2.4　非臨床試験の概括評価の目次

2.4.1　非臨床試験計画概略 2
2.4.2　薬理試験 3
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 3
2.4.2.2　副次的薬理試験 4
2.4.2.3　安全性薬理試験 5
2.4.3　薬物動態試験 5
2.4.3.1　吸収 6
2.4.3.2　分布 6
2.4.3.3　代謝及び排泄 6
2.4.3.4　薬物動態学的薬物相互作用 7
2.4.4　毒性試験 8
2.4.4.1　全身曝露量 8
2.4.4.2　単回投与毒性 8
2.4.4.3　反復投与毒性 8
2.4.4.4　遺伝毒性試験 9
2.4.4.5　生殖発生毒性試験 9
2.4.4.6　局所刺激性 10
2.4.4.7　その他の毒性試験 10
2.4.5　総括及び結論 11
2.4.6　参考文献 13

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

セバベルチニブ（以下、BAY 2927088 と表記する）は、経口投与可能で可逆的かつ高い選択性を有するヒト上皮成長因子受容体 2（HER2）及び上皮成長因子受容体（EGFR）チロシンキナーゼに対する阻害薬である。BAY 2927088 は、*HER2* 遺伝子エクソン 20 挿入（ex20ins）変異及び *HER2* 遺伝子の点変異、更に、*EGFR* 遺伝子 ex20ins 変異及び古典的 *EGFR* 遺伝子変異〔*EGFR* 遺伝子エクソン 19 欠失（ex19del）変異及び *EGFR* L858R 変異〕に対して強い阻害作用を示す。

BAY 2927088 の非臨床試験は、薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的特性を明らかにするために、関連するガイドライン（ICH S9 及びその Q&A、ICH S7A 及び S7B 等）に従って実施した。

効力を裏付ける薬理試験では、*in vitro* で BAY 2927088 の標的キナーゼに対する阻害活性及び作用機序を検討し、*in vivo* では抗腫瘍効果を *HER2* 遺伝子 ex20ins 変異陽性又は *EGFR* 遺伝子変異陽性がん患者由来組織片及びがん細胞株を移植したマウスモデルで検討した。また、副次的薬理試験では、*in vitro* で BAY 2927088 のオフターゲット作用及び心筋イオンチャネルに対する影響を検討し、*ex vivo* では心臓における血行動態及び電気生理学的パラメーターに及ぼす影響をウサギのランゲンドルフ灌流心臓を用いて検討した。

安全性薬理試験では、BAY 2927088 が生命維持に重要な器官系〔中枢神経系、心電図（ECG）を含む心血管系、呼吸器系〕に及ぼす影響を ICH S7A 及び S7B ガイドラインに従って *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。また、ICH S9 に従って、ラットの 4 週間反復投与毒性試験に安全性薬理試験エンドポイント（中枢神経系及び呼吸器系）を組み込んで評価した。

薬物動態試験では、BAY 2927088 を雄 Wistar ラット及び雌ビーグル犬に単回静脈内又は単回経口投与、並びに、雄 CD-1 マウスに単回静脈内投与して薬物動態を検討した。また、ラットでは臓器・組織分布を評価した。反復投与後の薬物動態は、雌雄 Wistar ラット、雌雄ビーグル犬及び雌雄カニクイザルでの反復投与毒性試験におけるトキシコキネティクス（TK）に基づいて評価した。更に、*in vitro* で血漿タンパク結合、血球移行、膜透過性、薬物トランスポーターに対する基質特性及び阻害作用を評価した。

代謝については、*in vitro* でヒトを含む動物の肝細胞を用いて評価した。また、*in vivo* では、ラットにおける代謝に加えて、臨床試験で癌患者に単回及び反復投与後の血漿試料を用いて代謝物の探索的評価を実施した。更に、*in vitro* において、ヒトの組換えチトクローム P450（CYP）酵素分子種、肝ミクロソーム及び肝細胞を用いてヒトにおける BAY 2927088 の代謝酵素同定、CYP 分子種に対する阻害及び誘導作用を評価した。患者の血漿試料を用いた探索的な代謝物評価により、BAY 2927088 の脱水素代謝物（M1 又は BAY 3306572）はヒト血漿中の主代謝物であることが明らかになった。そのため、M1 の薬物動態学的及び薬理学的特性を *in vitro* で評価するとともに、ラット及びサルの 13 週間反復投与毒性試験において曝露量を評価した。

毒性試験は標的臓器、認められた影響・所見とその可逆性の評価、並びに曝露反応関係に関する BAY 2927088 の毒性プロファイルを特定することを目的とした。

投与経路は予定された臨床投与経路に従って経口投与とした。毒性評価に一般的に使用されているげっ歯類及び非げっ歯類を用いた BAY 2927088 経口投与による毒性試験を実施した。BAY 2927088 の全身曝露プロファイルは TK 評価によって検討した。

ラットの試験では、2 つの探索的用量設定試験で 1 日 1 回 14 日間反復強制経口投与し、その後 4 及び 13 週間反復投与試験を実施した。非げっ歯類を用いた最初の探索的用量設定試験では、

ビーグル犬に 1 日 1 回 14 日間反復経口投与して TK を評価したところ、初回投与時と比較して定常状態では血漿中濃度が著しく低下した。メカニズム検討の結果、顕著な代謝酵素の誘導が明らかになった。この結果から、イヌは毒性試験に用いる動物種として適切でないことが明らかとなり、反復投与後の適切な毒性評価が可能な非げっ歯類としてカニクイザルを選択した。サルを用いた 14 日間の用量設定試験では BAY 2927088 を 1 日 1 回反復強制経口投与した。その後、7 日間反復強制投与する最大耐量（MTD）設定試験を実施して、4 週間反復投与試験を実施した。ラット及びサル 4 週間反復投与試験においては投与期間終了後に認められた影響・所見の可逆性又は遅延性を、14 日間の休薬期間を設けた回復試験群にて評価した。ラット及びサルを用いた 13 週間反復投与試験において BAY 2927088 の亜慢性毒性を評価した。

