

第 2 部 CTD の概要

JAN あるいは販売名 :	ニンテダニブエタンスルホン酸塩
剤形・含量 :	カプセル 150 mg, 100 mg
文書名 :	2.4 非臨床試験の概括評価
文書作成日 :	5 June 2014
Page 1 of 38	
Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies. All rights reserved. This document may not - in full or in part - be passed on, reproduced, published or otherwise used without prior written permission	

目次

目次	2
略号一覧表	4
1. 非臨床試験計画概略	6
2. 薬理試験	8
2.1 効力を裏付ける試験	8
2.1.1 <i>In vitro</i> 薬理プロファイル	8
2.1.2 <i>In vivo</i> 薬理プロファイル	9
2.2 副次的薬理試験	11
2.2.1 一般薬理	11
2.2.2 安全性薬理試験 (GLP コアバッテリー試験)	12
2.2.3 主要代謝物 BIBF 1202 の特性	12
3. 薬物動態及び代謝	14
3.1 吸収	14
3.1.1 <i>In vitro</i> 吸収	14
3.1.2 <i>In vivo</i> 吸収	14
3.2 分布	15
3.2.1 血漿蛋白結合	15
3.2.2 血球分配及び組織分布	15
3.2.3 トランスポーターの関与	16
3.3 代謝	17
3.3.1 <i>In vitro</i> 代謝	17
3.3.2 <i>In vivo</i> 代謝	17
3.3.3 酵素誘導及び阻害	18
3.4 排泄	18
3.5 その他の薬物動態試験	19
4. 毒性	21
4.1 単回投与毒性試験	21
4.2 反復投与毒性試験	21
4.2.1 マウスにおける反復経口投与毒性試験	21
4.2.2 ラットにおける反復経口投与毒性試験	22
4.2.3 イヌにおける反復経口投与毒性試験	23
4.2.4 ミニブタにおける反復経口投与毒性試験	23
4.2.5 カニクイザルにおける反復経口投与毒性試験	24
4.2.6 アカゲザルにおける反復経口投与毒性試験	25
4.2.7 静脈内反復投与毒性試験	27
4.3 遺伝毒性試験	28
4.4 がん原性試験	28

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

4.5	生殖発生毒性試験	28
4.5.1	ラットにおける雄性生殖能及び着床までの初期胚発生に関する試験	28
4.5.2	ラットにおける雌性生殖能及び着床までの初期胚発生に関する試験	28
4.5.3	ラットにおける胚・胎児発生への影響に関する予備試験	29
4.5.4	ラットにおける胚・胎児発生への影響に関する試験	29
4.5.5	ウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する用量設定試験	30
4.5.6	ウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する試験	30
4.5.7	ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	30
4.6	局所刺激性試験	31
4.7	その他の毒性試験	32
4.7.1	光毒性	32
4.7.2	免疫毒性	32
4.7.3	他剤併用による反復投与毒性試験	32
4.8	不純物	32
4.9	曝露量比	33
5.	総括及び結論	35
6.	参考文献	38

略号一覧表

Akt	Serine/threonine-protein kinase	セリン/スレオニン蛋白質キナーゼ
ALD	Approximate Lethal Dose	概略の致死量
ALP	Alkaline phosphatase (plasma)	アルカリホスファターゼ (血漿)
ALT	Alanine aminotransferase (plasma)	アラニンアミノトランスフェラーゼ (血漿)
α SMA	Alpha smooth muscle actin	α 平滑筋アクチン
AST	Aspartate aminotransferase (plasma)	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (血漿)
AUC	Area under the plasma-concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC ₀₋₂₄	Area under the plasma-concentration-time curve from zero to 24 hours	0 から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
AUC _{0-24, ss}	Area under the plasma-concentration-time curve from zero to 24 hours steady state	定常状態における 0 から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
Beta-NAG	beta-N-acetylglucosaminidase	β -N-アセチルグルコサミニダーゼ
b.i.d.	twice daily	1 日 2 回
BRP	Bovine retinal pericytes	ウシ網膜周皮細胞
C _{bc}	Concentration of radioactivity in blood cells	血球中放射能濃度
C _{max}	maximum plasma level, steady state	最高血漿中濃度
C _p	Concentration of radioactivity in plasma	血漿中放射能濃度
CrI:CD-1	Charles River Lab strain of mice	Charles River Labs 系のマウス
CrI:WI	Charles River Labs Wistar strain of rats	Charles River Labs 系のラット
CYP	Cytochrome P450	チトクロム P450
EC ₅₀	Effective concentration 50%	50%有効濃度
ECG	Electrocardiogram	心電図
ECM	Extracellular matrix	細胞外基質
EGFR	Epidermal growth factor receptor	ヒト上皮成長因子受容体
FGF	Fibroblast growth factor	線維芽細胞増殖因子
FGFR	Fibroblast growth factor receptor	線維芽細胞増殖因子受容体
GD	Gestation Day	妊娠日
GGT	Gamma glutamyl transferase	ガンマグルタミルトランスフェラーゼ
GLDH	Glutamate dehydrogenase	グルタミン酸デヒドロゲナーゼ
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GPT	Glutamic-pyruvic transaminase	グルタミン酸-ピルビン酸トランスアミナーゼ
H&E	Haematoxylin and eosin	ヘマトキシリン・エオジン
HEK293	Human embryonic kidney cell line	ヒト胎児腎臓細胞株
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2	ヒト上皮増殖因子受容体 2
hERG	Human ether-à-go-go Related Gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HsdHan:Wist	Harlan Ltd Wistar strain of rats	Harlan Laboratories Ltd Wistar 系のラット
HUASMC	Human vascular smooth muscle cells	ヒト血管平滑筋細胞
HUVEC	Human umbilical cord vein endothelial cells	ヒト臍帯静脈内皮細胞
IC ₅₀	Inhibitory concentration 50%	50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonization	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IL-1 β	Interleukin-1beta	インターロイキン-1 β
IPF	Idiopathic pulmonary fibrosis	特発性肺線維症
Lck	Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase	リンパ球特異的蛋白質チロシンキナーゼ

2.4 非臨床試験の概括評価

ニンテダニブエタンスルホン酸塩

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

Lyn	V-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral related oncogene homolog	V-yes-1 ヤマグチ肉腫ウイルス関連がん遺伝子ホモログ
MAPK	Mitogen activated protein kinase	マイトジェン活性化蛋白質キナーゼ
MCH	mean corpuscular haemoglobin	平均赤血球血色素量
MCV	mean corpuscular volume	平均赤血球容積
MPE	Mean Photo Effect	平均光作用
MRHD	Maximum Recommended Human Dose	最大推奨臨床用量
mRNA	Messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
MRP2	Multidrug Resistance-associated Protein 2	多剤耐性関連蛋白 2
MTD	Maximum Tolerated Dose	最大耐量
ms	Milliseconds	
NHLF	Normal human lung fibroblasts	正常ヒト肺線維芽細胞
NK	Natural killer	ナチュラルキラー
nM	Nanomolar (nmol/L)	
No.	(Animal) number	
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
OATP	Organic Anion Transporting Polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic Cation Transporter	有機カチオントランスポーター
PAS	Periodic Acid Schiff's stain	過ヨウ素酸シッフ染色
PCV	Packed Cell Volume	赤血球容積
PDGF	Platelet derived growth factor	血小板由来増殖因子
PDGF-BB	Platelet derived growth factor subtype BB	血小板由来増殖因子サブタイプ BB
PDGFR	Platelet derived growthfactor receptor	血小板由来増殖因子受容体
PEC	Photo Effect at any Concentration C	光作用
P-gp	P-Glycoprotein	P-糖蛋白
PIF	Photo Irritating Factor	光毒性係数
PLK1	Polo-like kinase 1	ポロ様キナーゼ 1
QRS	QRS complex on the ECG	ECG の QRS 複合波
QT	Time between the start of the Q wave and the end of the T wave (ECG)	Q 波開始から T 波終了までの時間 (ECG)
RTK	Receptor tyrosine kinase	受容体型チロシンキナーゼ
Src	Non-receptor proto-oncogenic tyrosine kinase homologous to the Rous sarcoma virus oncogene v-src	ラウス肉腫ウイルスがん遺伝子 v-src の非受容体型がん原遺伝子チロシンキナーゼホモログ
T/C	Volume of tumours in treated animals as percentage of the volume of tumours of control animals	治療群/対照群の腫瘍体積比
TGF	Transforming growth factor	トランスフォーミング増殖因子
TIMP	Tissue inhibitor of metalloproteinase	肺組織中組織メタロプロテアーゼ阻害物質
UGT	UDP Glucuronosyltransferase	UDP-グルクロン酸転移酵素
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
V _{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態分布容積

1. 非臨床試験計画概略

特発性肺線維症 (IPF) は重篤かつ機能障害性の疾患であり、肺胞上皮細胞の傷害、さらには傷害によって引き起こされる制御不能な組織修復による細胞外基質 (ECM) の過剰な沈着と正常であるべき実質構造及び肺機能の損失を特徴としているが、どのように障害が起きるかについてはわかっていない。IPF などの線維症においては、ECM 蛋白質を産生する線維芽細胞が正常な制御を受けずに増殖し、筋線維芽細胞に分化する。この筋線維芽細胞は肺線維症の発症及び進行を促進する特徴的な細胞と考えられている [CTD 4.3-4_P12-03241]。

線維化した肺においては、線維芽細胞が増殖後、筋線維芽細胞に分化し、ECM を分泌するが、これらの線維芽細胞は、上皮間葉転換、線維化関連細胞の浸潤及び局所における線維芽細胞集団の増加といった様々なメカニズムによって筋線維芽細胞プールに補給されていると考えられている [CTD 4.3-3_P11-09087]。

IPF の線維化巣における線維芽細胞及び筋線維芽細胞プールの膨張、遊走及び分化転換にはいくつかの増殖因子が関与している。

肺線維症の発症には血小板由来増殖因子 (PDGF) が関与していると考えられている [CTD 4.3-33_R12-3729]。PDGF は線維芽細胞の強力な増殖促進因子であり [CTD 4.3-38_R12-3755]、筋線維芽細胞の増殖、遊走及び寿命の延長を促進することにより、肺での筋線維芽細胞集団の増加に重要な役割を果たしていると考えられる。実際に、様々な器官での線維性病変で、一貫して PDGF 量の増加が認められている [CTD 4.3-33_R12-3729]。活性化した大量の筋線維芽細胞は、結合組織産物を肺胞壁に過剰に沈着させる。その結果、肺胞構造は変形し、ガス交換が障害される [CTD 4.3-2_P11-07084, CTD 4.3-16_R06-0928]。IPF におけるこれらの事象は、PDGF 受容体 (PDGFR) を阻害することにより抑制される可能性がある。事実、PDGFR を阻害するチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) が種々の動物モデルで肺線維症を抑制することが報告されている [CTD 4.3-12_R06-0113, CTD 4.3-35_R12-3733, CTD 4.3-37_R12-3754, CTD 4.3-34_R12-3731, CTD 4.3-36_R12-3734]。

IPF 患者の肺では、上皮、内皮及び平滑筋細胞/筋線維芽様細胞において線維芽細胞増殖因子 (FGF) レベル及び FGF 受容体 1 (FGFR-1) 発現が増加し、間質細胞において FGFR-2 発現が増加したとの報告がある [CTD 4.3-32_R12-3691]。肺線維症動物モデルにおける FGF の役割についても報告があり、たとえば、ブレオマイシン誘発性肺線維症モデルマウスにおいて、FGF シグナル伝達を阻害すると、肺線維症の進行が抑制され、マウスの生存率が改善することが報告されている [CTD 5.4-29_R12-4300]。

IPF における血管内皮増殖因子 (VEGF) の役割については十分に解明されていないが、血清中 VEGF 濃度の高い IPF 患者の生存率は低い傾向があることが報告されている [CTD 4.3-44_R13-2758]。また、マウスの実験におけるエビデンスから、VEGF 受容体 (VEGFR) の阻害により線維症が抑制される可能性が示唆されている [CTD 4.3-13_R06-0596]。

ニンテダニブは受容体型チロシンキナーゼ (RTK) に対する強力な低分子阻害薬である [CTD 4.2.1.1-14_U-1947, CTD 4.2.1.1-2_U-1109, CTD 4.3-1_P08-08684]。ニンテダニブにより阻害される RTK は PDGFR- α 及び β , FGFR-1~4 及び VEGFR-1~3 である。

ニンテダニブを長期投与したときのMRHDは150 mg/kgの1日2回投与である。ヒトにおけるニンテダニブの用量補正AUC_{0-12,ss}幾何平均値は1.21 ng·h/mLであった[CTD 5.3.3.2-2_U-1639]。したがって、ヒトにおける1日曝露量の幾何平均値は、AUC_{0-12,ss}値を2倍して363 ng·h/mLと推定された。

ニンテダニブエタンズルホン酸塩の分子量は649.76、遊離塩基については539.64である(変換係数:1.204)。特に記載しない限り、用量はニンテダニブエタンズルホン酸塩の遊離塩基BIBF 1120(ニンテダニブ)として表示している。図1:1に、構造式を示す。

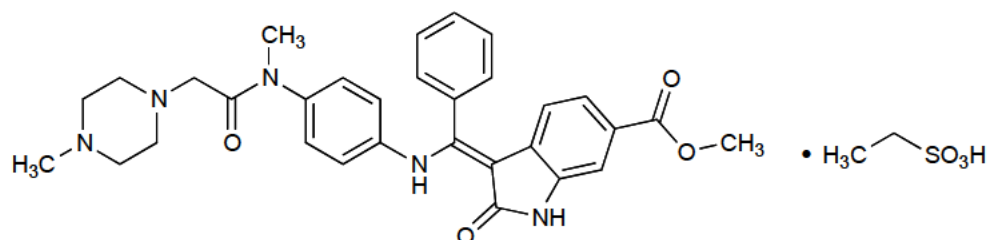


図 1: 1 ニンテダニブエタンズルホン酸塩の構造式

ニンテダニブの薬理、薬物動態及び安全性に関しては、非臨床薬理試験、薬物動態試験及び安全性試験にて検証した。ニンテダニブの選択性及び効力は各種 *in vitro* 試験により確認し、ニンテダニブにより肺の線維化が抑制できるかという効力については様々な *in vitro* 試験及び *in vivo* の試験を用いて検討した。さらに、ニンテダニブによる中枢神経系、胃腸機能、腎機能、呼吸機能及び心血管機能に与える影響については、副次的薬理試験及び安全性薬理試験により検討した。薬物動態及び代謝試験では、未変化体及び代謝物の血漿中濃度、血漿蛋白結合、血球分配、全身オートラジオグラフィ、反復投与後の組織分布、胎盤通過、トランスポーターの関与、代謝酵素の同定、*in vitro* 及び *in vivo* 代謝、酵素誘導及び阻害、尿、糞及び胆汁中排泄を検討した。ニンテダニブの毒性を、げっ歯類における単回投与毒性試験、ラット及びウサギにおける局所刺激性試験、ラット、イヌ及びアカゲザルを用いた用量設定試験、カニクイザルにおける経口及び静脈内投与比較トキシコキネティクス試験(最長7日間)、ミニブタにおける7日間反復投与毒性試験並びにマウス(13週間)、ラット(4週間及び26週間)、カニクイザル(4週間及び13週間)及びアカゲザル(4週間及び52週間)における反復投与毒性試験で評価した。さらに、ラット及びウサギにおける生殖発生毒性試験、マウス及びラットにおけるがん原性試験、並びに、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で評価した。

