

照会事項 1

- ⑤ 日本人と韓国人との間における本剤及びゲフィチニブの薬物動態の民族差について、公表文献等の根拠を明らかにした上で、相談者の見解を説明してください。

【回答】

日本人と韓国人との間における本剤及びゲフィチニブの薬物動態の民族差について、本剤及びゲフィチニブの製造販売承認申請時の審査報告書を基に、以下のように検討を行いました。また、日本人と韓国人の薬物動態を比較した論文について、「“vorinostat” AND “Japanese” AND “Korean” AND “pharmacokinetics”」又は「“gefitinib” AND “Japanese” AND “Korean” AND “pharmacokinetics”」をキーワードとして、PubMed を用いて検索しましたが、適切な論文が選定できませんでした。

これらの検討を踏まえると、日本人と韓国人における比較した成績はないため、本剤の日本人と韓国人における薬物動態について、比較・考察することは困難ですが、現時点において、本剤及びゲフィチニブの薬物動態については、日本人と外国人で大きく異なるとする情報は得られていないと考えています。

なお、日本人と韓国人との間における本剤及びゲフィチニブの薬物動態の民族差について検討された臨床研究データ、あるいは公表論文等の情報の有無を確認するため、本剤については MSD 株式会社へ、ゲフィチニブについてはアストラゼネカ株式会社にも協力を依頼し、それに関する自社データの存在及び文献検索等を含め検討していただきました。しかし、両薬剤ともその民族差について検討されたものはないとの返答を両社から受けました。

<本剤の薬物動態の民族差について>

平成 23 年 7 月に「皮膚 T 細胞性リンパ腫」の効能・効果で製造販売承認された際に日本人と外国人の本剤の薬物動態について、貴機構において以下のように審査が行われています。

本剤の薬物動態の民族差については、日本人と外国人における本薬の薬物動態の比較は非常に限られた試験成績に基づくものであるため、明確にはなっていないと思われます。また、日本人と韓国人における比較した成績はないため、本剤の日本人と韓国人における薬物動態について、比較・考察することは困難です。

しかし、現時点において、本剤の薬物動態については、日本人と外国人で大きく異なるとする情報は得られていないと考えています。

<平成 23 年 7 月承認時の審査報告書（一部抜粋）>

(ii) 臨床薬理試験成績の概要

<提出された資料の概略>

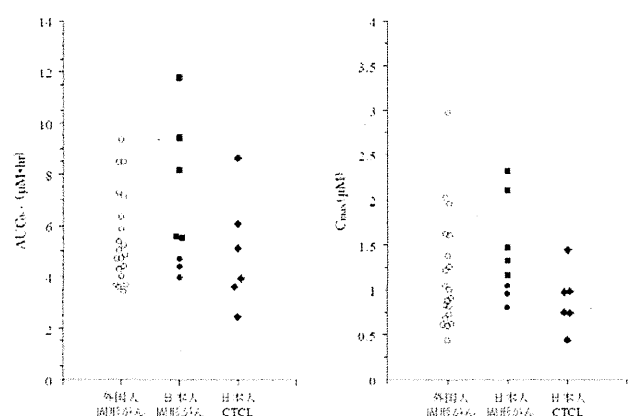
(7) 申請者の考察

1) 日本人と外国人における本薬の PK の差異

海外 008 試験、並びに国内 029 試験、048 試験及び 089 試験における本薬 400mg 食後経口投与時の本薬の PK パラメータ（反復投与前）及び尿中排泄率を比較した。

048試験を除いて、各試験における $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} （平均値）は同様であり、個別値の分布にも明らかな差異は認められなかった（下図）。また、 t_{max} 、 $t_{1/2}$ 及び本薬の尿中排泄率も試験間で大きな差異は認められなかった。さらに、海外008試験及び国内029試験において、本薬400mgを空腹時に投与したときの本薬のPKパラメータを比較した結果、日本人症例数は3例と少数ではあるものの、 $AUC_{0-\infty}$ 、 C_{max} 、 t_{max} 及び $t_{1/2}$ に明らかな差異は認められなかった。以上から、本薬のPKに明らかな民族差は示唆されていないと考える。なお、048試験の $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} は、029試験に比し高値を示したものの、008試験での個別値の分布とは大きく異ならなかったことから、両試験間での曝露量の差異は個体間変動に起因するものと考えられる。

一方、代謝物であるL-000341257の尿中排泄率（本薬400mg、空腹時）は、008試験（24%）に比し029試験（48%）で高値を示した。当該原因は明らかではないものの、未変化体のPKパラメータ及び尿中排泄率に明らかな民族差は認められていないこと、及び当該代謝物は薬効の発現に関与しないと考えられること（「3.（i）＜提出された資料の概略＞（2）2 本薬の代謝物の影響」の項参照）から、当該代謝物で認められた尿中排泄率の差異に臨床的な意義はないと考えられる。



日本人（029試験、048試験及び089試験）及び外国人（008試験）に本薬400mgを食後経口投与したときの本薬の $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} の個別値の分布

＜審査の概略＞

海外 008試験、並びに国内029試験、048試験及び089試験における本薬のPKパラメータ及び尿中排泄率の結果から、本薬のPKに明らかな民族差は示唆されていない、と申請者は説明している。

機構は、以下のよう考える。

国内外のPKの比較は1用量（本薬400mg投与）のみで行われていること、国内外の臨床試験におけるPKは少数例での検討結果であること、及び使用された製剤の処方異なることから、線形性を含め、日本人と外国人における本薬のPKの比較には限界があると考え。ただし、現時点において、400mg投与時に明らかな民族差を示唆する結果は得られていないと考える。

また、代謝物であるL-000341257の尿中排泄率は008試験に比べて029試験で2倍高値を示し、また AUC_{0-24h} （本薬400mg投与、空腹時）は029試験（27.07 $\mu mol/L \cdot h$ ）に比べて008試験（43.11 $\mu mol/L \cdot h$ ）で高値を示した。L-000341257は非臨床において細胞増殖及びHDAC1活性に及ぼさないことが示唆されている（「3.（i）＜提出された資料の概略＞（2）2 本薬の代謝物の影響」の項参照）。しかしながら、当該結果・情報は限られたものであり、L-000341257のPKの差異の臨床的意義について結論付けることは困難と考える。

日本人と外国人における本薬のPKの比較は非常に限られた試験成績に基づくものであること、並びに日本人と外国人におけるL-000341257のPKの差異についてはその機序及び臨床的意義は不明と考えることから、今後、本薬及びその代謝物のPKの民族差について比較可能な情報を収集するとともに、民族差の原因・機序について検討していくことが望ましいと考える。

