TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 4
LIST OF FIGURES 4
本項で使用する用語・略語 5
1. まとめ 6
1.1. 単回投与毒性試験 8
1.2. 反復投与毒性試験 8
1.3. 遺伝毒性試験 9
1.4. がん原性試験 9
1.5. 生殖発生毒性試験 9
1.6. 骨髄抑制メカニズム検討試験 9
1.7. 光毒性試験 9
1.8. 局所刺激性試験および血液適合性試験 10
1.9. 糖代謝異常の検討試験 10
1.10. 不純物および分解物の毒性評価 10
2. 単回投与毒性試験 11
2.1. ラットを用いた単回経口投与毒性試験 11
2.2. イヌを用いた用量漸増投与毒性試験 11
3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 13
3.1. 重要な試験以外の試験 13
3.1.1. ラットを用いた 2 週間経口投与用量設定試験 13
3.1.2. イヌを用いた 2 週間経口投与用量設定試験 14
3.2. 重要な試験 17
3.2.1. ラットを用いた 3 週間経口投与毒性試験 17
3.2.2. ラットを用いた 15 週間経口投与毒性試験 19
3.2.3. ラットを用いた 27 週間経口投与毒性試験 21
3.2.4. イヌを用いた 3 週間経口投与毒性試験 25
3.2.5. イヌを用いた 15 週間経口投与毒性試験 27
3.2.6. イヌを用いた 39 週間経口投与毒性試験 28
4. 遺伝毒性試験 30

4.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験 30
4.2. 染色体異常試験 31
4.3. 動原体分析を用いた in vitro 小核試験 32
4.4. In vivo 小核試験 32
5. がん原性試験 34
6. 生殖発生毒性試験 35
6.1. 受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験 35
6.1.1. 雄ラット 35
6.1.2. 雌ラット 35
6.2. 胚・胎児発生に関する試験 36
6.2.1. 重要な試験以外の試験 36
6.2.1.1. ラットを用いた用量設定試験 36
6.2.1.2. ウサギを用いた試験 36
6.2.2. 重要な試験 37
6.2.2.1. ラットを用いた試験 37
6.2.2.2. ウサギを用いた試験 38
6.3. 出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験 38
7. 局所刺激性試験 40
8. その他の毒性試験 41
8.1. 骨髄抑制メカニズム 41
8.2. 糖代謝異常の検討 42
8.2.1. 若齢ラットを用いた 15 週間投与探索毒性試験 42
8.2.2. 加齢ラットを用いた 27 週間投与探索毒性試験 43
8.3. In Vitro 光毒性試験 44
8.4. 不純物および分解物の毒性評価 45
8.4.1. PF-00710042 45
8.4.1.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験 45
8.4.1.2. PF-00710042 の毒性評価 46
8.4.2. PF-00447880 46
8.4.2.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験 46
8.4.2.2. In vitro 小核試験 47

8.4.2.3. 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（FISH） 48
8.4.2.4. PF-00447880 の毒性評価 49
8.4.3. PF-06694807 49
8.4.3.1. 細菌を用いる復帰変異原性試験 49
8.4.3.2. PF-06694807 の毒性評価 49
8.5. In vitro 血液適合性試験 50
8.5.1. ウサギ血液を用いた試験 50
8.5.2. ヒト血液を用いた試験 50
9. 考察及び結論 51
9.1. 標的臓器毒性 51
9.1.1. リンパ造血系 51
9.1.2. 雄性生殖器 53
9.1.3. 骨 54
9.1.4. 糖代謝異常，膵臓毒性および二次的影響との関連 54
9.1.4.1. 若齢ラットにおける糖代謝異常 54
9.1.4.2. 若齢ラットにおける膵臓毒性 55
9.1.4.3. ラットにおける糖代謝異常に関連した二次的所見 57
9.1.5. 切歯 59
9.1.6. 発生毒性 60
9.1.7. 異数性 60
9.1.8. 心血管系 60
9.1.9. その他の所見 61
9.1.9.1. 消化管 61
9.1.9.2. 細胞の空胞化 62
9.1.9.3. 肝臓 62
9.1.9.4. 腎臓 63
9.1.9.5. 副腎 64
9.1.9.6. 呼吸系 64
9.1.9.7. 凝固系 65
9.1.9.8. その他の変化 65
9.2. 結論 67

10. 図表 69
11. 参考文献 70

LIST OF TABLES

Table 1. パルボシクリブの毒性試験一覧 6

LIST OF FIGURES

Figure 1. 反復投与毒性試験でのパルボシクリブの曝露量（非結合型）と主要な所見との関係 68

本項で使用する用語・略語

用語・略号	省略していない表現または定義
ACTB	Beta actin
ALP	alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{24}	area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours：0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the plasma concentration-time curve from zero to the time of last measurement：0 時間から最終定量時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
B2M	Beta-2-microglobulin
CDK	cyclin-dependent kinase：サイクリン依存性キナーゼ
CHO	Chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
DMSO	Dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
DNA	deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
ER	estrogen receptor：エストロゲン受容体
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
FOXO1	Forkhead box protein O1
γ-GT	γ-glutamyltransferase：γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GAPDH	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
G6PC	Glucose-6-phosphatase
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
hBMNC	human bone marrow mononuclear cells：ヒト骨髄単核球細胞
HER2	human epidermal growth factor receptor 2：ヒト上皮増殖因子受容体 2 型
HPRT1	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase
IC_{50}	50% inhibitory concentration：50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use：日米 EU 医薬品規制調和国際会議
LOAEL	lowest observed adverse effect level：最小毒性量
MHE	maximum human exposure：ヒトへの最大曝露量
MPE	mean photo effect
mRNA	messenger ribonucleic acid：メッセンジャーRNA
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
NOAEL	no observable adverse effect level：無毒性量
NRU	Neutral Red Uptake：ニュートラルレッド取込み
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
OGTT	oral glucose tolerance test：経口糖負荷試験
PEPCK	Phosphoenolpyruvate carboxykinase
PGC1α	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
PIF	photo irritation factor
QT	time from the beginning of the QRS complex to the end of the T wave in the electrocardiogram： 心電図上の QRS 群の開始から T 波の終了までの時間
QTc	QT interval, corrected for heart rate：心拍数で補正した QT 間隔
Rb	retinoblastoma protein：網膜芽細胞腫蛋白質

1. まとめ

パルボシクリブ（PD-0332991）の非臨床毒性プロファイルを Table 1 に示す試験により評価した。試験デザインおよび検査項目は，日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH），経済協力開発機構（OECD）および各国の規制当局（米国 FDA，欧州連合，日本）の定める実施基準を遵守した。全ての重要な試験（一般毒性試験，生殖発生毒性試験，遺伝毒性試験および光毒性試験）は米国 FDA の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。重要な試験以外の試験についても，GLP または施設標準業務手順書（SOP）を遵守する試験施設において，GLP 基準に準じて実施した。

Table 1.　パルボシクリブの毒性試験一覧

試験の種類および試験期間	投与経路	動物種	投与化合物
単回投与毒性試験			
単回投与	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991-0054
漸増投与	強制経口投与	ビーグル犬	PD-0332991-0002
反復投与毒性試験			
重要な試験以外の試験			
2 週間	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991-0054
2 週間	強制経口投与	ビーグル犬	PD-0332991-0054
重要な試験			
3 週間 [a]	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991-0054
15 週間	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991
27 週間	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991
3 週間	強制経口投与	ビーグル犬	PD-0332991-0054
15 週間	強制経口投与	ビーグル犬	PD-0332991
39 週間	強制経口投与	ビーグル犬	PD-0332991
遺伝毒性試験			
細菌を用いる復帰突然変異試験	In vitro	菌株（*Salmonella, typhimurium*，*Escherichia coli*）	PD-0332991-0054
染色体異常試験	In vitro	ヒトリンパ球	PD-0332991-0054
動原体分析による小核試験	In vitro	チャイニーズハムスター卵巣細胞	PD-0332991-0054
In vivo 小核試験 [a]	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991-0054
がん原性試験			
6 ヵ月間 [b]	強制経口投与	RasH2 マウス	PD-0332991
2 年間 [b]	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991
生殖発生毒性試験			
重要な試験以外の試験			
胚･胎児発生に関する試験のための用量設定試験	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991
胚･胎児発生に関する試験のための用量設定試験	強制経口投与	New Zealand White ウサギ	PD-0332991
重要な試験			
雄の受胎能に関する試験	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991
雌の受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991
胚・胎児発生に関する試験	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991
胚・胎児発生に関する試験	強制経口投与	New Zealand White ウサギ	PD-0332991
出生前および出生後の発生に関する経口投与毒性試験	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991

Table 1. パルボシクリブの毒性試験一覧（続き）

試験の種類および試験期間	投与経路	動物種	投与化合物
局所刺激性試験			
単回	静脈内または血管周囲投与	New Zealand White ウサギ	PD-0332991
その他の毒性試験			
骨髄抑制メカニズム検討試験	In vitro	ヒト細胞	PD-0332991
若齢ラットを用いた 15 週間投与探索毒性試験	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991
加齢ラットを用いた 27 週間投与探索毒性試験	強制経口投与	Sprague Dawley ラット	PD-0332991
光毒性試験	In vitro	Balb/c 3T3 マウス	PD-0332991
血液適合性試験	In vitro	New Zealand White ウサギ	PD-0332991
血液適合性試験	In vitro	ヒト	PD-0332991
細菌を用いる復帰突然変異試験	In vitro	菌株（*Salmonella, typhimurium*, *Escherichia coli*）	PF-00710042[c]
細菌を用いる復帰突然変異試験	In vitro	菌株（*Salmonella, typhimurium*, *Escherichia coli*）	PF-00447880[c]
In vitro 小核試験	In vitro	TK6 細胞	PF-00447880[c]
蛍光 in situ ハイブリダイゼーション	In vitro	TK6 細胞	PF-00447880[c]
細菌を用いる復帰突然変異試験	In vitro	菌株（*Salmonella, typhimurium*, *Escherichia coli*）	PF-06694807[d]

PD-0332991：パルボシクリブ遊離塩基，PD-0332991-0054：パルボシクリブイセチオン酸塩，PD-0332991-0002：パルボシクリブ二塩酸塩
a. in vivo 小核試験は，ラットを用いた重要な 3 週間投与毒性試験で実施した。
b. 実施中の試験
c. 原薬の不純物
d. 製剤分解物

パルボシクリブの毒性プロファイルを評価するために，単回投与毒性試験，最長 39 週間の反復投与毒性試験，in vitro 遺伝毒性試験，in vivo 遺伝毒性試験および生殖発生毒性試験を実施した。また，パルボシクリブの光毒性を評価するために，in vitro 光毒性試験（3T3 線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取り込み試験）を，一般毒性試験でみられた骨髄毒性を検討するために探索毒性試験を実施した。薬物動態プロファイルおよびヒトの主要代謝経路との類似性に基づき，一般毒性試験に用いるげっ歯類および非げっ歯類の動物種にはそれぞれラットおよびイヌを選択した（2.6.4.3 項，2.6.4.5 項）。

特に記載のない限り，投与経路は臨床適用経路である経口投与とし，投与頻度はパルボシクリブの薬物動態に基づき 1 日 1 回投与とした。臨床での投与方法に合わせて，ラットおよびイヌを用いた重要な反復投与毒性試験では，1 日 1 回 3 週間投与して 1 週間休薬する間欠投与を実施した。毒性試験プログラムの多くはパルボシクリブイセチオン酸塩（PD-0332991-0054）を用いて実施

した[a]が，ラットおよびイヌを用いた重要な毒性試験（15 週間以上）ならびに生殖発生毒性試験は，市販用製剤であるパルボシクリブ遊離塩基（PD-0332991）を用いて実施した。毒性試験での曝露量に塩と遊離塩基との差は認められなかったことから，特に記載のない限り用量および濃度については遊離塩基に換算して表記した。なお，パルボシクリブのイセチオン酸塩または二塩酸塩を用いる場合には，脱イオン水に溶解した溶液として調製し，遊離塩基を用いる場合には，0.5%メチルセルロース懸濁液として調製した。

経口投与毒性試験のほか，臨床薬物動態試験での単回静脈内投与に先立ち，局所刺激性試験および in vitro 血液適合性試験を実施した。

イヌを用いた用量漸増単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験（in vivo 小核試験）および重要な生殖発生毒性試験において採血を行い，血漿中パルボシクリブ濃度測定を実施した。ラットに 2 週間投与したところ，血漿中パルボシクリブ濃度は雌ラットで雄ラットよりも低く，曝露量に性差がみられたことから，重要な毒性試験では，曝露量が雌雄でほぼ同等になるよう，雌の用量を雄より高く設定した。ヒトの主要代謝物ではないパルボシクリブのラクタム代謝物（PF-05089326，M17）についても，ラットおよびイヌを用いた 15 週間投与毒性試験において PF-05089326 の血漿中濃度測定を実施した。

1.1. 単回投与毒性試験

ラットに高用量（1000 mg/kg 以上）のパルボシクリブを単回投与したところ，糞便異常，忍容性不良の一般状態変化および体重減少の急性毒性を示し，瀕死状態となった。イヌに 30 mg/kg 以上のパルボシクリブを単回投与したところ，消化管への影響が認められ，嘔吐および糞便異常ならびに体重減少が認められた。さらにイヌでは骨髄への影響が認められ，骨髄細胞の減少および末梢血の汎血球減少がみられた。

1.2. 反復投与毒性試験

ラットおよびイヌにパルボシクリブを反復投与したところ，骨髄，リンパ組織（細胞減少），雄性生殖器（精細管上皮の変性ならびにそれに伴う精巣上体，前立腺および精嚢の二次的変化）にパルボシクリブと関連する主要な標的臓器毒性が認められた。これらの変化は可逆的であり，パルボシクリブの薬理作用である細胞周期阻害によるものと考えられる。ラットを用いた 15 週間以上の試験では，糖代謝異常（高血糖または尿糖）がみられ，膵島細胞の空胞化との関連が認められた。膵臓の空胞化は，インスリンおよび C ペプチドの低下と関連するβ細胞の減少に起因するものと考えられた。ラットにパルボシクリブを 27 週間投与したところ，糖代謝異常がみられ，眼（白内障または水晶体変性），腎臓（尿細管の空胞化）および脂肪組織（萎縮）に関連する変化が認められた。このほか，ラットの反復投与試験では，骨への影響（骨梁減少）および切歯への影響（エナメル芽細胞変性，色素性マクロファージの浸潤）も認められた。これらの糖代謝異常，骨および切歯への影響についても，パルボシクリブの薬理作用に基づくものと考えられた。若齢ラットで実施した検討試験により，糖代謝異常発生および関連する膵臓の変化の時間経過が

[a] イヌを用いた用量漸増単回投与毒性試験のみパルボシクリブ二塩酸塩（PD-0332991-0002）を用いた。

明らかとなった。さらに，加齢ラットを用いた検討試験により，内分泌/代謝への影響は膵臓の高い増殖状態によるものであり，糖代謝異常発生に対して若齢ラットの感受性が高いために生じたことが明らかとなった。12 週間の休薬後は糖代謝異常，膵臓，眼，腎臓および骨の変化に回復性は認められなかったが，歯および脂肪組織への影響は回復傾向を示した。

このほかに，パルボシクリブの耐量投与時には，多数組織の細胞の空胞化（リン脂質症と形態学的に一致），消化管への影響（胃粘膜または腸の異常上皮，萎縮，びらんまたは腺胃の腺粘液減少，肝臓（肝酵素の上昇，肝細胞肥大または肝細胞の空胞化），腎臓（慢性進行性腎症の増加），副腎（皮質細胞肥大）および呼吸系（一般状態変化，気管上皮細胞の萎縮）への影響ならびに凝固時間延長が認められたが，重症度が低いまたは変性性の変化を認めないことから毒性学的に意義の乏しいものと考えられた。これらの変化については，回復または回復傾向が認められた。