本非臨床試験の概括評価には、これらの試験の要約が含まれる。

2. 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

2.1.1 *In vitro* 薬理プロファイル

ニンテダニブはインドリノンの誘導体であり、ATP 結合ポケットを可逆的に占拠することにより PDGFR、FGFR 及び VEGFR キナーゼ活性を阻害する [CTD 4.2.1.1-14_U-1947]。ニンテダニブは PDGFR- α 及び β を阻害し、その 50%阻害濃度 (IC₅₀) 値はそれぞれ 59 nmol/L 及び 65 nmol/L であった。また、ニンテダニブは FGFR-1, 2, 3 及び 4 を阻害し、その IC₅₀ 値はそれぞれ 69 nmol/L, 37 nmol/L, 108 nmol/L 及び 610 nmol/L であった。さらに、ニンテダニブは VEGFR-1, 2 及び 3 を阻害し、その IC₅₀ 値はそれぞれ 34 nmol/L, 21 nmol/L 及び 13 nmol/L であった [CTD 4.2.1.1-2_U-1109, CTD 4.2.1.1-5_U-1310, CTD 4.3-1_P08-08684]。

その他 20 種類以上のキナーゼ (インスリン受容体、ヒト上皮増殖因子受容体 2 (HER2)、数種類のサイクリン依存性キナーゼなど) への影響についても検討したところ、チロシンキナーゼであるラウス肉腫ウイルスがん遺伝子 v-src の非受容体型がん原遺伝子チロシンキナーゼホモログ (Src) ファミリーのメンバー分子 3 種類を除いて本薬による阻害は認められなかった。Src ファミリーのメンバーとは、Src (IC₅₀ = 156 nmol/L)、リンパ球特異的蛋白質チロシンキナーゼ (Lck) (IC₅₀ = 16 nmol/L) 及び V-yes-1 ヤマグチ肉腫ウイルス関連がん遺伝子ホモログ (Lyn) (IC₅₀ = 195 nmol/L) である [CTD 4.2.1.1-5_U-1310, CTD 4.3-1_P08-08684, CTD 4.3-7_R02-0677]。

正常ヒト肺線維芽細胞において、ニンテダニブは PDGF-BB 刺激 PDGFR- α 及び β の自己リン酸化を阻害し、その 50%有効濃度 (EC₅₀) 値はそれぞれ 21.6 nmol/L 及び 38.7 nmol/L であった [CTD 4.2.1.1-17_U-2457]。さらに、ニンテダニブは PDGF-BB 刺激による細胞増殖を抑制し、その EC₅₀ 値は 64 nmol/L であった [CTD 4.2.1.1-19_U-2539]。

ニンテダニブの代謝物 BIBF 1202 も PDGFR- α 及び β の自己リン酸化を阻害するが、その IC₅₀ 値はそれぞれ 5717 nmol/L 及び 23,510 nmol/L であった [CTD 4.2.1.1-17_U-2457]。BIBF 1202 の PDGFR- α 及び β の自己リン酸化阻害効力はニンテダニブのそれぞれ 1/265 及び 1/607 であった。

IPF 患者由来ヒト肺線維芽細胞において、ニンテダニブは PDGF-BB、bFGF 及び VEGF 刺激による細胞増殖を濃度依存的に抑制し、その EC₅₀ 値はそれぞれ 11 nmol/L, 5.5 nmol/L 及び 1 nmol/L 未満であった [CTD 4.2.1.1-18_U-2490]。線維化を起こしていない対照ドナー由来のヒト肺線維芽細胞において、ニンテダニブは PDGF-BB、bFGF 及び VEGF 刺激による細胞増殖を濃度依存的に阻害し、その EC₅₀ 値はそれぞれ 13 nmol/L, 0.6 nmol/L 及び 1 nmol/L 未満であった [CTD 4.2.1.1-18_U-2490]。

PDGF 及び VEGF で刺激した IPF 患者由来線維芽細胞、並びに bFGF で刺激した線維化を起こしていない対照ドナー由来線維芽細胞の遊走に対し、ニンテダニブは 100 nmol/L 以上の濃度においてのみ統計学的に有意な抑制作用を示した [CTD 4.2.1.1-18_U-2490]。PDGF 及び VEGF で刺激した対照ドナー由来の線維芽細胞、並びに bFGF で刺激した IPF 患者由来の線維芽細胞の遊走に対して、ニンテダニブは 1000 nmol/L 以上の濃度で統計学的に有意な阻害作用を示した [CTD 4.2.1.1-18_U-2490]。

TGF- β 2 により誘導される線維芽細胞の形質転換に対するニンテダニブの抑制作用について、単離した 2 種類の異なる初代ヒト線維芽細胞を用い、筋線維芽細胞分化のマーカーとして α 平滑筋アクチン (α SMA) のメッセンジャーリボ核酸 (mRNA) 発現 (リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応アッセイ) を測定した。いずれの単離初代線維芽細胞においても、TGF- β 2 により誘導される α SMA 発現がニンテダニブの添加用量依存的に抑制され、その IC₅₀ 値は 100 nmol/L~1 μ mol/L と推定された [CTD 4.2.1.1-9_U-1478]。

VEGFR-2 遺伝子を導入した線維芽細胞 (NIH3T3 細胞) におけるニンテダニブの作用持続時間を確認したところ、VEGFR-2 の自己リン酸化が 32 時間以上阻害された。このことから、ニンテダニブは *in vivo* においてその血漿中濃度が低濃度まで減少しても、受容体型キナーゼに対して持続的な作用を示す可能性が強く示唆された [CTD 4.2.1.1-6_U-1488]。

正常ヒト肺線維芽細胞 (NHLF) を用いて上述と同様の実験も行った。ニンテダニブを 50 nmol/L の濃度で NHLF に 30 分間曝露したが、ニンテダニブは 4 日後も依然として PDGF-BB により誘導される PDGFR- α 及び β の自己リン酸化をそれぞれ 36.3%及び 18.9%阻害した [CTD 4.2.1.1-20_U-2598]。

IPF 治療において血管新生抑制作用が及ぼす影響については明らかになっていない [CTD 4.3-40_R12-5112] が、ニンテダニブの細胞レベルでの血管新生抑制作用について、³H-チミジン取込み量を指標にした 92 時間の増殖アッセイにおいて検討したところ、ニンテダニブは VEGF 刺激ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC)、PDGF-BB 刺激ヒト血管平滑筋細胞 (HUASMC) 及び PDGF-BB 刺激ウシ網膜周皮細胞 (BRP) の増殖を抑制し、その EC₅₀ 値はそれぞれ 9 nmol/L、43 nmol/L 及び 79 nmol/L であった。 [CTD 4.2.1.1-13_U-1946, CTD 4.3-1_P08-08684]。さらにニンテダニブはマイトジェン活性化蛋白質キナーゼ (MAPK) 及びセリン/スレオニン蛋白質キナーゼ (Akt) シグナル伝達経路を濃度依存的に阻害した。内皮細胞及び平滑筋細胞においてはニンテダニブによりアポトーシスマーカーが誘導されたが、周皮細胞では認められなかった。ニンテダニブによる細胞の増殖抑制作用に先立って MAPK 及び Akt リン酸化の阻害が認められた [CTD 4.2.1.1-13_U-1946, CTD 4.3-1_P08-08684]。

2.1.2 *In vivo* 薬理プロファイル

ニンテダニブの *in vivo* での有効性については、3 種類の肺線維症動物モデル (マウス及びラットのブレオマイシン誘発肺線維症モデル、並びにマウスのシリカ誘発肺線維症モデル) で検討した。

ラットのブレオマイシン誘発肺線維症モデルでは、ブレオマイシン刺激 1 日後から、肺線維症誘発実験が終了するまで 1 日 1 回ニンテダニブを予防的に経口投与することで、肺の線維化が抑えられた。ニンテダニブエタンスルホン酸塩は肺の線維性変化を用量依存的に阻害し、10 mg/kg 投与群ではごくわずかな阻害、30 mg/kg 投与群で部分的な阻害、50 mg/kg 投与群ではほぼ完全な阻害が認められた。線維症に関連するマーカー遺伝子 (トランスフォーミング増殖因子 (TGF) - β 1, プロコラーゲン I) の mRNA 発現については、10 mg/kg 投与群では部分的な阻害が認められ、30 及び 50 mg/kg 投与群ではほぼ完全な阻害が認められた [CTD 4.2.1.1-8_U-1451]。

既に線維性変化が発現している 10 日目からニンテダニブを治療的に投与したときにおいても、50 mg/kg 投与群では組織学的検査及び遺伝子発現検査において、線維症の進行をほぼ完全に抑制した [CTD 4.2.1.1-10_U-1479]。

ブレオマイシン誘発肺線維症マウスモデルにニンテダニブエタンスルホン酸塩をブレオマイシン刺激後 0 日目から 14 日目まで 1 日 1 回予防的に経口投与した [CTD 4.2.1.1-16_U-2437]。また、ニンテダニブエタンスルホン酸塩を 7 日目から 21 日目まで治療的に投与したときの肺線維症及び肺炎症に対する抑制作用も検討した。用量は 30 及び 60 mg/kg とした [CTD 4.2.1.1-16_U-2437]。ニンテダニブを予防的に投与したとき、その投与量にかかわらずブレオマイシン誘発肺炎症が抑制された。このことは、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中リンパ球数の減少、肺組織中インターロイキン (IL) -1 β の減少、肺組織中ミエロイド系樹状細胞の比率の減少、及び H&E 染色した肺の顕微鏡写真の半定量的な組織学的分析により示された。さらに予防的投与において肺線維症の進行が抑制されたが、このことは肺組織中組織メタロプロテアーゼ阻害物質 (TIMP) -1 及び肺の総コラーゲンレベルの減少、並びに肺の半定量的な組織学的分析により証明された。ニンテダニブを予防的に、一日当たり 60 mg/kg で投与したときの肺線維症に対する阻害効果は、30 mg/kg で投与したときよりもわずかに高かった。治療的に投与したときには、概して高用量の 60 mg/kg/日のみで炎症及び線維化の両方に対する明らかな作用が認められた。肺組織中炎症性単球及び線維化のスコアについては、30 mg/kg/日でも明らかな減少が認められた [CTD 4.2.1.1-16_U-2437]。

最後に、シリカ誘発混合性肺炎症及び線維症マウスモデルにニンテダニブを 0 日目から 30 日目まで予防的に投与するか、または 10 日目から 30 日目まで若しくは 20 日目から 30 日目までの 2 種類の投与方法で治療的に投与したときの、ニンテダニブによる肺線維症及び炎症の抑制作用についても検討した [CTD 4.2.1.1-15_U-2066]。

ニンテダニブエタンスルホン酸塩を 30 及び 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回予防的に強制経口投与したとき、BALF 中の好中球数及びリンパ球数は減少したが、マクロファージ数には影響が認められなかった。ニンテダニブは明らかに肺中の IL-1 β 、ケモカイン (C-X-C モチーフ) リガンド 1 / ケラチノサイト走化性因子 (CXCL1/KC)、TIMP-1 及び総コラーゲン量を減少させ、肉芽腫及び線維症を伴う肺炎症を抑制した。総じて、両用量におけるニンテダニブの作用は同程度であった。

ニンテダニブをシリカ導入後 10 日目から 1 日 1 回治療的に投与したとき、予防的投与時と同様に BALF 中の好中球及びリンパ球、肺の総コラーゲン量並びに線維化スコアが減少した。ニンテダニブの治療的投与によるインターロイキン (IL) -1 β 、CXCL1/KC、TIMP-1、炎症スコア及び肉芽腫スコアの減少の程度は予防的投与時よりも小さかった。治療的投与をシリカ導入後 20 日目から開始したとき、治療コントロール群と比較して統計学的に有意な減少が認められたのは BALF 中リンパ球数のみであった。総じて、治療的投与において用いた二用量のニンテダニブの作用は同程度であった [CTD 4.2.1.1-15_U-2066]。

2.2 副次的薬理試験

2.2.1 一般薬理

ニンテダニブの安全性薬理試験は、非 GLP 適用及び GLP 適用試験において、本薬の薬理プロファイル評価時に実施した。

ニンテダニブ塩酸塩を 300 mg/kg までの用量で経口投与したとき、100 及び 300 mg/kg を投与したマウスで尿の色が変化したことを除けば、一般行動、体温及び自発運動量への影響は認められなかった [CTD 4.2.1.2-7_U-1587, CTD 4.2.1.2-8_U-1589]。

ヒト胎児腎臓細胞株 (HEK293) 細胞を用いたヒト ether-à-go-go 関連遺伝子 (hERG) チャネルアッセイにおけるニンテダニブ遊離塩基の IC₅₀ 値は 4.0 µmol/L であった。モルモットから摘出した乳頭筋細胞に本薬を 0.1~10 µmol/L の濃度で累積的に曝露したが、活動電位波形への影響は認められなかった [CTD 4.2.1.2-5_U-1288]。

テレメーターを装着した覚醒雄ラットにニンテダニブ塩酸塩を 0, 10, 30 及び 100 mg/kg の用量で経口投与したところ、全身動脈血圧は用量依存的に上昇し、投与後 7 時間の観察期間終了時まで上昇したまま持続した (収縮期血圧については最高用量群で最高 15 mmHg の上昇)。体温及び運動性には影響が認められなかったが、呼吸数及び 1 回換気量には 100 mg/kg 投与群で若干の増加傾向が認められた [CTD 4.2.1.2-6_U-1398]。

麻酔ブタにニンテダニブ塩酸塩を 0 (溶媒対照), 3, 10 及び 30 mg/kg の用量で静脈内持続投与したときの心血管系への影響について検討したところ、30 mg/kg の用量で可逆的な収縮期及び拡張期血圧の低下が認められた。また、30 mg/kg の用量では心拍数の増加が認められた。QT 間隔は用量依存的に短縮し、QRS 時間には 30 mg/kg のみで延長傾向が認められた [CTD 4.2.1.2-9_U-1674]。