<ゲフィチニブの薬物動態の民族差について>

平成14年7月に「非小細胞肺癌（手術不能又は再発例）」の効能・効果で承認された際に日本人と外国人の本剤の薬物動態について、医薬品医療機器審査センターにおいて以下のように審査が行われています。民族差に関する審査センターにおける議論は、特に記載されていませんが、申請者の回答が概ね了承されていると思われます。

また、日本人と韓国人における比較した成績はないため、本剤の日本人と韓国人における薬物動態について、比較・考察することは困難です。

しかし、現時点において、本剤の薬物動態については、日本人と外国人で大きく異なるとする情報は得られていないと考えています。

<平成14年7月承認時の審査報告書（一部抜粋）>

1. 提出された資料の概要

(5) ヒトにおける薬物動態

…（省略）…

V-15-11試験における日本人固形癌患者での薬物動態を、試験デザインが同様な1839IL/0005試験における欧米人固形癌患者での薬物動態と比較すると、 C_{max} 及び AUC_{0-24} には各用量群で最大8倍の個体間変動がみられたが、50～525mgの経口投与時において日本人及び欧米人患者との間で差は認められなかった。また、V-15-11試験で得られた $C_{ss\ min}$ データを2つの海外試験（1839IL/0011試験及び1839IL/0012試験）での $C_{ss\ min}$ データと比較したところ、明らかな民族差は見られなかった。さらに、1839IL/0005試験およびV-15-11試験で得られた血漿中未変化体濃度データ（患者数：95、データ数：1567）を、NONMEMを用いたPPK解析の結果、基礎薬物動態モデルを用いた薬物動態パラメータ推定値より、見かけのクリアランス（CL/f）は約39.7L/hr（662 mL/min）であり、中央コンパートメントにおける分布容積は1300L、末梢コンパートメントにおける分布容積は1200Lであった。ラグタイムは40分と推定された。薬物動態パラメータの個人間変動は大きく、変動係数はすべての薬物動態パラメータで50%を超えていた。1839IL/0016試験のPPK解析結果において、本薬の体内動態に統計的に有意な影響を及ぼすことが示された体重及び CL_{CR} を変数として、CL/fの推定値を推定したが、本解析では関連性は見られなかった。CL/f及び定常状態の分布容積を評価したところ、欧米人患者（1839IL/0005試験）のCL/f値の分布は日本人被験者（V-15-11試験）での分布と差は認められなかった。見かけの定常状態での分布容積は2600Lを超えていたが、体重による変化は認められなかった。欧米人患者（1839IL/0005試験）と日本人患者（V-15-11試験）の予測定常状態における C_{min} （用量を250mgに補正）を評価したところ、同様の分布が確認され、この分布は1839IL/0016試験の解析結果とも一致していた。また、推定半減期においても、欧米人患者（1839IL/0005試験）と日本人患者（V-15-11試験）の類似性が確認された。

…（省略）…

2. 審査センターにおける審査内容

…（省略）…

審査センターは、これらの回答を概ね了承したが、添付文書上での薬物相互作用に関する情報提供の妥当性については、専門協議での議論を踏まえて判断したい。

照会事項 1

⑥ ①～⑤に対する回答を踏まえ、本試験における開始用量設定の適切性について、相談者の見解を説明してください。

【回答】

これまで日本人の患者において、本剤とゲフィチニブを併用した経験は確認できていません。したがって、今回、初めて日本人の患者に本剤とゲフィチニブを併用することになることから、本剤とゲフィチニブの併用療法の安全性（忍容性）を確認する目的で本試験を実施する計画を立案しました。

まず、②で示したように、本剤及びゲフィチニブの薬物動態学的相互作用については、本剤とゲフィチニブとの薬物動態学的相互作用は起こしにくいと推察されたことから、本剤については、既承認効能・効果「皮膚 T 細胞性リンパ腫」における用法・用量「1 日 1 回 400 mg」を基本として、ゲフィチニブについては、既承認効能効果「EGFR 遺伝子変異陽性の手術不能又は再発非小細胞肺癌」における用法・用量「1 日 1 回、250 mg」を基本として、それぞれの薬剤の用法・用量を検討することとしました。また、⑤で示したように、本剤及びゲフィチニブの薬物動態については、日本人と外国人で大きく異なるとする情報は得られていないと考えたことから、海外で実施されている臨床試験の本剤とゲフィチニブの用法・用量も参考にできると考えました。

ゲフィチニブの用法・用量については、③で示したように、本剤の効果を示すためには、変異 EGFR 機能を十分に阻害できていることが必要と想定したため、既に NSCLC に対し承認されている用法・用量「250 mg、1 日 1 回投与」をゲフィチニブの用法・用量と設定しました。また、韓国で実施されている本剤とゲフィチニブ（1 日 1 回、250 mg）を併用する臨床試験（NCT01027676）で 2013 年 4 月時点で 38 例も登録されていたため、⑤の検討も考慮し、ゲフィチニブの用法・用量としては、「250 mg、1 日 1 回投与」は大きな問題にならないと推定しました。

一方、本剤の用法・用量については、既承認効能・効果「皮膚 T 細胞性リンパ腫」における用法・用量「1 日 1 回 400 mg」を基本として、⑤も考慮し、海外で実施されている NSCLC に対する用法・用量も参考に、本試験の用法・用量を検討しました。

海外臨床試験において、本剤と EGFR-TKI の併用が行われた臨床試験は、米国の第 I/II 相臨床試験（NCT00251589）、スペインの第 I/II 相臨床試験（NCT00503971）及び韓国の第 I/II 相臨床試験（NCT01027676）ですが、EGFR-TKI としてゲフィチニブを使用した韓国の臨床試験の本剤の用法・用量は、公開されていません。しかし、使用した EGFR-TKI が異なるものの、米国とスペインで実施された臨床試験成績は、参考になると考えました。米国とスペインの臨床試験では、それぞれ、最大耐容量（以下、「MTD」）が本剤 400 mg（1 回 200 mg 1 日 2 回、1 週間に 3 日間投与）+エルロチニブ 150 mg（1 日 1 回、連日投与）、本剤 400 mg（1 日 1 回、Day 1-7

及び Day 15-21 に投与) +エルロチニブ 150 mg (1 日 1 回、連日投与) とされていることから、本剤を 1 日あたり 400 mg とすることも可能と考えます。しかし、米国の臨床試験では、本剤 400 mg (1 日 1 回、21 日間投与) +エルロチニブ 150 mg (1 日 1 回、連日投与)、あるいは、本剤 300mg (1 日 1 回、1 週間に 3 日間投与) +エルロチニブ 150 mg (1 日 1 回、連日投与) において、用量制限毒性 (以下、「DLT」) が認められていることから、1 日 (1 回) あたり 200 mg から投与を開始し、DLT を確認しながら、用量を漸増し、MTD を検討することが適切と考えました。