1.3. 遺伝毒性試験

In vitro 遺伝毒性試験では，パルボシクリブは細菌に対する変異原性およびヒトリンパ球に対する染色体異常誘発性を示さなかった。ラットの小核試験では小核多染性赤血球の増加が認められたが，in vitro 小核試験における動原体染色の結果から，小核多染性赤血球の増加は染色体異数性誘発性に起因するものと考えられた。異数性誘発性に関する無作用量は，in vivo ラット小核試験成績から算出した。

1.4. がん原性試験

パルボシクリブのがん原性試験を実施中である。

1.5. 生殖発生毒性試験

ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験では，雌雄の交尾行動または受胎能に対するパルボシクリブの影響はみられなかった。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，最高用量で胎児の低体重が認められ，さらに胎児の 13 肋骨の発現率の上昇（毒性学的意義の乏しい変化と考えられた）がみられた。ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，最高用量で胎児の骨格変異（低頻度の前肢指骨の短縮）が認められた。

パルボシクリブの出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験では，300 mg/kg/日で妊娠期間中に母動物の体重抑制，体重増加量および摂餌量の減少が認められたが，出生児では 300 mg/kg/日でもパルボシクリブによる影響はみられなかった。

1.6. 骨髄抑制メカニズム検討試験

パルボシクリブ単剤または抗エストロゲン剤であるフルベストラントとの併用により，ヒト骨髄単核球細胞（hBMNC）においてアポトーシス，細胞老化または DNA 損傷を伴わない G1 細胞周期停止に伴う細胞増殖阻害がみられたが，4 日または 5 日の休薬により完全な回復性が認められた。

1.7. 光毒性試験

パルボシクリブは紫外線を吸収し，吸光度のピークが紫外線 A 領域にあること，および有色組織（眼および皮膚など）に親和性を有することから，光毒性を評価した。In vitro 3T3 ニュートラルレッド取り込み試験の結果から，パルボシクリブに光毒性はないと判断した。

1.8. 局所刺激性試験および血液適合性試験

In vitro 血液適合性試験およびウサギ in vivo 局所刺激性試験（静脈内および血管周囲）の結果から，評価した用量または濃度においてパルボシクリブによる溶血作用および血管刺激性は認められなかった。

1.9. 糖代謝異常の検討試験

ヒトのβ細胞増殖率との類似性が報告されている 12 ヵ月齢の加齢ラットを用いた 27 週間投与探索毒性試験では，（若齢）ラットの 27 週間毒性試験で糖代謝異常および膵β細胞の減少が認められた曝露量においても糖代謝異常は認められず，膵臓の病理組織学的所見も認められなかった。若齢ラットにおける内分泌および代謝に対する感受性の高さは，イヌではヒト臨床曝露量の 2.3 倍まで類似の所見がみられなかったことからも裏付けられる。ラットでの糖代謝異常の発生に対する感受性にβ細胞増殖能の差異が関与すると考えられるが，その他にβ細胞の生物学的な差異が関与する可能性もある。加齢ラットを用いた試験の結果から，パルボシクリブによりヒトで膵β細胞の減少およびそれに伴う糖代謝異常が引き起こされる可能性は低いと考えられた。

1.10. 不純物および分解物の毒性評価

原薬の不純物 2 種類（PF-00710042 および PF-00447880）および製剤分解物（PF-06694807）の変異原性を評価したところ，いずれも変異原性を示さなかった。さらに，PF-00447880 については in vitro 小核試験および蛍光 in situ ハイブリダイゼーション試験を実施したところ，異数性誘発作用を介して小核を誘発することが示唆された。また，PF-00710042，PF-00447880 および PF-06694807 が含まれるロットでのラット反復投与試験またはヒト臨床試験での曝露量はパルボシクリブの 1 日最大投与量 125 mg を患者に投与した時の最大曝露量よりも高かったことから，これらの不純物または製剤分解物の安全性が確認されたものと考えた。

2. 単回投与毒性試験

2.1. ラットを用いた単回経口投与毒性試験

報告書番号 745-03742，概要表 2.6.7.5

Sprague Dawley ラット（雌雄各 3 匹/群）にパルボシクリブを単回経口投与し，急性毒性を評価した。本試験では，脱イオン水に溶解したパルボシクリブイセチオン酸塩を 125，250，500，1000 または 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与後 1，2，4，7 時間および投与後 14 日間に一般状態観察（1 日 1 回），ならびに試験開始前，投与日における投与前と投与後 3，6（雄の 1000 mg/kg および 2000 mg/kg のみ），7，14 日に体重測定，および剖検を実施した。

投与後 6 日に，一般状態悪化のため 1000 mg/kg および 2000 mg/kg の雄各 1 例を安楽殺し，また 2000 mg/kg の雄 1 例が死亡発見された。投与後 6 日に安楽殺した 1000 mg/kg および 2000 mg/kg の雄では体重減少（-31%および-34%：以下，投与初日との比較）がみられた。死亡発見された 2000 mg/kg の雄では胃および腸に出血が認められたが，この動物に限定され，また重度の自己融解もみられたことから，パルボシクリブ投与との関連性を明らかにすることはできなかった。このほか 1000 mg/kg 以上の雄では，断続的または進行性の糞便異常（減少，軟便，下痢または無便）および断続的な鼻口部の赤色化が投与後 1～3 日から認められた。これらの動物では，投与後 6～8 日に皮膚弾力の低下，衰弱，消耗，削痩，被毛粗剛および蒼白などの一般状態の悪化がみられた。また，1000 mg/kg 以上の雄数例では，投与後 3 日以内に自発運動量低下および呼吸困難が認められたが，その後回復した。1000 mg/kg 以上の雄の生存例では，投与後 7 日に一般状態の悪化および体重減少（-10%～-31%）がみられたため，投与後 8 日に安楽殺した。これらの動物では剖検所見は認められなかった。

500 mg/kg の雌 1 例で，着色尿が投与日に認められた。2000 mg/kg の雌 1 例では，投与後 3～5 日にかけて着色便が認められた。2000 mg/kg の雌 1 例では，投与後 6 日～14 日に断続的な糞便異常（減少，軟便，無便），呼吸困難，鼻口部の赤色化，着色尿および皮膚弾力の低下が認められ，また投与後 14 日には体重減少（-27%）がみられ，剖検時には胃および腸の拡張ならびに脾臓および胸腺の萎縮が認められた。

パルボシクリブをラットに単回投与したときの概略の致死量は，雄で 1000 mg/kg，雌で 2000 mg/kg 超，また最大耐量は，雄で 500 mg/kg，雌で 2000 mg/kg と考えられた。

2.2. イヌを用いた用量漸増投与毒性試験

報告書番号 745-03662，概要表 2.6.7.5

ビーグル犬（雌雄 1 匹）に，パルボシクリブを単回漸増投与し忍容性を評価した。本試験では，ゼラチンカプセルに入れたパルボシクリブ二塩酸塩を，試験 1，2，3，7 および 8 日にそれぞれ 1，3，10，30 および 100 mg/kg と用量を漸増して単回投与した。その後，試験 9 日に用量を漸減して 60 mg/kg を単回投与し，試験 22 日には雌のみに 30 mg/kg を単回投与した。一般状態観察，体重，摂餌量，血圧および心電図（雌のみ）測定，ならびに試験 17 日，22 日および 23 日（雌のみ）に臨床病理検査を，その後剖検ならびに病理組織学的検査（心臓，腎臓，肝臓，大腸，小腸，胃，胸腺および骨髄）を実施した。試験 1 日および試験 22 日（雌のみ）に採血し，血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

試験 9 日に 60 mg/kg を投与した雄では, 趾間嚢胞に関連する感染症がみられ, 一般状態の悪化（右後肢の腫脹，体温上昇，着色便，流涎，食欲不振，皮膚弾力の低下および皮膚症）により瀕死状態となったことから，試験 18 日に安楽殺した。趾間嚢胞は偶発的なものであり，パルボシクリブ投与に起因するものではないと考えられた。

30 mg/kg 以上の雌雄では，投与後 1～4 時間以内に嘔吐が認められた。試験 8～10 日には，30，100 および 60 mg/kg の雌雄で，摂餌量の減少および糞便異常（下痢，粘液便，赤色便，無便，減少または軟便）が認められた。試験 8 日には，30 mg/kg 投与の雌雄で体重減少が認められた。その後 100，60 および 30（雌のみ）mg/kg を漸減投与する間にも徐々に減少し続け，試験 8～23 日にかけて体重減少（-5%～-12%：以下，投与前値との比較）がみられた。

試験 9 日に 60 mg/kg を投与後, 試験 17 日に実施した血液学的検査では, 赤血球数, ヘモグロビンおよびヘマトクリット（雄：-20%～-22%，雌：-9%～-17%），白血球数（雄：-94%，雌：-79%），好中球数（雄：-99%，雌：-97%），リンパ球数（雄：-73%）および血小板数（雄：-84%，雌：-62%）の減少が認められた。試験 22 日に 30 mg/kg を投与した雌では，試験 22 日および試験 23 日にヘモグロビンおよびヘマトクリットの減少（-9%～-17%:試験 17 日と同程度）がみられたが，白血球数（それぞれ-60%および-57%）および好中球数（それぞれ-75%および-71%）の減少の程度は試験 17 日と比べて小さかった。雌では，試験 17 日にリンパ球数の減少は認められなかったが，試験 22 日および試験 23 日にリンパ球減少（それぞれ-12%および-18%）が認められた。さらに，雌では試験 22 日および試験 23 日に血小板数の減少（それぞれ-54%および-48%）がみられたが，平均血小板容積が 34%増加していたことから，ターンオーバーの亢進が示唆された。血液生化学検査では，試験 17 日に雄でアルブミン，クロライド，ナトリウムおよびカリウムの減少（それぞれ，-27%，-14%，-7%および-10%）がみられ，瀕死状態に伴う変化と考えられた。

病理組織学的検査では，雌雄で造血系細胞の減少を特徴とする骨髄細胞の減少がみられ，血液学的パラメータの変化と一致していた。

雌では, 1 mg/kg から 30 mg/kg の範囲で用量増加に伴い曝露量（C_{max} および AUC_{24}）が増加した。また，1 mg/kg における曝露量に性差は認められなかった。

雄に発現した趾間嚢胞は偶発的なものであり，パルボシクリブ投与に起因するものではないと考えられたことから，パルボシクリブをイヌに単回漸増投与したときの最大耐量は 100 mg/kg と考えられた。

3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

3.1. 重要な試験以外の試験

3.1.1. ラットを用いた 2 週間経口投与用量設定試験

参考資料 745-03781，概要表 2.6.7.6

Sprague Dawley ラット（雌雄 5 匹/群）にパルボシクリブを 2 週間反復経口投与し，毒性プロファイルおよび曝露量を評価した。本試験では，パルボシクリブイセチオン酸塩を雄に 0（溶媒対照：脱イオン水），300 または 600 mg/kg/日，雌に 0（溶媒対照），30，100 または 300 mg/kg/日の用量で投与した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，血液学的検査（投与 3，7，8 または 15 日），血液生化学検査（投与 8 日または投与 15 日），骨髄検査（フローサイトメトリー），器官重量測定, 剖検および病理組織学的検査[対照群, 300 mg/kg/日（雄）, 30 mg/kg/日（雌）および 100 mg/kg/日（雌）の骨髄および腸］を実施した。さらに，皮膚，口腔粘膜，舌および胸骨（骨髄）のリン酸化網膜芽細胞腫蛋白質（pRb）に対する免疫組織化学的検査を実施した。これとは別にトキシコキネティクス群［雌雄 6 匹/群（投与群のみ）］を設け，投与 1，8（雄 300 mg/kg/日）または 14 日（雌）に採血し，血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

300 mg/kg/日および 600 mg/kg/日の雄各 1 例が，それぞれ投与 7 日および投与 5 日に死亡発見された。300 mg/kg/日および 600 mg/kg/日の雄は一般状態の悪化により，それぞれ投与 8 日および投与 6 日に全例を安楽殺した。一般状態悪化として，呼吸困難，腹部膨満，円背，自発運動量低下，着色尿および着色便，被毛粗剛，跛行，無便ならびに皮膚弾力の低下などがみられた。さらに，300 mg/kg/日以上の雌雄では，投与 1～6 日にラッセル音，流涎，糞便減少，下痢または頭部および鼻口部の赤色化などの一般状態変化が認められた。また，30 mg/kg/日および 100 mg/kg/日の雌では，投与 8 日以降に糞便減少が認められた。

300 mg/kg/日の雄では投与 7 日まで体重減少（-14%：投与 1 日との比較）が認められ，摂餌量減少（-66%：以下，対照群との比較）と一致していた。雌ではいずれの用量においても，摂餌量および体重減少は認められなかった。

血液学的検査では，600 mg/kg/日の雄で赤血球パラメータ（赤血球，ヘモグロビン，ヘマトクリット）の増加がみられ，これは瀕死状態にあった採血時の脱水症状を反映したものと考えられた。300 mg/kg/日の雄では，投与 8 日までに網状赤血球数（最大-94%），血小板数（最大-63%），好中球数（最大-85%）およびリンパ球数（最大-46%）の減少などが認められた。

骨髄検査では，300 mg/kg/日の雄で総有核細胞数（-78%），顆粒球系細胞数（-85%），赤芽球系細胞数（-90%）および巨核球数（-50%）の減少がみられ，血液学的パラメータの減少と一致していた。また 300 mg/kg/日の雌では，投与 15 日に総有核細胞数（-38%），顆粒球系細胞数（-51%）および赤芽球系細胞数（-36%）の減少がみられたが，30 mg/kg/日の雌では巨核球の増加（43%）が認められた。300 mg/kg/日で認められた骨髄への影響は，凡血球（顆粒球系細胞，赤芽球系細胞および巨核球系細胞）減少と一致するものであり，雄（中等度からやや重度）では雌（軽微から軽度）よりも顕著な細胞減少がみられた。

生化学的検査では，300 mg/kg/日で認められた瀕死状態を反映したものと考えられる変化を除いて，パルボシクリブ投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

病理組織学的検査では，消化管への影響が 300 mg/kg/日でみられ，雄では雌よりも顕著であった。すなわち，300 mg/kg/日の雄では，わずかな上皮核肥大，細胞質好塩基性物質の増加または杯細胞の減少を特徴とする小腸腺上皮または大腸陰窩上皮の異常が認められた。また，300 mg/kg/日の雄では小腸の軽微な絨毛萎縮（1 例）ならびに小腸および胃幽門の粘膜の軽微な多巣性の好中球浸潤（2 例）がみられた。一方，300 mg/kg/日の雌で認められた消化管の変化は，結腸陰窩上皮の異常（1 例）のみであった。リンパ組織では，300 mg/kg/日の雄で腸間膜リンパ節，脾臓および胸腺に，軽微からやや重度のリンパ球減少またはリンパ球溶解が認められた。このほか 300 mg/kg/日の雄 1 例で，胃壁の限局性びらんならびに肝臓の類洞細胞肥大，肝細胞の単細胞壊死および限局性の血管変性からなる肝臓の変化が認められた。この動物でみられた胃壁の変化は限局性であることから，強制経口投与時の外傷に起因すると考えられた。皮膚，口腔粘膜，舌および骨髄における Rb 免疫組織化学染色の分布および強度には，対照群とパルボシクリブ投与群との間に差は認められなかった。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，雌ラットでは用量増加に伴い増加したが，雄ラットでは，300 mg/kg/日と 600 mg/kg/日との間に差はほとんどみられなかった（投与 1 日の値に基づく比較。600 mg/kg/日では試験最終日のトキシコキネティクス評価は実施しなかった）。この試験では曝露量に性差が認められ，300 mg/kg/日を投与したときの血漿中濃度は雌よりも雄の方で高かった（最大 8 倍）。曝露量と同様に，同じ用量を投与したときの毒性変化は雌より雄の方で顕著であった。解剖日における曝露量は，300 mg/kg/日の雄では投与 1 日の 2 倍，30 mg/kg/日および 100 mg/kg/日の雌では投与 1 日とほぼ同じであったが，300 mg/kg/日の雌では投与 1 日より低かった。