覚醒ラットにニンテダニブを 30, 100 及び 300 mg/kg の用量で単回経口投与したときの *in vivo* での肝機能への急性的な影響について検討した。

ニンテダニブ経口投与 4 時間後においては、300 mg/kg でアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 及びグルコースの軽度増加が認められた。ニンテダニブ投与 8 時間後において、電解質に軽度の変化が認められた。300 mg/kg の経口投与により遊離型 Ca⁺⁺ の増加が認められ、それに伴って 100 及び 300 mg/kg の経口投与により Mg⁺⁺ 及び Cl⁻ の減少が認められた。ニンテダニブ経口投与 24 時間後において、100 及び 300 mg/kg で ALT, GLDH 及び遊離脂肪酸, 300 mg/kg でトリグリセリド及び総ビリルビンの軽度増加が認められた。さらにニンテダニブを 100 及び 300 mg/kg で経口投与後、4, 8 及び 24 時間に浸透圧の低下が認められた [これらの試験ではニンテダニブ塩酸塩を用いた; CTD 4.2.1.2-10_U-1416]。

ラットにニンテダニブ塩酸塩を 10, 30 及び 100 mg/kg の用量で 7 日間経口投与したときの腎及び肝機能への影響について *in vivo* で検討したところ、100 mg/kg 投与群においてグルタミン酸-ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) 活性の軽度の増加 (約 1.6 倍) 及び血清中トリグリセリド濃度の同程度の増加が認められた。さらに、ニンテダニブ投与 1 日目、投与後 4~8 時間において、100 mg/kg 投与群で尿量及び尿中ナトリウムの軽度増加が認められた (それぞれ 1.3 倍及び 2.3 倍)。

また、 β -N-アセチルグルコサミニダーゼ (beta-NAG) 量は 1.5 倍の増加、 Ca^{++} 産生は 3 倍の増加が認められた [CTD 4.2.1.2-4_U-1260]。

ラットにニンテダニブ塩酸塩を 10, 30 及び 100 mg/kg の用量で経口投与したときの胃腸管系への影響 (胃内容排出及び胃液分泌, 並びに胃腸管運動性及び輸送) について検討した。これらの試験から, ニンテダニブが胃及び腸の両機能に対して用量依存的な阻害作用を示すことが示唆された。100 mg/kg 群における影響は中等度から重度であった [CTD 4.2.1.2-3_U-1259]。

2.2.2 安全性薬理試験 (GLP コアバッテリー試験)

ラットに 0, 3, 20 及び 100 mg/kg の用量でニンテダニブを単回経口投与したときの一般行動, 体温及び自発運動量について, 投与前並びに投与 30, 90, 150, 300 分及び 24 時間後に測定した。本薬に関連する明らかな変化はいずれの用量でも認められなかった [CTD 4.2.1.3-2_U-1537]。

覚醒ラットに本薬を 0, 3, 20 及び 100 mg/kg の用量で単回経口投与したときの呼吸機能について, 投与前並びに投与 30, 90, 150, 300 分及び 24 時間後に全身プレチスモグラフィで測定した。呼吸数, 1 回換気量及び分時換気量において本薬に関連する影響はいずれの用量でも認められなかった [CTD 4.2.1.3-1_U-1465]。

心血管機能の評価は, カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の一部として実施した [CTD 4.2.3.2-17_U-1326]。用量は 0, 3, 15 及び 60 mg/kg とした。対照群に対し, 60 mg/kg 群で, 試験 1 日目の投与 2 時間後の心拍数に 5.7% の軽度の増加が認められた以外は, 心電図パラメータにおいて本薬に関連する影響は認められなかった。

2.2.3 主要代謝物 BIBF 1202 の特性

ニンテダニブの主要代謝物 BIBF 1202 は, 酵素アッセイにおいて PDGFR- α , FGFR-1 及び VEGFR-2 を阻害し, その IC_{50} 値はそれぞれ 433, 240 及び 62 nmol/L であった [CTD 4.2.1.1-7_U-1930]。これらのアッセイにおける BIBF 1202 の効力はニンテダニブより 3~7 倍弱かった [CTD 4.3-1_P08-08684]。

正常ヒト肺線維芽細胞において, BIBF 1202 は, PDGFR- α 及び β の自己リン酸化を阻害し, その EC_{50} 値はそれぞれ 5717 nmol/L 及び 23510 nmol/L であった [CTD 4.2.1.1-17_U-2457]。これらのヒト IPF 関連細胞における BIBF 1202 の PDGFR- α 及び β の自己リン酸化阻害効力はニンテダニブのそれぞれ 1/265 及び 1/607 であった [CTD 4.2.1.1-17_U-2457]。したがって, 肺線維症動物モデルに BIBF 1202 を投与することは用量的に不可能であったため, 本モデルにおける線維化抑制作用の検討は実施しなかった。

BIBF 1202 は, VEGF 刺激 HUVEC 細胞の増殖を抑制し, その EC_{50} 値は 80 nmol/L であった。したがって, 本アッセイにおける BIBF 1202 の効力はニンテダニブの 1/9 であった。FaDu 腫瘍を有するヌードマウスモデルにおいて BIBF 1202 の有効性を検討したところ, ニンテダニブ及び BIBF 1202 をいずれも 30 mg/kg の用量で腹腔内投与したときの治療群/対照群の腫瘍体積比 (T/C) 値はそれぞれ 8% 及び 64% であった [CTD 4.2.1.1-7_U-1930] ことから, BIBF 1202 は *in vivo* の試験においては作用を示さないことが確認された。BIBF 1202 の効力はニンテダニブの 1/3~1/9 であ

るため、腫瘍動物モデルにおける *in vivo* 作用には反映されなかった。これらを総合すると、BIBF 1202 は *in vivo* の腫瘍モデルで作用を示さず、肺線維症動物モデルでも有効性を示さないと考えられる。

3. 薬物動態及び代謝

マウス、ラット及びサルにおけるニンテダニブの薬物動態及び代謝を検討し、ヒトと比較検討した。薬物動態及び代謝試験で用いた動物種及び系統は、薬理及び毒性試験と同じものを用いた。ニンテダニブの薬物動態パラメータの種間比較を表 3:1 に示す。

表 3:1 動物種及びヒトにおけるニンテダニブの薬物動態パラメータ

動物種	マウス	ラット ^{a)}		カニクイザル ^{b)}		アカゲザル ^{b)}		ヒト ^{c)}	
資料番号	CTD 4.2.2.2-3_ U■■-1975	CTD 4.2.2.2-1_ U■■-1381		CTD 4.2.3.2-16_ U■■-1067		CTD 4.2.3.2-19_ U■■-2452		CTD 5.3.1.1-2_ U10-1400	
投与方法	経口	経口	静脈内	経口	静脈内	経口	静脈内	経口	静脈内 ^{d)}
投与量(mg/kg)	50	50	2	40	5	40	5	1.29	0.0775
C _{max} (ng/mL)	547	105	124	175	1300	311	1090	8.43	12.3
t _{1/2} (h)	5.15	NC	3.95	NC	5.95	NC	7.09	11.7	17.9
AUC (ng·h/mL)	2720	375	181	2390	2260	4440	2830	56.2	71.9
CL (mL/min/kg)	NA	NA	202	NA	37.5	NA	30.2	NA	18.0
MRT (h)	5.19	NC	3.25	NC	3.82	NC	5.70	13.9	12.6
V _{ss} (L/kg)	NA	NA	41.2	NA	8.64	NA	10.4	NA	13.6
BA (%)	NC	11.9	NA	13.2	NA	23.8	NA	4.7	NA

NA：該当せず

NC：算出せず

- 複数の製剤及び投与量について検討した。ニンテダニブ経口投与後の C_{max} 及び AUC₀₋₂₄ は 30~300 mg/kg の範囲で用量に比例して増加した。胃酸分泌抑制はニンテダニブの吸収に影響を及ぼさなかった。ニンテダニブ塩酸塩及びエタンスルホン酸塩を経口投与した後の血漿中ニンテダニブ濃度は同様であった。
- 静脈内投与後の薬物動態は、経口投与の用量設定試験で追加の投与群を設けて検討した。ここでは代表的な薬物動態パラメータを示す。血漿中濃度に線形性が認められたが、雌雄差は認められなかった。
- 投与量（経口 100 mg、静脈内 6 mg）、CL 及び V_{ss} は平均体重（77.4 kg）で補正した。
- 4 時間点滴静注

3.1 吸収

3.1.1 *In vitro* 吸収

P-gp 発現細胞において [¹⁴C]ニンテダニブの基底膜側から頂端膜側への排出方向の輸送が認められたことから（排出比：10.9）、ニンテダニブは P-gp の基質であると考えられた [CTD 5.3.2.3-1_U■■-3076]。培養液中に懸濁させた肝細胞を [¹⁴C]ニンテダニブと 37°C でインキュベートしたとき、培養液中の放射能濃度は急速に低下した [CTD 5.3.2.2-4_U■■-1001]。この急速な細胞内への取り込みは 4°C でインキュベートしたときにも認められたため、能動輸送ではなく受動透過によるものと考えられた。ニンテダニブの受動透過による取り込みの初期速度は非常に速いため、P-gp を介した排出を上回ると考えられた。

3.1.2 *In vivo* 吸収

各動物種を用いた薬物動態及びトキシコキネティクス試験において、静脈内及び経口投与後の血漿中ニンテダニブ濃度を測定し、その曝露量を評価した [CTD 4.2.2.4-5_U■■-2277, CTD 4.2.2.2-3_U■■-1975, CTD 4.2.2.2-1_U■■-1381, CTD 4.2.3.2-1_U■■-1797, CTD 4.2.3.2-2_U■■-1798, CTD 4.2.3.2-6_U■■-1812, CTD 4.2.3.2-7_U■■-1065, CTD 4.2.3.2-9_U■■-1843, CTD 4.2.3.2-8_U■■-1799,

CTD 4.2.3.5.2-1_U■■-1710 , CTD 4.2.3.5.2-2_U■■-1814 , CTD 4.2.3.2-10_U■■-1403 ,
 CTD 4.2.3.2-11_U■■-1730 , CTD 4.2.3.2-24_U■■-1836 , CTD 4.2.3.2-14_U■■-2343 ,
 CTD 4.2.3.2-16_U■■-1067 , CTD 4.2.3.2-17_U■■-1326 , CTD 4.2.3.2-18_U■■-2245 ,
 CTD 4.2.3.2-19_U■■-2452 , CTD 4.2.3.2-20_U■■-2427 , CTD 4.2.3.2-21_U■■-1875 ,
 CTD 4.2.3.2-22_U■■-2398, CTD 4.2.3.2-23_U■■-2202]。ニンテダニブの経口バイオアベイラビリティは、ラットで約 12%，サルで 13～24%であった。種々の細胞におけるニンテダニブの受動的膜透過性は高かったものの、経口バイオアベイラビリティが低かったのは、投与されたニンテダニブの一部が吸収されないこと及び吸収されたニンテダニブが主にエステル加水分解により初回通過代謝されるためと考えられた。

3.2 分布

3.2.1 血漿蛋白結合

In vitro 平衡透析法による¹⁴Cニンテダニブの血漿蛋白結合率は、マウスで 97.2%，ラットで 98.5%，カニクイザルで 93.2%，アカゲザルで 91.4%及びヒトで 97.8%であり、マウス（200 ng/mL のみ検討）以外では 50～2000 ng/mL の範囲で濃度にかかわらず一定であった [CTD 5.3.2.1-1_U■■-1150, CTD 4.2.2.3-3_U■■-2019, CTD 4.2.2.3-2_U■■-1949]。ヒトにおける主要な結合蛋白は血清アルブミンであった。¹⁴C]BIBF 1202 の血漿蛋白結合率はラット、アカゲザル及びヒトでそれぞれ 77.2, 55.0 及び 77.8%であり、¹⁴C]BIBF 1202 グルクロン酸抱合体の血漿蛋白結合率はそれぞれ 95.7, 83.5 及び 96.6%であった [CTD 5.3.2.1-3_U■■-2181, CTD 5.3.2.1-2_U■■-1952]。

表 3.2.1: 1 動物種及びヒトにおける¹⁴Cニンテダニブ及び代謝物の血漿蛋白結合率 (%)

動物種	¹⁴ Cニンテダニブ ¹⁾	¹⁴ C]BIBF 1202 ²⁾	¹⁴ C]BIBF 1202 グルクロン酸抱合体 ³⁾
ラット	95.8	77.2	95.7
マウス	97.2	ND	ND
カニクイザル	93.2	ND	ND
アカゲザル	91.4	55.0	83.5
ヒト	97.8	77.8	96.6

ND：測定せず

1) 濃度 50～2000 ng/mL の平均値（マウスは濃度 200 ng/mL の平均値）

2) 濃度 5～1000 ng/mL の平均値

3) 濃度 54～5400 ng/mL の平均値

3.2.2 血球分配及び組織分布

In vitro 血球分配では、ラットにおける血球中放射能濃度 (C_{bc}) は血漿中放射能濃度 (C_p) に比べて高かったが（添加 2 分後の C_{bc}/C_p 比 2.76），ヒトでは高い血漿中放射能濃度を示した (C_{bc}/C_p 比 0.701) [CTD 5.3.2.1-1_U■■-1150]。ラットの *ex vivo* 血球分配では、¹⁴Cニンテダニブ投与後の初期の血漿中放射能濃度は血中放射能濃度の約 2 倍であったが、時間が経つにつれてほぼ同程度になり、さらに投与 24 時間後では血中放射能濃度は血漿中放射能濃度の 2 倍を超えていた [CTD 4.2.2.5-2_U■■-1494]。

検討したすべての動物種におけるニンテダニブの定常状態分布容積は大きく ($V_{ss} > 8 \text{ L/kg}$) , ニンテダニブは組織に広く分布すると考えられた。全身オートラジオグラフィによるラットの組織分布試験の結果, $[^{14}\text{C}]$ ニンテダニブ由来放射能は中枢神経系以外の組織に広く分布することが確認された [CTD 4.2.2.3-1_U-1563]。 $[^{14}\text{C}]$ ニンテダニブを 5 mg/kg 単回静脈内投与した後の放射能は大部分の組織に迅速かつ広範に分布し, 投与後 5 分の早い時点で大部分の組織中放射能濃度は血中放射能濃度を大きく上回った。 $[^{14}\text{C}]$ ニンテダニブを 30 mg/kg 単回経口投与後の組織分布は, 投与後 8 時間に大部分の組織で最高値に達し, 投与後 24 時間では著しい低下が認められた。血液及び肝臓中放射能濃度は, それぞれ投与後 0.5 及び 2 時間に最高値を示した。有色ラットでの眼内放射能濃度が高かったことからメラニン含有組織への親和性が示唆された。