しかし、①に記載したように、非臨床毒性試験成績から勘案すると、消化器障害、白血球数増加又は減少、並びに体重減少が両薬剤を併用した時にヒトに生じる有害事象の発現頻度、その程度が増すと推定される有害事象として考えられたことから、これらの事象やそれぞれの薬剤において、添付文書に記載されている有害事象については、本試験期間中、継続して注意しながら、試験を遂行する必要があると考えます。

照会事項 2

BIM 遺伝子多型の有無が本剤及びゲフィチニブ併用の安全性に及ぼす影響について、公表論文、臨床試験等の知見を整理し、根拠を明らかにした上で、相談者の見解を説明してください。

【回答】

EGFR 変異肺癌に対して EGFR-TKI（ゲフィチニブ又はエルロチニブ）を投与した症例において、BIM 遺伝子多型の有無を測定した公表論文が 2 報ありますが（Ng KP, et al. Nat Med. 2012; 18:521-28, Lee JK, et al. Ann Oncol. 2013; 24:2080-7）、BIM 遺伝子多型の有無とゲフィチニブによる安全性（有害事象）との関連性については記載がありませんでした。また、2013 年の米国臨床腫瘍学会（ASCO）において、別のグループが BIM 遺伝子多型の有無とゲフィチニブ治療による効果との相関について発表しています（Lee JH et al, J Clin Oncol. 31, 2013; suppl: abstr 8055, Isobe K et al, J Clin Oncol. 31, 2013; suppl: abstr 11052）。しかし、これらの報告においてもゲフィチニブによる有害事象や安全性との関連性については学会発表に用いられたポスター、抄録において記載はありませんでした。さらに、本剤投与症例において BIM 遺伝子多型の有無を測定した臨床試験の報告はありませんでした。

以上、臨床試験において、BIM 遺伝子多型の有無が本剤及びゲフィチニブ併用の安全性に及ぼす影響について根拠となる情報はありません。

一方、非臨床において、BIM 遺伝子多型を導入した遺伝子改変動物の検討があれば、毒性との関連性についての解析がある程度可能かと思われますが、現在までのところ、そのような遺伝子改変動物が作成されたという報告はありません。BIM は Bcl-2 ファミリーに属するアポトーシス促進タンパク質であり、BIM 遺伝子多型を有するとゲフィチニブによるアポトーシス誘導が減弱します。胚細胞性の変化であることから、正常細胞も BIM 遺伝子多型を保有しており、ゲフィチニブ及び本剤の作用に影響を及ぼす可能性はありますが、正常細胞がゲフィチニブ及び本剤によってアポトーシスが誘導される場合に抵抗性を示したとしても、有害事象の増強につながるとは考えにくく、BIM 遺伝子多型の有無が本剤及びゲフィチニブ併用の安全性に影響を及ぼす可能性は低いと考えています。

照会事項 3

BIM 遺伝子多型を有する EGFR 遺伝子変異陽性の NSCLC 患者に対して EGFR チロシンキナーゼ阻害薬を投与した際に、当該多型を有しない患者と比較して無増悪生存期間（以下、「PFS」）が有意に短かったことが報告されています（J Thorac Oncol 2011;6: 2011-7）。BIM 遺伝子多型の有無が PFS 以外の有効性に関する指標（奏効率、全生存期間等）に及ぼす影響について説明してください。

【回答】

BIM 遺伝子多型の有無と EGFR-TKI であるゲフィチニブ及びエルロチニブの有効性との相関について報告されている公表論文 2 報と学会発表 2 報の内容を表にまとめました。

表 BIM 遺伝子多型の有無と EGFR-TKI による有効性に関する報告

引用文献	総症例数 投与されたEGFR-TKI	BIM遺伝子	症例数	無増悪生存期間 (月)	奏効率 (%)	全生存期間 (月)
Ng KP, et al. Nat Med. 2012	141症例 ゲフィチニブ 136症例 (野生型 112 / 多型 24) エルロチニブ 5症例 (野生型 3 / 多型 2)	野生型	115	11.9	NA	NA
		多型有り	26	6.6 (p=0.0027)	NA	NA
Lee JK, et al. Ann Oncol. 2013	197症例 (4症例多型不明) ゲフィチニブ 179症例 エルロチニブ 18症例	野生型	172	11.3	NA	NA
		多型有り	21	11.9 (p=0.791)	NA	NA
Lee JH et al. ASCO 2013 abstr #8055	101症例 ゲフィチニブ 101症例 エルロチニブ 0症例	野生型	84	8.1	NA	22.1
		多型有り	17	3.6 (p<0.001)	NA	14.1 (p=0.041)
Isobe K et al. ASCO 2013 abstr #11052	70症例 ゲフィチニブ 65症例 (野生型 52 / 多型 13) エルロチニブ 5症例 (野生型 5 / 多型 0)	野生型	57	14.3	64.9	47.6
		多型有り	13	7.2 (p<0.001)	61.5 (NS)	50.3 (p=0.94)

NA: 評価の対象外
NS: 有意差なし

BIM 遺伝子多型の有無と奏効率との相関については、Isobe らの 2013 年の米国臨床腫瘍学会 (ASCO) での発表 (J Clin Oncol. 31, 2013; suppl: abstr 11052) においてのみ報告があり、多型の有無と EGF-TKI による奏効率との有意な関係は認められていませんでした (全 70 症例中 65 症例でゲフィチニブ投与)。しかし、解析に用いられた BIM 遺伝子多型陽性の症例数が少ないため、より多くの症例数での検証が必要と考えられます。

BIM 遺伝子多型の有無が全生存期間に及ぼす影響については、Isobe らの報告と、Lee らによる 2013 年の ASCO での発表 (J Clin Oncol. 31, 2013; suppl: abstr 8055) があります。Isobe らは、BIM 遺伝子多型の有無による全生存期間の差には明らかな有意差はないと報告しています。一方、Lee らは、EGFR 変異肺癌に対してゲフィチニブで治療された 101 症例の検討で、BIM 遺伝子野生型 84 症例の全生存期間中央値が 22.1 ヶ月に対して、BIM 遺伝子多型を有する 17 症例