BAY 2927088 の遺伝毒性を評価するために一連の遺伝毒性試験を実施した。また、BAY 2927088 は 208～337nm の紫外光範囲で光を吸収し、モル吸光係数が 1000Lmol^{-1}cm^{-1} を超えることから *in vitro* 光毒性試験を実施した。

生殖発生毒性試験として、ラットを用いた予備的試験を伴う胚・胎児発生毒性試験を実施した。ウサギは強制経口投与による複数の予備的用量設定試験の結果から十分な曝露量が得られなかったこと、静脈内投与による予備検討によっても強い局所刺激性のために反復投与不可能であったことから、BAY 2927088 の胚・胎児発生毒性を評価可能な動物種ではなかった。更に、ヒト人工多能性幹細胞（hiPSCs）を使用した ReproTracker アッセイを実施し、BAY 2927088 による生殖発生毒性のリスク評価の補助とした。

すべての重要な毒性試験は、ICH 及び OECD の試験ガイドラインに従って、GLP 認定試験施設で、GLP に準拠して実施した。

2.4.2　薬理試験

BAY 2927088 の標的キナーゼに対する阻害活性を *in vitro* 試験では生化学的アッセイ、細胞増殖阻害アッセイ及び細胞機能アッセイを用いて評価し、*in vivo* 試験では *HER2* 遺伝子変異陽性及び *EGFR* 遺伝子変異陽性の腫瘍モデルを用いて抗腫瘍効果を検討した。更に、ヒトにおける BAY 2927088 の有効曝露量を検討するために薬物動態／薬力学（PK/PD）解析を実施した。副次的薬理試験では標的特異性を評価し、安全性薬理試験では、ラット及びイヌを用いて生命維持に重要な器官系機能に対する影響を検討した（2.6.2 及び 2.6.3）。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

生化学的アッセイにおいて、BAY 2927088 は *HER2* 遺伝子野生型及び *EGFR* 遺伝子変異のキナーゼに対して阻害作用を示した。

細胞増殖阻害アッセイにおいて、*HER2* 遺伝子 ex20ins 変異を導入した Ba/F3-*HER2* Y772_A775dup、Ba/F3-*HER2* G776delinsVC 及び Ba/F3-*HER2* G778_P780dup の 50%阻害濃度（IC_{50}）値は、それぞれ 8.31、6.73 及び 2.34nmol/L であった。同様に、*HER2* 遺伝子の点変異を導入した Ba/F3-*HER2* S310F、Ba/F3-*HER2* S310Y 及び Ba/F3-*HER2* L755P の IC_{50} 値は、それぞれ 2.47、0.98 及び 5.29nmol/L であった。よって、BAY 2927088 は *HER2* 遺伝子 ex20ins 変異及び *HER2* 遺伝子の点変異に対して細胞増殖阻害作用を示すことが明らかになった。更に、BAY 2927088 は共有結合型 HER2 阻害薬に対する耐性変異である *HER2* C805S 変異が *HER2* 遺伝子変異と共存するがん細胞に対しても、細胞増殖阻害作用を示すことが明らかになった。BAY 2927088 は *HER2* 遺伝子野生型（IC_{50} 値：5.3nmol/L）と *HER2* 遺伝子変異の間では選択性を示さなかった一方で、*EGFR* 遺伝子野生型（IC_{50} 値：221nmol/L）と比べると *HER2* 遺伝子変異に対して選択性を示した。臨床において高頻度で認められる *EGFR* 遺伝子 ex20ins 変異を導入した Ba/F3-*EGFR* V769_D770insASV、*EGFR* 遺

伝子 ex19del 変異を導入した Ba/F3-*EGFR* E746_A750del 及び *EGFR* 獲得耐性遺伝子変異を導入した Ba/F3-*EGFR* E746_A750del/C797S の IC_{50} 値は、それぞれ 4.66、0.16 及び 0.22nmol/L であった。*EGFR* 遺伝子野生型の IC_{50} 値は、*EGFR* 遺伝子 ex20ins 変異及び *EGFR* 遺伝子 ex19del 変異の IC_{50} 値の 8～47 倍及び 1381 倍であった。よって、BAY 2927088 は *EGFR* 遺伝子 ex20ins 変異、*EGFR* 遺伝子 ex19del 変異及び *EGFR* 獲得耐性遺伝子変異陽性のがん細胞に対して選択的に細胞増殖阻害作用を示すことが明らかになった。同様に、内在性の *EGFR* 遺伝子 ex20ins 変異及び *EGFR* 遺伝子 ex19del 変異陽性のがん細胞株を用いた試験においても、*EGFR* 遺伝子野生型のがん細胞株と比べて選択的に細胞増殖阻害作用が認められた。

細胞機能アッセイにおいて、内在性の *EGFR* 遺伝子 ex20ins 変異及び *EGFR* 遺伝子 ex19del 変異陽性のがん細胞株を用いて EGFR のリン酸化阻害作用を検討した。これらの変異陽性のがん細胞株では *EGFR* 遺伝子野生型と比べて選択的にリン酸化阻害作用が認められた。

In vivo 試験において、BAY 2927088 は *HER2* 遺伝子 ex20ins 変異陽性又は *EGFR* 遺伝子変異陽性患者由来がん組織移植片又はがん細胞株を移植したマウスモデルに対して抗腫瘍効果を示した。これらの抗腫瘍効果は *EGFR* 遺伝子野生型のがん細胞株を移植したマウスモデルと比較しても強かったことから、*in vitro* 試験で認められた *HER2* 遺伝子 ex20ins 変異及び *EGFR* 遺伝子変異に対する BAY 2927088 の選択性は *in vivo* 試験においても確認できた。更に、*EGFR* 遺伝子 ex20ins 変異陽性のがん細胞株を移植したマウスモデルにおいて、*in vitro* 試験と同様に、BAY 2927088 による EGFR のリン酸化阻害作用も顕著に認められた。