ラットに $[^{14}\text{C}]$ ニンテダニブを 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回 13 日間反復投与した後の組織分布を組織摘出法により検討した [CTD 4.2.2.3-4_U-2517]。反復投与により, 血液及び血漿中放射能濃度に蓄積性は認められなかったが, 一部の組織では明らかな放射能濃度の上昇が認められた。

$[^{14}\text{C}]$ ニンテダニブ由来放射能の蓄積性は精巣で最も高く (蓄積係数 7.9), 次いで顎下腺 (4.2), 肝臓 (3.3) 及び精巣上体 (3.2) であった。副腎 (1.2) 及び骨格筋 (1.2) では蓄積性はほとんど認められなかった。反復投与後の排泄物から回収された放射能はほぼ 100%であったこと及び組織から回収された放射能はわずかであったことから, 反復投与後に組織に残存する放射能は低濃度であると考えられた。最終投与後 24 時間における組織に残存する放射能は肝臓で最も高く (投与量の約 0.034%), 次いで腎臓 (0.002%) であった。

3.2.3 トランスポーターの関与

ニンテダニブ, BIBF 1202 及び BIBF 1202 グルクロン酸抱合体の輸送

P-gp, MRP2 及び BCRP を発現した細胞を用いて, ニンテダニブの基底膜側から頂端膜側への排出方向の輸送を検討した [CTD 5.3.2.3-1_U-3076]。P-gp 発現細胞においてニンテダニブの排出方向の輸送が認められたことから (排出比: 10.9), ニンテダニブは P-gp の基質であると考えられた。また, MRP2 及び BCRP 発現細胞では, ニンテダニブの排出方向の輸送は認められなかったことから, MRP2 及び BCRP の基質ではないと考えられた。主代謝物である BIBF 1202 では, P-gp, MRP2 及び BCRP による排出方向の輸送は認められなかった。これらの結果より, ニンテダニブの吸収 (腸管吸収の制限), 胆汁及び尿中排泄に P-gp が関与していると考えられたが, BIBF 1202 の胆汁及び尿中排泄に P-gp, MRP2 及び BCRP の関与はないと考えられた。ニンテダニブの肝取り込みに関与するトランスポーターは, 取り込み試験におけるニンテダニブの細胞表面への結合が高く, また, ニンテダニブがトランスポーター発現細胞に急速に取り込まれるため, 特定することができなかった。BIBF 1202 の肝取り込みに関与するトランスポーターは, OATP1B1 及び OATP2B1 であると考えられた。BIBF 1202 グルクロン酸抱合体は MRP2 及び BCRP の基質であるが, OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1 及び OCT1 の基質でないと考えられた [CTD 5.3.2.3-3_U-2279]。

トランスポーターの阻害

ニンテダニブは、P-gp 及び BCRP の弱い阻害剤であった（最大で対照活性のそれぞれ 72.9 及び 36.6%阻害） [CTD 5.3.2.3-1_U-3076]。BIBF 1202 は経細胞輸送及び小胞内輸送活性を阻害しなかったが、BCRP の弱い阻害剤であった（30 μ M で対照活性の 71.8%阻害）。ニンテダニブは OCT1 に対する阻害作用 (IC_{50} : 0.88 μ M) を示したが、OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1 及び OCT2 に対する阻害は認められなかった。BIBF 1202 は、OATP1B1, OATP1B3, OATP2B1 及び OCT1 に対する阻害作用を示したが (IC_{50} 値: 14~79 μ M), OCT2 に対する阻害は認められなかった。

3.3 代謝

3.3.1 *In vitro* 代謝

ヒト肝ミクロソームにおいて、 $[^{14}C]$ ニンテダニブはエステラーゼによる加水分解を受けて、カルボン酸代謝物である BIBF 1202 に代謝された。 $[^{14}C]$ ニンテダニブのエステラーゼによる加水分解が主要な代謝反応と考えられた（エステラーゼによるエステル加水分解は約 25%, CYP 酵素による酸化代謝は約 5%）。また、ニンテダニブの水酸化体及び脱メチル体の生成を触媒する主な酵素は CYP3A4 であった [CTD 5.3.2.2-3_U-1355]。

ニンテダニブはラット及びヒト肝細胞に速やかに取り込まれた。ラット肝細胞では BIBF 1202 の生成速度が遅く他の代謝物の生成が多かったため、ラット肝細胞における BIBF 1202 濃度はヒト肝細胞より低い値（約 1/6~1/2.6）であった [CTD 5.3.2.2-4_U-1001]。

ラット、イヌ、カニクイザル及びヒト肝ミクロソームを用いて、BIBF 1202 のアシルグルクロン酸抱合を検討した結果、抱合反応速度はラットで速く、カニクイザル及びヒトで中程度であり、イヌで遅かった [CTD 5.3.2.2-1_U-1649]。当初検討された 8 種類のヒト UGT 分子種のうち、BIBF 1202 のアシルグルクロン酸抱合を触媒したのは UGT1A1 であった [CTD 5.3.2.2-5_U-1667]。さらに、ラット及びヒト腸ミクロソーム中でも BIBF 1202 がアシルグルクロン酸抱合された [CTD 5.3.2.3-2_U-1144]。ヒト小腸の UGT 分子種である UGT1A7, 1A8 及び 1A10 はいずれも BIBF 1202 のグルクロン酸抱合を触媒したが、最も固有クリアランスが高かったのは UGT1A8 であった。以上より、ヒトでは、肝臓及び腸管で BIBF 1202 がグルクロン酸抱合されると考えられた。BIBF 1202 アシルグルクロン酸抱合体のリン酸緩衝液中での安定性を検討した結果、BIBF 1202 アシルグルクロン酸抱合体は比較的安定であり、生体内の蛋白と共有結合付加体を生成する可能性は低いと考えられた [CTD 4.2.2.4-1_U-1296]。

3.3.2 *In vivo* 代謝

マウス [CTD 4.2.2.4-5_U-2277], ラット [CTD 4.2.2.4-2_U-1935, CTD 4.2.2.4-4_U-2240], アカゲザル [CTD 4.2.2.4-3_U-2098] 及びヒト [CTD 5.3.3.1-2_U06-1950] におけるニンテダニブの *in vivo* 代謝を検討した。各動物種及びヒトにおける血漿及び排泄物中の代謝物プロファイルから、ニンテダニブの主な代謝経路は下記の代謝物 (m1~m4) を生成する経路と考えられた。その他の代謝物として、ニンテダニブがエステル加水分解、酸化又は抱合を受けた数種類のマイナ

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

一な代謝物が認められた。ヒトで認められた主な代謝物はすべて、検討した動物種（マウス、ラット及びアカゲザル）でも認められた。

- m1：ニンテダニブのメチルエステル部分の加水分解による BIBF 1202 の生成
- m2：BIBF 1202 のカルボン酸部分の抱合による 1-O-アシルグルクロン酸抱合体の生成
- m3：ニンテダニブのピペラジン部分の酸化的 N-脱メチル化による BIBF 1053 の生成
- m4：ニンテダニブのエステル加水分解／酸化的 N-脱メチル体の生成

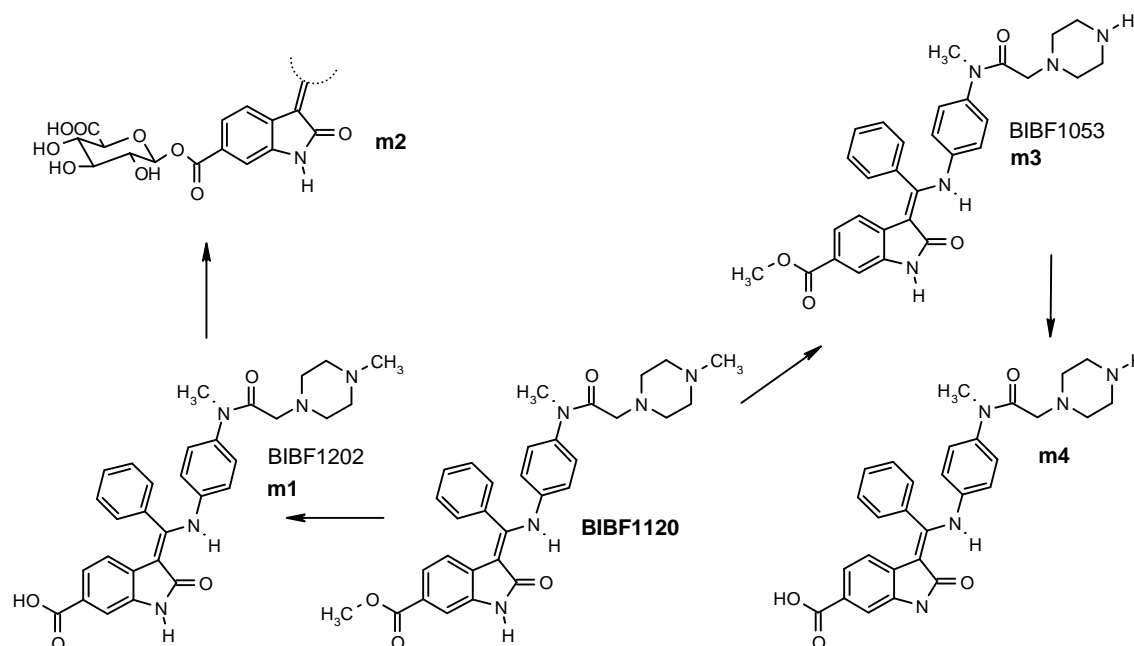


図 3.3.2: 1 ニンテダニブ (BIBF 1120) の主代謝物の化学構造

3.3.3 酵素誘導及び阻害

ラットにニンテダニブを 5 及び 20 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 日間経口投与した後、CYP 酵素 (CYP2B, 1A, 3A 及び 2E1) の活性に変化はない又はごく軽微の変化が認められるのみであった [CTD 4.2.2.6-1_U-2195]。In vitro 試験においても、ニンテダニブの CYP 誘導作用は認められなかった [CTD 5.3.2.2-9_U-1731]。In vitro 試験において、ニンテダニブ、BIBF 1202 及び BIBF 1202 グルクロン酸抱合体の CYP 阻害作用は弱い又は認められなかった [CTD 5.3.2.2-2_U-1386, CTD 5.3.2.2-7_U-1256, CTD 5.3.2.2-8_U-1164]。以上より、ニンテダニブによる CYP 誘導及び阻害に起因する薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられた。

3.4 排泄

検討したすべての動物種及びヒトにおいて、ニンテダニブは主に糞中に代謝物として排泄された (表 3.4: 1)。雄ラットに¹⁴Cニンテダニブを静脈内投与したとき、投与後 48 時間以内の尿中放射能排泄率は 4.9%のみであり、投与後 6 時間以内の胆汁中放射能排泄率は 65.2%であった [CTD 4.2.2.5-2_U-1494]。アカゲザルでは、静脈内投与後 72 時間以内の糞中放射能排泄率は 79% (雄) 及び 77% (雌) であった [CTD 4.2.2.5-1_U-1558]。経口 (又は十二指腸内) 投与後

の胆汁中放射能排泄率は、ラットでは投与後 6 及び 24 時間以内でそれぞれ 8.3 及び 15.4%であり、雄及び雌マウスでは投与後 6 時間以内でそれぞれ 10.1 及び 20.3%であった。ラットにおける経口投与後の胆汁中放射能排泄率は静脈内投与後より低かったが、これはニンテダニブの一部が腸管から吸収されなかったためと推察された [CTD 4.2.2.5-2_U-1494, CTD 4.2.2.4-5_U-2277]。経口投与後の尿中排泄はわずかであり、尿中排泄率はマウスで 2.1%、ラットで 1.2%、アカゲザルで 1.5%、ヒトで 0.65%であった [CTD 4.2.2.4-5_U-2277, CTD 4.2.2.5-2_U-1494, CTD 4.2.2.5-1_U-1558, CTD 5.3.3.1-1_U06-1724]。

表 3.4: 1 動物種及びヒトにおける¹⁴Cニンテダニブの尿、糞及び胆汁中排泄

動物種	マウス	ラット		アカゲザル		ヒト
資料番号	CTD 4.2.2.4-5_U-2277	CTD 4.2.2.5-2_U-1494		CTD 4.2.2.5-1_U-1558		CTD 5.3.3.1-1_U06-1724
投与経路	経口	静脈内	経口	静脈内	経口	経口
投与量 (mg/kg)	30	5	30	5	20	100 mg
糞中排泄率 (投与量%)	95.8	89.2	98.5	84.4	85.7	93.4
胆汁中排泄率 (投与量%)	10.1 ¹⁾ /20.3 ¹⁾ (雄/雌)	65.2	8.3 ¹⁾ (6 時間以内) 15.44 (24 時間以内)	ND	ND	ND
尿中排泄率 (投与量%)	2.1	5.1	1.2	4.7	1.5	0.65

ND：測定せず

1) 麻酔下の動物に十二指腸内投与した。

雄ラットに¹⁴Cニンテダニブを 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回 13 日間反復投与した後の尿及び糞中排泄を検討した。¹⁴Cニンテダニブ由来放射能は主に糞中排泄され、尿及び糞中排泄は投与開始数日以内に定常状態に達した。投与後 24 時間以内の尿及び糞中放射能排泄率は、投与 1 日から 13 日のすべての平均でそれぞれ 1.6 及び 91.2%であった。13 日目投与後 24 時間以内に最終投与量の 100.2%が排泄物中に回収された [CTD 4.2.2.3-4_U-2517]。

授乳 12 日目のラットに¹⁴Cニンテダニブを 30 mg/kg の用量で単回経口投与したとき、投与後 24 時間以内の乳汁中放射能排泄率は投与量の約 0.18~0.5%であった [CTD 4.2.2.3-5_U-1855]。

ニンテダニブの薬物動態及びトキシコキネティクス試験において、一貫した雌雄差は認められなかった。

3.5 その他の薬物動態試験

雄ラットにニンテダニブ、BIBF 1202 及び BIBF 1202 グルクロン酸抱合体をそれぞれ単回静脈内投与した後の薬物動態を検討した。ニンテダニブについては、単回経口投与後の薬物動態も検討した [CTD 4.2.2.7-1_U-2525]。