本試験において，雄では 300 mg/kg/日（C_{max}：5620 ng/mL，　AUC_{24}：104000 ng•h/mL）以上で重篤な毒性が発現したが，雌では最高用量である 300 mg/kg/日（C_{max}：2400 ng/mL ，AUC_{24}：37300 ng•h/mL）まで重篤な毒性はみられなかった。

3.1.2. イヌを用いた 2 週間経口投与用量設定試験

参考資料 745-03765，概要表 2.6.7.6

ビーグル犬（雌雄 2 匹/群）にパルボシクリブを 2 週間反復経口投与し，毒性プロファイルおよび曝露量を評価した。本試験では，パルボシクリブイセチオン酸塩を 0（溶媒），1，3，10，20 または 40 mg/kg/日の用量で投与した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，心電図，血圧測定（試験前，投与前値および投与 1，10，11 または 12 日の投与後 8 時間または 4 時間），血液学的検査，血液凝固検査および血液生化学的検査［試験前ならびに投与 3，7，10 日または安楽殺前］，骨髄検査（フローサイトメトリー），器官重量測定，剖検および選択組織の病理組織学的検査（1，3 および 10 mg/kg/日群のみ）を実施した。さらに，皮膚および結腸のリン酸化網膜芽細胞腫蛋白質（pRb）に対する免疫組織化学的検査を実施した。トキシコキネティクス評価のため，投与 1，9（10 mg/kg/日以上の雌）または 14 日（1 mg/kg/日および 3 mg/kg/日）に採血し，血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

10 mg/kg/日の雌 1 例が投与 12 日に死亡発見された。この動物では，敗血症ならびに心筋，肝実質および白脾髄の急性巣状壊死が認められたが，この所見は瀕死状態を反映した変化と考えられ，直接，パルボシクリブ投与に起因する変化ではないと考えられた。このほか 10 mg/kg/日以上では，投与 9～12 日に瀕死状態となったことから全例を安楽殺した。一般状態の悪化として，食欲不振，冷感，皮膚弾力の低下，衰弱，消耗または削痩，自発運動量低下，体温上昇，円背，伏臥，ラッ

セル音および脱力が認められた。投与 1 日より，偶発的（1 mg/kg/日および 3 mg/kg/日）または高頻度（10 mg/kg/日以上）に，嘔吐（投与後 0～8 時間），摂餌量の減少および糞便異常（無便，下痢，粘液便または減少）が認められた。また，10 mg/kg/日以上では流涎も認められた。40 mg/kg/日の雌雄各 1 例では，投与 8 日に体重減少（-8%および-10%：以下，投与前値との比較）が認められた。

血液学的検査では，パルボシクリブを投与した全用量で用量依存的な血液学的パラメータの変化が認められた。1 mg/kg/日以上で好中球数減少（-68%～-100%）ならびに 3 mg/kg/日以上（3 mg/kg/日では雄のみ）で血小板数減少（-50%～-81%），リンパ球数減少（-57%～-94%）および網状赤血球数減少（-68%～-81%）が認められた。10 mg/kg/日以上では，赤血球パラメータ（赤血球数，ヘマトクリットおよびヘモグロビン）の減少（最大-31%）がみられた。

骨髄検査では総顆粒球系細胞の減少（1 mg/kg/日および 3 mg/kg/日の雄および雌では対照群と比較してそれぞれ最大-88%および-85%）がみられ，血液学的パラメータの変化と一致していた。一方，1 mg/kg/日および 3 mg/kg/日では，骨髄の総赤芽球系細胞数は最大 1.3 倍，総リンパ球数は最大 4.3 倍増加していた（対照群との比較）。10 mg/kg/日以上では，骨髄に残存している有核細胞の大半がリンパ球であった。いずれの用量においても，赤芽球系細胞前駆体および顆粒球系細胞前駆体は大型化していた。

血液凝固検査では，10 mg/kg/日以上でプロトロンビン時間が最大 39%延長（以下，投与前値との比較）したほか，活性化部分トロンボプラスチン時間が最大 5.2 倍に延長し，フィブリノゲンが最大 6.7 倍に増加した。

血液生化学的検査では，10 mg/kg/日以上でコレステロール上昇（最大 2.8 倍），アルカリホスファターゼ（ALP）上昇（最大 8 倍），ならびにアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）またはアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）上昇（最大 7 倍）がみられ，一般状態悪化によるものと考えられた。このほか 10 mg/kg/日の雄 1 例では，ビリルビン上昇（7 倍），クレアチニン上昇（約 2 倍）および尿素窒素上昇（4.5 倍）が認められ，胆管肥大および軽微な腎尿細管変性を伴っていた。

病理組織学的検査では，骨髄において 10 mg/kg/日（病理組織学的検査で評価した最高用量）以下の用量で，骨髄造血細胞の用量依存的な減少（軽微からやや重度）が認められた。消化管における剖検所見では，10 mg/kg/日以上のほとんどの動物で消化管に粘膜出血，赤色化（異常色），びらんまたは粘膜における偽膜形成などが認められた。小腸および大腸では，10 mg/kg/日以下でみられた腸腺または腸陰窩細胞の核肥大および好塩基性細胞質ならびに 10 mg/kg/日の雄 2 例でみられた小腸の絨毛萎縮を特徴としていた。また，10 mg/kg/日の雄 1 例では，胃幽門部の表面および胃小窩に異常上皮がみられた。消化管にみられた変化の重症度および発現率は，概ね用量依存的であり，腸腺または腸陰窩の深部で認められ，小腸では大腸と比べて重症度が高かった。このほか 10 mg/kg/日の瀕死の動物では，小腸または大腸の粘膜うっ血（雌のみ），肝臓うっ血および類洞細胞肥大（全例），胆管肥大（3 例），胆小管の軽微な炎症（1 例）ならびに腎尿細管の軽微な変性（2 例）が認められた。免疫組織化学的検査では，10 mg/kg/日で皮膚の pRb が対照群と比べてわずかに減少していたが，結腸の pRb に変化はみられなかった。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量依存的に増加し，性差は認められなかった。投与 9 日または投与 14 日の曝露量は，投与 1 日と比べ最大約 2 倍増加した。

本試験では，10 mg/kg/日以上で重篤な毒性が認められたことから，重篤な毒性が発現しない最高用量は 3 mg/kg/日（C_{max}：313 ng/mL，AUC_{24}：5700 ng•h/mL）と考えられた。

3.2. 重要な試験

3.2.1. ラットを用いた 3 週間経口投与毒性試験

報告書番号 745-03731，概要表 2.6.7.7A

Sprague Dawley ラット（雌雄 15 匹/群）にパルボシクリブを 3 週間反復経口投与して，パルボシクリブの毒性および曝露量，ならびに 4 週間休薬したときの回復性を評価した。本試験では，パルボシクリブイセチオン酸塩を雄に 0（溶媒対照：脱イオン水），50，100 または 200 mg/kg/日，雌に 0（溶媒対照），100，200 または 400 mg/kg/日の用量で投与した。投与量は，ラットを用いた 2 週間経口投与用量設定試験（報告書番号 745-03781）での忍容性に基づき設定した。すなわち，雄に 300 mg/kg/日を投与したときに死亡および重篤なリンパ造血系への影響がみられたことから，本試験の雄の高用量を 200 mg/kg/日とし，以下 100 mg/kg/日，50 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。また，雌では同一用量の雄と比べて曝露量が低く忍容性が認められたことから，本試験の雌の高用量を雄の 2 倍の 400 mg/kg/日とし，以下 200 mg/kg/日，100 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。10 匹/群を投与期間終了時に，残りの 5 匹/群を 4 週間の休薬期間後に安楽殺して剖検した（200 mg/kg/日の雄については，投与期間中の死亡により休薬群を設定できなかった）。一般状態観察，体重，摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査値（投与 2～休薬 4 週に週 1 回），血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，骨髄検査（フローサイトメトリー），小核試験（2.6.6.4.4 項に記載），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。これとは別に雌雄各 6 匹/群を加え，投与 1 日および投与 21 日に採血し，血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

200 mg/kg/日の雄および 400 mg/kg/日の雌で死亡が認められた。200 mg/kg/日の雄では，投与 8～15 日に 5 例（3 例はトキシコキネティクス群）が死亡発見され，投与 9～15 日に瀕死状態となった 2 例を安楽殺した。400 mg/kg/日の雌では，投与 4 日に瀕死状態となった 1 例を安楽殺し，投与 20 日に 1 例が死亡発見された。50 mg/kg/日以上では，一般状態変化として色素涙，ラッセル音，流涎，赤色化（鼻口部，被毛または前肢），着色尿および糞便異常（無便，減少，変色，軟便または着色便）が認められた。200 mg/kg/日以上では，呼吸困難，自発運動量低下，皮膚弾力の低下，蒼白，被毛粗剛および削痩が認められた。これらの変化は用量依存的に認められ，ラッセル音および流涎などは投与 1 日からみられた。一般状態変化は休薬により回復した。

体重抑制または体重増加量の減少が投与 1 週から認められた。50 mg/kg/日以上の雄では，投与 1 週に体重増加量の減少が認められ，投与 21 日までに体重抑制（-10%～-23%：以下，対照群との比較）がみられた。50 mg/kg/日以上の雄では，投与 21 日までに摂餌量減少（-11%～-57%）も認められた。また 200 mg/kg/日以上の雌でも投与 1 週に摂餌量減少（-14%～-19%）がみられた。体重および摂餌量への影響は休薬により回復した。

血液学的検査では，50 mg/kg/日以上の雄で，投与期間終了までに赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリットの軽度減少（最大-20%，用量依存性なし，投与 3 週以降に最低値），MCV，MCH および MCHC の軽度増加（最大+15%），白血球数（最大-59%），好中球数（-32%～-80%，用量依存性なし），リンパ球数（-33%～-61%），単球数（最大-88%），好酸球数（-74%～検出限界未満），血小板数（-48%～-65%，投与 2 週のみ）の減少が認められたが，好中球数，単球数および好酸球数については，投与期間中に回復傾向を示した。50 mg/kg/日以上の雄および 100 mg/kg/日以上の雌で網状赤血球絶対数の用量依存的な減少（それぞれ-62%～-92%および-22%～-56%）

が認められたが，投与期間終了までには回復した。休薬後，投与群の赤血球パラメータ値は対照群と比べて低い傾向がみられたが，投与群の値は背景データの範囲内であり，対照群の値が投与期間終了時よりも高値を示したことに起因したものと考えられた。白血球数は，休薬 1 週目に対照群と同等レベルまで回復した。

血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査では，パルボシクリブと関連する変化は認められなかった。

骨髄検査で投与期間終了時に認められた変化は，概して末梢血球数の変化と一致していた。骨髄総有核細胞数の用量依存的な減少がみられ，50 mg/kg/日以上の雄では最大 74%，200 mg/kg/日以上の雌では最大 54%減少し，また顆粒球系細胞および赤芽球系細胞のあらゆる成熟段階の細胞の絶対数が減少した。さらに，総リンパ球数については，50 mg/kg/日以上の雄では最大 80%，200 mg/kg/日以上の雌では最大 41%減少した。また，巨核球数については，100 mg/kg/日以上の雄では-64%, 200 mg/kg/日以上の雌では最大 40%減少した。休薬後には骨髄への影響は認められず，血液学的パラメータの回復と一致していた。

骨髄，リンパ組織，雄性生殖器，気管，肺，消化管および肝臓にパルボシクリブと関連する病理組織学的所見または器官重量の変化が認められた。骨髄では，骨髄検査でみられた顆粒球系細胞，赤芽球系細胞および巨核球系細胞に関連する用量依存的な骨髄細胞減少（軽微からやや重度）が 50 mg/kg/日以上で認められた。休薬後には骨髄への影響は認められず，血液学的パラメータおよび骨髄検査の回復と一致していた。リンパ組織では，50 mg/kg/日以上の雄および 200 mg/kg/日以上の雌で，胸腺，脾臓および腸間膜リンパ節に軽微からやや重度のリンパ球減少が認められ，胸腺および脾臓の大きさまたは重量の減少と関連していた。休薬後，リンパ組織の細胞密度低下は完全に回復した。雄性生殖器では，50 mg/kg/日以上の雄で，精子形成上皮の変性精母細胞数の増加を特徴とする精巣変性が認められ，発現率および重症度（軽微から軽度）は用量依存的であった。また 50 mg/kg/日以上の雄では，前立腺の変化（軽微から軽度の萎縮または容積減少）も認められ，重量減少（最大-46%）と関連していた。100 mg/kg/日以上の雄では，精巣変性と精巣重量および精巣上体重量の減少（それぞれ-8%～-10%および-12%～-15%）との間に関連が認められた。200 mg/kg/日の雄では，精巣上体に脱落した生殖細胞の軽微な増加が認められた。休薬後には前立腺への影響は回復したが，精巣への影響については回復性が認められず，50 mg/kg/日および 100 mg/kg/日の雄では軽度の精巣変性（200 mg/kg/日では回復性を評価しなかった），ならびに絶対精巣重量の減少（50 mg/kg/日および 100 mg/kg/日でそれぞれ-17%および-24%）が認められた。気管では，50 mg/kg/日以上で軽微から軽度の気管粘膜萎縮が認められた。200 mg/kg/日以上の数例に，気管粘膜における好中球浸潤が認められ，投与 4 日に瀕死状態となり安楽殺した 400 mg/kg/日の雌 1 例では，気管粘膜の壊死が認められた。休薬後にも 50 mg/kg/日の雄および 100 mg/kg/日以上の雌では，気管の変化（ほとんどが軽微）がみられたが，100 mg/kg/日群の雄では認められなかった。肺では，50 mg/kg/日以上で泡沫状マクロファージの肺胞浸潤の発現率および重症度（軽微から中等度）の用量依存的な増加がみられ，休薬により 50 mg/kg/日以上の雄では回復傾向がみられたが，100 mg/kg/日以上の雌では回復しなかった。消化管および肝臓では，200 mg/kg/日以上で散発的な胃粘膜および小腸のびらん（軽微から軽度），ならびに 100 mg/kg/日の雄 1 例（軽度）および 200 mg/kg/日群の雄 4 例（軽微）で肝細胞の単細胞壊死が認められたが，休薬後には消化管および肝臓への影響は認められなかった。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量増加に伴い増加し，概して投与 1 日と投与 21 日の値に大きな差は認められなかった。雌雄同一用量（100 mg/kg/日および 200 mg/kg/日）では曝露量に性差が認められ，雄の血漿中濃度は雌と比べて有意に高く（7～17 倍），毒性変化も顕著であった。

雄では最低用量である 50 mg/kg/日（C_{max}：1800 ng/mL，AUC_{24}：17300 ng•h/mL，投与 21 日）で精巣変性がみられたことから，無毒性量は得られなかった。雌では，400 mg/kg/日で死亡例がみられたものの 200 mg/kg/日では重篤な毒性はみられていないことから，無毒性量は 200 mg/kg/日（C_{max}：494 ng/mL，AUC_{24}：5930 ng•h/mL，投与 21 日）と考えられた。

3.2.2. ラットを用いた 15 週間経口投与毒性試験

報告書番号 20026125（[redacted]LJ025），概要表 2.6.7.7B

Sprague Dawley ラット（雌雄 15 匹/群：溶媒対照および高用量，雌雄 10 匹/群：低用量および中用量）にパルボシクリブを 15 週間間欠投与（3 週間反復経口投与して 1 週間休薬，計 4 サイクル）して，パルボシクリブの毒性および曝露量，ならびに 4 週間休薬したときの回復性を評価した。本試験では，パルボシクリブを雄に 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），10，30 または 100 mg/kg/日，雌に 0（溶媒対照），50，100 または 200 mg/kg/日の用量で投与した。投与量は，ラットを用いた 3 週間経口投与毒性試験（報告書番号 745-03731）での忍容性に基づき設定した。すなわち，雄に 200 mg/kg/日を投与したときに死亡がみられたことから，本試験の雄の高用量を 100 mg/kg/日とし，以下 30 mg/kg/日，10 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。また，雌では 400 mg/kg/日を投与したときに死亡がみられたものの，200 mg/kg/日では重篤な毒性はみられていないことから，本試験の雌の高用量を 200 mg/kg/日とし，以下 100 mg/kg/日，50 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。10 匹/群を投与期間終了時に，溶媒対照群，100 mg/kg/日の雄および 200 mg/kg/日の雌の 5 匹/群を 4 週間の休薬期間後に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，眼科学的検査，臨床病理検査［血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査：投与 21，28，48 または 49 日あるいは 106 日および休薬 4 週（試験 134 日）］，器官重量測定，剖検ならびに病理組織学的検査を実施した。また，雄の溶媒対照群および 100 mg/kg/日では，肝臓，脾臓および骨髄のプルシアンブルー染色（鉄染色）を実施した。これとは別に雌雄各 6 匹/群（溶媒対照群は雌雄各 3 匹）を加え，投与 1，49 および 105 日に採血し，パルボシクリブおよびそのラクタム代謝物 PF-05089326 の血漿中濃度を測定した。

