成績から，ベバシズマブは，腫瘍組織と同様に，良性腫瘍の NF2においても，血管構造を正常化させ，血管透過性を改善すると考えられる。また，浮腫を軽減し，神経機能を改善させることが期待される。

NF2における臨床的に重要な課題として，聴神経腫瘍の病勢進行に伴う聴力障害と，手術や放射線療法に伴う聴力低下があり（2.5.6.4），聴力低下を最小限に抑える治療選択肢を特定することが要望されている。Gao ら[9] は，ヒト HEI193細胞移植モデルにおいて，B20.4.4（ヒト及びマウスの両 VEGF を中和する抗体）が放射線治療の効果を高めることを報告している。NF2患者へのベバシズマブ治療により，良好な腫瘍制御が達成でき，放射線療法との併用では放射線量を低減し，それによって放射線関連の神経毒性を最小限に抑えることが期待される。

2.4.4 参考文献一覧

1） Kim KJ, Li B, Houck K, et al. The vascular endothelial growth factor proteins:identification of biologically relevant regions by neutralizing monoclonal antibodies. Growth Factors 1992;7:53-64.

2） Presta LG, Chen H, O'Connor SJ, et al. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. Cancer Res 1997;57:4593-9.

3） Ferrara N, Houck K, Jakeman L, et al. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. Endocr Rev 1992;13:18-32.

4） Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. Endocr Rev 1997;18:4-25.

5） Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. Endocr Rev 2004;25:581-611.

6） Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, et al. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. Pharmcol Rev 2004;56:549-80.

7） Gerber H-P, Ferrara N. Pharmacology and pharmacodynamics of bevacizumab as monotherapy or in combination with cytotoxic therapy in preclinical studies. Cancer Res 2005;65:671-80.

8） Wong HK, Lahdenranta J, Kamoun WS, et al. Anti-vascular endothelial growth factor therapies as a novel therapeutic approach to treating neurofibromatosis-related tumors. Cancer Res 2010;70:3483-93.

9） Gao X, Zhao Y, Stemmer-Rachamimov AO, et al. Anti-VEGF treatment improves neurological function and augments radiation response in NF2 schwannoma model. Proc Natl Acad Sci USA 2015;112:14676-81.

10） Jain RK. Molecular regulation of vessel maturation. Nat Med 2003;9:685-93.

11） Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. Nat Med 2003;9:653-60.

12） Willett CG, Boucher Y, di Tomaso E, et al. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. Nat Med 2004;10:145-7.

13） Tong RT, Boucher Y, Kozin SV, et al. Vascular normalization by vascular endothelial growth factor receptor 2 blockade induces a pressure gradient across the vasculature and improves drug penetration in tumors. Cancer Res 2004;64:3731-6.

14）Plotkin SR, Stemmer-Rachamimov AO, Barker II FG, et al. Hearing improvement after bevacizumab in patients with neurofibromatosis type 2. N Engl J Med. 2009;361:358-67.