ニンテダニブの定常状態分布容積 (V_{ss}) は大きく (15.7 L/kg)、全身クリアランス (CL) は高かった (91.8 mL/min/kg)。BIBF 1202 の V_{ss} は約 0.3 L/kg であり、ニンテダニブに比べて小さかったが、ラット血液容量よりは大きかった。BIBF 1202 の CL は中等度 (25.9 mL/min/kg) であった。BIBF 1202 グルクロン酸抱合体の V_{ss} は 0.0556 L/kg であり、CL は 0.969 mL/min/kg であった。

ニンテダニブを静脈内投与した後のニンテダニブ AUC に対するニンテダニブを経口投与した後のニンテダニブ AUC の割合である絶対的バイオアベイラビリティは 10.9%であった。ニンテダニブ代謝物を静脈内投与した後の代謝物 AUC に対するニンテダニブを経口投与した後の代謝物 AUC の割合であるシステミックアベイラビリティは、BIBF 1202 及び BIBF 1202 グルクロン酸抱合体でそれぞれ 2.2 及び 2.5%であった。これらより、ニンテダニブ経口投与後の循環血中 BIBF 1202 及び BIBF 1202 グルクロン酸抱合体は、主に全身循環に入る前に生成することが示唆された。

4. 毒性

すべての経口投与毒性試験において、ニンテダニブ（ニンテダニブ）は0.5%ヒドロキシエチルセルロース水溶液（0.5% Natrosol[®] 250HX）中に懸濁し、強制経口投与した。静脈内投与試験においては、ニンテダニブをニンテダニブエタンスルホン酸塩の凍結乾燥物質（1 バイアルあたり50 mg のニンテダニブを含有）として提供し、投与前に溶媒を用いて溶解させた。

4.1 単回投与毒性試験

マウス及びラットにおける経口単回投与毒性試験において、概略の致死量（Approximate Lethal Dose : ALD）は>2000 mg/kg であり [CTD 4.2.3.1-1_U■■-1066, CTD 4.2.3.1-2_U■■-1491] , 経口投与後のニンテダニブの急性毒性は低いと考えられた。マウス及びラットへの静脈内投与において、投与可能な最大用量 40 mg/kg でも急性毒性を示す所見はみられなかった [CTD 4.2.3.1-3_U■■-1057, CTD 4.2.3.1-4_U■■-1058] 。

経口及び静脈内単回投与毒性試験は、非げっ歯類では実施されなかった。なお、経口投与による急性毒性については、非げっ歯類の反復投与用量設定試験の成績を参考に評価した。

4.2 反復投与毒性試験

ニンテダニブの 2, 4, 13, 26 あるいは 52 週間投与による毒性を、CrI:CD-1(ICR)マウス（最長 13 週間）, CrI:WI(Han) 及び HsdRccHanTM:WIST ラット（最長 26 週間）, ビーグル犬（最長 2 週間）, カニクイザル（最長 13 週間）並びにアカゲザル（最長 52 週間）を用いた反復経口投与毒性試験並びに CrI:WI(Han) ラット及びアカゲザル（それぞれ最長 2 週間）を用いた反復静脈内投与毒性試験で評価した。すべての主要な試験において、トキシコキネティクスにより、ニンテダニブ、さらに測定した場合はその主要代謝物 BIBF 1202 ZW 及び BIBF 1202 グルクロン酸抱合体の全身曝露が示された。

4.2.1 マウスにおける反復経口投与毒性試験

2 週間投与により、いずれの試験評価項目にも 100 mg/kg/日までの投与量を選択できなくなるような明らかな薬物誘発性の変化がみられなかったため、CD-1 マウスにおける 2 週間及び 13 週間の最大耐量（Maximum Tolerated Dose : MTD）試験の両方において、ニンテダニブの 0, 10, 30, 100 mg/kg/日を投与した [CTD 4.2.3.2-1_U■■-1797, CTD 4.2.3.2-2_U■■-1798] 。

13 週間の投与期間終了時 [CTD 4.2.3.2-2_U■■-1798] , 100 mg/kg/日投与動物において、第 7 週目以降に切歯の変色（白色化）がみられた。100 mg/kg/日投与の雌 1 例においては、第 10/11 週目に歯の破折も認められた。全体的に、すべての投与群において、体重増加量が対照群に比べて用量依存的に低かった（雄/雌：10 mg/kg/日で対照群の 0.74 倍/0.75 倍, 30 mg/kg/日で 0.59 倍/0.85 倍, 100 mg/kg/日で 0.55 倍/0.54 倍）。血液学的検査では、赤血球数減少（対照群の最大 0.86 倍）, 30 又は 100 mg/kg/日投与の雌において網状赤血球数減少（対照群の最大 0.63 倍）, 30 又は 100 mg/kg/日投与の雌雄において平均赤血球血色素量（MCH）及び平均赤血球容積（MCV）の増加（最大 1.2 倍）がみられた。血小板数は、100 mg/kg/日投与の雌雄で低かった（最大 0.80 倍）。

血液生化学的検査では、ニンテダニブの 100 mg/kg/日投与の雄において、ビリルビン濃度の軽度増加が示されたものの、関連する病理組織学的変化は観察されなかった。100 mg/kg/日投与の雌では、総タンパク及びアルブミン値の軽度減少及びそれに伴うアルブミン/グロブリン比の軽度減少がみられた（対照群の最大 0.94 倍）。

すべての雌の投与群において、肝の絶対、体重相対重量及び脳相対重量が低く（対照群の最大 0.75 倍）、ニンテダニブの 30 又は 100 mg/kg/日投与の雄でも程度は低いものの同様の変化がみられた（対照群の最大 0.84 倍）。ニンテダニブ 100 mg/kg/日投与の雌では、心臓の絶対、相対重量及び脳相対重量も低かった（対照群の最大 0.81 倍）。

病理組織学的検査では、成長板の肥厚（肥大軟骨細胞数の増加による）及び大腿骨及び脛骨の関節軟骨基底層における軟骨細胞腫大、骨髄における細胞数減少、切歯の障害、脾臓及び肝臓における髄外造血亢進、副腎のびまん性皮質過形成、卵巣における成熟黄体数減少と黄体化卵胞数増加であった。

ニンテダニブの 30 mg/kg/日の用量は MTD に近いと考えられた。無毒性量（NOAEL）は本試験では得られなかった。

4.2.2 ラットにおける反復経口投与毒性試験

ニンテダニブの経口投与量は、2 週間毒性予備試験の 3 試験において 0, 10, 30, 100 mg/kg/日 [CTD 4.2.3.2-4_U-1714, CTD 4.2.3.2-5_U-1063]、又は 0, 100, 300, 1000 mg/kg/日 [CTD 4.2.3.2-3_U-1526]、4 週間 [CTD 4.2.3.2-6_U-1812] 及び 13 週間 [CTD 4.2.3.2-7_U-1065] 毒性試験において 0, 3, 20, 100 mg/kg/日、13 週間 MTD 試験 [CTD 4.2.3.2-8_U-1799] において 0, 5, 20, 60 mg/kg/日、26 週間毒性試験 [CTD 4.2.3.2-9_U-1843] において 0, 5, 20, 80 mg/kg/日に設定した。主な試験において、トキシコキネティクスにより、ニンテダニブ、BIBF 1202 ZW 及び BIBF 1202 グルクロン酸抱合体の実際の全身曝露が示された。

被験物質に関連した歯（持続的に成長する切歯）の障害による摂餌量減少は、4 週間毒性試験中に顕著となり、明らかな体重減少の原因となった。飼料ペレットに水を加えることによって、摂餌量及び体重増加量は正常に戻った。この後実施された試験については、粉末飼料による給餌が推奨された。

ラットでみられたニンテダニブに関連した変化は、すべての試験でよく一致するものであった。

全般的に、血液学的検査において、赤血球パラメータ（赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン、MCH、MCV、網状赤血球数）の軽微から軽度の変化（増加及び減少）が認められた。わずかな白血球、リンパ球及び血小板数の増加が散見された。

血液生化学的検査では、 ≥ 60 mg/kg/日において、ALT、AST、ALP の軽度増加、GGT 及びアルドラーゼの軽度増加も認められた。しかし、肝酵素活性の増加はあまり顕著ではなく、対照群においてもみられたことから、偶発的なものであり、明らかに薬物投与に関連するものではないと考えられた。

ニンテダニブ投与に関連した主な病理組織学的所見は、切歯の障害、大腿骨及び脛骨関節軟骨における成長板の肥厚（肥大軟骨細胞数の増加による）及び基底層軟骨細胞腫脹の増加、骨髄の

細胞数減少、腎の足細胞及び糸球体血管内皮細胞における細胞質内 PAS 陽性硝子顆粒であった。投与 13 及び 26 週後のさらなる関連所見は、卵巣においてしばしば縮小化した成熟黄体数及び黄体化卵胞数の増加、肝臓のヘモジデリン沈着、脾臓の被膜及び脾柱における石灰沈着、肝外胆管周辺の炎症性変化、副腎皮質における類洞拡張／血管拡張、雄における副腎のびまん性皮質過形成、胸腺及び脾臓の細胞数減少であった。

投与量 3, 5, 10 mg/kg/日においては、これらの変化はみられても、全般的に非常に軽度又は軽微であった。投与量 \geq 60 mg/kg/日においては、ほとんどの変化が明らかであったが、明らかな臓器（例、肝又は腎）機能不全は引き起こさなかった。また、これらの変化は、ニンテダニブの薬理活性に直接的（例、骨端成長板の肥厚）又は間接的（例、赤血球パラメータの変化）に関連するものであった。

4.2.3 イヌにおける反復経口投与毒性試験

ビーグル犬における 2 週間毒性試験では、ニンテダニブの 0, 3, 10, 30, 100 mg/kg/日を経口投与した [CTD 4.2.3.2-12_U-2450]。

液状便、摂餌量減少、消瘦は、3 mg/kg/日群ですでに明らかであり、雌雄動物でのそれぞれ全身曝露量 (AUC₀₋₂₄) は 223 及び 782 ng·h/mL であった。ニンテダニブの幾何平均 C_{max} は、定常状態で、雄 2 例で 17 ng/mL、雌 2 例で 80 ng/mL であった。10 mg/kg/日群のイヌ 1 例は、消化管における副作用のため、投与終了前に切迫屠殺した。30 及び 100 mg/kg/日群では、すべてのイヌを投与終了前に切迫屠殺した。切迫屠殺した動物は、重度の液状便、嘔吐、流涎、麻痺／異常運動を示した。腸管粘膜においては、びらん、絨毛萎縮、陰窩上皮の核密集及び有糸分裂像を伴う好塩基化がみられ、腸管上皮細胞の傷害が示唆された。切迫屠殺した動物においては、肝トランスアミナーゼ活性の中等度の増加もみられた。

\geq 10 mg/kg/日の投与では、腸管粘膜の変化が、第 1 日目に比べ第 13 日目に血漿中濃度 (AUC₀₋₂₄) がより高かったことに関連していた可能性が考えられる。ビーグル犬の高い致死率は、明らかに下痢及び嘔吐等の消化管への毒性作用の投与量制限感受性によるものであった。これらの有害事象は、臨床試験では一部の患者にもみられたが、第 I 相開発段階の主要な用量制限有害事象ではなく、対症療法の追加又はニンテダニブの減量により管理可能であった。嘔吐及び下痢により投与を中止した患者は数例にすぎなかった。このため、ビーグル犬は、下痢及び嘔吐等の消化管有害事象に関して、非げっ歯類動物種の中で最も感受性が高いが、ニンテダニブの臨床開発段階をサポートするうえで、最も適する非げっ歯類動物種ではないと考えられた。

反復投与によりニンテダニブで誘発されるすべての有害作用（消化管毒性を含むが、中程度の強さ）が網羅され、また体内で形成される代謝物スペクトルがよりヒトに近いであろうという仮定に基づき、非臨床試験の非げっ歯類動物として、カニクイザル及びその後アカゲザルの 2 種を選択した。

4.2.4 ミニブタにおける反復経口投与毒性試験

ミニブタにおける予備試験において、ニンテダニブの 50 mg/kg/日を 2 日間投与した [CTD 4.2.3.2-13_U-1349]。さらに、7 日間にわたる予備毒性試験において、雄動物に 50, 70, 100 mg/kg/

日、雌動物に 40, 50 mg/kg/日を投与した [CTD 4.2.3.2-14_U-2343]。これらの試験の主な目的は、進行性癌患者において、特に>250 mg b.i.d.の投与量でみられた薬物関連肝酵素増加に対する感受性を、ミニブタで評価することであった。

重度の消化管症状により動物が瀕死状態となったため、6 例中 5 例を切迫屠殺した。一般症状として、嘔吐、軟便又は液状便、不安定歩行が観察された。これらの症状は重度であったが、肝パラメータについては、投与終了時、AST (123.4 U/L まで) 及び ALT (86.4 U/L まで) の散発的な増加がみられたのみであった。

ミニブタは、患者におけるニンテダニブによる肝酵素増加を高い精度で予測できるモデルではないと結論付けられた。

4.2.5 カニクイザルにおける反復経口投与毒性試験

カニクイザルにおいて、ニンテダニブの 20, 40, 80 mg/kg/日を 11 日間まで投与する漸増投与毒性試験を行った [CTD 4.2.3.2-15_U-1707]。80 mg/kg/日群において、下痢、嘔吐、黄色がかった皮膚及び体重減少がみられた。

トキシコキネティクスブリッジング試験において、ニンテダニブのエタンスルホン酸と塩酸塩の動態を比較するため、ニンテダニブエタンスルホン酸を静脈内投与 (1 及び 5 mg/kg/日の単回投与) 及び経口投与 (20, 40, 80 mg/kg/日の漸増投与で、各用量 7 日間投与) した [CTD 4.2.3.2-16_U-1067]。投与量 20 mg/kg/日は、過去の試験同様十分な忍容性を示した。40 mg/kg/日群においては、雄でのみ下痢及び嘔吐がみられた。80 mg/kg/日群においては、下痢及び嘔吐は雌でもみられた。160 mg/kg/日群では、単回投与において極めて重度の消化管症状が発現したため、投与を中止した。

4 週間反復投与毒性試験において、投与量 0, 3, 15, 60 mg/kg/日を強制経口投与した [CTD 4.2.3.2-17_U-1326]。15 mg/kg/日投与動物において、散発的に下痢、軟便及び有色便、嘔吐がみられた。60 mg/kg/日において、重度の下痢、嘔吐、摂餌量及び体重減少がみられ、さらに対症療法にもかかわらず全般的健康状態が悪化したため、投与 2 週間後に切迫屠殺した (回復群の動物を除く)。病理組織学的変化としては、脾臓のリンパ球数減少、胸腺及び骨髄の細胞数減少、腎臓の尿細管拡張、消化管のびらん、食道、舌、皮膚の上皮萎縮、睪外分泌腺、顎下腺、耳下腺、舌の漿液腺の萎縮、小腸の絨毛萎縮が認められた。軽度の血液学的及び血液生化学的变化は、生存した高用量回復動物 2 例に限定してみられた。