BAY 3306572（M1）は BAY 2927088 の主代謝物である。*HER2* 遺伝子変異又は *EGFR* 遺伝子変異を導入した Ba/F3 細胞株の増殖阻害アッセイを実施したところ、BAY 3306572 は弱い細胞増殖阻害作用を示した。

EGFR 遺伝子 ex20ins 変異陽性のヒト副鼻腔扁平上皮がん細胞株 SCCNC4 移植マウスモデルを用いて PK/PD 解析を実施した結果、ヒトにおける 1 日あたりの有効曝露量は 500nmol/L･h（242 μg･h/L）と推定された。

一連の効力を裏付ける試験成績から、BAY 2927088 は *HER2* 遺伝子 ex20ins 変異、*HER2* 遺伝子の点変異、*EGFR* 遺伝子 ex20ins 変異及び古典的 *EGFR* 遺伝子変異に対して、標的キナーゼを阻害することで細胞増殖を抑制し、抗腫瘍効果を示すことが示唆される。

2.4.2.2 副次的薬理試験

BAY 2927088 及び BAY 3306572 のオフターゲット作用を評価するために、酵素分析試験及び放射性リガンド結合試験を実施した。更に、有意な相互作用が認められた標的についてはフォローアップ試験を実施し、IC_{50} 値又は K_i 値を評価した。BAY 2927088 はヒトアデノシン A1 受容体〔阻害定数（K_i）値：0.52 μmol/L（放射性リガンド結合試験）、IC_{50} 値：4.3 μmol/L（GTPγS 結合試験）〕、ヒトアデノシン A3 受容体〔K_i 値：1.03 μmol/L（放射性リガンド結合試験）〕、ヒトモチリン〔K_i 値：1.32 μmol/L（放射性リガンド結合試験）、IC_{50} 値：4.9 μmol/L（細胞内カルシウム動員試験）〕及びヒトホスホジエステラーゼ（PDE）4D2〔IC_{50} 値：2.77 μmol/L（酵素分析試験）〕に対してオフターゲット作用を示した。BAY 3306572 はヒトシクロオキシゲナーゼ（COX）-2〔IC_{50} 値：2.2 μmol/L（酵素分析試験）〕、ヒト 15-リポキシゲナーゼ（LOX）-2〔IC_{50} 値：0.25 μmol/L（酵素分析試験）〕、ヒトアデノシントランスポーター〔IC_{50} 値：0.46 μmol/L（アデノシン取り込み試験）〕、ヒトアデノシン A1 受容体〔IC_{50} 値：4.0 μmol/L（GTPγS 結合試験）〕及びヒトアデノシン A3 受容体〔IC_{50} 値：2.7 μmol/L（GTPγS 結合試験）〕に対して、オフターゲット作用を示した。

BAY 2927088（1μmol/L）のキナーゼに対する特異性を [redacted] 社の [redacted] パネルを用いて評価した結果、EGFR、HER2 及び上皮成長因子受容体 4（HER4）の 3 種類を含む 18 種類のヒトキナーゼに対して 80%以上の阻害作用を示した。

心臓のイオンチャネル〔ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）チャネル、ヒト電位依存性ナトリウムチャネル（hNav）1.5、ヒト電位依存性カルシウムチャネル（hCav）1.2、ヒト電位依存性カリウムチャネルサブファミリーQ メンバー1（hKvLQT1）及びヒト内向き整流カリウムチャネル（hKir）2.1〕に及ぼす影響を評価した結果、BAY 2927088 及び BAY 3306572 は、いずれも hERG チャネル阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 2.2 及び 3.5μmol/L であった。なお、hERG チャネル以外のチャネルに対しては、BAY 2927088 及び BAY 3306572 のいずれも阻害作用を示さなかった。ウサギのランゲンドルフ灌流心臓を用いた *ex vivo* 試験において、BAY 2927088 は 1μmol/L まで血行動態や心電図パラメーターに影響を及ぼさなかった。その一方で、10μmol/L では左心室圧及び収縮能の低下が認められ、心電図パラメーターである QTcF 短縮及び QRS 延長も認められた。

2.4.2.3 安全性薬理試験

BAY 2927088 が生命維持に重要な器官系（中枢神経系、心電図所見を含む心血管系、呼吸器系）に及ぼす影響について、複数の *in vitro* 及び *in vivo* 試験で検討した。ICH S7A、ICHS7B 及び ICHS9 ガイドラインに従い GLP に準拠し、*in vivo* 試験ではラット及びイヌの単回経口投与試験（イヌを用いた試験では媒体及び BAY 2927088 の 3 用量をラテン方格法により投与）を実施すると共に、ラットの 4 週間反復投与毒性試験に安全性薬理エンドポイント（呼吸器系及び中枢神経系）を組み込んで実施した。

単回経口投与試験において、ラットでは BAY 2927088 の投与に関連した中枢神経系機能（一般症状観察、体温及び自発運動量）及び呼吸器系機能（呼吸数、一回換気量及び分時換気量）に対して生理学的に問題となる急性の影響は認められなかった。また、イヌにおいても、BAY 2927088 投与に関連した心血管系機能〔動脈圧、左心室圧、心拍数及び心電図（PR 間隔及び QRS 間隔）〕に対して生理学的に問題となる急性の影響は認められなかった。

ラットの 4 週間反復投与毒性試験においても、BAY 2927088 投与に関連した中枢神経系機能（一般症状観察及びオープンフィールド行動観察）及び呼吸器系機能（呼吸状態）に対して投与 2 日目まで生理学的に問題となる急性の影響は認められなかった。

ヒトにおける QT 間隔延長リスクを検討した安全性薬理試験において、BAY 2927088 は hERG チャネルを阻害し（IC_{50} 値：2.4μmol/L）、更に、イヌを用いた単回経口投与試験では 15mg/kg の投与量で、媒体投与群と比較して有意な QTc 間隔の延長が認められた。