投与過誤により投与 65 日に安楽殺した 100 mg/kg/日の雌 1 例および瀕死状態となり投与 79 日に安楽殺した 100 mg/kg/日のトキシコキネティクス群の雄 1 例を除く全例が，計画屠殺時まで生存した。瀕死状態により安楽殺した 100 mg/kg/日の雄では，後肢浮腫，後肢の運動障害，呼吸異常（浅呼吸，呼吸促迫および努力呼吸），自発運動量低下，四肢の黄色化および体重減少（-13%，投与 71 日との比較）に認められ，剖検所見として腎髄質および死体の微黄変が認められた。これらの変化は，27 週間投与毒性試験で瀕死状態となり安楽殺した動物の所見と一致することから，この動物の死因はパルボシクリブに関連したものと考えられた。

投与期間中，パルボシクリブ投与群では味覚嫌悪によると考えられるもがき反応の用量依存的な発現率上昇が認められた。もがき反応は，100 mg/kg/日の雄および 200 mg/kg/日の雌で特に高頻度に認められた。このほか，100 mg/kg/日の雄では，前肢および尿生殖器部の腫脹，単発的な四肢の黄色化ならびに散発的な削痩および被毛粗剛が認められた。30 mg/kg/日以上の雄で体重増加量の減少（以下，対照群との比較）が認められ，30 mg/kg/日および 100 mg/kg/日の雄では，投与

8～105 日に体重抑制（それぞれ-5%～-10%および-10%～-24%）がみられた。また 100 mg/kg/日の雄では投与期間中に摂餌量が減少（-4%～-28%）した。4 週間の休薬期間終了までに，一般状態，体重および摂餌量の変化は回復した（対照群および高用量のみ評価）。

血液学的検査では，10 mg/kg/日以上の雄または 100 mg/kg/日以上の雌では，各投与期間終了までに白血球数（最大-70%），リンパ球数（最大-74%），好中球数（最大-47%），単球数（最大-88%）および好酸球数（最大-94%）ならびに赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビンまたはヘマトクリット）の用量依存的な減少（最大-40%）およびそれに伴う赤血球指数（平均赤血球容積，平均赤血球ヘモグロビン量または赤血球分布幅）の増加（最大 98%）がみられた。また，100 mg/kg/日以上の雄では大球性赤血球が認められた。30 mg/kg/日以上の雄および 50 mg/kg/日以上の雌では投与 21，48 または 106 日に血小板数または平均血小板容積が増加（最大 42%）したが，用量依存性はみられなかった。休薬後，これらの変化には回復傾向が認められた。

血液生化学的検査では，100 mg/kg/日の雄で AST，ALT，ALP およびγ-グルタミルトランスアミナーゼ（γ-GT）の上昇（最大 2 倍），ならびにアルブミン濃度低下によるアルブミン/グロブリン比（A/G 比）の低下（最大-18%）が認められた。休薬後，これらの変化には回復傾向が認められたものの，100 mg/kg/日の雄 1 例のみ血清グルコースが対照群の濃度を上回っていた。

尿検査では，30 mg/kg/日以上の雄で尿量増加（最大 2.3 倍）に伴う軽微な尿比重低下が認められ，100 mg/kg/日では尿糖（100 mg/dL～1000 mg/dL）および円柱も認められた。尿糖を認めた 100 mg/kg/日の雄における血清グルコース濃度（199 mg/dL～253 mg/dL）は，統計学的に有意ではなかったものの対照群の範囲（130 mg/dL～180 mg/dL）を超えていた。休薬後，これらの変化は回復した。

血液凝固検査および眼科学的検査において，パルボシクリブと関連する変化は認められなかった。

骨髄，リンパ組織，雄性生殖器，膵臓，腎臓，副腎および消化管に，パルボシクリブと関連する病理組織学的所見または器官重量の変化が認められた。骨髄では，10 mg/kg/日以上で骨髄細胞の減少ならびに脾臓での赤血球増殖の低下が認められ，重症度は用量依存的（軽微から中等度）であった。休薬後，骨髄における細胞減少はほぼ完全に回復した。リンパ組織では，30 mg/kg/日以上の雄で，胸腺，脾臓および腸間膜リンパ節におけるリンパ球減少が認められた。胸腺では最も顕著なリンパ球減少がみられ，30 mg/kg/日以上では胸腺重量減少（最大-80%）を伴っていた。100 mg/kg/日の雄における脾臓のリンパ球減少と 30 mg/kg/日以上の雄でみられた脾臓重量減少（最大-34%）との間に関連性が認められたが，100 mg/kg/日の雄の肝臓，脾臓および骨髄に，赤血球の造血抑制に起因する鉄取り込みの遅延によると考えられる鉄沈着が認められたことから，脾臓重量の減少は 10 mg/kg/日以上で認められた赤脾髄の赤血球数減少と関連したものと考えられた。休薬後，リンパ組織でみられた変化はほぼ完全に回復したが，100 mg/kg/日の雄 2 例では，骨髄に鉄沈着が認められた。雄性生殖器では，30 mg/kg/日以上の雄で，軽微から中等度の精巣精細管上皮の変性に伴う精巣上体管の萎縮，精巣上体の精液減少および管腔内壊死細胞片が認められた。100 mg/kg/日の雄では，精巣および精巣上体の変化に伴い，精巣重量および精巣上体重量が減少（最大-40%）したほか，前立腺重量も減少した（最大-30%）。休薬後，100 mg/kg/日の雄全 5 例で軽微な精細管上皮変性が認められ，5 例中 4 例の精巣上体では軽微から軽度の壊死細胞片がみられ，そのうち 2 例では軽微な精液減少を伴っていた。前立腺重量は完全に回復したが，精巣重量および精巣上体重量は休薬後も低値を示した（最大-29%）。膵臓では，100 mg/kg/日の

雄で，膵島細胞に軽微から軽度の空胞性変化が認められ，微細顆粒から硝子様の黄褐色物質で満たされた単一の空胞を特徴としていた。休薬後，雄 1 例に軽微な膵島細胞の空胞性変化が認められたが，この動物で糖尿または高血糖はみられなかった。腎臓では，30 mg/kg/日以上の雄で尿細管の変性および再生像の発現率および重症度の用量依存的な上昇が，副腎では，100 mg/kg/日の雄で軽微な副腎皮質細胞肥大が認められ，副腎重量の増加を伴っていた（対脳重量として最大 37%）が，休薬により完全に回復した。消化管では，100 mg/kg/日の雄 2 例で認められた前胃の上皮過形成および過角化が認められ，そのうち 1 例では炎症，壊死および浮腫も認められたが，これらの変化は剖検時にみられた胃の肥厚と関連していたことから投与過誤によるものと考えられた。このほかパルボシクリブと関連する所見として，30 mg/kg/日以上の雄の腸間膜リンパ節，ならびに 100 mg/kg/日以上の骨髄，腎臓および肺に細胞内空胞化（軽微から中等度）がみられ，主に雄で（肺では雌雄）小さな多数の空胞（泡沫状外観）として認められた。休薬後，肺（雌雄各 1 例）および腸間膜リンパ節（雄 1 例：肺で変化がみられた動物と同一）でのみ細胞内空胞化（軽微または軽度）が認められた。なお，肝臓では 50 mg/kg/日以上の雌（50 mg/kg/日の 1 例および 200 mg/kg/日の 2 例）で好塩基性の変異肝細胞巣が認められたが，発現頻度は休薬後の対照群と同程度であったことから，毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。

パルボシクリブの曝露量は用量増加に伴い増加したが，投与 49 日および投与 105 日の曝露量（C_{max} または AUC_{24}）は，概して投与 1 日と同等であった。100 mg/kg/日におけるパルボシクリブおよび PF-05089326 の曝露量は，雄で雌よりも高く，それぞれ 11～24 倍および 7～18 倍高値を示し，毒性変化も顕著であった。投与 49 日および投与 105 日における PF-05089326 の曝露量は，雌では投与 1 日と同等であったが，雄では投与 1 日の 2～3 倍高値を示した。パルボシクリブに対する PF-05089326 の AUC_{24} 比率は，0.01～0.03（雌雄）であった。

30 mg/kg/日以上の雄で，精巣上体の変化を伴う精巣変性等がみられたことから，雄の無毒性量は 10 mg/kg/日（C_{max}：367 ng/mL ，AUC_{24}：3770 ng•h/mL，投与 105 日）と考えられた。雌では，全用量で認められた所見（骨髄，細胞の空胞化）の程度は軽く，また回復性もみられたことから，雌の無毒性量は最高用量である 200 mg/kg/日（C_{max}：586 ng/mL ，AUC_{24}：7050 ng•h/mL，投与 105 日）と考えられた。

3.2.3. ラットを用いた 27 週間経口投与毒性試験

報告書番号 8282224（[redacted]LJ036），概要表 2.6.7.7E

Sprague Dawley ラット（雌雄 20 匹/群）にパルボシクリブを 27 週間間欠投与（3 週間反復経口投与して 1 週間休薬，計 7 サイクル）して，パルボシクリブの毒性および曝露量，ならびに 12 週間休薬したときの回復性を評価した。本試験では，パルボシクリブを雄に 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），10，30 または 100 mg/kg/日，雌に 0（溶媒対照），50，100 または 300 mg/kg/日の用量で投与した。投与量は，ラットを用いた 15 週間経口投与毒性試験（報告書番号 20026125）での忍容性に基づき設定した。すなわち，雄では用量依存的に毒性が発現し，100 mg/kg/日の TK 群 1 例を瀕死状態のため安楽殺したものの，毒性評価群では 100 mg/kg/日まで死亡はみられなかったことから，本試験の雄の高用量を 15 週間経口投与毒性試験と同様に 100 mg/kg/日とし，以下 30 mg/kg/日，10 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。また，雌では高用量である 200 mg/kg/日まで重篤な毒性が認められなかったことから，本試験の雌の高用量を 300 mg/kg/日とし，以下 100 mg/kg/日，50 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。

15 匹/群を投与期間終了時に，残りの 5 匹/群を 12 週間の休薬期間後に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，眼科学的検査，臨床病理検査（血液学的検査，凝固検査，血液生化学的検査，尿検査 : 投与 22，29，106，113 または 190 日ならびに休薬 50 日または休薬 85 日），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。さらに，投与期間終了時（投与 190 日）および休薬 85 日に，全群の血清中インスリン濃度および一部の動物の血清中 C ペプチド濃度を測定したほか，投与期間終了時および休薬後に免疫組織化学染色法により対照群および 100 mg/kg/日の雄全例の膵α細胞および膵β細胞の画像解析を実施した。対照群および 100 mg/kg/日の一部の雄では透過型電子顕微鏡により膵島細胞の超微細構造的変化を評価し，また投与終了時および休薬後に対照群および 100 mg/kg/日の一部の雄では肝臓における 4 種類の糖新生関連遺伝子（FOXO1，PGC1α，G6PC および PEPCK）および 4 種類のハウスキーピング遺伝子（ACTB，GAPDH，B2M および HPRT1）の発現を評価した。これとは別に雌雄各 3 匹（溶媒対照）または雌雄各 4 匹/群を加え，投与 1，103 および 187 日に採血し，血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

100 mg/kg/日の雄 5 例を投与 43 日または投与 44 日に瀕死状態のため安楽殺し，同群の残りの動物については，投与 43～56 日まで休薬した。これら瀕死状態の雄 5 例では，円背，肢の腫脹，変色（白色）歯，削痩，自発運動量の低下，不整呼吸または異常呼吸音，黄色皮膚および被毛粗剛が認められた。瀕死状態は，肢の腫脹（粘液腫性変性または炎症）に起因すると考えられた。さらに，100 mg/kg/日の雄 1 例が投与 180 日に前立腺および腸間膜リンパ節の炎症により瀕死状態となり安楽殺され，また 100 mg/kg/日の雄 1 例は投与 164 日に腸間膜血管の血栓症（凝固障害なし）により死亡発見されたが，パルボシクリブとの関係は不明であった。瀕死状態となり安楽殺した 100 mg/kg/日の雄のみで認められた病理組織学的所見として，切歯における軽微から軽度の好中球性炎症，腎尿細管上皮における軽微から軽度の変性および再生像，胸骨骨髄および大腿骨骨髄における細胞内空胞化（軽微），前立腺における分泌物減少（やや重度）および変性または壊死（軽微），大動脈の軽微な好中球性炎症を散発性に伴う心臓における軽微から軽度の空胞化マクロファージ浸潤，好中球性炎症または間葉系細胞過形成，膝関節および肢の軽微からやや重度の粘液腫性変性，好中球性炎症，出血または空胞化マクロファージ浸潤がみられたほか，単一動物に発現した回腸における中等度の筋線維の変性および再生像，軽度の出血および軽度の好中球性炎症ならびに舌における軽微な筋線維の変性および再生像，好中球性炎症および空胞化マクロファージ浸潤が認められた。

100 mg/kg/日の雄の生存例では，パルボシクリブと関連する変化として，肢，腹部，陰茎または口周囲部の腫脹，小型精巣，側横臥位，無形便，透明または赤色の口腔内分泌物，蒼白色の眼，脚，耳または口腔粘膜，皮膚の冷感（後肢），皮膚の変色（黄色または赤色）および被毛の変色（赤色）が認められた。休薬後，投与期間に認められた一般状態変化のほとんどが回復した。

雌雄の全用量群で体重増加量の用量依存的な減少が認められた。投与 183 日において，10，30 および 100 mg/kg/日群の雄ではそれぞれ-5%，-9%および-38%（以下，対照群との比較），50，100 および 300 mg/kg/日群の雌ではそれぞれ-3%，-5%および-14%の体重抑制が認められた。摂餌量については，100 mg/kg/日の雄では投与 16 週まで，300 mg/kg/日の雌では全投与期間中に，統計学的に有意な断続的減少が認められた。雄の摂餌量は，投与 16 週以降には対照群と同等以上に回復した（投与 23 週は有意に増加）。休薬後，30 mg/kg/日および 100 mg/kg/日の雄（それぞれ-13%および-42%）ならびに全用量群の雌（50，100 および 300 mg/kg/日でそれぞれ-5%，-13%および

-23%）では対照群に比して，体重の抑制が認められた。摂餌量は 100 mg/kg/日の雄では概して対照群よりも多かったが，300 mg/kg/日の雌で対照群よりもやや少ないか対照群とほぼ同等であった。

眼科学的検査において，30 mg/kg/日以上の雄に白内障（前皮質白内障，不完全白内障または完全白内障）が認められた。休薬後，投与期間中に 100 mg/kg/日の雄 3 例でみられた前皮質白内障または不完全白内障が，完全白内障まで進行した。