カニクイザルにおける 13 週間毒性試験では、ニンテダニブの 0, 3, 15, 30 mg/kg/日を 1 日 1 回経口投与した [CTD 4.2.3.2-18_U-2245]。30 mg/kg/日投与動物において、下痢の一般症状がみられたことから、3 日間の休薬後に、高用量を 20 mg/kg/日に減量した。15 及び 30/20 mg/kg/日投与動物において、体重増加量減少又は体重減少がみられた。被験物質投与に関連する病理組織学的変化として、胸腺皮質の細胞数減少及び骨髄の脂肪置換が認められた。これらの変化は一部の対照群にもみられたが、その発現率と程度は投与動物で高く、用量依存性が認められた。しかし、すべての骨髄塗抹検査において、細胞密度、分布、形態は正常とみなされた。

4 週間及び 13 週間毒性試験の NOAEL は 3 mg/kg/日であった。4 週間投与期間終了時、ニンテダニブの幾何平均 C_{max} は、それぞれ 15.1 ng/mL (雄) 及び 18.7 ng/mL (雌) であった。幾何平均 AUC_{0-24} は、それぞれ 158 ng·h/mL 及び 185 ng·h/mL であった。13 週間の投与期間終了時、ニンテダニブの幾何平均 C_{max} は、それぞれ 38.3 ng/mL (雄) 及び 37.2 ng/mL (雌) であった。幾何平均 AUC_{0-24} は、それぞれ 305 ng·h/mL 及び 345 ng·h/mL であった。

まとめると、カニクイザルは、 ≥ 1000 ng·h/mL の曝露量での 2 週間以上の投与により、下痢、軟／液状便、嘔吐の一般症状を示した。さらに、赤血球数、赤血球容積 (PCV) 及び／又はヘモグロビン量等の赤血球パラメータの減少傾向、網状赤血球及び血小板数の増加傾向、トランスアミナーゼ (ALT, AST) の増加傾向がみられた。トランスアミナーゼの変化はあまり顕著ではなく、しばしば下痢などの消化管症状とともにみられた。しかし、消化管の病理組織学的変化は、あまり顕著ではないか、又は全くなかった。その他に、病理組織学的検査では、胸腺、骨髄、リンパ節及び脾臓の細胞数減少が散見された。

4.2.6 アカゲザルにおける反復経口投与毒性試験

アカゲザルにおけるトキシコキネティクスでは、ニンテダニブの 120 mg/kg/日までを投与し、経口投与と静脈内投与を比較した [CTD 4.2.3.2-19_U-2452]。これには、80 mg/kg/日の 7 日間投与及び 40 mg/kg/日の 14 日間投与が含まれた。この試験では、カニクイザルでみられた毒性作用 (下痢、嘔吐) と同様のプロファイルが同等の投与量で発現したが、さらに、10 mg/kg/日以上での投与で総ビリルビンの増加、20 mg/kg/日以上で ALT, AST, GLDH 増加及び GGT 減少がみられ、肝毒性の影響が示唆された。臨床試験の患者における第 I 相開発段階における主要な用量制限有害事象となった肝酵素増加に関連するさらなる毒性データを得るため、非げっ歯類の非臨床試験プログラムには引き続きアカゲザルを用いた。

4 週間毒性試験においては、0, 10, 20, 60 mg/kg/日を投与した [CTD 4.2.3.2-20_U-2427]。10 mg/kg/日では、黄色便がみられたのみであった。20 mg/kg/日において、有色便に加え、赤血球数及び赤血球容積 (PCV) の軽度減少が認められた。60 mg/kg/日においては、液状便及び嘔吐が、主に投与期間の後半にみられた。この群の雄 2 例及び雌 1 例は、投与期間中に顕著な体重の減少を示し、雄雌各 1 例で、摂餌量減少がみられた。

ALT の軽度増加が、60 mg/kg/日投与動物及び程度は低いものの 20 mg/kg/日投与動物でもみられ、AST 軽度増加 (60 mg/kg/日) 及び GGT 軽度減少 (20 及び 60 mg/kg/日) を伴っていた。

この試験における NOAEL は 10 mg/kg/日であった。4 週間投与期間終了時、ニンテダニブの幾何平均 C_{max} は、それぞれ 51.4 ng/mL (雄) 及び 75.2 ng/mL (雌) であった。幾何平均 AUC_{0-24} は、それぞれ 357 ng·h/mL (雄) 及び 529 ng·h/mL (雌) であった。

続いて行われた 52 週間経口投与毒性試験 [CTD 4.2.3.2-21_U-1875] においては、ニンテダニブの 0, 10, 20, 60 mg/kg/日を投与した。高用量群では、毒性症状がみられたため、52 週間投与の期間中、最初の 4 週間投与後に 20 日間の休薬期間をおいた。このため、この投与群の残りの動物には、試験終了時に 3 週間の追加投与を行った。さらに、高用量群では、20 日間の休薬期間後に投与量を 45 mg/kg/日まで減量して投与を再開した。液状便、嘔吐、歯肉の貧血、流涎、体重増

加量減少は、頻度及び/又は重症度は減少したものの、継続してみられたため、第 25 週以降は、投与量をさらに 30 mg/kg/日に減量した。

最初の投与 4 週間における液状便は、多くの動物において、*Coliform Spp.* (特に *E. coli*) 及び/又は *Campylobacter Spp.* 混合菌の存在を伴っており、消化管症状の重症化に関連するものと考えられた。

10 mg/kg/日群において、薬効に関連すると考えられる変化として、大腿骨/脛骨及び胸骨における軽度の成長板肥厚が雌雄でみられ、軽度の脾臓重量減少が雌のみでみられた。副腎束状帯萎縮は、雄では 4 例中 3 例において認められたが、雌ではみられなかった。

20 mg/kg/日群において、最初の 25 週間に雌雄で体重増加量の減少がみられた。一般症状として、試験期間中を通して、主に投与中の流涎の発現率及び頻度の増加が雌雄でみられた。脾臓重量減少は雌でみられた。病理学的変化としては、大腿骨/脛骨及び胸骨の成長板肥厚が認められた。副腎束状帯萎縮は、雄では 4 例中 1 例、雌では 4 例中 2 例に認められた。

高用量投与群では、45 mg/kg/日投与時、第 11 及び 24 週目に雌雄各 1 例を切迫屠殺した。これらの動物では、液状便、活動減少、消瘦、背弯姿勢などの重度の一般症状がみられた。腸管スワブの微生物学的検査により、雌雄で病原性 *Coliform Spp.* 混合菌、雌で *Shigella Spp.* の存在が確認された。

60/45/30 mg/kg/日投与動物において、第 13 週目に好中球数、リンパ球数、好酸球数、好塩基球数、単球数、大型非染色細胞数の減少、第 26 週目にリンパ球数減少がみられた。第 52 及び 55 週目に血小板数減少がみられたが、回復期間終了時にはみられなかった。第 40、52、55 週目、さらに回復期終了時にアルブミン値減少がみられた。第 52、55 週目にみられたクロール値増加は、回復期終了時にはみられなかった。投与期間終了時にみられた脾臓重量の減少、B、T 及び NK 細胞数の減少、肺・気管支重量減少は、回復期終了時には明らかでなかった。第 13 週目の肺・気管支重量減少及びリンパ球数減少は雄でもみられたが、これら以外の変化は雌のみでみられた。主な病理学的変化として、雌雄において、大腿骨/脛骨及び胸骨の成長板肥厚、胸骨の皮質骨菲薄化及び海綿骨減少、副腎束状帯萎縮が認められた。副腎束状帯萎縮には用量依存的な重篤化はみられなかった。回復期終了時にもみられた唯一の所見は、雌 1 例の大腿骨における軽度成長板肥厚であった。

すべての投与関連変化は、完全又は部分的に可逆性であった。

まとめると、60/45/30 mg/kg/日において、消化管における病原性細菌の存在が、液状便、嘔吐、体重減少の重症度を悪化させたと考えられ、高用量群 (45 mg/kg/日投与) 2 例の途中死亡の原因となった。この試験の NOAEL は 10 mg/kg/日であった。52 週間投与期間終了時、ニンテダニブの幾何平均 C_{max} は、それぞれ 77.6 ng/mL (雄) 及び 53.7 ng/mL (雌) であった。幾何平均 AUC_{0-24} は、それぞれ 786 ng·h/mL (雄) 及び 506 ng·h/mL (雌) であった。

4.2.7 静脈内反復投与毒性試験

ラットにおける静脈内投与用量設定試験において、ニンテダニブを5%グルコース溶液中に溶解し、pH 4.4 に調整した投与液を、20 mg/kg/日までの用量で連続4日間まで投与した [CTD 4.2.3.2-10_U-1403]。重度の局所不耐性により、連続4日間投与後にこの製剤の投与を中止した。

続くラットにおける2週間毒性試験では [CTD 4.2.3.2-24_U-1836]、ニンテダニブを5%HP- β -シクロデキストリン/4%グルコース溶液に溶解した投与液を、0, 5, 10, 20 mg/kg/日の用量で投与した。

血液学的検査では、経口投与毒性試験と同様、赤血球パラメータの軽度変化及びALT/ASTの軽度増加がみられた。被験物質に関連すると考えられる病理組織学的変化は、20 mg/kg/日投与群雄雌ラットの腎臓（軽微でびまん性の糸球体メサンギウム肥厚）、すべての投与群の雄雌の骨髄（軽微又は軽度の細胞密度減少）、脾臓（髄外造血）、大腿骨（骨端成長板の肥厚及び軟骨内骨化減少）にみられた。腎臓（びまん性皮質尿細管上皮空胞化及び/又は顆粒形成）及び肺（肺泡マクロファージ集簇）において、溶媒であるHP- β -シクロデキストリン/グルコース溶液（5%/4%）によると考えられる病理組織学的変化が認められた。

この試験におけるNOAELは5 mg/kg/日であった。2週間投与期間終了時、ニンテダニブの平均 C_{max} は、それぞれ399 ng/mL（雄）及び317 ng/mL（雌）であり、平均 AUC_{0-24} はそれぞれ388 ng·h/mL（雄）及び336 ng·h/mL（雌）であった。

アカゲザルにおいて、静脈内投与最大耐用量試験は、漸増投与期（パートA）と本試験の第2部（パートB）の2期に分けて行った [CTD 4.2.3.2-22_U-2398]。パートAにおいて、漸増的2.5, 5, 10, 15, 20 mg/kg/日をそれぞれ連続3~4日間投与した。パートBでは、0, 10, 20 mg/kg/日を14日間投与した。

20 mg/kg/日（パートA, パートBとも）において、軽度体重減少又は体重増加量減少がみられた。この投与量において、摂餌量の減少、ASTの増加（雄のみ）、胸腺重量減少、骨髄及び胸腺の細胞数減少が認められた。パートBにみられた尿の暗黄色化は、ニンテダニブ原薬の色（黄色）によるものと考えられた。

続く2週間の毒性試験においては、0, 5, 10, 20 mg/kg/日を30分の注入時間で14日間静脈内投与した [CTD 4.2.3.2-23_U-2202]。

20 mg/kg/日において、網状赤血球数減少及び軽度のAST増加がみられたが、変動が大きく統計学的に有意でなかった。20 mg/kg/日投与動物の胸腺重量減少は、統計学的に有意でなかった。病理組織学的に、20 mg/kg/日投与動物の胸腺皮質では、軽微から軽度の細胞数減少がみられた。20 mg/kg/日投与のすべての動物及び10 mg/kg/日投与の2例の脾臓で、軽微から軽度の胚中心の細胞密度減少がみられた。注射部位においては、静脈炎、静脈周囲炎、急性皮下炎症が認められた。

この試験におけるNOAELは20 mg/kg/日であった。2週間の投与期間の終了時、ニンテダニブの平均 C_{max} は、それぞれ5230 ng/mL（雄）及び5300 ng/mL（雌）であり、平均 AUC_{0-24} はそれぞれ12800 ng·h/mL及び14200 ng·h/mLであった。

4.3 遺伝毒性試験

ニンテダニブの遺伝毒性は、細菌及び哺乳類細胞で評価した。

ニンテダニブは、代謝活性化存在下及び非存在下において、数種の株で細菌毒性を示す濃度まで試験しても、*S. typhimurium* 株で変異を引き起こさなかった [CTD 4.2.3.3.1-1_U-1481]。このため、ニンテダニブは、「Ames 陰性」と分類された。

ニンテダニブは、代謝活性化の有無にかかわらず、細胞毒性を示す濃度まで試験しても、マウスリンフォーマ L5178Ytk⁺細胞の tk 部位の遺伝子又は染色体に変異を誘発しなかった [CTD 4.2.3.3.1-2_U-1512]。

ニンテダニブは、限界用量である毒性用量まで投与しても、ラット骨髄細胞に小核を誘発しなかったため、この試験条件下において、*in vivo* 細胞遺伝学的損傷を引き起こさなかった [CTD 4.2.3.3.2-1_U-1650]。

主要代謝物である BIBF 1202 の遺伝毒性について、Ames 試験 [CTD 4.2.3.3.1-3_U-1640] 及びマウスリンフォーマ L5178Ytk⁺試験 [CTD 4.2.3.3.1-4_U-1997] を実施した結果、両試験とも陰性であった。

まとめると、現在までの *in vitro* 及び *in vivo* 試験結果は、ニンテダニブ及びその関連代謝物に遺伝毒性がないことを示している。

4.4 がん原性試験

2年間癌原性試験は、マウス [CTD 4.2.3.4.1-1_n00232869] で投与量 0, 5, 15, 30 mg/kg/日、ラット [CTD 4.2.3.4.1-2_n00232871] で投与量 0, 2.5, 5, 10 mg/kg/日を用い実施され、ニンテダニブにはがん原性は認められなかった。

4.5 生殖発生毒性試験

4.5.1 ラットにおける雄性生殖能及び着床までの初期胚発生に関する試験

CrI:WI(Han)雄ラットにニンテダニブを 0, 3, 20 及び 100 mg/kg/日の用量で経口投与し、雄の受胎能及びその後の初期胚発生について検討した [CTD 4.2.3.5.1-1_U-1128]。雄動物への投与は、交配の 92 日前に開始した。雌動物には、妊娠日 (GD) 1~6 (交配日を GD1 とする) に投与した。

雄性生殖器官において、病理組織変化を含め (精巣, 精巣上体, 前立腺, 精嚢腺, 凝固腺), 被験物質投与に関連する所見は認められなかった。投与雄動物における非投与雌動物との交配能及び生殖能は、障害されなかった。