2.4.3 薬物動態試験

BAY 2927088 を単回静脈内及び経口投与したときの薬物動態を、CD-1 マウス（静脈内投与のみ）、Wistar ラット及びビーグル犬において検討した。反復投与後の薬物動態は、雌雄 Wistar ラット、カニクイザル及びビーグル犬を用いた反復投与毒性試験の一環として実施した TK に基づいて限定的な評価を実施した（2.6.4 及び 2.6.5）。

また、*in vitro* において血漿タンパク結合、血球移行、薬物トランスポーターに対する基質特性及び阻害作用を検討した。加えて *in vitro* においてヒトを含む種々動物の肝細胞を用いて代謝を検討した。更に、ヒトの代謝に寄与する CYP 分子種の同定、CYP 分子種に対する阻害作用及び誘導作用を介した薬物相互作用の可能性について、組換え CYP 分子種、ヒト肝ミクロソーム及びヒト肝細胞を用いて *in vitro* で検討した。臨床試験（21607 試験）において、BAY 2927088 を

40mg の用量で単回及び反復経口投与したときの血漿を使用して代謝物を探索的に測定した。その結果、主代謝物として M1 が同定された。M1 の合成標品 BAY 3306572 を使用し、種々の *in vitro* 試験〔タンパク結合、CYP 誘導／阻害作用、薬物トランスポーターに対する阻害作用の検討〕を実施するとともに、ラット及びカニクイザルにおける 13 週間反復投与毒性試験では M1 の曝露量を測定した（2.6.4 及び 2.6.5）。

2.4.3.1 吸収

BAY 2927088 を単回静脈内投与後、マウスの血液クリアランスは高く、ラット及びイヌでは中程度であった。分布容積は検討したすべての動物種で大きかった。血漿中濃度はすべての動物種で初期相において急速に低下した（みかけの消失半減期：マウス 0.38 時間、ラット 1.3 時間、イヌ 0.91 時間）。げっ歯類では、終末消失相が確認された（終末相における消失半減期：マウス 3.9 時間、ラット 16 時間）。低用量の BAY 2927088 を単回経口投与後、バイオアベイラビリティはイヌで中程度（35%）、ラットで低かった（12%）。一方、ラットに高用量単回経口投与後、曝露量が用量比を上回って増加したことから、バイオアベイラビリティ（33%）は増加した。無処置ラットに[^{14}C]BAY 2927088 を 3mg/kg の用量で単回経口投与したマスバランス試験成績から、BAY 2927088 の相当量（約 40%）は吸収されなかった。

2.4.3.2 分布

ラットに[^{14}C]BAY 2927088 を単回経口投与後の放射能（BAY 2927088 及び／又は代謝物）は、脳を除くほとんどの臓器・組織に速やか、かつ広範に分布した。全体的に、メラニン含有組織、特に眼球壁を除き、アルビノラット及び有色（Long Evans）ラットの臓器・組織に対する放射能の残留は認められなかった。BAY 2927088 の血漿タンパクへの結合は、検討したすべての動物種において低い～中程度であり、非結合型分率（f_u）はヒトの 4.7%からカニクイザルの 11%までの範囲であった。BAY 2927088 の血液中濃度／血漿中濃度比（C_b/C_p）はヒトでは 1 未満、すなわち血漿に多く分布したが、マウス、ラット及びイヌではほぼ 1、すなわち血漿と血球に均等に分布した。M1 のタンパク結合は、ヒトを含むすべての動物種の血漿において中程度であった。ヒト血漿での f_u は 1.85%であった。

2.4.3.3 代謝及び排泄

BAY 2927088 の各種動物の肝細胞における第 I 相代謝経路は、ピロロピリジノン部分の脱水素による M1 の産生及びメトキシフェニル部分の脱メチル化による M2 の産生であった。更に、未変化体のグルクロン酸抱合により M3 が産生された。代謝経路には顕著な種差は認められず、ヒト特異的な代謝物は認められなかった。

In vitro 代謝試験において、BAY 2927088 の肝臓における消失は、主に CYP3A4 による代謝であることが明らかとなり、CYP1A1 及びグルクロン酸抱合の寄与もわずかに認められた。ラットにおける *in vivo* 代謝試験では、代謝が主要な消失経路であり、酸化的代謝の寄与が大きかった。臨床試験（21607 試験）から得られた血漿試料における探索的な代謝物の検索を実施した結果、酸化代謝物 M1 が最も顕著に産生される代謝物（薬物関連物質の総 AUC 又は AUC(0-24)の 31.1%～38.4%）であることが明らかになり、ICH M3(R2)ガイドラインによると M1 は主代謝物であった。

BAY 2927088 は、*in vitro* では膜透過性の高い化合物に分類され、P-糖タンパク（P-gp）及び乳癌耐性タンパク（BCRP）の基質であった。ラットに[^{14}C]BAY 2927088 を単回経口投与後、放射能のほぼすべてが胆汁／糞を介して排泄され、尿を介する放射能の排泄は 1.4%に過ぎなかった。胆管カニューレを挿入したラットに単回静脈内投与後、放射能の約 74%が胆汁中に排泄され、14.7%が糞中に、4.34%が尿中に排泄された。

2.4.3.4 薬物動態学的薬物相互作用

BAY 2927088 は、検討したすべてのヒト CYP 分子種に対して阻害作用を示し、阻害作用は CYP1A1、2C8、3A4、2A6、2C9、1A2、2B6、2D6、2C19 及び 2E1 の順に強かった。臨床推奨用量 1 日 2 回 20mg 投与後の定常状態における最高血漿中濃度（$C_{max,ss}$）の 873.6μg/L 及び *in vitro* の CYP 阻害作用に基づくと、BAY 2927088 は、相互作用を受けやすい CYP1A1 基質薬に対しては強い阻害剤、相互作用を受けやすい CYP3A4 基質薬に対しては弱い～中程度の阻害剤、相互作用を受けやすい CYP2C8 基質薬に対しては弱い阻害剤であると予測された。