の全生存期間中央値が 14.1 ヶ月と有意に短く、BIM 遺伝子多型を有すると全生存期間も短くなる可能性があるとして報告しています。

以上のように、既報においては、BIM 遺伝子多型の有無が PFS 以外の有効性に関する指標（奏効率、全生存期間等）に及ぼす影響について一致した結論が得られておらず、今後大規模な臨床試験による評価が必要と考えられます。

照会事項 4

第 I / II 相試験 (NCT00251589) 及び第 I / II 相試験 (NCT00503971 : TARZO trial; 9th Congress on Lung Cancer, 18th November 2011) はすでに終了し、忍容性の結果が得られています。本試験における本剤と併用する EGFR チロシンキナーゼ阻害薬に関して、エルロチニブではなくゲフィチニブを設定した理由について、非臨床試験、臨床試験等を踏まえて説明してください。

【回答】

現在、NSCLC に対し、本邦で承認されている EGFR-TKI は、ゲフィチニブ（アストラゼネカ株式会社）及びエルロチニブ（中外製薬株式会社）の 2 製剤です。

これまで金沢大学がん進展制御研究所・腫瘍内科においては、本剤とゲフィチニブの相互作用の検討を進めてきており、治験薬概要書に示した本剤とゲフィチニブとの併用による抗腫瘍効果を確認しておりますが、本剤とエルロチニブの相互作用は検討していません。

治験を実施する上で、効力を裏付ける試験の実施が必要であるため、本剤とエルロチニブとの併用による *in vivo* における上乗せ効果が確認されていない現段階において、治験を計画することは困難であると考えます。

ただし、本剤と EGFR-TKI であるエルロチニブとの併用とした海外臨床試験で既に MTD が確認されていることから、エルロチニブも治験の併用薬の候補として考えられたため、効力を裏付ける非臨床試験を実施していないものの、本試験の立案時に、エルロチニブの製造販売元である中外製薬株式会社にも本試験に対する協力を要請しました。しかし、中外製薬株式会社からは「本試験は本来 MSD が主体となって行うべきである」との理由で、全く協力が得られませんでした。エルロチニブは、治験薬ではなく併用薬であるものの、治験を実施する上で、様々な情報を把握することは重要な事項であるため、エルロチニブを設定することは不可能となりました。

一方、ゲフィチニブの製造販売元であるアストラゼネカ株式会社による、必要な情報の供給等の協力は得られることとなっています。

以上の理由で、ゲフィチニブを併用薬として選択することとしました。

照会事項 5

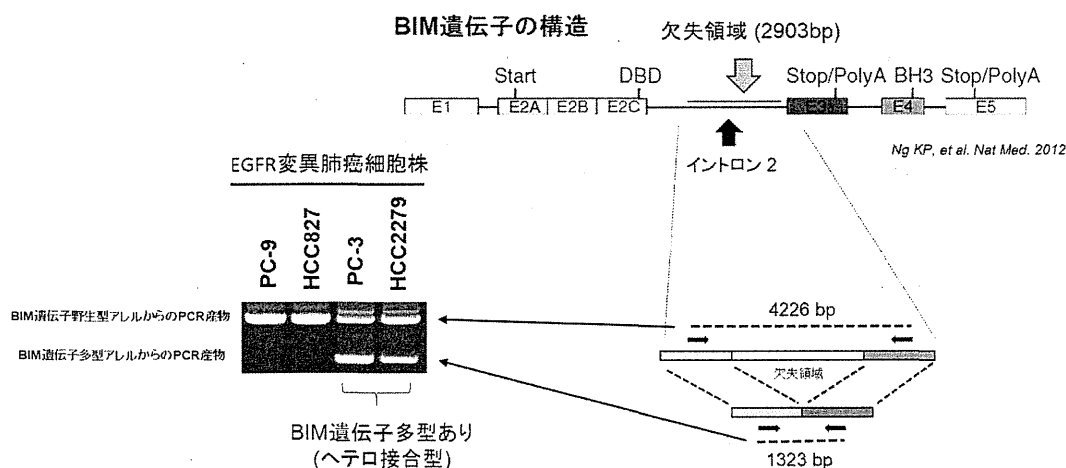
本試験の選択基準について、「中央判定機関において PCR 法で BIM 遺伝子多型が確認されている。」が設定されています（治験実施計画書、p22）。BIM 遺伝子多型の診断方法等に関する以下の内容を回答してください。

- ① BIM 遺伝子多型の検査における PCR 法のバリデーションに関する検討結果について、説明してください。

【回答】

PCR 法による BIM 遺伝子多型の測定については、公表論文 (Ng KP, et al. Nat Med. 2012; 18:521-28) に記載された方法に基づいて実施しました。まず、EGFR 変異肺癌細胞株から抽出したゲノム DNA を用いて図 1 のように BIM 遺伝子多型で認めるイントロン 2 における欠失領域の外側で設計されたプライマーを用いて確認しました。

図1. EGFR変異肺癌細胞株から抽出したDNAを用いたPCR法によるBIM遺伝子多型解析



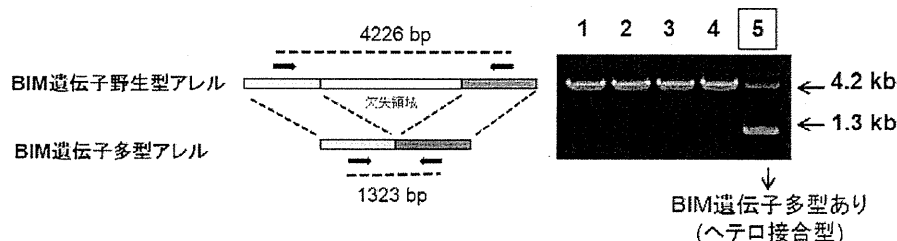
この結果から、Ng らの報告と一致して、EGFR 遺伝子変異陽性 NSCLC 細胞株である PC-9 細胞及び HCC827 細胞は BIM 遺伝子野生型であり、EGFR 遺伝子変異陽性 NSCLC 細胞株である HCC2279 細胞は BIM 遺伝子多型をヘテロ接合型で有することが確認され、結果の再現性が得られました。さらに、相談者らは日本人の EGFR 変異 NSCLC 患者から樹立された PC-3 細胞も BIM 遺伝子多型をヘテロ接合型で有することを新たに見出し報告しています (Nakagawa T, et al. Cancer Res. 2013; 73:2428-34)。

次に、ヒトのゲノム DNA を用いて、5 名のヒト健康成人から採取した末梢血単核球から抽出したゲノム DNA を用いて同様の方法で BIM 遺伝子多型の検査が可能であることを確認し、このうち 1 名は BIM 遺伝子多型をヘテロ接合型で有することが明らかになりました (図 2)。しかし、増幅領域の長い PCR 法は検出感度が低いことが想定され、血清由来 DNA は断片化していること