血液学的検査では，10 mg/kg/日以上の雄または 50 mg/kg/日以上の雌で，投与期間中のほとんどの測定時点において，白血球数（-23%～-59%），リンパ球数（-29%～-66%），単球数（-40%～-77%），好酸球数（-20%～-94%），好塩基球数（-27%～-63%），大型非染色細胞数（-48%～-77%），赤血球数（-3%～-37%），ヘモグロビン（-4% ～-12%），ヘマトクリット（-4% ～-14%）および網状赤血球数（-12%～-27%）の減少，ならびに平均赤血球容積（3%～45%），平均赤血球ヘモグロビン量（2%～43%）および赤血球分布幅（3%～1.2 倍）の増加が認められた（白血球パラメータおよび網状赤血球の減少は，各サイクル間に設けた 1 週間の休薬期間中に回復または回復傾向が認められた）。このほか，10 mg/kg/日以上の雄および 100 mg/kg/日以上の雌で，血小板数（11%～62%）および平均血小板容積（5%～19%）の増加が認められた。休薬後，血液学的パラメータは完全に回復し，骨髄の病理組織学的変化に回復性が認められたことと一致していた。一方，10 mg/kg/日以上の雄では平均赤血球容積および平均赤血球ヘモグロビン量の増加（最大 8%）が認められたが，投与期間と比べて重症度は低下し回復性が示唆された。

血液生化学的検査では，30 mg/kg/日以上の雄および 50 mg/kg/日の雌 1 例でグルコース上昇（最大 37%），ならびに 100 mg/kg/日の雄では AST（103%），ALT（203%）およびアルカリホスファターゼ（ALP， 63%）の上昇，またクロライドの低下（-7%）が認められた。30 mg/kg/日および 100 mg/kg/日の雄では，インスリンの低下（それぞれ-32%および-60%）が，100 mg/kg/日の雄では， C ペプチド値の低下（-61%）が認められた。休薬後，30 mg/kg/日以上の雄で高血糖（28%～72%），100 mg/kg/日の雄では尿素窒素の上昇（160%），ALP の上昇（110%）およびインスリンの低下（-51%）が認められた。

尿検査では，30 mg/kg/日以上の雄で尿糖（250 mg/dL 以上）の発現率および重症度の上昇，100 mg/kg/日の雄では尿 pH の低下ならびに白血球および顆粒円柱または細胞性円柱が認められた。休薬後，30 mg/kg/日以上の雄で尿糖（1000 mg/dL 以上）が認められた。

糖新生関連遺伝子の発現については，100 mg/kg/日と対照群の雄の G6PC および PEPCK 遺伝子発現量に統計学的な有意差は認められなかった。なお，FOXO1 および PGC1α遺伝子発現については，ベースラインの遺伝子発現量が少なかったため，評価しなかった。

血液凝固検査において，パルボシクリブと関連する変化は認められなかった。

リンパ造血系，雄性生殖器，膵臓，眼，腎臓，切歯，脂肪組織，大腿骨，副腎皮質，肝臓，消化管および肺に，パルボシクリブと関連する病理組織学的所見または器官重量の変化が認められた。リンパ造血系では，10 mg/kg/日以上の雄および 50 mg/kg/日以上の雌で，骨髄の軽微から軽度の変化（大腿骨骨髄および胸骨骨髄での細胞減少または巨核球増加），リンパ組織の軽微からやや重度の変化（胸腺，脾臓，腸間膜リンパ節もしくは尺骨リンパ節におけるリンパ球減少，赤血球減少，マクロファージ浸潤増加または好中球性炎症）が認められ，リンパ組織の変化は脾臓重量

および胸腺重量の減少（それぞれ最大-44%および-43%）と関連していた。さらに，100 mg/kg/日の雄では，消化管関連リンパ組織またはパイエル板に軽微から軽度リンパ球減少が認められた。休薬後，腸間膜リンパ節および胸腺では 100 mg/kg/日以上でリンパ球減少またはマクロファージ浸潤のわずかな増加がみられたものの回復傾向が示され，大腿骨骨髄，胸骨骨髄および肺径リンパ節で認められた変化は完全に回復した。また 100 mg/kg/日の雄では，休薬後にも胸腺重量の低値が認められた（最大-54%）。100 mg/kg/日の雄 1 例で脾臓の髄外造血の軽度増加がみられたが，これは投与終了時に認められた骨髄細胞減少の二次的反応であると考えられた。雄性生殖器では，30 mg/kg/日以上で，精巣における軽微からやや重度の精細管上皮変性，精巣上体における軽微から重度の管腔内壊死細胞片または精液減少ならびに中等度からやや重度の精嚢分泌物減少が認められた。100 mg/kg/日の雄の精巣および精巣上体でみられた変化と器官重量減少（-34%～-40%）には関連が認められた。休薬後，精嚢の変化は完全に回復し，また 100 mg/kg/日では精巣と精巣上体の器官重量の低下（-23%～-27%）が認められたものの，精巣（精細管上皮の変性）および精巣上体（精液減少および管腔内壊死細胞片）の変化には回復性が認められ，発現率または重症度が低下した。膵臓では，30 mg/kg/日以上の雄および 50 mg/kg/日の雌 1 例で，軽微から中等度の膵島細胞の空胞化が認められた。透過型電子顕微鏡により膵島内の空胞の膵β細胞への局在が明らかにされ，また免疫組織化学染色による画像解析では膵β細胞の相対面積およびβ細胞数（絶対数および相対数）の減少がみられた。α細胞数に変化は認められなかったが，100 mg/kg/日ではα細胞のサイズが増加した。対照群の雄で軽微から軽度の膵島の線維化または膵島出血が認められ，10 mg/kg/日および 30 mg/kg/日の雄では発現率または重症度が増悪したが，高用量である 100 mg/kg/日の雄では対照群と同等であった。休薬後，膵島細胞の空胞化は認められなかったが，免疫組織化学染色および透過型電子顕微鏡による画像解析では，膵β細胞の減少が認められた。眼では，10 mg/kg/日以上の雄ならびに 50 mg/kg/日および 100 mg/kg/日の雌各 1 例で白内障と関連する両側性または片側性の軽微から中等度の水晶体変性が認められた。休薬後，30 mg/kg/日以上の雄で白内障と一致する軽微からやや重度の水晶体変性が認められた。腎臓では，10 mg/kg/日以上の雄で軽微から中等度の腎尿細管の空胞化，拡張または慢性進行性腎症が認められた。休薬後，尿細管の拡張は認められなかったが，30 mg/kg/日以上の雄では慢性進行性腎症（軽微から中等度）の発現率上昇および 100 mg/kg/日の雄では尿細管空胞化（軽度から中等度）が認められた。切歯では，100 mg/kg/日の雄で切歯エナメル芽細胞における変性または壊死あるいは色素性単核球浸潤（軽微から軽度）が認められた。休薬後，切歯エナメル芽細胞の変性または壊死は認められなかったが，30 mg/kg/日以上の雄（30 mg/kg/日では 1 例のみ）に，軽微から軽度の色素性単核球浸潤がみられた。脂肪組織では，30 mg/kg/日以上の雄で皮膚，皮下組織または胸腺における脂肪萎縮（軽微から中等度）が認められたが，休薬により回復性がみられた。副腎皮質では，軽微から中等度の副腎皮質肥大［副腎重量の増加（1.1～2.0 倍）と関連］が認められた。休薬後，副腎の病理組織学的変化については完全に回復したが，100 mg/kg/日の雄の副腎重量の増加（1.9 倍，対体重のみ）がみられた。大腿骨では，10 mg/kg/日以上の雄で軽度から中等度の大腿骨骨梁の減少が認められ，休薬後にも回復性は認められなかった。肝臓では，10 mg/kg/日以上の雄で軽微から軽度の肝細胞肥大または肝細胞空胞化が認められたが，休薬により回復した。消化管では，30 mg/kg/日以上の雄で腺胃の腺粘液減少（軽度），ならびに前胃の上皮細胞の変性，過形成または過角化，好中球性炎症あるいはびらんまたは潰瘍（軽微から軽度）が認められた。休薬後，100 mg/kg/日の雄では，腺胃（粘液腺の中等度の減少）および前胃（軽微から中等度の上皮細胞の変性，過形成または過角化もしくは好中球性炎症）の変化が認められ，回復性はみられなかった（30 mg/kg/日では休薬後に腺胃または前胃の変化はみられなかったが，投与期間中の発現率が低かったため，回復性を評価できなかった）。肺では，100 mg/kg/日の雄で肺胞マクロファージ

浸潤の増加（軽微からやや重度）が認められた。休薬後，肺胞マクロファージ浸潤に回復性が認められ，発現率および重症度が低下した。

パルボシクリブの曝露量は用量増加に伴い増加した。27 週間反復投与によりわずかな蓄積性が認められ，全群の AUC_{24} 蓄積率は，雄では 1.0～2.2，雌では 0.8～1.9 であった。同一用量（100 mg/kg/日）を投与したときの投与 187 日における AUC_{24} は，雄で雌よりも約 7 倍高値を示し，毒性変化も顕著であった。

最低用量［雄：10 mg/kg/日（C_{max}：573 ng/mL ，AUC_{24}：6000 ng•h/mL，投与 187 日），雌：50 mg/kg/日（C_{max}：447 ng/mL ，AUC_{24}：2650 ng•h/mL，投与 187 日）］において，膵臓，水晶体または大腿骨に病理組織学的所見が認められたことから，無毒性量は得られなかった。

3.2.4. イヌを用いた 3 週間経口投与毒性試験

報告書番号 745-03871，概要表 2.6.7.7C

ビーグル犬（雌雄各 4 匹/群）にパルボシクリブを 3 週間反復経口投与して，パルボシクリブの毒性および曝露量，ならびに 4 週間休薬したときの回復性を評価した。本試験では，パルボシクリブイセチオン酸塩を 0（溶媒対照：脱イオン水），0.2，0.6 または 2 mg/kg/日の用量で投与した。投与量は，イヌを用いた 2 週間経口投与用量設定試験（報告書番号 745-03765）での忍容性に基づいて設定した。すなわち，3 mg/kg/日では死亡はみられないものの消化管毒性やリンパ造血系への影響が認められたことから，本試験の高用量を 2 mg/kg/日とし，以下 0.6 mg/kg/日，0.2 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。雌雄各 3 匹/群を投与期間終了時に，残りの雌雄各 1 匹/群は 4 週間の休薬期間後に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図，血圧測定［試験直前，投与前および投与 3 週の投与後約 7 時間ならびに休薬 3 週（試験 7 週）］，臨床病理検査［血液学的検査（投与前，休薬期間中週 1 回），凝固検査，血液生化学的検査，尿検査：試験直前，投与 21 日，休薬 4 週（試験 49 日）］，骨髄検査（フローサイトメトリー，塗抹標本），器官重量測定，剖検ならびに病理組織学的検査を実施した。加えて，投与 1 日および投与 21 日に採血し，血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

本試験で死亡はみられなかった。パルボシクリブは概して，2 mg/kg/日まで良好な忍容性を示した。投与期間中，全パルボシクリブ投与群の雄各 1～3 例および 0.6 mg/kg/日の雌 1 例で嘔吐が認められた。2 mg/kg/日の雄 1 例では，投与 18 日に自発運動量の低下および着色便がみられ，投与 1～22 日に体重減少（-10%：以下，投与前値との比較）が認められた。これとは別の 2 mg/kg/日の雄 1 例では，投与 19 日に粘液便が認められた。休薬後，一般状態および体重の変化は回復した。

血液学的検査では，0.2 mg/kg/日以上で用量依存的な白血球数の減少（0.2，0.6 および 2 mg/kg/日でそれぞれ最大-24%，-48%および-70%，投与 7～21 日で最低値）がみられ，主に好中球数および単球数の減少によるものであった。0.2 mg/kg/日でみられた好中球数および単球数の減少はわずかであり，試験期間を通して背景値の範囲内であったが，0.6 mg/kg/日と 2 mg/kg/日の好中球数および単球数は白血球数と同様に減少（それぞれ最大-63%および-89%，投与 21 日）した。2 mg/kg/日の雌では，リンパ球数の減少（-37%，投与 21 日）もみられた。0.6 mg/kg/日以上で，投与 21 日までに網状赤血球数の減少（-29%～-53%）が認められた。2 mg/kg/日の雄では，赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリットのわずかな減少（-6%～-7%，投与 21 日）が認められた。また

2 mg/kg/日では，投与 14 日および投与 21 日に血小板数が減少した（最大-44%）。休薬後，ほとんどの動物で休薬 1 週までに回復傾向が認められ，休薬 2 週（試験 35 日）までには投与前値まで回復した。

血液生化学検査では，2 mg/kg/日で血清コレステロールおよび ALP（雄のみ）がそれぞれ最大 45%および 44%上昇（以下，対照群との比較）したが，変化の程度が小さく可逆的であり，病理組織学的変化を伴っていないことから，毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。

血液凝固検査，尿検査，眼科学的検査および心電図測定においてパルボシクリブと関連する変化はみられなかった。

骨髄検査では，投与期間終了時に末梢血球数減少と関連する骨髄の変化（フローサイトメトリー）が認められた。顆粒球系細胞の用量依存的な減少がみられ，顆粒球系/赤芽球系細胞比は，0.2 mg/kg/日以上の雄では-36%～-50%，また 2 mg/kg/日の雌では-53%低下した。骨髄塗抹標本観察において，2 mg/kg/日で細胞減少，成熟赤血球増加ならびに赤芽球系細胞系列および顆粒球系細胞系列の巨赤芽球性変化が認められた。

骨髄，リンパ組織，雄性生殖器および消化管に，パルボシクリブと関連する病理組織学的所見が認められた。骨髄では，0.6 mg/kg/日および 2 mg/kg/日で骨髄細胞減少が認められ，発現率および重症度（軽微から中等度）は用量依存的に上昇し，また，全ての細胞系列（顆粒球系細胞，赤芽球系細胞および巨核球系細胞）への影響がみられた。休薬後，骨髄への影響は回復し，0.6 mg/kg/日以上では，骨髄の再生反応と一致する軽微から軽度の脾臓の髄外造血が認められた。リンパ組織では，対照群を含む 0.6 mg/kg/日以下で軽微から軽度のリンパ組織過形成が認められ，また 0.6 mg/kg/日以上のリンパ節（腸間膜リンパ節および膝窩リンパ節）および腸管関連リンパ組織ならびに 2 mg/kg/日の雄 2 例の脾臓に，軽微から中等度のリンパ球減少が認められた。また 0.6 mg/kg/日以上では，胸腺のリンパ組織退縮の発現率および重症度が増加した。休薬後，リンパ組織への影響は回復傾向を示したが，0.6 mg/kg/日の雌でのみ膝窩リンパ節に軽度のリンパ球減少が認められ，またパルボシクリブを投与した全例および対照群の雄に，リンパ節（腸間膜リンパ節および膝窩リンパ節）における軽度から中等度のリンパ組織過形成が認められた。雄性生殖器では，0.6 mg/kg/日以上で変性精母細胞数の増加を特徴とした軽微な多巣性の精巣変性が認められた。休薬後，精巣への影響について回復性はみとめられず進行の様相を呈し，0.6 mg/kg/日の雄で軽度の精細管萎縮が認められたほか，2 mg/kg/日の雄では中等度の精子形成上皮変性が認められた。消化管では，0.2 mg/kg/日以上で小腸および大腸における軽微な異常上皮がみられ，主に腸腺（腸陰窩）の深部で認められた。休薬後，消化管への影響に回復傾向が認められたものの，0.6 mg/kg/日の雌の大腸および 2 mg/kg/日の雌の小腸に，軽微な多巣性の異常上皮が認められた。

曝露量は用量増加に伴い増加し，性差は認められなかった。投与 21 日の曝露量（雌雄合算値，C_{max} および AUC_{24}）は，投与 1 日の値と比べて高値を示した。

0.6 mg/kg/日以上の雄では精巣変性が認められたことから，雄の無毒性量は 0.2 mg/kg/日（C_{max}：13.7 ng/mL ，AUC_{24}：232 ng•h/mL，投与 21 日），また雌では全用量で認められた所見（骨髄，リンパ組織，腸管）の重症度が低かったことから，雌の無毒性量は最高用量である 2 mg/kg/日（C_{max}：192 ng/mL ，AUC_{24}：3230 ng•h/mL，投与 21 日）であると考えられた。