雄性親動物におけるニンテダニブの NOAEL は 3 mg/kg/日であり、雄性生殖能及びその後の初期胚発生における NOAEL は >100 mg/kg/日であった。

4.5.2 ラットにおける雌性生殖能及び着床までの初期胚発生に関する試験

CrI:WI(Han) 雌の受胎能及び一般生殖能へのニンテダニブの影響を検討するため、1 群 24 例の雌の CrI:WI(Han)ラットにニンテダニブを 0 (対照), 3, 20 及び 100 mg/kg/日の用量で交配前 15 日間, 交配期間中及び GD7 まで強制経口投与 (10 mL/kg) した [CTD 4.2.3.5.1-2_U-2650]。

GD14 に母動物の子宮を摘出した。本試験のすべての雌で交尾が成立し、交尾率はすべての群で100%であった。ニンテダニブ 20 mg/kg/日群の雌では、黄体数増加がみられた。早期吸収胚数が増加し、それにより着床後胚損失率も増加した。

交配前期間、交配期間及び交配後全期間において、ニンテダニブ 100 mg/kg/日群の雌で、対照群の雌と比較した有意な体重増加量減少が散発的に認められた。交配前期間中の雌に有意な摂餌量減少がみられた。生存胎児数の減少が認められた。吸収胚数及び吸収率は有意に増加した。

病理組織学的検査において、乳腺の分泌低下及び乳腺の脂肪組織に対する腺組織の比率低下が20 mg/kg/日群でみられ、100 mg/kg/日群でより顕著に認められた。

ニンテダニブの母動物毒性、雌の交尾能及び受胎能に関する NOAEL は 20 mg/kg/日、初期胚発生に関する NOAEL は 3 mg/kg/日と判断された。

4.5.3 ラットにおける胚・胎児発生への影響に関する予備試験

ラットにおけるニンテダニブの胚・胎児発生への影響に関する最初の予備試験において、妊娠日 (GD, ただし交配日を GD1 とする) 7~GD16 に投与量 0, 30, 75, 180 mg/kg/日を投与したところ、すべての投与群で全胚吸収がみられた [CTD 4.2.3.5.2-1_U-1710]。

このため、胚・胎児発生への影響に関する 2 回目の試験は、0, 5, 10, 20 mg/kg/日の投与量で行った [CTD 4.2.3.5.2-2_U-1814]。

20 mg/kg/日のすべての母動物及び 10 mg/kg/日の母動物 1 例では、全胚吸収がみられた。10 mg/kg/日では、平均吸収数が増加し、2 例の矮小児がみられた。5 及び 10 mg/kg 投与群における平均胎児体重は、用量依存的に減少した。

10 mg/kg/日において、血管に催奇形性作用がみられた。中軸骨格の発生における軽度の影響は、投与量 5 mg/kg/日からみられた。これらの低投与量において、母動物への全身曝露量 (AUC) は、最大推奨臨床用量 (150 mg b.i.d. : 363 ng·h/mL) における曝露量の 2 倍 (20 mg/kg/日 : 761 ng·h/mL) 又はかなり低かった (5 mg/kg/日 : 22.6 ng·h/mL, 10 mg/kg/日 : 91.8 ng·h/mL)。

4.5.4 ラットにおける胚・胎児発生への影響に関する試験

1 群 24 例の Crl:WI(Han)妊娠ラットを用いて、ニンテダニブを 0, 2.5, 5 及び 10 mg/kg/日の用量で GD7~GD16 に投与した [CTD 4.2.3.5.2-3_U-1923]。

母動物毒性は認められなかった。10 mg/kg/日群では吸収率及び早期吸収胚数が有意に増加した。

10 mg/kg/日群では胎児体重減少がみられ、催奇形性変化が主として中軸骨格及び大動脈弓に認められた。2.5 mg/kg/日群では、骨格奇形発現頻度の軽度の増加がみられた。2.5 及び 5 mg/kg/日群では骨格変異の発現頻度増加が認められた。

このため、ラットの胚・胎児発生に関する NOAEL は設定できなかった。

最低用量 2.5 mg/kg/日を投与された母動物におけるニンテダニブの全身曝露量は定量限界 (1.0 ng/mL) を下回ったが、GD16 における代謝物 BIBF 1202 グルクロン酸抱合体の C_{max} は 53.2 ng/mL, AUC_{0-24} は 399 ng·h/mL であり、薬物曝露が示された。

4.5.5 ウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する用量設定試験

1群6例のCrl:CHBB(HM)ヒマヤウサギに、ニンテダニブを0(対照群), 3, 7, 15, 30, 75及び180 mg/kg/日の用量でGD6~GD18に連日投与した [CTD 4.2.3.5.2-4_U-1420]。

試験に使用したすべての動物で妊娠が確認された。180 mg/kg/日群では3例の動物が死亡又は切迫屠殺に至った。投与関連の一般状態の変化として、180 mg/kg/日群では排糞減少、軟便又は無便がみられ、75 mg/kg/日群ではこれらの所見はより軽度で、両群では異常な尿の黄色化も認められた。

180 mg/kg/日群では生存胎児はみられなかった。75 mg/kg/日の2例の母動物は完全流産に至った。75 mg/kg/日群では、対照群と比較して吸収率が増加した。15 mg/kg/日群でまれな外表奇形(短指)がみられた。75 mg/kg/日群では胸骨の奇形並びに心臓及び脊椎の発生変異の発現率増加がみられたが、標本数が少ないため投与との関連は明らかではなかった。

3, 7, 15及び30 mg/kg/日群では母動物毒性及び胎児毒性は認められなかった。3~30 mg/kg/日の用量範囲における発生異常の発現頻度は同程度であった。

4.5.6 ウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する試験

1群21例のCrl:CHBB(HM)妊娠ウサギに、ニンテダニブを0(対照群), 15, 30及び60 mg/kg/日の用量でGD6~GD18に投与した [CTD 4.2.3.5.2-5_U-1937]。

母動物の所見：体重、体重増加量及び一般状態には、ニンテダニブの投与に関連した毒性学的意義のある変化はみられなかった。

同腹児の所見：対照群並びに15, 30及び60 mg/kg/日群でそれぞれ20例, 21例, 21例及び20例の妊娠動物が得られ、それぞれ20腹, 21腹, 21腹及び16腹について計画された子宮摘出検査を実施した。黄体数、着床数、着床前胚損失率、生存胎児数及び死亡胎児数には、投与の影響は認められなかった。60 mg/kg/日群では3例の母動物で全胚吸収がみられ、1例の母動物では全胚流産が認められた。また、60 mg/kg/日群では、対照群と比較して、早期吸収胚数、総吸収胚数及び吸収率の有意な増加がみられた。

胎児の所見：60 mg/kg/日群では、対照群と比較して、雌胎児の比率が有意に高くなった。30及び60 mg/kg/日群では催奇形性が認められた。変化が多くみられた形態異常は、大動脈弓及び心臓、泌尿生殖器系及び中軸骨格系であった。さらに、薄い膜様の頭蓋骨(不整縫合線の付加)及び前肢遠位部(片側短指)にみられた。骨格発生に対する催奇形性は15 mg/kg/日群でも認められた。

以上をまとめると、ニンテダニブを60 mg/kg/日までの用量で投与しても母動物毒性は誘発されなかったが、15 mg/kg/日以上で、主として中軸骨格に催奇形性が認められた。15 mg/kg/日群の母動物におけるGD18のニンテダニブの曝露量は、 C_{max} が461 ng/mL、 AUC_{0-24} が1920 ng·h/mLであった。発生毒性に関するNOAELは決定できなかった。

4.5.7 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

1群22例のHsdHan:WIST雌ラットにニンテダニブを2.5, 5又は10 mg/kg/日の用量で交尾後6日から分娩後20日まで強制経口投与した [CTD 4.2.3.5.3-1_U-2641]。

トキシコキネティクス試験では、ニンテダニブ、BIBF 1202 及び BIBF 1202 グルクロン酸抱合体のほぼ用量に比例した全身曝露が認められたが、それらの濃度は低かった。

5 mg/kg/日群における GD14～GD20 の体重増加量及び GD17～GD19 の摂餌量には、対照群と比較して軽度の減少が認められた。2.5 及び 5 mg/kg/日群では妊娠期間並びに出生児の出生前及び出生後の生存率に対する投与の影響はみられず、したがって同腹児数にも影響は認められなかった。

10 mg/kg/日群では、対照群と比較して、妊娠期間が 23 日又は 23.5 日の雌動物の数が多かった。着床後胚生存率は対照群より低く、早期出生後期間中に全同腹児死亡が 2 腹に認められた。

2.5, 5 又は 10 mg/kg/日群において、出生児における対照群と比較した生後 1 日の体重、離乳（生後 21 日）までの体重増加量及び生後 25 日までの体重増加量には、ニンテダニブの母動物への投与の影響は認められなかった。

対照群と比較して、ニンテダニブのいずれの投与群においても、F1 の一般状態、性成熟、自発運動量並びにモリス水迷路で評価した学習及び記憶に対する母動物への投与の影響は認められなかった。いずれの投与群においても、対照群と比較して、母動物への投与による F1 児の交配能、受胎能及び生殖能への影響はみられなかった。

性比及び生後 4 日から離乳時までの出生児生存率（離乳率）は同程度であり、ニンテダニブの 10 mg/kg/日の用量での投与の影響はみられなかった。10 mg/kg/日で出生前及び出生後の発生に対する影響がみられたことから、母動物の生殖機能並びに出生児の出生前及び出生後死亡に関する無毒性量（NOAEL）は 5 mg/kg/日であった。

ニンテダニブの 5 mg/kg/日までの用量では、母動物への投与による F1 児の出生前及び出生後の発生への影響はなかったと考えられる。したがって、本試験における出生児の出生前及び出生後の発生に関する NOAEL は 5 mg/kg/日と判断された。

4.6 局所刺激性試験

ウサギにおいて、急性皮膚刺激／腐食試験 [CTD 4.2.3.6-1_U-1395] 及び急性眼刺激試験 [CTD 4.2.3.6-2_U-1151] を行った。

ニンテダニブは、被験物質約 0.5g と脱塩水との混合物の局所皮膚塗布により十分な忍容性を示し、このため、Globally Harmonized Hazard Classification and Labelling Scheme（化学品の分類と表示に関する世界調和システム）により分類されなかった。

粉末としてのニンテダニブ 20 mg を結膜嚢に単回投与しても、十分な忍容性を示したため、非刺激物質と考えられる。

ニンテダニブの 2 mg/mL（pH 約 4.5）の 5%グルコース溶液製剤は、ウサギへの静脈内単回投与により十分な忍容性を示した [CTD 4.2.3.6-3_U-1862]。

同じ製剤のウサギへの筋肉内 [CTD 4.2.3.6-3_U-1862] 及び動脈内 [CTD 4.2.3.6-4_U-1861] 注射では、局所刺激作用がみられた。同様に、同じ製剤のラットへの傍静脈投与でも局所刺激作用がみられた [CTD 4.2.3.6-5_U-1863]。

4.7 その他の毒性試験

4.7.1 光毒性

OECD ガイドライン 432 に従って、Balb/c 3T3 細胞による光毒性試験を行った [CTD 4.2.3.7.1-1_U-2272]。光毒性閾値濃度は、約 0.5 µg/mL と推定された。この濃度において、光効果 (Photo Effect : PEC) は、光毒性限度 0.15 程度であった。光毒性係数 (Photo Irritation Factor : PIF) 18.4 及び平均光作用 (Mean Photo Effect : MPE) 0.554 及び 0.560 により、ニンテダニブが光毒性作用を有する可能性が考えられる。

4.7.2 免疫毒性

ラットにおける 4 週間毒性試験 [CTD 4.2.3.2-6_U-1812] , カニクイザルにおける 13 週間毒性試験 [CTD 4.2.3.2-18_U-2245] , アカゲザルにおける 52 週間毒性試験 [CTD 4.2.3.2-21_U-1875] において、免疫学的試験 (脾臓 NK 細胞活性の測定に加え、血液、脾臓、胸腺におけるリンパ球亜集団の表現型タイピング) を行った。ラット、カニクイザル、アカゲザルの免疫系に対する一貫した毒性影響はみられなかった。

4.7.3 他剤併用による反復投与毒性試験

ニンテダニブと他の化合物との併用について、いくつかの反復投与毒性試験を行った。併用薬剤として、EGFR/HER2 阻害物質 アファチニブ [CTD 4.2.3.7.7-1_U-1624, CTD 4.2.3.7.7-2_U-1606, CTD 4.2.3.7.7-3_U-1196, CTD 4.2.3.7.7-4_U-1605], PLK1 阻害物質 BI 6727 [CTD 4.2.3.7.7-5_U-1368, CTD 4.2.3.7.7-6_U-1962] , Aurora B 阻害剤 BI 811283 [CTD 4.2.3.7.7-7_U-2658, CTD 4.2.3.7.7-8_U-1780] を用いた。BI 811283 の開発は終了している。アファチニブとの併用試験は、アファチニブの申請時提出資料にすでに含まれている [CTD 4.3-45_U-1533] 。

まとめると、ニンテダニブとアファチニブ、BI 6727、Aurora B 阻害剤との併用により、ニンテダニブ単独の非臨床試験で明らかになっていない、毒性学的に意義のある新たな変化は認められなかった。

4.8 不純物

原薬及び製剤の不純物を、それぞれ ICH ガイダンス Q3A(R2) 「新規原薬中の不純物」及び Q3B(R2) 「新規製剤中の不純物」の推奨事項により評価した。

Q3A(R2) に従い、ニンテダニブの MRHD 150 mg b.i.d. に基づくと、安全性確認の必要な閾値は 0.15% 又は 1 日摂取量 1.0 mg のどちらか低い方である。同様に、Q3B(R2) に従うと、0.2% あるいは 1 日総摂取量 3 mg のいずれか低い方である。

原薬及び製剤における不純物は、それぞれ [CTD 3.2.S.3.2_1] 及び [CTD 3.2.P.5.5_1] において考察する。原薬では個別規格設定不純物はない。個別規格を設定しない不純物があっても 0.10% を超えることはなく、報告された閾値 0.05% を超えるレベルのすべての不純物の合計が 0.50% を超えることはない。同様に、製剤について個別の分解生成物はない。製剤中の個別規格を設定しな

Proprietary confidential information © 2014 Boehringer Ingelheim International GmbH or one or more of its affiliated companies

い分解生成物があっても 0.2%を超えることはなく、報告された閾値 0.1%を超える製剤の分解生成物の合計は、0.5%を超えることはない。

原薬中に存在する可能性のある遺伝毒性不純物 [CTD 3.2.S.3.2_1] は、ニンテダニブの最大 1 日用量である 150 mg b.i.d.における TTC の 1.5 µg/日に相当する 5 ppm を常に下回っていた。このため、これらの遺伝毒性不純物はいずれについても規格設定されていない。