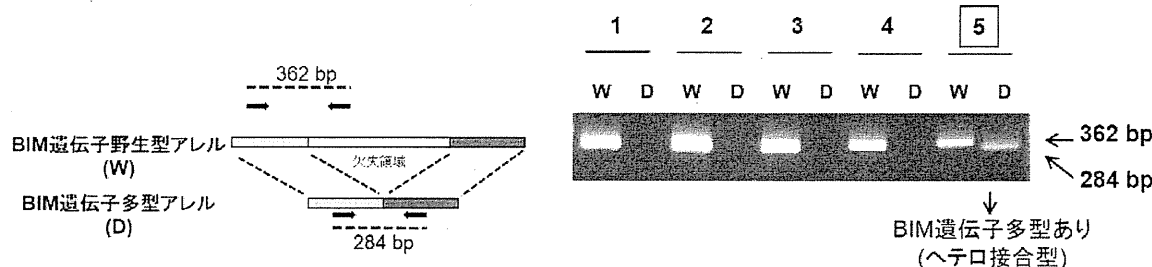
から、さらに検出感度が低下することが危惧されました。そこで、増幅領域が短く、BIM 遺伝子野生型アレルと BIM 遺伝子多型アレルにおいて、それぞれ特異的に増幅されるよう設計されたプライマー (Ng KP, et al. Nat Med. 2012; 18:521-28) を用いて検討を行いました。その結果、同じ 5 名のヒト健康成人から採取した血清より抽出したゲノム DNA でも BIM 遺伝子多型を測定できることが明らかになりました (図 2、Nakagawa T, et al. Cancer Res. 2013; 73:2428-34)。

図2. ヒト末梢血単核球由来DNA、血清由来DNAを用いたPCR法によるBIM遺伝子多型解析

ヒト健康者から採取した末梢血単核球より抽出したDNAを用いたPCR法によるBIM遺伝子多型解析



ヒト健康者から採取した血清より抽出したDNAを用いたPCR法によるBIM遺伝子多型解析



この結果をもとに本試験の中央判定機関として検査を委託する三菱化学メディエンス株式会社にプライマー配列、PCR 条件、EGFR 変異 NSCLC 細胞株より抽出したゲノム DNA を提供し、PCR 法のバリデーションを実施して頂きました。三菱化学メディエンス株式会社より提供されたバリデーション報告書を添付致します。

照会事項 5

② BIM 遺伝子多型に関するコンパニオン診断薬の開発予定状況について、説明してください。

【回答】

BIM 遺伝子多型に関する診断技術の開発について、金沢大学がん進展制御研究所腫瘍内科は、本邦初のヒト遺伝子多型を判定する体外診断用医薬品である、UGT1A1 の遺伝子多型（UGT1A1*28、UGT1A1*6 遺伝子多型）判定試薬を開発した実績のある積水メディカル株式会社と共同開発を行うことで合意し、共同研究契約の手続きを進めています。

積水メディカル株式会社との具体的な開発スケジュール等については今後検討していく予定で、本剤の治験に併行して、コンパニオン診断薬について双方で開発及び製造販売承認申請に必要な情報の共有に努め、診断薬として開発を推進していく予定にしています。

対面助言

受付番号：戦 P107 番

照会事項 6（平成 26 年 1 月 14 日付）

に対する回答、及び

「機構の意見」に対する「相談者の見解」

金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍内科
研究代表者 矢野 聖二

提出日：平成 26 年 1 月 16 日

照会事項 6

相談内容の解釈と相談者が相談したい内容が異なる場合は、具体的に分かりやすく、箇条書き等でご指摘下さい。また、異なる場合には、その旨を回答してください。

【回答】

相談者は、相談事項の《相談事項の解釈》について特に異論ありません。

相談者は、《機構の意見》に記載されているよう、被験者への安全性を十分に配慮し、治験を実施致します。

相談事項 用法・用量について

28 日間を 1 サイクルとし、併用するゲフィチニブは非小細胞肺癌に対し承認されている用法・用量である 1 日 1 回 250 mg を連日経口投与するが、ボリノスタットは 1 日 1 回 200 mg、300 mg 又は 400 mg を Day 1-7、Day 15-21 に経口投与することについて、機構の意見を聴きたい。

【機構の意見】

安全性の観点から、本試験において、ゲフィチニブ 250 mg QD 併用時での本剤の開始用量として、200 mg QD を設定し、以降の本剤の用量段階として 300 mg QD 及び 400 mg QD を設定することは可能と考えます。なお、本剤及びゲフィチニブを日本人に併用投与した経験はないことから、被験者への安全性に十分な配慮が必要と考えます。

【相談者の見解】

相談者は、《機構の意見》に特に異論はなく合意いたします。

相談者は、本試験に参加される被験者への安全性を十分に配慮し、試験を実施致します。

**BIM遺伝子多型に起因するEGFR変異肺がんのEGFRチロシンキナーゼ阻害薬耐性を
ポリノスタット併用で克服する研究（H25-創薬一般-005）**

研究代表者 矢野 聖二 金沢大学がん進展制御研究所 腫瘍内科

研究要旨

本研究は、BIM 遺伝子多型を有する上皮成長因子受容体 (EGFR) 変異肺がんの臨床的特徴を明らかにするとともに、BIM 遺伝子多型に起因する EGFR チロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR-TKI) 耐性克服を目指した医師主導治験でゲフィチニブ+ポリノスタット併用療法の安全性を検証することを目標としている。本年度は、本疾患群の臨床を明らかにする多施設共同前向き試験のプロトコールおよび患者説明文書を作成し、金沢大学における倫理審査で承認を得た。また、医師主導治験のプロトコールおよび患者説明文書を作成し、PMDA の対面助言で「試験実施可」という見解を得るとともに、金沢大学における倫理審査で承認を得た。さらに、多施設共同医師主導治験を実施する体制を整備した。

A. 研究目的

EGFR変異肺癌は、東アジア人に多く肺癌の約25%を占め、わが国では年間約2万人が発症していると推定され、EGFR-TKI（ゲフィチニブ、エルロチニブ）が一旦著効することが多いが、著効例でも必ず再発する（獲得耐性）ことや最初から奏効しない（初期耐性）症例が存在することが大きな問題となっている。2012年に共同研究者の間野らは、BIM遺伝子多型が東アジア人に特異的にみられEGFR変異肺癌のEGFR-TKI耐性の原因の一つであることを報告した (Nat Med, 2012)。BIM遺伝子多型は日本人を含む東アジア人の12～13%に存在するため、BIM遺伝子多型を有するEGFR変異肺癌は、わが国で年間約2500人（2万×12.5%：肺癌の3%）存在すると推定される希少疾患群である。この症例群はPCRによるBIM遺伝子検査と保険収載されたEGFR変異測定とで正確に個別化でき、しかもキードラッグであるEGFR-TKIに耐性を示すため、個別化に基づいた新たな治療法の確立が必要である。