3.2.5. イヌを用いた 15 週間経口投与毒性試験

報告書番号 20026126（[redacted]LJ024），概要表 2.6.7.7D

ビーグル犬（雌雄各 5 匹/群：対照群および高用量，雌雄各 3 匹/群：低用量および中用量）にパルボシクリブを 15 週間間欠投与（3 週間反復経口投与して 1 週間休薬，計 4 サイクル）して，パルボシクリブの毒性および曝露量，ならびに 4 週間休薬したときの回復性を評価した。本試験では，パルボシクリブを 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース懸濁液），0.2，0.6 または 2 mg/kg/日の用量で投与した。投与量は，イヌを用いた 3 週間経口投与毒性試験（報告書番号 745-03871）での忍容性に基づいて設定した。すなわち，用量依存的なリンパ造血系および消化管への影響がみられ，高用量まで死亡はみられなかったことから，本試験の高用量を 3 週間経口投与毒性試験と同様に 2 mg/kg/日とし，以下 0.6 mg/kg/日，0.2 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。雌雄各 3 匹/群を投与期間終了時に，対照群および 2 mg/kg/日では雌雄各 2 匹/群を 4 週間の休薬期間後に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図測定［試験直前値，投与前値および投与 100 日の投与後 4～5 時間ならびに休薬 3 週（試験 128 日）の値］，臨床病理検査［血液学的検査値，血液凝固検査，血液生化学検査値：試験直前，投与 21，28，46 および 106 日ならびに休薬 4 週（試験 134 日），尿検査：投与 106 日および休薬 4 週（試験 134 日）］，器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。加えて，投与 1，49 および 105 日に採血し，血漿中パルボシクリブおよびパルボシクリブのラクタム代謝物 PF-05089326 濃度を測定した。

パルボシクリブは概して，最高用量である 2.0 mg/kg/日まで良好な忍容性を示した。2.0 mg/kg/日では，対照群と比べて軟便および耳介の発赤または腫脹の発現率がわずかに高かった。2.0 mg/kg/日では，第 4 投与サイクル期間の体重増加量がわずかに減少したため，投与最終日の体重は-4%～-5%低値を示した（対照群との比較）。休薬後，一般状態変化および体重抑制は認められなかった。

血液学的検査では，各投与サイクル終了時（投与 21，46 および 106 日），0.2 mg/kg/日以上の血液学的パラメータに用量依存的な変化が認められたが，投与サイクル間の変化の程度に差は認められなかった。0.2 mg/kg/日以上で，白血球数の用量依存的減少（最大-71%：以下，投与前値との比較）がみられ，好中球数（最大-81%），リンパ球数（最大-49%），単球数（最大-80%）および好酸球数（最大-91%）の減少と一致していた。0.6 mg/kg/日以上で，網状赤血球数の減少（最大-47%）ならびに平均赤血球容積および赤血球分布幅の増加（それぞれ最大 14%および 34%）が認められた。2.0 mg/kg/日では，赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリットの減少（最大-19%），平均赤血球ヘモグロビン量の増加（最大 12%）および血小板数の減少（最大-41%），ならびに末梢血中に大球性赤血球が認められた（投与 46 日または投与 106 日）。休薬後，回復傾向が認められた。

血液生化学検査では，2.0 mg/kg/日で各投与サイクル終了時に軽度なリン濃度の低下（最大-24%）が認められた。休薬後，雌ではリン濃度の低下がみられたが，雄では対照群と同程度であった。

血液凝固検査，尿検査，眼科学的検査および心電図測定においてパルボシクリブと関連する変化はみられなかった。

骨髄，リンパ組織および雄性生殖器に，パルボシクリブと関連する病理組織学的所見または器官重量の変化が認められた。骨髄では，2.0 mg/kg/日で骨髄（胸骨および大腿骨）における軽微な造血細胞減少が認められた。休薬後，骨髄への影響は回復した。リンパ組織では，2.0 mg/kg/日の胸腺でリンパ球減少の重症度（軽度から中等度，対照群では軽微）および発現率の上昇がみられ，0.6 mg/kg/日以上で認められた胸腺重量（絶対重量および相対重量）の減少（雄：最大-30%，雌：最大-75%）と関連していた。2.0 mg/kg/日の雌 1 例では，消化管関連リンパ組織に軽微なリンパ球減少が認められた。休薬後，2.0 mg/kg/日（低用量群では回復を評価しなかった）のリンパ組織への影響は回復した。雄性生殖器では，0.6 mg/kg/日以上で精巣精細管上皮の変性がみられ，重症度（軽度から中等度，対照群では軽微）および発現率が用量依存的に上昇し，0.2 mg/kg/日以上でみられた精巣重量（絶対重量および相対重量）の減少（-19%～-49%：以下，対照群との比較）と関連していた。0.6 mg/kg/日以上では，精巣上体における用量依存的な精液減少（軽微から重度）および管腔内壊死細胞片の発現率および重症度（軽微から軽度，対照群では軽微）の上昇がみられ，精巣変性に伴う二次的変化として認められた。休薬後，精巣および精巣上体の病理組織学的変化に回復性は認められず，発現率および重症度（軽度から中等度）も投与期間中とほぼ同じであり，精巣重量（絶対重量および相対重量）も低値（-36%～-38%）であった。

パルボシクリブの曝露量は用量増加に伴い増加し，性差は認められなかった。投与 49 日および投与 105 日の曝露量（雌雄合算値，C_{max} および AUC_{24}）は概して，投与 1 日の値と同等または 2 倍程度であった。血漿中 PF-05089326 濃度は定量限界未満であった。

0.6 mg/kg/日以上で精巣変性およびそれに伴う精巣上体の二次的な変化（病理組織学的変化および器官重量の変化）が認められたことから，雄の無毒性量は 0.2 mg/kg/日（C_{max}：9.58 ng/mL，AUC_{24}：153 ng•h/mL，投与 105 日），また雌では全用量で認められた所見（胸腺，腸管関連リンパ組織，骨髄）の重症度が低かったことから，雌の無毒性量は最高用量である 2 mg/kg/日（C_{max}：101 ng/mL，AUC_{24}：1650 ng•h/mL，投与 105 日）と考えられた。

3.2.6. イヌを用いた 39 週間経口投与毒性試験

報告書番号 8282225（[redacted]LJ037），概要表 2.6.7.7F

ビーグル犬（雌雄各 6 匹/群）にパルボシクリブを 39 週間間欠投与（3 週間反復経口投与して 1 週間休薬，計 10 サイクル）して，パルボシクリブの毒性および曝露量，ならびに 12 週間休薬したときの回復性を評価した。本試験では，パルボシクリブを 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース懸濁液），0.2，0.6 または 3 mg/kg/日の用量で投与した。投与量は，イヌを用いた 15 週間経口投与毒性試験（報告書番号 20026126）の忍容性に基づいて設定した。すなわち，雄性生殖器への影響を除き高用量である 2 mg/kg/日まで重篤な毒性が認められなかったことから，本試験の高用量を 3 mg/kg/日とし，以下 0.6 mg/kg/日，0.2 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。雌雄各 4 匹/群を投与期間終了時に，雌雄各 2 匹/群を 12 週間の休薬期間後に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図測定（試験直前値，投与前値ならびに投与 187 日および投与 271 日の投与後 4～5 時間の値），臨床病理検査（血液学的検査値，凝固，血液生化学検査値：試験直前，投与 22，29，106，113，190，197 および 274 日ならびに休薬 50 日および休薬 85 日，尿検査：試験直前，投与 274 日および休薬 85 日），器官重量測定，剖検ならびに病理組織学的検査を実施した。加えて，投与 1 日，49 日，99 日および 267 日に採血し，血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

パルボシクリブは，最高用量である 3.0 mg/kg/日まで良好な忍容性を示し，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査および心電図測定において変化はみられなかった。

血液学的検査では，各投与サイクル終了時（投与 22，106，190 または 274 日），0.2 mg/kg/日以上の血液学的パラメータに用量依存的な変化が認められたが，投与サイクル間の変化の程度に差は認められなかった。0.2 mg/kg/日以上で，白血球数の用量依存的な減少（-23%～-71%：以下，投与前値との比較）がみられ，好中球数（-33%～-77%），リンパ球数（-26%～-53%），単球数（-74%～-87%），好酸球数（-60%～-91%）および好塩基球数（-80%～-87%）の減少と一致していた。0.6 mg/kg/日以上で，平均赤血球ヘモグロビン量（2%～8%），平均赤血球容積（6%～15%）および赤血球分布幅（5%～25%）の増加がみられた。3 mg/kg/日では赤血球数（-19%～-20%），網状赤血球数（-44%～-47%）および血小板数の減少（-33%～-45%）ならびに平均血小板容積の増加（最大 1.2 倍）が認められた。休薬後，血液学的パラメータは回復した。

血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査において，パルボシクリブと関連する変化は認められなかった。

骨髄，リンパ組織および雄性生殖器にパルボシクリブと関連する病理組織学的所見または器官重量の変化が認められた。骨髄では，3.0 mg/kg/日の雌で骨髄（胸骨）に軽度から中等度の造血細胞減少が認められた。休薬後，骨髄への影響は完全に回復した。リンパ組織では，0.6 mg/kg/日以上の雌および 3.0 mg/kg/日の雄の腸間膜リンパ節，脾臓，腸管関連リンパ組織および胸腺に，リンパ球減少（軽微から中等度）が認められ，3.0 mg/kg/日での脾臓重量（絶対重量および相対重量）の減少（-12%～-23%：以下，対照群との比較）と関連していた。休薬後，リンパ組織への影響は完全に回復した。雄性生殖器では，0.2 mg/kg/日以上の雄で精巣に精細管上皮変性が認められ，重症度は用量依存的に上昇（軽微から重度）し，精巣重量（絶対重量および相対重量）の減少（-5%～-45%）と関連していた。また，精巣変性に伴う二次的変化として精巣上体における精液減少（軽度から重度）および管腔内壊死細胞片（軽微から中等度）が認められた。休薬後，0.6 mg/kg/日および 3.0 mg/kg/日の雄各 1 例の精巣上体に軽度の精巣精細管上皮変性が認められ，0.6 mg/kg/日では軽微な管腔内壊死細胞片を伴っていたが，発現率および重症度が低いことから，回復傾向を示していると考えられた。精巣重量（絶対重量および相対重量）は完全に回復した。

パルボシクリブ曝露量は用量依存的に増加し，性差は認められなかった。反復投与後の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，投与 1 日の値よりも高値を示したが，概して投与 49 日までに定常状態に達していた。

雄では，最低用量である 0.2 mg/kg/日（C_{max}：5.97 ng/mL ，AUC_{24}：96.6 ng•h/mL，投与 267 日）で精巣変性およびそれに伴う精巣上体の二次的な変化がみられたことから，雄の無毒性量は得られなかった。また雌では全用量で認められた所見の重症度が低かったことから，雌の無毒性量は最高用量である 3.0 mg/kg/日（C_{max}：119 ng/mL ，AUC_{24}：2050 ng•h/mL，投与 267 日）と考えられた。

4. 遺伝毒性試験

パルボシクリブの遺伝毒性について in vitro 試験および in vivo 試験で検討した。特に記載のない限り，GLP 基準に従って実施した。In vitro 遺伝毒性試験における代謝活性化は，Aroclor 1254 を投与した雄ラットの肝臓 S9 mix の存在下で行った。

4.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 745-03858，概要表 2.6.7.8A

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 *uvr*A pKM101）を用い，代謝活性化系の存在下および非存在下で，パルボシクリブの復帰突然変異誘発性の有無を検討した。

用量設定試験では，パルボシクリブイセチオン酸塩 0（陰性対照：脱イオン水），16，50，160，500，1600 または 5000 µg/plate の濃度範囲で，各濃度 2 枚のプレートを用いて，代謝活性化系の存在下および非存在下で実施した。溶媒対照における復帰突然変異の頻度はいずれの菌株についても背景データの範囲内であり，陽性対照（sodium azide，2-aminoanthracene，9-aminoacridine，2-nitrofluorene，benzo[a]pyrene， 4-nitroquinoline-N-oxide）の復帰突然変異の頻度が用量依存的に増加して（6.0～31.6 倍），対応する陰性対照の 2 倍（TA 98，TA 100 および WP 2*uvr*A pKM101）または 3 倍（TA 1535 および TA 1537）を超えるという基準を満たしていた。パルボシクリブは代謝活性化系の非存在下で，TA 98 および TA 1537 に対して 500 µg/plate 以上，TA 100 および TA 1535 に対して 1600 µg/plate 以上，WP2 *uvr*A pKM101 に対して 5000 µg/plate で細胞毒性を示した。代謝活性化系の存在下では，TA 98，TA 100，TA 1535 および TA 1537 に対して 1600 µg/plate 以上，WP2 *uvr*A pKM101 に対して 5000 µg/plate で細胞毒性を示した。パルボシクリブによる沈殿はいずれの濃度，いずれの菌株においても認められなかった。用量設定試験における復帰突然変異の頻度は，代謝活性化系の存在下および非存在下で，いずれの菌株においても陰性対照の 2.4 倍以下であった。

本試験では，用量設定試験でみられた細胞毒性発現用量から最高用量を設定した。代謝活性化系の非存在下では，TA 98 および TA 1537 に対してはパルボシクリブイセチオン酸塩 0（溶媒対照：脱イオン水），31.25，62.5，125，250 および 500 µg/plate，TA 100 および TA 1535 に対しては 0，100，200，400，800 および 1600 µg/plate，WP2 *uvr*A pKM101 に対しては 0，312.5，625，1250，2500 および 5000 µg/plate の濃度範囲で，代謝活性化系の存在下では，TA 98，TA 100，TA 1535 および TA 1537 に対してはパルボシクリブ 0, 100, 200， 400, 800 および 1600 µg/plate, WP2 *uvr*A pKM101 に対しては 312.5, 625, 1250, 2500 および 5000 µg/plate の濃度範囲で各濃度 3 枚のプレートを用いて実施した。溶媒対照における復帰突然変異の頻度はいずれの菌株についても背景データの範囲内であり，陽性対照（sodium azide，2-aminoanthracene，9-aminoacridine，2-nitrofluorene，benzo[a]pyrene， 4-nitroquinoline-N-oxide）の復帰突然変異の頻度が用量依存的に増加して（5.6～62.0 倍），対応する陰性対照の 2 倍（TA 98，TA 100 および WP2 *uvr*A pKM101）または 3 倍（TA 1535 および TA 1537）を超えるという基準を満たしていた。パルボシクリブは代謝活性化系の非存在下で, TA 1537 および TA98 に対して 500 µg/plate, TA 1535 に対して 800 µg/plate 以上, TA 100 に対して 1600 µg/plate で細胞毒性を示し，WP2 *uvr*A pKM101 に対しては細胞毒性を示さなかった。代謝活性化系の存在下では， TA 98，TA 100，TA 1535 および TA 1537 に対して 1600 µg/plate で細胞毒性を示し，WP2 *uvr*A pKM101 に対しては細胞毒性を示さなかった。パルボシクリブに

よる沈殿はいずれの濃度，いずれの菌株においても認められなかった。本試験における復帰突然変異の頻度は，代謝活性化系存在下および非存在下で，いずれの菌株においても陰性対照の 1.3 倍以下であった。

パルボシクリブは，代謝活性化系の存在下および非存在下で *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* に対して，細胞毒性を示す用量まで塩基対置換型あるいはフレームシフト型の変異原性を示さなかった。

4.2. 染色体異常試験

報告書番号 25093-0-449OECD（745-03873），概要表 2.6.7.8B

ヒト末梢血リンパ球を用い，代謝活性化系存在下および非存在下で，パルボシクリブの染色体の数的異常および構造異常の誘発性の有無を in vitro で検討した。代謝活性化系の非存在下および存在下で 3 時間あるいは代謝活性化系の非存在下で 22 時間（本試験のみ）処理し，有糸分裂中期細胞における染色体損傷を評価した。1%ジメチルスルホキシド（DMSO）を溶媒対照とし，代謝活性化系の非存在下では mitomycin C を，代謝活性化系の存在下では cyclophosphamide を陽性対照とした。