更に、BAY 2927088 は、相互作用を受けやすい CYP3A4 基質薬（ミダゾラムなど）に対して中程度～強い誘導作用を示すと予測されたが、CYP1A2 基質薬に対する誘導作用は予測されなかった。CYP3A4 阻害作用及び誘導作用の両者を考慮すると、BAY 2927088 は、相互作用を受けやすい CYP3A4 基質薬に対して弱い阻害作用を示すと予測された。M1 についても同様に CYP 分子種に対する影響を評価し、$C_{max,ss}$ に基づくと、相互作用を受けやすい CYP1A1 基質薬に対する中程度の阻害作用が予測され、相互作用を受けやすい CYP3A4 基質薬に対する弱い～中程度の誘導作用が予測された。

BAY 2927088 は、排出トランスポーターP-gp、BCRP、MATE1、MATE2K 及び BSEP に対する阻害作用を示し、IC_{50} はそれぞれ 3.06、1.01、0.463、0.305 及び 6.71μM であった。臨床推奨用量 20mg を 1 日 2 回投与後の $C_{max,ss}$ の 874μg/L（1.802μM：非結合型 $C_{max,ss}$ は 0.0849μM）に基づくと、BAY 2927088 による消化管及び全身の P-gp 及び BCRP の阻害、並びに MATE1 及び MATE2K の阻害を介する薬物相互作用が引き起こされる可能性が示唆された。M1 についても同様に排出トランスポーターに対する影響を評価した結果、$C_{max,ss}$ の 314μg/L（0.650μM：非結合型 $C_{max,ss}$ は 0.012μM）に基づくと、全身の BCRP、並びに MATE1 及び MATE2K の阻害を介する薬物相互作用の可能性が示唆された。

更に、BAY 2927088 は、OATP1B1 及び OATP1B3 に対する阻害作用を示し、IC_{50} はそれぞれ 3.0μM 及び 4.3μM であった。しかしながら、ICH M12 ガイドラインによる相互作用の予測計算に基づくと、OATP1B1 又は OATP1B3 の阻害作用を介する臨床的に問題となる薬物相互作用の可能性は示されなかった。

2.4.4 毒性試験

BAY 2927088 の毒性試験は、抗癌剤の非臨床開発に関する ICH S9 ガイドラインに従って実施した。毒性試験は標的臓器、認められた影響・所見とその可逆性の評価、並びに曝露反応関係に関する BAY 2927088 の毒性プロファイルを特定することを目的とした。これらの試験結果は、進行癌患者に BAY 2927088 を反復投与する臨床使用での安全性を支持するものであった。

投与経路は予定された臨床投与経路に従って経口投与とした。主要な毒性試験はラット及びサルを用いた 13 週間までの連日投与による反復投与毒性試験を実施した。これらの動物種は代謝プロファイルがヒトに類似することから選択した。ICH 標準バッテリーの *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験を実施し、更に *in vitro* 試験において光毒性の可能性を評価した。

実施した毒性試験一覧を表 2.6.6.1- 1 に示す。主要な毒性試験は GLP 認定試験施設において、GLP 規制を遵守して実施した。

2.4.4.1 全身曝露量

主要な毒性試験の各用量における非結合型分率で補正した未変化体の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24}）とその臨床曝露量との比（MoE）を表 2.6.6.9-1 に示す。

ラット 4 及び 13 週間反復投与試験では雄に比して雌で毒性が強く、曝露量も雄に比して雌で大きかったが、BAY 2927088 は主として CYP3A4 による酸化的代謝を受け、このような化合物では、ラットにおいて未変化体の曝露量及び毒性に雌雄差が認められる（雌ラットで毒性が強い）ことはよく知られており、ラットでは P450 発現レベルの雌雄差がヒトを含む他の動物種よりも大きいためと考えられる（2.6.6.9）。サルの試験では雌雄差は認められなかった。

主要な毒性試験で検討した用量における BAY 2927088 の全身曝露量は概してその MoE が 1.0 未満であり、安全域は存在しなかった。しかしながら、毒性試験で認められた所見は低分子 EGFR TKI の毒性所見として知られているもの（2.6.6.9）であり、モニタリング及び管理可能なものであった。

ラット及びサル 13 週間反復投与試験、並びにラット胚・胎児発生毒性試験においては、未変化体に加えて主代謝物 M1 の曝露量も評価した。その TK 評価の結果、ラット 13 週間投与試験における M1 曝露量は、AUC 及び C_{max} 共に未変化体曝露量の 29%～41%（雄）、9%～15%（雌）であった。サル 13 週間投与試験における定常状態での M1 曝露量は、未変化体曝露量の約 80%～95%（AUC_{last} 換算）及び約 75%～79%(C_{max} 換算)であった。

2.4.4.2 単回投与毒性

BAY 2927088 の単回投与毒性試験は実施しなかった。安全性薬理試験及び短期反復投与毒性試験より、単回投与毒性を評価した。その結果、BAY 2927088 単回経口投与時の概略の致死量は Wistar 系雌ラットで 45mg/kg 超、雌雄カニクイザルで 20mg/kg 超と推定された。

2.4.4.3 反復投与毒性

ラット 4 週間反復投与試験では、各群雌雄各 10 例のラットに、BAY 2927088 の 0（溶媒対照）、5、10 及び 15mg/kg を 1 日 1 回 4 週間反復強制経口投与した。回復性及び TK 評価のために追加動物を各々割り付けた。BAY 2927088 の 4 週間反復経口投与は、一般症状、臨床検査値の変化、上皮及び粘膜組織における変性及び炎症を特徴とする毒性所見を誘発した。15mg/kg の投与は雌動物で特に強い毒性を誘発し、雌の高用量群は早期に切迫殺した。2 週間の休薬期間終了時には、