矢野らは、皮膚T細胞性リンパ腫に認可されたポリノスタットをEGFR-TKIに併用することでEGFR変異肺癌細胞のEGFR-TKI

耐性を解除しうることを世界で初めて発見した (Cancer Res, 2013)。本研究は矢野らが独自に発見した基礎研究成果を臨床に橋渡しし、昨今の日本創薬に置ける『死の谷』を克服する意味においても非常に重要な位置づけ

となる臨床研究である。

本研究の目的は、BIM遺伝子多型に起因した耐性症例の臨床的特徴を明らかにすること、およびEGFR-TKIに耐性となったBIM遺伝子多型陽性のEGFR変異肺癌を対象にゲフィチニブ+ポリノスタット併用の第1相試験により安全性プロファイルを明らかにし、最大耐容量を決定することである。

B. 研究方法

1. BIM 遺伝子多型を有する EGFR 変異肺がんの臨床的特徴を明らかにする後方視的研究 (NEJ002-BIM) : 既に実施された NEJ002 試験で採取され残存している腫瘍 DNA を用い BIM 遺伝子多型の有無を PCR 法で解析し、ゲフィチニブの奏効性および生存期間と BIM 遺伝子多型の相関を検討する。

2. BIM 遺伝子多型を有する EGFR 変異肺がんの臨床的特徴を明らかにする前向き研究 (PEOPLE-J) : 新たに EGFR-TKI 治療を受ける EGFR 変異肺がん 400 例（約 51 例の BIM 遺伝子多型陽性が見込まれる）において、末梢血を用い BIM 遺伝子多型を測定し、ゲフィチニブの奏効性や生存期間との相関を前向きに検討する。H25 年度は、研究計画書および患者説明・同意文書を作成し、分担研究機関の倫理審査を行うとともに、症例登録システムの作成、検体収集および解析方法の確立など、研究体制を構築する。

3. BIM 遺伝子多型を有し EGFR-TKI 耐性を示す EGFR 変異肺癌に対するゲフィチニブ+ボリノスタット併用の多施設共同臨床第 I 相試験 (VICTORY-J) : BIM 遺伝子多型陽性の EGFR 変異肺癌で、EGFR-TKI および殺細胞性抗がん剤治療に抵抗性を示した患者に対し、ゲフィチニブ(250mg/日、連日)+ボリノスタット(200mg, 300mg, あるいは 400mg/日、7 日間服薬、7 日間休薬)の治療による第 1 相試験を医師主導治験として行い、安全性を評価し最大耐容量を決定する。H25 年度は、研究計画書および患者説明・同意文書を作成し、分担研究機関の倫理審査を行うとともに、症例登録システムの作成、検体収集および解析方法の確立など、研究体制を構築する。

4. 新規薬剤の BIM 遺伝子多型に起因した EGFR-TKI 耐性克服効果の基礎的検討 : ボリノスタットより効果の高い耐性克服薬のスクリーニングを、BIM 遺伝子多型を有する EGFR 変異肺癌細胞株を用い、*in vitro* および *in vivo* の実験系で検討する。
(倫理面への配慮)

患者の人権の保護のため、本医師主導治験に係るすべての研究者は、ヘルシンキ宣言、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号)、疫学研究に関する倫理指針(平成 19 年文部科学省・厚生労働省告示第 1 号)、臨床研究に関する倫理指針(平成 20 年厚生労働省告示第 415 号)およびその改正、関連通知を遵守して本研究を実施する。実施にあたり、あらかじめ当該研究機関の長の承認、届出、確認等を研究開始前に手続きする。動物実験を行う場合には、研究実施機関での事前承認を得て、使用する動物の匹数も最小限にとどめて行う。

C. 研究結果

1. BIM 遺伝子多型を有する EGFR 変異肺癌の臨床的特徴を明らかにする後方視的研究 (NEJ002-BIM) :

EGFR 変異肺癌においてゲフィチニブの有効性を証明した臨床試験 NEJ002 の残余 DNA 検体を本研究に使用することについて、NEJ002 参加施設の IRB において承認を得た。さらに、DNA 検体の BIM 遺伝子多型測定を行い、測定結果が得られた 27 例中 2 例(7.4%)に BIM 遺伝子多型を認めた。解析可能な症例数が少なく、ゲフィチニブの奏効性および生存期間と BIM 遺伝子多型の相関は検討できなかった。

た。

2. BIM 遺伝子多型を有する EGFR 変異肺癌の臨床的特徴を明らかにする前向き研究 (PEOPLE-J) :

本前向き研究に参加する全施設の意見を集約し、プロトコール作成および患者説明同意文書作成を完了した。また、2013 年 12 月 16 日に金沢大学ヒトゲノム・遺伝子研究倫理審査委員会の承認を受けた。

3. BIM 遺伝子多型を有し EGFR-TKI 耐性を示す EGFR 変異肺癌に対するゲフィチニブ+ボリノスタット併用の多施設共同臨床第 I 相試験 (VICTORY-J) :

本医師主導治験に参加する 4 施設に治験実施の観点から意見を集約し、プロトコールおよび患者同意説明文書の作成を完了した。また、PMDA の薬事戦略相談(対面助言)日程調整申請を 11 月 1 日に行い、2014 年 1 月 23 日に対面助言(戦 P107(MK-0683))を受け、「本試験を実施することは可能」という由の見解を得た。さらに、金沢大学附属病院先端医療開発センター内に治験調整事務局設置し、業務の一部を CRO (CMIC ホールディングス)へ委託し、各種標準作業手順書(SOP)を作成するとともに、forumPLUS を用いた治験実施施設間の情報共有システムを構築した。また、中部先端医療開発円環コンソーシアム代表である名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センターの支援を受け、両プロジェクトマネージャーによるプロジェクト推進、統計/データマネジメント等の協力を金沢大学と協業し治験データを収集していくための電子版データ収集システム

(EDC)の準備を含め治験体制の構築と整備が完了した。また、本研究費などを用い、治験薬(ゾリンザ：一般名ボリノスタット)および併用薬(イレッサ：一般名ゲフィチニブ)を購入した。2014 年 3 月 13 日に金沢大学附属病院治験審査委員会承認を得た。このように、2014 年 5 月の治験開始に向け、治験実施体制の整備を行った。