用量設定試験では，パルボシクリブイセチオン酸塩 9.86 µg/mL～1200 µg/mL の濃度範囲で代謝活性化系の非存在下および存在下で 3 時間，ヒト末梢血リンパ球を培養して評価したところ，98.8 µg/mL 以上で沈殿または溶血が認められた。代謝活性化系の非存在下では，パルボシクリブは 9.86 µg/mL～69.2 µg/mL の濃度で有糸分裂指数（MI）を 38%～73%低下（以下，溶媒対照との比較）させ，代謝活性化系の存在下では MI を 40%～58%低下させた。代謝活性化系の非存在下および存在下において，パルボシクリブ 11.6，23.7，48.4 および 69.2 µg/mL の濃度範囲で染色体異常を解析したところ，いずれの試験条件においても，染色体異常，数的異常または核内倍加の上昇はみられなかった。

本試験では用量設定試験で認められた細胞毒性に基づき，代謝活性化系の非存在下でパルボシクリブイセチオン酸塩 0.311 µg/mL～50.0 µg/mL の濃度範囲で 22 時間，代謝活性化系の存在下では 3.13 µg/mL～100 µg/mL の濃度範囲で 3 時間処理して評価した。試験は各々の条件で 2 回実施し，溶媒対照および陽性対照ならびに 4 濃度のパルボシクリブで処理した結果に基づき解析した。代謝活性化系の非存在下で 22 時間処理したところ，パルボシクリブは 0.311～12.5 µg/mL の濃度範囲で MI をそれぞれ 39%～94%低下させ，そのうち 0.311，0.393，0.785 および 1.57 µg/mL について解析した。代謝活性化系の存在下で 3 時間処理したところ，パルボシクリブは 3.13～100 µg/mL の濃度範囲で MI を 25%～72%低下させ，そのうち 25.0，50.0，60.0 および 70.0 µg/mL について解析した。代謝活性化系の存在下における 3 時間処理および代謝活性化系の非存在下における 22 時間処理において，染色体異常，数的異常または核内倍加の上昇はみられなかった。溶媒対照における染色体異常は 0%～1.5%であり，背景データの範囲内であった。一方，陽性対照（シクロホスファミドおよびマイトマイシン C）で処理したところ，細胞の 19.7%～36.9%に染色体異常が誘発され，統計的有意差を示した。

本試験では，代謝活性化系の存在下および非存在下において，パルボシクリブはヒト末梢血培養リンパ球の染色体の数的異常および構造異常を誘発しなかった。

4.3. 動原体分析を用いた in vitro 小核試験

参考資料 PD-0332991-0054，概要表 2.6.7.8C

In vivo 小核試験で小核形成が認められたことから（2.6.6.4.4 項），パルボシクリブにより染色体異常誘発性または異数性誘発性のいずれかの機序で小核形成が起きる可能性を評価するため，パルボシクリブで処理したチャイニーズハムスター卵巣由来（CHO）細胞を動原体分析により評価した。CHO-WBL 細胞をパルボシクリブイセチオン酸塩 0.7，2.5，8.8，18 または 35 µg/mL の濃度で代謝活性化系の非存在下において 24 時間処理した。1% DMSO を溶媒対照とし，mitomycin C（0.05 µg/mL）を染色体異常誘発性の，noscapine（15.0 µg/mL）を異数性誘発性の陽性対照とした。2%パラホルムアルデヒドで固定した細胞に，動原体抗体を用いて動原体の免疫染色を，ヨウ化プロピジウムで核 DNA 染色を行い，核分裂像について観察して小核を有する 2 核細胞数を評価した。最高濃度のパルボシクリブ（35 µg/mL）で処理した細胞を選択し，顕微鏡下で観察した。溶媒対照およびパルボシクリブで処理した培養細胞では，2 核細胞 1000 個を観察し，動原体を有する小核の存在を評価した。陽性対照については，2 核細胞 500 個を観察し評価した。

溶媒対照で処理した細胞 1000 個のうち小核は合計 17 細胞で認められ，そのうち 35%が動原体染色陽性であった。最高濃度（35 µg/mL）のパルボシクリブで処理した細胞 1000 個のうち小核は合計 118 細胞で認められ，そのうち 85%（溶媒対照の 2.4 倍）が動原体染色陽性であり，パルボシクリブの異数性誘発性を示唆していた。染色体異常誘発性の陽性対照である mitomycin C で処理した細胞 500 個のうち認められた小核の 14%が動原体陽性であったのに対し，異数性誘発性の陽性対照である noscapine で処理した細胞 500 個のうち認められた小核の 71%が動原体陽性であった。溶媒対照および陽性対照での動原体陽性小核の発現率は背景データの範囲内であった。

動原体染色の結果から，パルボシクリブが異数性誘発作用を介して小核を誘発することが示唆された。

4.4. In vivo 小核試験

報告書番号 745-03731，概要表 2.6.7.9

パルボシクリブにより小核を有する多染性赤血球が誘発される可能性について，ラットの骨髄を用いて検討した。Sprague Dawley ラット（雌雄各 15 匹/群）にパルボシクリブイセチオン酸塩を，雄に 0（溶媒対照：脱イオン水），50，100 または 200 mg/kg/日を，雌に 0，100，200 または 400 mg/kg/日を 1 日 1 回 3 週間経口投与した（2.6.6.3.2.1 項：ラットを用いた 3 週間経口投与毒性試験）。このうち，生存した 5 例を小核試験の対象とした。陽性対照群（雌雄各 5 匹）には，cyclophosphamide（20 mg/kg）を 2 日間経口投与した。骨髄の一部を採取して単細胞懸濁液を調製し，フローサイトメトリーで多染性赤血球，小核を有する多染性赤血球，小核を有する正染性赤血球等を計数した。

100 mg/kg/日以上の雄では，用量依存的な小核を有する多染性赤血球の発現率がみられ，溶媒対照と比べて統計学的有意差が認められたため，小核誘発性陽性と判断した。一方，雌では 400 mg/kg/日まで小核を有する多染性赤血球の発現率の上昇は認められなかった（C_{max}：954 ng/mL，AUC_{24}：11100 ng•h/mL，投与 21 日）。

100 mg/kg/日以上の雄で小核形成が認められたことから，小核形成に対する無作用量は雄で50 mg/kg/日（C_{max}：1800 ng/mL，AUC_{24}：17300 ng•h/mL，投与 21 日）であると考えられた。

5. がん原性試験

現在，マウスおよびラットを用いたがん原性試験を実施中である。なお，パルボシクリブは進行がんであるエストロゲン受容体（ER）陽性ヒト上皮増殖因子受容体 2 型（HER2） 陰性閉経後進行乳癌の治療を目的とした医薬品であることから，抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン（ICH S9）の記載に基づき，本申請においてがん原性試験成績を提出することは必須ではない。また，反復投与毒性試験において前がん病変は認められておらず，変異原性および染色体構造異常誘発性もみられていない。

6. 生殖発生毒性試験

6.1. 受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験

6.1.1. 雄ラット

報告書番号 20057548（[redacted]GR327），概要表 2.6.7.12A

Sprague Dawley ラット（雄 20 匹/群）にパルボシクリブを 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），10，30 または 100 mg/kg/日の用量で 15 週間間欠投与（3 週間反復経口投与して 1 週間休薬，計 4 サイクル）して，受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験を実施した。投与終了 2 週間前より，無処置雌（20 匹/群）との 5 日間の交配期間を設けた。投与量は，ラットを用いた 15 週間経口投与毒性試験（報告書番号 [redacted]LJ025）およびラットを用いた 27 週間経口投与毒性試験（報告書番号 [redacted]LJ036）での雄の忍容性に基づき設定した。すなわち，30 mg/kg/日以上で用量依存的な毒性が発現し，100 mg/kg/日の数例を瀕死状態のため安楽殺したものの，パルボシクリブ投与との関連性および再現性は不明であり，本試験の雄の高用量を 15 週間および 27 週間経口投与毒性試験と同様に 100 mg/kg/日とし，以下 30 mg/kg/日，10 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。生存率，一般状態観察，体重，摂餌量測定，交尾行動，受胎能の評価，および剖検を実施した。また，病理組織学的検査（精巣，精巣上体，前立腺および精嚢），生殖器重量測定，雄性生殖器系評価（精子運動率，精巣上体尾部の精子濃度および精巣の精子細胞密度）および雌性生殖器系評価［発情周期，黄体数，着床部位，胎盤（サイズ，色，形），生存および死亡胚数］を実施した。加えて，雄ラット（4 匹/群）より投与 12 日の投与後 4 時間に採血し，血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

対照群の 1 例が試験 93 日に死亡発見され，100 mg/kg/日の 2 例を試験 14 日または試験 15 日に瀕死状態のため安楽殺したが，いずれも死因は投与過誤と考えられた。一般状態変化として，100 mg/kg/日で試験 14～15 日に重度の脱水症が認められた。また 100 mg/kg/日では，試験 1～106 日に体重増加抑制（-31%：以下，対照群との比較）および摂餌量減少（-9%），ならびに試験 2～107 日に体重抑制（-3%～-12%）がみられた。

30 mg/kg/日以上で，精巣における軽微からやや重度の精細管変性ならびに精巣上体における軽微から中等度の壊死細胞片および軽微からやや重度の精液減少が認められた。これらの変化は，100 mg/kg/日における剖検所見（小さいまたは flaccid 精巣），精巣および精巣上体の絶対／相対重量低下（-7%～-32%），精子運動率（73.6%：対照群では 92.7%），精巣上体尾部の精子濃度（-27%）および精巣の精子細胞密度（-48%）の低下と関連していた。投与群の雄の交尾行動および受胎能，交配した未処置の雌の生殖器系（卵巣および子宮パラメータ，胚生存率）に対する影響はみられなかった。

30 mg/kg/日以上において，精巣および精巣上体における病理組織学的変化が認められたことから，雄の生殖毒性に対する無毒性量は 10 mg/kg/日（投与後 4 時間の血漿中濃度：360 ng/mL，試験 12 日）であると考えられた。

6.1.2. 雌ラット

報告書番号 20037853（[redacted]GR034），概要表 2.6.7.12B

Sprague Dawley ラット（雌 20 匹/群）にパルボシクリブを 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），30，100 または 300 mg/kg/日の用量で，交配前 15 日から無処置雄との交配期間中および妊娠 7 日まで 1 日 1 回強制経口投与し，受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験を実施した。投与量は，妊娠ラットでの忍容性（報告書番号 20036581），ラットを用いた 3 週間経口投与毒性試験（報告書番号 745-03731）およびラットを用いた 15 週間経口投与毒性試験（報告書番号 12LJ025）での忍容性に基づき設定した。すなわち，300 mg/kg/日で軽微な母動物毒性（体重増加量の減少等）がみられ，また 400 mg/kg/日で死亡が認められたものの 200 mg/kg/日では重篤な毒性が認められなかったことから，本試験の雌の高用量を 300 mg/kg/日とし，以下 100 mg/kg/日，30 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。生存率，一般状態観察，体重，摂餌量測定，発情周期，交尾行動，受胎能の評価，剖検（頸部，卵巣，子宮）および雌性生殖器系評価［発情周期，黄体数，着床部位，胎盤（サイズ，色，形），生存および死亡胚数］を実施した。これとは別に非妊娠ラット（溶媒対照雌 3 匹，パルボシクリブ投与群雌 5 匹/群）を加え，投与 14 日（交配前に相当）に採血し，血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

300 mg/kg/日では，交尾前の試験 1～8 日に一過性の体重増加抑制（-40%，対照群との比較）がみられたが，統計学的な有意差はみられなかった。そのほかに，パルボシクリブと関連する変化は認められなかった。

300 mg/kg/日まで雌の交尾行動および受胎能への影響は認められず，また明らかな毒性も認められなかったことから，母動物の受胎能および一般毒性に対する無毒性量は，評価した最高用量である 300 mg/kg/日（C_{max}：627 ng/mL，AUC_{24}：8010 ng•h/mL，試験 14 日）であると考えられた。

6.2. 胚・胎児発生に関する試験

6.2.1. 重要な試験以外の試験

6.2.1.1. ラットを用いた用量設定試験

参考資料 20036581（[redacted]LJ116），概要表 2.6.7.11

Sprague Dawley ラット（雌 6 匹/群）にパルボシクリブを 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），30，100 または 300 mg/kg/日の用量で，妊娠 6 日から妊娠 17 日まで 1 日 1 回強制経口投与し，胚・胎児発生に関する用量設定試験を実施した。母動物の生存率，一般状態観察，体重，摂餌量測定を実施した。全ての生存動物を妊娠 21 日に帝王切開して，妊娠子宮重量測定および剖検を実施し，黄体数，着床部位，胎盤（サイズ，色，形），生存胎児数，死亡胎児数，早期および後期の吸収胚数を記録した。得られた胎児について，性別および体重を記録し，外表観察に供した。

溶媒対照群および 100 mg/kg/日の各 1 例が，帝王切開予定日（妊娠 21 日）に早産したため安楽殺した。300 mg/kg/日では，妊娠 6 日から妊娠 9 日に母動物の体重増加抑制（-58%：以下，対照群との比較）がみられ，妊娠 6 日から妊娠 12 日に認められた母動物の摂餌量減少（-6%～-11%）と関連していた。300 mg/kg/日では，胎児体重の低値（-6%：雌雄合算平均）が認められた。母動物の剖検，妊娠子宮重量，卵巣または子宮検査，ならびに胎児の生存率および胎児外表観察ではパルボシクリブと関連する変化は認められなかった。

6.2.1.2. ウサギを用いた試験

参考資料 20036582（[redacted]LJ117），概要表 2.6.7.11

New Zealand White ウサギ（雌 6 匹/群）にパルボシクリブを 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），3，10，30 または 100 mg/kg/日の用量で，妊娠 7 日から妊娠 19 日まで 1 日 1 回強制経口投与し，胚・胎児発生に関する試験のための用量設定試験を実施した。母動物の生存率，一般状態観察，体重，摂餌量測定を実施した。全ての生存動物を妊娠 29 日に帝王切開して，妊娠子宮重量測定および剖検を実施し，黄体数，着床部位，胎盤（サイズ，色，形），生存胎児数，死亡胎児数，早期および後期の吸収胚数を記録した。得られた胎児について体重を記録し，外表観察に供した。

100 mg/kg/日では，母動物の一般状態の悪化，体重減少および重度の摂餌量減少がみられ，妊娠 9 日から妊娠 11 日に全例を死亡発見あるいは瀕死状態により安楽殺した。100 mg/kg/日の妊娠率は 100%であったが，胎児の生存率は評価できなかった。30 mg/kg/日では，妊娠 21 日に一般状態の悪化により 1 例を安楽殺したほか，流産した別の 1 例を安楽殺した。これらの動物では，剖検において肺（黒色化），胃（粘膜表面の隆起の白色化）および盲腸（粘膜表面の横紋筋の赤色化），ならびに胎児死亡が認められた。30 mg/kg/日の生存例では，妊娠 7 日から妊娠 20 日および投与後期間の妊娠 20 日から妊娠 24 日の摂餌量減少（それぞれ最大-32%および最大-7%：対照群との比較）と関連し，妊娠 7 日から妊娠 20 日に体重減少（-0.2 kg：対照群では+0.14 kg）および妊娠 16 日から妊娠 22 日に体重抑制（最大-10%：以下，対照群との比較）が認められたほか，糞便減少または無排便，着色便，赤色または茶色の排泄物，緩徐呼吸，腟周囲の赤色物質，自発運動量低下ならびに削痩などの一般状態変化が認められた。30 mg/kg/日では，1 同腹子あたりの早期吸収胚数および後期吸収胚数の上昇に伴い，妊娠子宮重量が減少した（最大-15%）。また，30 mg/kg/日では着床後胚損失率が高く，同腹子数も少なかった。10 mg/kg/日以下では，パルボシクリブと関連する変化は認められなかった。