4.9 曝露量比

表 4.9: 1 は、ラット及びアカゲザルにおける主要な毒性試験の NOAEL における C_{max} 及び AUC_{0-24} を、定常状態の患者において MRHD で測定した C_{max} 及び $AUC_{\tau,ss}$ と合わせて示している。非臨床試験においてニンテダニブの急性毒性が低いこと、またニンテダニブの反復投与後にのみ薬物誘発作用が起こることから、 C_{max} に基づいた曝露量比は臨床的に重要でないと考えられる（ニンテダニブの高用量レベルでの 1 日 1 回投与患者に急性肝酵素増加がみられ、 C_{max} に関連すると考えられたが、非臨床試験の動物種では予測されなかった。）。

表 4.9: 1 主要な毒性試験の NOAEL と MRHD の 150 mg b.i.d.における C_{max} 及び AUC_{0-24} 値の比較

	4 週間 ^a	13 週間 ^b	26 週間 ^c
ラット	20 mg/kg/日	3 mg/kg/日	5 mg/kg/日
C_{max} [ng/mL]	58.0/46.5	1.21/3.07	5.12/9.70
AUC_{0-24} [ng·h/mL]	149/119	2.32/8.38	16.4/29.2
アカゲザル	10 mg/kg/日	-	52 週間 ^e
C_{max} [ng/mL]	51.4/75.2	-	10 mg/kg/日
AUC_{0-24} [ng·h/mL]	357/529	-	77.6/53.7
ヒト	150 mg b.i.d.	150 mg b.i.d.	786/506
C_{max} [ng/mL]	31.95	39.7	
$AUC_{\tau,ss}$ [ng·h/mL]	363.0 ^g	218	

a: [CTD 4.2.3.2-6_U-1812] b: [CTD 4.2.3.2-7_U-1065] c: [CTD 4.2.3.2-9_U-1843] d: [CTD 4.2.3.2-20_U-2427] e: [CTD 4.2.3.2-21_U-1875] f: CTD 5.3.3.2-2_U-1639 g: 進行癌患者におけるニンテダニブの用量補正した $AUC_{0-12,ss}$ の幾何平均値 1.21 ng·h/mL/mg × 150 × 2 h: 特発性肺線維症患者（日本人）に 150 mg を 1 日 2 回経口投与した場合の幾何平均値 [CTD 5.3.3.2-1_U11-2158]

ラットにおける 13 週間及び 26 週間毒性試験の NOAEL から得られた曝露量比は、1 より低い（表 4.9: 2）。アカゲザルにおける 4 週間及び 52 週間毒性試験から得られた曝露量比は、1 に近い（表 4.9: 2）。

表 4.9: 2 表 4.9: 1 の値に基づきニンテダニブの反復投与試験について算出した曝露量比

	4 週間 ^a	13 週間 ^b	26 週間 ^c
ラット	20 mg/kg/日	3 mg/kg/日	5 mg/kg/日
C_{max} [ng/mL] ^f	1.82/1.46	0.04/0.10	0.16/0.30
AUC_{0-24} [ng·h/mL] ^f	1.46/1.17	0.03/0.08	0.13/0.24
	0.41/0.33	0.006/0.023	0.045/0.08
	0.68/0.55	0.011/0.038	0.075/0.13
アカゲザル	4 週間 ^d	-	52 週間 ^e
	10 mg/kg/日	-	10 mg/kg/日
C_{max} [ng/mL] ^f	1.61/2.35	-	2.43/1.68
	1.29/1.89	-	1.95/1.35
AUC_{0-24} [ng·h/mL] ^f	0.98/1.46	-	2.17/1.39
	1.64/2.43	-	3.61/2.32

a: [CTD 4.2.3.2-6_U-1812] b: [CTD 4.2.3.2-7_U-1065] c: [CTD 4.2.3.2-9_U-1843] d: [CTD 4.2.3.2-20_U-2427] e: [CTD 4.2.3.2-21_U-1875] f: 下段の値は、特発性肺線維症患者（日本人）との比較

ラットにおける非常に高い感受性は、比較的若く成長の速い動物（試験開始時 7~9 週齢）の使用によるものと考えられる。げっ歯類における常生菌などの他の因子も、ヒト以外の霊長類に比べラットの NOAEL が有意に低いことに関与していると考えられる。

ラットの受胎能及び初期胚・胎児発生に関する試験 [CTD 4.2.3.5.1-2_U-2650] では、雌交配能及び受胎能に対する NOAEL は 20 mg/kg/日であり、この用量での C_{max} と AUC_{0-24} は、それぞれ 21.6 ng/mL, 116 ng·h/mL で、日本人の 150 mg b.i.d.における血漿中濃度以下（いずれも約 0.5 倍）であった。

ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験 [CTD 4.2.3.5.2-3_U-1923, CTD 4.2.3.5.2-5_U-1937] では、いずれも最低用量から催奇形性作用が認められたため、発生毒性の NOAEL を設定できなかった。ウサギで催奇形性作用が認められた最小用量 15 mg/kg/日における C_{max} と AUC_{0-24} は、日本人の 150 mg b.i.d.における血漿中濃度のそれぞれ 11.6 倍, 8.8 倍であった。

ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 [CTD 4.2.3.5.3-1_U-2641] における出生児の出生前及び出生後の発生に関する NOAEL は 5 mg/kg/日であり、この用量での C_{max} は 1.52 ng/mL で、日本人の 150 mg b.i.d.における血漿中濃度以下であった。

5. 総括及び結論

ニンテダニブは強力な低分子 RTK 阻害薬である。ニンテダニブにより阻害される主要な RTK は PDGF- α 及び β (IC₅₀ 値は 59 及び 65 nmol/L), FGFR-1~4 (IC₅₀ 値は 69, 37, 108 及び 610 nmol/L) 及び VEGFR-1~3 (IC₅₀ 値は 34, 21 及び 13 nmol/L) であった。

細胞レベルにおいて、ニンテダニブは IPF 患者及び対照ドナー由来ヒト肺線維芽細胞の増殖 (EC₅₀ 値は 13 nmol/L~1 nmol/L 未満の範囲) 及び遊走 (用いた刺激によるが、100 nmol/L 以上又は 1000 nmol/L 以上の濃度で明らかな抑制) を抑制した。また、ニンテダニブは線維芽細胞から筋線維芽細胞への形質転換も抑制した (IC₅₀ 値は 100 nmol/L~1 μ mol/L の範囲)。

ニンテダニブの *in vivo* での作用については、3 種類の肺線維症動物モデル (マウス及びラットのブレオマイシン誘発肺線維症モデル、並びにマウスのシリカ誘発肺線維症モデル) で検討した。ニンテダニブエタンスルホン酸塩を 10~30 日間投与したとき、概してマウスでは 30~100 mg/kg/日、ラットでは 10~50 mg/kg/日 で有効性及び忍容性が認められた。

ニンテダニブを長期投与したときの MRHD は 150 mg/kg の 1 日 2 回投与である。ヒトにおけるニンテダニブの用量補正 AUC_{0-12,ss} 幾何平均値は 1.21 ng·h/mL であった。したがって、ヒトにおける 1 日曝露量の幾何平均値は、AUC_{0-12,ss} 値を 2 倍して 363 ng·h/mL と推定された。

安全性薬理試験については *in vitro* 及び *in vivo* の試験を実施した。

HEK293 細胞を用いた hERG チャネルアッセイにおける IC₅₀ 値は 4.0 μ mol/L であった。摘出モルモット乳頭筋細胞において、10 μ mol/L の濃度まで活動電位波形への影響は認められなかった。テレメーターを装着した覚醒雄ラットにおいて全身血圧の用量依存的な上昇が認められ、一方、麻酔ブタにおいて収縮期及び拡張期血圧の用量依存的な低下が認められた。

腎及び肝機能について検討した試験の最高用量において、血清中 GPT の 1.6 倍増加、血清中トリグリセリドの同程度の増加、並びに尿量、尿中ナトリウム、beta-NAG 及び Ca⁺⁺ 産生の増加が認められた。ニンテダニブの胃内容排出及び胃液分泌、胃腸管運動性、並びに輸送に与える影響について検討した試験において、ニンテダニブが胃及び腸の両機能に対して用量依存的な抑制作用を示すことが示唆された。中枢神経系及び呼吸機能に問題となる影響は認められなかった。

安全性薬理 (GLP コアバッテリー) 試験において、ニンテダニブの心血管系、呼吸系及び神経系への有害な影響を示すエビデンスはなかった。

ニンテダニブの経口バイオアベイラビリティは、ラットで約 12%、サルで 13~24% であった。種々の細胞におけるニンテダニブの受動的膜透過性は高かったものの、経口バイオアベイラビリティが低かったのは、投与されたニンテダニブの一部が吸収されないこと及び吸収されたニンテダニブが主にエステル加水分解により初回通過代謝されるためと考えられた。検討したすべての動物種において、ニンテダニブの定常状態分布容積は大きく (V_{ss}>8 L/kg) 、ニンテダニブは組織に広く分布すると考えられた。

[¹⁴C]ニンテダニブの血漿蛋白結合率は、マウスで 97.2%、ラットで 95.8%、カニクイザルで 93.2%、アカゲザルで 91.4% 及びヒトで 97.8% であった。ヒトにおける主要な結合蛋白は血清アルブミンであった。

ニンテダニブは主にエステル加水分解、グルクロン酸抱合、酸化的 *N*-脱メチル化により代謝された。ヒト肝ミクロソームにおいて、 $[^{14}\text{C}]$ ニンテダニブはエステラーゼによる加水分解を受けて、カルボン酸代謝物である BIBF 1202 に代謝された。 $[^{14}\text{C}]$ ニンテダニブのエステラーゼによる加水分解が主要な代謝反応と考えられた（エステラーゼによるエステル加水分解は約 25%、CYP 酵素による酸化代謝は約 5%）。BIBF 1202 はさらにグルクロン酸抱合化され、1-*O*-アシルグルクロン酸抱合体を生成した。

ニンテダニブの水酸化体及び脱メチル体の生成を触媒する主な酵素は CYP3A4 であった。BIBF 1202 のグルクロン酸抱合を触媒するヒト UGT 分子種は UGT1A1, UGT1A7, UGT1A8 及び UGT1A10 であった。

検討したすべての動物種において、 $[^{14}\text{C}]$ ニンテダニブの主排泄経路は糞中であつた。経口投与後の尿中排泄はわずかであり、尿中排泄率はマウスで 2.1%、ラットで 1.2%、アカゲザルで 1.5%、ヒトで 0.65%であつた。

薬物動態及びトキシコキネティクス試験において、一貫した雌雄差がみられなかった。トキシコキネティクスにより、ニンテダニブ及びその主要代謝物 BIBF 1202 及び BIBF 1202 グルクロニドの全身曝露が確認された。

ニンテダニブの急性経口毒性は比較的lowであった。

ニンテダニブの反復投与では、VEGFR-2 阻害物質で特徴的な作用（クラス効果）、すなわち薬理学的作用によると考えられるさまざまな作用を誘発した [CTD 4.3-8_R02-0829]。たとえば、投与動物の成長がまだ完全でない場合の長骨の骨端成長板の肥厚、げっ歯類でみられた常生歯の歯障害、腎糸球体の足細胞及び内皮細胞の PAS 陽性細胞質内硝子顆粒、黄体縮小化/数増加及び卵巣における黄体化卵胞の存在などである。これらの変化の一部は、成人患者の治療に重要でないと考えられるが、歯や骨が成長中の小児への治療には懸念事項と考えられる。

他の作用についても、ニンテダニブの薬力学的活性との関連性が推定された。たとえば、骨髄の細胞数減少は VEGF の造血におけるさまざまな役割に関連すると考えられる。しかしながら、他のさまざまな所見について、たとえば肝細胞におけるヘモジデリン沈着並びに脾臓被膜及び脾柱における石灰沈着については、ニンテダニブの薬力学的活性との関連性は明らかではない。

ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験において、ニンテダニブを妊娠雌の胚・胎児発生期に投与したところ、中軸骨格系、大動脈弓、心臓及び泌尿生殖器系の発生に対する催奇形性作用がみられた。催奇形性用量における全身曝露は、ヒトの治療用量における曝露量と同程度又はそれ未満であつた。全胚吸収が、ラットでは 10 mg/kg/日以上、ウサギでは 60 mg/kg/日の用量で認められた。ラットを用いた雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験においては、ニンテダニブの雄性生殖器及びその機能に対する影響は認められなかった。ラットを用いた雌の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験においては、20 mg/kg/日の用量で黄体数並びに早期吸収胚の増加及びそれによる着床後胚損失率の増加が認められた。100 mg/kg/日の用量では、さらに体重増加量減少などの母動物毒性もみられた。いずれの用量においても、病理組織学的検査において乳腺分泌低下がみられ、乳腺の脂肪組織に対する腺組織の比率低下が認められた。F1 児の出生前及び出生後の発生には、ニンテダニブの 5 mg/kg/日までの用量で母動物投与の影響はみられ

なかったが、10 mg/kg/日の用量では着床後胚生存率低下が認められた。これらの所見は、いずれもヒトの治療用量での曝露量以下の曝露量で認められた。

ニンテダニブの遺伝毒性は、細菌及び哺乳類細胞で評価した（Ames 試験，マウスリンフォーマ試験，ラット骨髄小核試験）。試験濃度は，*in vitro* 試験における細菌毒性／細胞毒性，又は沈降濃度までを，*in vivo* 条件下では最大耐用／制限用量までを選択した。*In vitro* 及び *in vivo* 変異原性試験結果により，ニンテダニブは，遺伝毒性がないことが示された。

マウス及びラットのがん原性試験ではいずれも，ニンテダニブ の発がん性を示唆する所見はなかった。

原薬及び製剤について，個別規格が設定された不純物はない。

非臨床安全性試験成績に基づいてヒトに予測される有害反応としては，嘔吐及び下痢等の消化管毒性，肝トランスアミナーゼ増加，軽度でヒトの臨床試験ではみられない血液学的変化が挙げられる。非臨床安全性試験成績では，ニンテダニブの毒性は全般的に可逆性であることも示している。これらの成績，さらに臨床試験から得られた安全性及び有効性成績に基づき，ヒトの臨床試験で留意すべき有害事象は回避できるか，あるいは安全性パラメータを適切にモニタリングすることで有害事象を早期に発見し，適切な処置（用量減量，投与中断又は中止）で対応可能と考えられる。

6. 参考文献

該当せず。