4. 新規薬剤の BIM 遺伝子多型に起因した EGFR-TKI 耐性克服効果の基礎的検討 :

ボリノスタットによる EGFR-TKI 耐性解除の機序は、ボリノスタットがアポトーシス誘導活性のある BIM 蛋白質発現を上昇させるためであることを報告した。また、*in vitro* の実験系においてボリノスタットより耐性克服効果の高い 3 つの薬剤を同定した。

D. 考察

基礎研究としては、ボリノスタットによる EGFR-TKI 耐性解除の機序については、ボリノスタ

ットがアポトーシス誘導活性のある BIM 蛋白質発現を上昇させるためであることを明らかにし報告 (Nakagawa T et al, Cancer Res 2013)した。本作用機序が明らかになったことから、VICTORY-Jにおいてポリノスタットの薬効を評価するために、末梢血単核球中の BIM 蛋白質発現を測定することにした。

臨床研究としては、PEOPLE-J および VICTORY-J の実施体制をほぼ整えることができ、来年度本格的にする予定である。

E. 結論

BIM 遺伝子多型に起因した耐性症例の臨床的特徴を明らかにする試験、および EGFR-TKI に耐性となった BIM 遺伝子多型陽性の EGFR 変異肺がんを対象にゲフィチニブ+ポリノスタット併用の第1相試験の実施体制を整備した。H26 年度には両試験を開始する予定である。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakagawa T, Takeuchi S, Yamada T, Ebi H, Sano T, Nanjo S, Ishikawa D, Sato M, Hasegawa Y, Sekido Y, Yano S. EGFR-TKI resistance due to *BIM* polymorphism can be circumvented by in combination with HDAC inhibition. **Cancer Res**, 2013 73:2428-34.
- 2) Ebi H, Costaa C, Fabera AC, Nishtalaa M, Kotanib H, Jurica D, Pellea PD, Songa Y, Yano S, Mino-Kenudsona M, Benesa CH, Engelman JA. PI3K regulates MEK/ERK signaling in breast cancer via the Rac-GEF, P-Rex1. **Proc Natl Acad Sci USA**, 2013; 110:21124-9.
- 3) Nanjo S, Yamada T, Nishihara H, Takeuchi S, Sano T, Nakagawa T, Ishikawa D, Zhao L, Ebi H, Yasumoto K, Matsumoto K, Yano S. Ability of the Met kinase inhibitor crizotinib and new generation EGFR inhibitors to overcome resistance to EGFR inhibitors. **PLoS ONE**, 2013; 8: e84700.
- 4) Zhao L, Yasumoto K, Kawashima A, Nakagawa T,

Takeuchi S, Yamada T, Matsumoto K, Yonekura K, Yoshie O, Yano S. Paracrine activation of MET promotes peritoneal carcinomatosis in scirrhous gastric cancer. **Cancer Sci**, 2013;104:1640-6.

- 5) Ishikawa D, Takeuchi S, Nakagawa T, Sano T, Nakade J, Nanjo S, Yamada T, Ebi H, Nakamura T, Matsumoto K, Kagamu H, Yoshizawa H, Yano S. mTOR inhibitors control erlotinib-resistance of *EGFR* mutant lung cancer cells triggered by HGF. **PLoS ONE**, 2013; 8:e62104.
- 6) Sano T, Takeuchi S, Nakagawa T, Ishikawa D, Nanjo S, Yamada T, Nakamura T, Matsumoto K, Yano S. Novel PI3K-mTOR inhibitor, BEZ235, circumvents erlotinib-resistance of *EGFR* mutant lung cancer cells triggering by HGF. **Int J Cancer**, 2013; 133:505-13.

2. 学会発表

- 1) American Thoracic Society 2013. (Meet the Professor) Yano S. Novel acquired resistance mechanisms of molecular-targeted therapy for lung cancer. 2013 年 5 月 Philadelphia, USA
- 2) IASLC 15th World Conference on Lung Cancer. Yano S. Resistance to EGFR-TKIs. 2013 年 10 月 Sydney, Australia
- 3) IASCL-AACR Joint Conference: Molecular Origins of Lung Cancer. Yano S. Mechanisms of EGFR-TKI resistance and therapeutic strategies in lung cancer. 2014 年 1 月 San Diego, USA

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

金沢大学から新たに 1 件の国内特許出願を準備中である。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

**BIM遺伝子多型に起因するEGFR変異肺がんのEGFRチロシンキナーゼ阻害薬耐性を
ボリノスタット併用で克服する研究（H25-創薬一般-005）**

研究分担者：間野 博行 所属：東京大学大学院医学系研究科細胞情報学分野

研究要旨

本研究は、BIM 遺伝子多型を有する上皮成長因子受容体(EGFR)変異肺がんの臨床的特徴を明らかにするとともに、BIM 遺伝子多型に起因する EGFR チロシンキナーゼ阻害薬(EGFR-TKI)耐性克服を目指した医師主導治験でゲフィチニブ+ボリノスタット併用療法の安全性を検証することを目指している。本年度は、本試験にエントリーする患者の BIM 遺伝子多型を正確に検出する診断法の確立を目指した。検討の結果鎖長の長いプライマーと2ステップPCRを組み合わせることで、野生型 BIM アレルと欠失 BIM アレルとを再現性良く明瞭に判別可能な診断法を確立した。さらにこれを用いて臨床検体のスクリーニングを行った。

A. 研究目的

EGFR変異肺癌は、東アジア人に多く肺癌の約25%を占め、わが国では年間約2万人が発症していると推定され、EGFR-TKI（ゲフィチニブ、エルロチニブ）が一旦著効することが多いが、著効例でも必ず再発する（獲得耐性）ことや最初から奏効しない（初期耐性）症例が存在することが大きな問題となっている。2012年に共同研究者の間野らは、BIM遺伝子多型が東アジア人に特異的にみられEGFR変異肺癌のEGFR-TKI耐性の原因の一つであることを報告した(Nat Med, 2012)。BIM遺伝子多型は日本人を含む東アジア人の12~13%に存在するため、BIM遺伝子多型を有するEGFR変異肺癌は、わが国で年間約2500人（2万x12.5%：肺癌の3%）存在すると推定される希少疾患群である。この症例群は PCRによるBIM遺伝子検査と保険収載されたEGFR変異測定とで正確に個別化でき、しかもキードラッグであるEGFR-TKIに耐性を示すため、個別化に基づいた新たな治療法の確立が必要である。