投与期間終了時に認められた組織変化を含む毒性所見のほとんどは消失し、完全又はほぼ完全に回復した。TK 評価の結果、毒性変化の程度及び発現頻度の雌雄差と一致して、雄動物に比して雌動物の曝露量が著しく高かった。STD_{10} は、雄動物において 15mg/kg/日を超え、雌動物においては 10mg/kg/日であった。

ラット 13 週間反復投与毒性試験では、各群雌雄各 10 例の Wistar 系ラットに、BAY 2927088 の 0（溶媒体照）、2.5、5 及び 10mg/kg を 1 日 1 回 13 週間反復強制経口投与した。回復性及び TK 評価のために追加動物を割り付けた。BAY 2927088 の 13 週間反復経口投与は、雄動物において 5mg/kg 以上で完全に可逆的な表皮変性所見を誘発した。体重は雄では最高用量の 10mg/kg まで、雌では 2.5mg/kg までは対照群と同等であった。雌の 5mg/kg 以上の群では投与期間中に体重増加量の減少がみられたが、回復群を設けた 10mg/kg 群では、4 週間の休薬期間中に完全に回復した。STD_{10} は雌雄共に 10mg/kg/日を超えると考えられた。

サル 4 週間反復投与試験では、各群雌雄各 3 例のサルに BAY 2927088 の 0（溶媒対照）、3、6 及び 10mg/kg を最長 28 日間にわたり 1 日 1 回反復強制経口投与した。更に、雌雄各 2 例ずつを対照群及び BAY 2927088 高用量群に割付けて同様に 4 週間反復投与し、2 週間の休薬期間終了後に計画殺して回復性を評価した。雄の高用量 10mg/kg 群では、重度の体重減少がみられたことから、試験 11 日目より投与量を 8mg/kg に減量するとともに、この群の全動物を試験 18 日目に安楽殺した。注目すべき所見として、全用量群で重度の下痢及び顕著な体重減少が認められた。投与期間終了時まで生存した計画殺動物において、剖検及び器官重量に毒性所見はみられなかったが、雄の高用量 10/8mg/kg 群における病理組織学的所見として、胃及び回腸に炎症が認められた。また、10/8mg/kg 群の雄全例で胸腺の軽微なびまん性萎縮（胸腺重量の低値を伴う）が認められ、ストレス及び／又は一般状態不良に続発したものと判断した。2 週間の休薬期間終了後には最高用量 10mg/kg を反復投与した雌動物を含めて、器官重量及び病理組織学的異常所見は認められなかった。以上のように、BAY 2927088 の 3、6 及び 10mg/kg をサルに 4 週間反復強制経口投与したところ、下痢及び体重減少を伴う消化器系に対する毒性所見が認められた。HNSTD は 6mg/kg/日であった。

サル 13 週間反復投与試験では、各群雌雄各 3 例（対照及び低用量群）又は 4 例（高用量群）のサルに BAY 2927088 の 0（溶媒対照）、2.5 及び 5mg/kg を 13 週間反復強制経口投与した。その結果、2.5mg/kg 以上から一般症状が発現し、被験薬投与に最も関連したものは、便の柔らかさの変化であった。BAY 2927088 反復投与により、消化管に炎症性病変が単発性に認められた結果、脂肪組織の萎縮及び有意な体重減少が惹起された。5mg/kg 群では雌雄で胸腺萎縮及び雌で肝臓中の脂肪蓄積増加もみられた。最高用量 5mg/kg 群の少数例（雌雄各 1 例）では下痢に伴って重度の体重減少を呈したことから早期切迫殺に至った。HNSTD は 2.5mg/kg/日であった。

2.4.4.4 遺伝毒性試験

BAY 2927088 が点突然変異又は小核を誘発する可能性を検討するため、ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスターV79 細胞を用いた *in vitro* 小核試験及びラット 4 週間反復投与試験で採取した末梢血を用いた小核試験を実施した。これら *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果、BAY 2927088 に変異原性又は染色体異常誘発性は認められなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ラットを用いた胚・胎児発生に関する予備的な試験では、各群 9 例の妊娠雌ラットに BAY 2927088 の 0（溶媒体照）、3、7 及び 11mg/kg を妊娠 6～17 日目まで反復強制経口投与した。その結果、最高用量 11mg/kg 群では 3 例の死亡がみられたほか、すべての用量群で被験薬投与に関連した影響が認められた。7 又は 11mg/kg 群では、薬剤投与に関連した体重及び摂餌量の減少、下痢などの消化器系症状及び胎児体重の低値が認められ、MTD を超えた過剰な用量と考えられた

が、胎児に被験薬投与に関連した奇形又は変異は認められなかった。3mg/kg 群における被験薬投与に関連した影響は、初期の体重増加抑制及び摂餌量の軽度な減少に限られており、毒性所見ではないと考えられた。また、胎児体重にも毒性所見と判断できない軽微な低値がみられた。無毒性量は母動物の一般毒性及び生殖能に対して、また、胎児に対して、いずれも 3mg/kg/日と推定された。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する本試験では、各群 20 例の妊娠雌ラットに BAY 2927088 の 0（溶媒体照）、1.5、3 及び 6mg/kg を妊娠 6～17 日まで反復強制経口投与した。その結果、1.5 及び 3mg/kg 群の被験薬投与に関連した影響は母動物における体重増加量及び摂餌量のわずかな減少に限られた。帝王切開日の妊娠 21 日目には対照群と比較して絶対体重がわずかに低かったものの、母動物の一般状態や胎児の発達に悪影響を及ぼさなかった。一方、最高用量の 6mg/kg は毒性発現量と考えられ、母動物に毒性徴候が認められた。更に 6mg/kg 群では胎児体重（雌雄合算）の軽度な減少に加えて、子宮及び胎盤重量の軽度な減少もみられた。無毒性量は母動物の一般毒性及び生殖能に対して、また、胎児に対して、いずれも上述の予備試験と同じく 3mg/kg/日と推定された。