矢野らは、皮膚T細胞性リンパ腫に認可されたボリノスタットをEGFR-TKIに併用することでEGFR変異肺癌細胞のEGFR-TKI

耐性を解除しうることを世界で初めて発見した(Cancer Res, 2013)。本研究は矢野らが独自に発見した基礎研究成果を臨床に橋渡しし、昨今の日本創薬に置ける『死の谷』を克服する意味においても非常に重要な位置づけとなる臨床研究である。

本研究の目的は、BIM遺伝子多型に起因した耐性症例の臨床的特徴を明らかにすること、およびEGFR-TKIに耐性となったBIM遺伝子多型陽性のEGFR変異肺癌を対象にゲフィチニブ+ボリノスタット併用の第1相試験により安全性プロファイルを明らかにし、最大耐容量を決定することである。

B. 研究方法

1. BIM 遺伝子多型を検出する PCR コンディションの最適化

BIM のイントロン多型が判っている細胞株 HCC2279 のゲノム DNA を用いて PCR コンディションの最適化を行った。最終的に 5' -GCTTATTGCTCAGAGGTTTGGAC-3' をフォワードプライマーとし、5' -TGAAATGGACTGCATGTGAACTG-3' をリバースプライマーとして PCR を行うことで、再現性良く minor allele と major allele とを判別する事ができた。TAQ DNA ポリメラーゼとしてタカラバイオ社の Prime STAR を用い、98℃10 秒-68℃5 分のサイクルを 40 回増幅した。これを用いて患者検体のスクリーニングを行った。

（倫理面への配慮）

患者の人権の保護のため、本医師主導治験に係るすべての研究者は、ヘルシンキ宣言、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）、疫学研究に関する倫理指針（平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号）、臨床研究に関する倫理指針（平成20年厚生労働省告示第415号）およびその改正、関連通知を遵守し

て本研究を実施する。実施にあたり、あらかじめ当該研究機関の長の承認、届出、確認等を研究開始前に手続きする。

C. 研究結果

1. BIM 遺伝子多型を検出する PCR コンディションの最適化

BIM のエクソン 2C とエクソン 3 の間のイントロンに 2903 bp の箇所が欠失する多型がある。この領域が欠失することで、通常は使われないエキソン 3 が使われ(エキソン 3 の 5' 端がスプライスアクセプターサイトになる)、エキソン 3 内のストップコドンが使用され、BH3 ドメインの内短縮型 BIM タンパクが産生されることになる。

この欠失領域を挟むプライマーで PCR を行うことで、BIM のイントロン多型を検出できる。しかし本イントロンは GC に富む配列であり、いくつかのプライマーを設定して PCR を試みたが非特異的バンドが多く安定な検出法は難しかった。そこでプライマー長を長くすると T_m 値を上げ、PCR を 2 ステップとすることで PCR サイクル内の温度を高く保って非特異的産物の産生を防いだ。

最終的に 5' -GCTTATTGCTCAGAGGTTTGGAC-3' と 5' -TGAAATGGACTGCATGTGAACTG-3' をプライマーとして、98°C10 秒-68°C5 分のサイクルで増幅する PCR によって安定に PCR 検出が可能になった。野生型アレルでは 4744 bp、欠失アレルで 1841 bp の産物を得た。

これを用いて臨床検体をスクリーニングし、変異アレルを持つ症例が約 16%存在する事を明らかにした。稀には両アレルとも BIM 欠失症例もある事が明らかになった。

D&E. 考察および結論

BIM イントロン多型を正確に検出する PCR 診断法を確立した。これにより本臨床試験に適格な患者をリクルートする基盤技術が整備されたと言える。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ando M, Kawazu M, Ueno T, Fukumura K, Yamato A, Soda M, Yamashita Y, Choi YL, Yamasoba

- T, Mano H. Cancer-associated missense mutations of caspase-8 activate nuclear factor-kappaB signaling. **Cancer Sci**, 2013; 104: 1002-8.
- 2) Tominaga-Sato S, Imanishi D, Imaizumi Y, Iwanaga M, Itonaga H, Yoshida S, Hata T, Moriuchi R, Kiyoi H, Nimer S, Mano H, Naoe T, Tomonaga M, Miyazaki Y. Mutations in the nucleolar phosphoprotein, nucleophosmin, promote the expression of the oncogenic transcription factor MEF/ELF4 in leukemia cells and potentiates transformation. **J Biol Chem**, 2013; 288: 9457-67.
- 3) Fukumura K, Yamashita Y, Kawazu M, Sai E, Fujiwara SI, Nakamura N, Takeuchi K, Ando M, Miyazono K, Ueno T, Ozawa K, Mano H. STK10 missense mutations associated with anti-apoptotic function. **Oncol Rep**, 2013; 30: 1542-8.
- 4) Himpe E, Abdul Rahim SA, Verdood P, Mano H, Kooijman R. Tec kinase stimulates cell survival in transfected Hek293T cells and is regulated by the anti-apoptotic growth factor IGF-I in human neutrophils. **Cell Signal**, 2013; 25: 666-73.
- 5) Kawazu M, Ueno T, Kontani K, Ogita Y, Ando M, Fukumura K, Yamato A, Soda M, Takeuchi K, Miki Y, Yamaguchi H, Yasuda T, Naoe T, Yamashita Y, Katada T, Choi YL, Mano H. Transforming mutations of RAC guanosine triphosphatases in human cancers. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 2013; 110: 3029-34.
- 6) Miyanaga A, Shimizu K, Noro R, Seike M, Kitamura K, Kosaihiira S, Minegishi Y, Shukuya T, Yoshimura A, Kawamoto M, Tsuchiya S, Hagiwara K, Soda M, Takeuchi K, Yamamoto N, Mano H, Ishikawa Y, Gemma A. Activity of EGFR-tyrosine kinase and ALK inhibitors for EML4-ALK-rearranged non-small-cell lung cancer harbored coexisting EGFR mutation. **BMC Cancer**, 2013; 13: 262.
- 7) Ninomiya H, Kato M, Sanada M, Takeuchi K, Inamura K, Motoi N, Nagano H, Nomura K, Sakao Y, Okumura S, Mano H, Ogawa S & Ishikawa Y. Allelotypes of lung adenocarcinomas featuring ALK fusion demonstrate fewer onco- and suppressor gene changes. **BMC Cancer**, 2013; 13: 8.
- 8) Suzuki HI, Matsuyama H, Noguchi M, Yao T, Komatsu N, Mano H, Sugimoto K, Miyazono K. Computational dissection of distinct microRNA activity signatures associated with peripheral T cell lymphoma subtypes. **Leukemia**, 2013; 27: 2107-11.
- 10) Yasuda T, Ueno T, Fukumura K, Yamato A, Ando