ウサギは複数の予備検討において十分な全身曝露量が得られなかったことから、胚・胎児発生を評価することができなかったため、hiPSCs を用いた ReproTracker アッセイを実施したところ、BAY 2927088 の曝露により明らかな生殖発生毒性を有することが示された。

2.4.4.6 局所刺激性

BAY 2927088 による独立した局所刺激性試験は実施しなかったが、ラット及びサルを用いた 13 週間までの反復強制投与毒性試験の胃腸管を評価したところ、局所刺激性所見は認められなかった。

2.4.4.7 その他の毒性試験

BAY 2927088 は紫外光領域で光吸収を示したことから、ICH S10 ガイドラインに従った *in vitro* 光毒性試験を実施した。その結果、光毒性は認められなかった。

2.4.5　総括及び結論

BAY 2927088は、経口投与可能で可逆的かつ高い選択性を有するHER2及びEGFRチロシンキナーゼ阻害薬であり、*HER2* 遺伝子変異及び *EGFR* 遺伝子変異に対して強い阻害作用を示す。BAY 2927088 の効力を裏付ける薬理試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験を *in vitro* 及び *in vivo* で実施し、有効性、標的特異性及び安全性について評価した。更に、ヒトでの有効曝露量を予測するためにPK/PD解析を実施した。

BAY 2927088の標的キナーゼに対する阻害作用を *in vitro* 試験では生化学的アッセイ、細胞増殖阻害アッセイ及び細胞機能アッセイを用いて評価した。生化学的アッセイにおいて、BAY 2927088は*HER2*遺伝子野生型及び*EGFR*遺伝子変異のキナーゼに対して阻害作用を示した。更に、*HER2*遺伝子ex20ins変異、*HER2*遺伝子の点変異、*EGFR*遺伝子ex20ins変異、古典的*EGFR*遺伝子変異（*EGFR*遺伝子ex19del変異及び*EGFR* L858R変異）及び*EGFR*獲得耐性遺伝子変異である*EGFR* C797S変異に対して細胞増殖阻害作用を示した。この阻害作用は共有結合型HER2阻害薬に対する耐性変異である *HER2* C805S 変異が *HER2* 遺伝子 ex20ins 変異又は *HER2* 遺伝子の点変異と共存するがん細胞に対しても認められた。*In vivo* 試験において、BAY 2927088 は *HER2* 遺伝子 ex20ins 変異陽性、*EGFR* 遺伝子 ex20ins 変異陽性、古典的 *EGFR* 遺伝子変異陽性及びEGFR獲得耐性遺伝子変異陽性患者由来がん組織移植片及びがん細胞株を移植したマウスモデルに対して抗腫瘍効果を示した。これらの抗腫瘍効果は *EGFR* 遺伝子野生型のがん細胞株を移植したマウスモデルと比較しても強かったことから、*in vitro* 試験で認められた *HER2* 遺伝子 ex20ins 変異及び *EGFR* 遺伝子変異に対する BAY 2927088 の選択性は *in vivo* 試験においても確認できた。したがって、BAY 2927088は非選択性EGFRチロシンキナーゼ阻害薬で一般的に認められるオンターゲット作用に関連した副作用のリスクを低減する可能性がある。SCCNC4移植マウスモデルを用いてPK/PD解析を実施した結果、ヒトにおける 1 日あたりの有効曝露量は 500nmol/L･h（242μg･h/L）と推定され、ヒト目標曝露量として設定した。

副次的薬理試験において、BAY 2927088はヒトアデノシンA1受容体、ヒトアデノシンA3受容体、ヒトモチリン及びヒト PDE4D2 に対してオフターゲット作用を示した。BAY 3306572 はヒトCOX-2、ヒト15-LOX-2、ヒトアデノシントランスポーター、ヒトアデノシンA1受容体及びヒトアデノシンA3受容体に対して、オフターゲット作用を示した。更に、BAY 2927088（1μmol/L）のキナーゼに対する特異性を検討した試験において、EGFR、HER2及びHER4の3種類を含む18種類のヒトキナーゼに対して80%以上の阻害作用を示した。心筋イオンチャネルに及ぼす影響を評価した試験では、BAY 2927088及びBAY 3306572のいずれもhERGチャネル阻害作用を示したが、それ以外のチャネルに対して阻害作用を示さなかった。ウサギのランゲンドルフ灌流心臓を用いた *ex vivo* 試験において、BAY 2927088は1μmol/Lまで血行動態や心電図パラメーターに影響を及ぼさなかった。その一方で、10μmol/L では左心室圧及び収縮能の低下が認められ、心電図パラメーターである QTcF 短縮及び QRS 延長も認められた。現在進行中の *HER2* 及び／又は *EGFR* 遺伝子変異陽性の進行性の非小細胞肺がん患者を対象とした第I/Ⅱ相試験（試験 21607）において、BAY 2927088 20mgを1日2回投与した患者における最高血漿中濃度（C_{max}）は873.6μg/L（1.80μmol/L）であり（5.3.3.5.1 の Table8-9）、このときの非結合型薬物の最高血漿中濃度（$C_{max,u}$）は85nmol/Lであった（f_u：4.71%）。副次的薬理試験成績より、BAY 2927088 20mgを患者に1日2回投与後の$C_{max,u}$（85nmol/L）において、BAY 2927088は選択性を示すと考えられる。

安全性薬理試験において、BAY 2927088 をラット又はイヌに単回経口投与後、心血管系機能〔動脈圧、左心室圧、心拍数及び心電図（PR間隔及びQRS間隔）〕、呼吸器系機能（呼吸数、一回換気量及び分時換気量）及び中枢神経系機能（一般症状観察、体温及び自発運動量）に対して生理学的に問題となる急性の影響は認められなかった。ラットの 4 週間反復投与毒性試験では、投与2日目まで中枢神経系機能及び呼吸器系機能への影響は認められなかった。ヒトにおけるQT間隔延長リスクを検討した安全性薬理試験において、BAY 2927088はhERGチャネルを阻害し、こ

のときの IC_{50} 値（2.4μmol/L）は副次的薬理試験で得られた IC_{50} 値（2.2μmol/L）と近似していた。更に、無影響量を IC_{50} 値の 1/30 と仮定すると、無影響量は 80nmol/L と推定された。また、イヌを用いた単回経口投与試験では 15mg/kg の投与量で有意な QTc 間隔の延長が認められた。イヌに 15mg/kg 投与後の $C_{max,u}$（1062nmol/L）は、BAY 2927088 20mg を患者に 1 日 2 回投与後の $C_{max,u}$（85nmol/L）の 12 倍であったが、hERG チャネルの無影響量（80nmol/L）は BAY 2927088 20mg を患者に 1 日 2 回投与後の $C_{max,u}$ と同程度であった。安全性薬理試験成績より、BAY 2927088 を患者に 20mg を 1 日 2 回投与した際に、生命維持に重要な器官系機能（中枢神経系、心電図所見を含む心血管系、呼吸器系）に対して生理学的に問題となる急性の影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。QT 間隔延長については BAY 2927088 20mg を患者に 1 日 2 回投与後の血漿中濃度以上で認められる可能性があるため、臨床でのモニタリングが推奨される。

BAY 2927088 の薬物動態を、*in vitro* 及び *in vivo* 試験にて評価した。臨床用量 20mg を 1 日 2 回投与したときの曝露量に基づき薬物相互作用の可能性を評価すると、BAY 2927088 は、相互作用を受けやすい CYP1A1 基質薬に対する強い阻害剤、相互作用を受けやすい CYP3A4 基質薬に対する弱い～中程度の阻害剤及び相互作用を受けやすい CYP2C8 基質薬に対しては弱い阻害剤と予測された。更に、BAY 2927088 は、相互作用を受けやすい CYP3A4 基質薬（ミダゾラムなど）に対する中程度～強い誘導剤であり、一方、CYP1A2、2B6 及び 2C19 の基質薬に対する誘導剤ではないと予測された。CYP3A4 阻害及び誘導の両方を考慮すると、BAY 2927088 の正味の作用は、相互作用を受けやすい CYP3A4 基質薬に対する弱い阻害であると予測された。また、BAY 2927088 は排出トランスポーターP-gp、BCRP、MATE1、MATE2K 及び BSEP の阻害剤であることが示された。ICH M12 ガイドラインに基づく評価によって、BAY 2927088 による消化管及び全身の P-gp 及び BCRP の阻害、並びに MATE1 及び MATE2K の阻害を介する薬物相互作用が引き起こされる可能性が示唆された。ヒト肝細胞における BAY 2927088 の酸化代謝は主に CYP3A4 により触媒され、CYP1A1 の寄与は小さかった。また、わずかにグルクロン酸抱合も寄与した。BAY 2927088 の代謝経路に意味のある種差はみられなかったことから、BAY 2927088 の毒性試験に使用した 2 種類の動物種は適切な動物種である。臨床試験（21607 試験）から得た血漿試料を使用した代謝物の探索的な検討の結果、M1（BAY 3306572）の産生がヒトにおける主要な酸化代謝経路であることが明らかとなり、ICH M3(R1)ガイドラインに基づき M1 は主代謝物と定義された。そのため、M1 について *in vitro* で、効力を裏付ける薬理試験及び副次的薬理試験に加えて薬物動態試験にて評価した。M1 の相互作用に関する検討結果より、M1 は相互作用を受けやすい CYP1A1 基質薬に対する弱い阻害剤であり、相互作用を受けやすい CYP3A4 基質薬に対する弱い～中程度の誘導剤と予測された。BAY 2927088 を臨床推奨用量 20mg で 1 日 2 回投与したときの M1 の曝露量に基づき評価すると、未変化体で示唆された以外に、トランスポーターの阻害を介する相互作用の可能性は示唆されなかった。

毒性試験プログラムは抗悪性腫瘍薬の評価に関するガイドライン ICH S9 に準拠して実施した。

BAY 2927088 について、ICH S2(R1)ガイドラインに従った *in vitro* 及び i*n vivo* 試験を実施したところ、変異原性又は染色体異常誘発性は認められなかった。また、*in vitro* 3T3 NRU 光毒性試験を実施した結果、光毒性は認められなかった。

ラット及びサルを用いて主要な 4 及び 13 週間の反復投与毒性試験を実施した。ラット及びサルにおいて、BAY 2927088 は、軟便・下痢をはじめとする一般症状、臨床検査値変化、消化管上皮及び粘膜組織における変性及び炎症を特徴とする毒性所見を誘発した。投与期間終了後に休薬期間を設けた回復試験群の評価結果から、投与終了時に観察された所見は休薬により消失或いは軽減する可逆性変化であった。また、観察された形態学的変化は、低分子 EGFR TKI の反応に典型的なものであった。毒性の主な標的臓器は消化管であり、臨床でモニタリング及び管理可能なものであると考えられた。

BAY 2927088 は、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験において、胎児に奇形を含む重度な毒性所見は誘発しなかったものの、EGF 及び HER2 受容体の発生過程における役割、ノックアウトモデルを用いた複数の文献並びに hiPSCs を用いた *in vitro* 試験結果を考慮すると、EGF 及び HER2 受容体阻害が及ぼす胚・胎児に対する重大な懸念が否定できないことから、妊娠可能な女性は効果的な避妊を行うべきであると考えられた。妊婦への投与は推奨されず、投与期間中の授乳は避けさせ、男性患者はコンドームを使用すべきである。

BAY 2927088 の毒性評価に適切と考えられる動物種を用いた単回及び反復投与試験を実施した。毒性プロファイルは主に下痢及び体重減少に至る消化管毒性を特徴とするものであった。

2.4.6　参考文献

該当なし。