6.2.2. 重要な試験

6.2.2.1. ラットを用いた試験

報告書番号 20039574（[redacted]GR062），概要表 2.6.7.13A

Sprague Dawley ラット（雌 20 匹 /群）にパルボシクリブ を 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），30，100 または 300 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から妊娠 17 日まで強制経口投与し，器官形成期における母体毒性および胚・胎児発生に関する影響を評価した。投与量は，ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（報告書番号 20036581）での忍容性と，300 mg/kg/日で予想された母動物毒性に基づき設定した。すなわち，300 mg/kg/日で軽微な母動物毒性（体重増加量の減少等）がみられ，また 400 mg/kg/日で死亡が認められたものの 200 mg/kg/日では重篤な毒性が認められなかったことから，本試験の高用量を 300 mg/kg/日とし，以下 100 mg/kg/日，30 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。母動物の生存，一般状態観察，体重，摂餌量測定を実施した。全ての生存動物を妊娠 21 日に帝王切開して，妊娠子宮重量測定および剖検を実施し，黄体数，着床部位，胎盤（サイズ，色，形），生存胎児数，死亡胎児数，早期および後期の吸収胚数を記録した。得られた胎児について，性別，体重，外表，内臓および骨格の異常を記録した。これとは別に，溶媒対照群に 3 匹およびパルボシクリブ投与群に 5 匹/群を加え，妊娠 17 日における血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

300 mg/kg/日群では，妊娠 6 日から妊娠 18 日および妊娠 6 日から妊娠 21 日に母動物の体重増加抑制がみられ（それぞれ-14%および-8%：以下，対照群との比較），妊娠 6 日から妊娠 18 日に認

められた有意な摂餌量減少（-6%）を伴っていた。300 mg/kg/日では，有意な胎児体重の低値（-5%：雌雄合算平均），100 mg/kg/日以上では頸肋の発現率上昇（300 mg/kg/日では統計学的に有意差あり）がみられたが，骨化部が小さく，またラットでよくみられる骨格変異で脊椎成熟に伴いそれに吸収されることが知られていることから[1]，毒性学的意義の乏しい変化であると考えた。母動物の一般状態，剖検，妊娠子宮重量，黄体数，着床部位，胎盤（サイズ，色，形），生存胎児数，死亡胎児数，早期および後期の吸収胚数ならびに胎児の外表および内臓観察ではパルボシクリブと関連する変化は認められなかった。

300 mg/kg/日では，母動物の体重増加抑制および摂餌量の減少ならびに胎児体重の低値が認められたことから，母動物に対する無毒性量および胚・胎児発生に対する無毒性量はいずれも 100 mg/kg/日（C_{max}：278 ng/mL，AUC_{24}：2960 ng•h/mL，妊娠 17 日）であると考えられた。

6.2.2.2. ウサギを用いた試験

報告書番号 20039575（[redacted]GR063），概要表 2.6.7.13B

New Zealand White ウサギ（雌 20 匹/群）にパルボシクリブを 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），2，10 または 20 mg/kg/日の用量で，妊娠 7 日から妊娠 19 日まで 1 日 1 回強制経口投与し，器官形成期における母体毒性および胚・胎児発生に関する影響を評価した。投与量は，ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験（報告書番号 20036582）での忍容性および 20 mg/kg/日で予想された母動物毒性に基づき設定した。すなわち，30 mg/kg/日で死亡（1 例）に加え，生存動物での軽微な体重抑制および摂餌量の減少が認められたことから，本試験の高用量を 20 mg/kg/日とし，以下 10 mg/kg/日，2 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。母動物の生存率，一般状態観察，体重，摂餌量測定を実施した。全ての生存動物を妊娠 21 日に帝王切開して，黄体数，着床部位，胎盤（サイズ，色，形），生存胎児数，死亡胎児数，早期および後期の吸収胚数を記録し，妊娠子宮重量測定および剖検を実施した。得られた胎児について，性別，体重，外表，内臓および骨格の異常を記録した。これとは別に，溶媒対照群に 3 匹およびパルボシクリブ投与群に 5 匹/群を加え，妊娠 19 日における血漿中パルボシクリブ濃度を測定した。

20 mg/kg/日では，妊娠 7 日から妊娠 20 日に母動物の体重増加抑制がみられ（-24%：以下，対照群との比較），妊娠 7 日から妊娠 20 日に認められた母動物の絶対および相対摂餌量（体重比）の減少（それぞれ-12%および-11%）を伴っていた。骨格検査では，20 mg/kg/日に認められた低頻度ながら有意な前肢指骨の短縮（2 組の同腹子のうち 3 例，うち 1 例は外表検査で短指が認められた）が認められた。さらに，10 mg/kg/日および 20 mg/kg/日では，胎児の 13 肋骨の発現率がわずかに上昇し，対照群の発現率 52%に対し，それぞれ 68%および 82%（20 mg/kg/日では統計学的に有意）の発現率で認められたが，13 肋骨はウサギで最もよくみられる骨格変異の 1 つであり[2]，軸骨格のほかの変異を併発していないことから，毒性学的意義の乏しい変化であると考えた。

20 mg/kg/日では，母動物に体重増加抑制および摂餌量減少ならびに低頻度の胎児前肢指骨の短縮が認められたことから，母動物に対する無毒性量および胚・胎児発生に対する無毒性量はいずれも 10 mg/kg/日（C_{max}：1280 ng/mL，　AUC_{24}：7460 ng•h/mL，妊娠 19 日）と考えられた。

6.3. 出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験

報告書番号 20084675（[redacted]GR387），概要表 2.6.7.14

Sprague Dawley ラット（雌 22 匹/群）にパルボシクリブを 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），30，100 および 300 mg/kg/日の用量で，妊娠 6 日から授乳 20 日まで，1 日 1 回，強制経口投与した。投与用量は，ラットを用いた雌ラットの受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験および胚・胎児発生に関する試験（報告書番号 20036581，20039574 および 20037853）の成績に基づいて設定した。すなわち，雌ラットの受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験では 300 mg/kg/日で一過性の体重増加抑制がみられ，胚・胎児発生に関する試験では 300 mg/kg/日で母動物の体重増加抑制，摂餌量減少および胎児体重の低値がみられたことから，本試験においても高用量を 300 mg/kg/日とし，以下 100 mg/kg/日，30 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。母動物（F_0）については，死亡・一般状態の観察，体重・摂餌量の測定，分娩・授乳・母性行動の観察を実施した。母動物を自然分娩させ，離乳時（授乳 21 日）まで観察し，剖検した。離乳時にその後の検査に供する F_1 出生児（1 匹/性/腹）を選択し，死亡・一般状態の観察，体重・摂餌量の測定，性成熟判定，機能行動検査（自発運動量，モリス水迷路および音響驚愕反応によって評価）および剖検を実施した。性成熟した F_1 出世児を同居させ，生殖機能を評価した。

母動物では，パルボシクリブに関連した死亡発生，一般症状および剖検所見はみられなかった。300 mg/kg/日で体重増加量の減少（対照群の 0.80 倍）が妊娠 6～20 日に，体重抑制（対照群の 0.93 倍）が妊娠 20 日に，摂餌量の減少（対照群の 0.89 倍）が妊娠 6～21 日に認められ，いずれもパルボシクリブによる変化と考えられた。100 mg/kg/日でも体重増加量の減少が妊娠 6～9 日に認められたが，一時的な変化で，体重自体への影響はみられなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と考えた。その他には母動物に対するパルボシクリブによる影響は妊娠期間，授乳期間を通してみられず，自然分娩パラメータに対する影響も認められなかった。F_1 出生児では，哺育期間中の一般状態には異常はみられなかった。300 mg/kg/日では哺育期間中に体重抑制が散見されたが，極めて軽微な変化で，哺育期間終了時には回復傾向がみられ，離乳後の体重への影響は認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と考えた。離乳後の一般状態，体重，摂餌量，性成熟，機能行動パラメータ，生殖能，剖検所見にはパルボシクリブによる影響は認められなかった。

以上の成績より，母動物では 300 mg/kg/日で妊娠期間中に体重抑制，体重増加量および摂餌量の減少が認められたことから，母動物の一般毒性に関する無毒性量は 100 mg/kg/日，生殖能に関する無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられた。また，出生児では 300 mg/kg/日でもパルボシクリブによる影響がみられなかったことから，次世代の発生に関する無毒性量は 300 mg/kg/日と考えられた。

7. 局所刺激性試験

参考資料 [redacted]LJ094，概要表 2.6.7.16

ヒトの薬物動態試験で静脈内投与する際に必要な局所忍容性に関する情報を得るために，静脈内投与用製剤を用いてパルボシクリブの局所刺激性を検討した。生理食塩液（0.9%NaCl），50 µg/mL パルボシクリブ静脈内投与用製剤またはその溶媒［1 mmol/L クエン酸緩衝液，5.0% w/v マンニトール（pH 4.0～4.2）］を，New Zealand White ウサギ（雌 4 匹/群）の耳介静脈内（1 mL）または血管周囲（0.05 mL）に単回投与して，血管組織への局所刺激性を評価した。投与部位における刺激性スコア（発赤，腫脹，肥厚，変色，滲出および痛み）を評価し，一般状態観察を毎日行った。試験 4 日に安楽殺して耳介を採取し，投与部位およびその周辺部位（投与部位の近傍 1～2 cm）について病理組織学的検査を実施した。

耳介静脈内または血管周囲に単回投与したところ，50 µg/mL パルボシクリブ製剤およびその溶媒の忍容性は良好であった。認められた組織刺激性は発赤および変色に限られており，生理食塩液群，溶媒対照群およびパルボシクリブ投与群でほとんど差はみられなかった。パルボシクリブ投与群の 2 例では，投与 2～4 日の血管周囲の変色スコアがわずかに高かった（軽度または中等度，生理食塩液群では軽微から軽度）が，関連する病理組織学的変化に差は認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化であると考えられた。生理食塩液群，溶媒対照群およびパルボシクリブ投与群のいずれにおいても，静脈内および血管周囲の投与部位ならびに周囲組織における病理組織学的変化に差は認められなかった。

以上，ウサギの耳の静脈内または血管周囲に 50 µg/mL パルボシクリブ製剤またはその溶媒を投与しても，検討した用量において局所刺激性は認められなかった。

8. その他の毒性試験

8.1. 骨髄抑制メカニズム

参考資料 [redacted]LJ125，概要表 2.6.7.17A

パルボシクリブによる骨髄抑制メカニズムを検討するために，ヒト細胞を用いた一連の in vitro 試験を実施した。

あらゆる系統の血液細胞に分化する CD34 陽性ヒト造血幹細胞を，種々のサイトカインによる刺激のもとパルボシクリブ（0.004 µmol/L～30.0 µmol/L）で 5 日間処理し，パルボシクリブが各系統の血液細胞への分化に与える影響を評価した。その結果，赤芽球系，顆粒球系および巨核球系の血液細胞のパルボシクリブ濃度-細胞生存曲線はいずれも重複しており，パルボシクリブによる明らかな細胞系統特異的な影響は認められなかった。

ヒト骨髄単核球細胞（hBMNC）をパルボシクリブ（0.003 µmol/L～3 µmol/L）で 5 日間処理し，細胞増殖，アポトーシス，細胞老化または DNA 損傷への影響を評価し，細胞傷害性抗がん剤［パクリタキセル（0.001～1 µmol/L），ドキソルビシン（0.003 µmol/L～1 µmol/L）およびカルボプラチン（0.1 µmol/L～30 µmol/L）］による hBMNC への影響と比較した。同様に，MCF-7 乳がん細胞をパルボシクリブまたは細胞障害性抗がん剤で処理し，骨髄細胞に対する影響との違いを評価した。細胞増殖，アポトーシス，細胞老化および DNA 損傷は，それぞれ 5-ethynyl-2’-deoxyuridine（EdU）取り込み，カスパーゼ 3/7 活性，senescence-associated-β-galactosidase（SA-β-gal）および γ-H2AX リン酸化を指標とした。また，パルボシクリブで処理された hBMNC について，フローサイトメーターを用いた細胞周期解析を行い，各細胞周期（G1 期，S 期，G2/M 期または死細胞）の比率を求めた。さらに，パルボシクリブまたは細胞障害性抗がん剤で hBMNC を処理した後に 4 日間の休薬期間を設け，骨髄抑制の回復性（細胞生存への影響）を評価した。その結果，hBMNC をパルボシクリブで処理した場合，アポトーシス，細胞老化または DNA 損傷を伴わない濃度依存的な細胞増殖阻害（≥0.1 µmol/L）ならびに完全な回復性が認められた。細胞周期解析では，G1 期における細胞周期停止による濃度依存的な G1 期細胞の増加ならびに S 期および G2/M 期細胞の減少が認められた。hBMNC を細胞傷害性抗がん剤で処理したところ，濃度依存的に細胞増殖が阻害され，細胞老化はほとんど認められなかった。しかしながら，パルボシクリブとは異なり，用量依存的なアポトーシス増加（溶媒対照群の 2 倍～3.5 倍）および DNA 損傷が認められ，休薬後の回復性は限定的であった。一方，MCF-7 乳癌細胞では，パルボシクリブおよび細胞傷害性抗がん剤処理により，いずれも濃度依存的な細胞増殖阻害，および有意で濃度依存的な細胞老化の増加が認められ，パクリタキセルでのみアポトーシスの軽微な誘発（この癌細胞ではアポトーシス促進性のシグナル経路が欠如していることに一致[3]）もみられた。

hBMNC および MCF-7 乳がん細胞をパルボシクリブ（0.003 µmol/L～1 µmol/L）単独または抗エストロゲン剤であるフルベストラント（30 nmol/L～300 nmol/L）との併用で 7 日間処理し，細胞生存および細胞老化の程度を評価した。また，パルボシクリブまたはパルボシクリブとフルベストラントの併用で hBMNC を処理した後に，5 日間の休薬期間またはフルベストラント単独処理期間を設け，細胞生存への影響の回復性を評価した。その結果，フルベストラントとパルボシクリブの併用による hBMNC に対する細胞生存への影響はパルボシクリブ単剤と同程度で，細胞老化は伴わず，5 日間の休薬期間またはフルベストラント単独処理期間により骨髄抑制は完全に回復した。一方，MCF-7 乳癌細胞をパルボシクリブおよびフルベストラントの併用で処理したとこ

ろ，相加的な細胞生存の低下および細胞老化の増加が認められた。5 日間の休薬後，MCF-7 細胞は部分的に再増殖したが，併用処理の後 5 日間フルベストラント単独で処理を継続した細胞では，ほとんど回復性は認められなかった。

8.2. 糖代謝異常の検討

ラット（投与開始時約 6～8 週齢）を用いた重要な毒性試験において，15 週間または 27 週間の間欠投与により糖代謝異常が認められた。膵臓の増殖状態と糖代謝異常の発症との関連性を評価するため，糖代謝異常が認められたラットと同様の週齢の若齢ラット（投与開始時約 7～9 週齢）および加齢雄ラット（投与開始時約 12 ヵ月齢）を用いた探索的毒性試験を実施した。

8.2.1. 若齢ラットを用いた 15 週間投与探索毒性試験

参考資料 [redacted]LJ122，概要表 2.6.7.17B

若齢 Sprague Dawley ラット（7～9 週齢，雌雄 20 匹/群：溶媒対照，雌雄 40 匹/群：パルボシクリブ投与群）の雄にパルボシクリブを 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），10 または 100 mg/kg/日，雌に 0（溶媒対照）または 300 mg/kg/日の用量で最長 15 週間投与（3 週間反復経口投与して 1 週間休薬，計 4 サイクル）して，パルボシクリブによる糖代謝異常の発症の特性を評価した。各群を 4 つのグループ（雌雄 5 匹/群：溶媒対照，雌雄 10 匹/群：パルボシクリブ投与群）に分け，それぞれ試験 2 日ならびに投与第 1，第 2 および第 4 サイクル終了後（試験 22 日，試験 50 日および試験 106 日）に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，摂水量測定，経口ブドウ糖負荷試験（OGTT），糖代謝に関連するバイオマーカー測定／血液生化学的検査，尿検査，尿化学検査，遺伝子発現検査（肝臓），免疫組織化学染色／病理組織学的検査および膵臓の超微細構造評価を実施した。

本試験でパルボシクリブに関連する死亡は認められず，パルボシクリブは概して良好な忍容性を示した。100 mg/kg/日の雄の最終体重は対照群に比し 15%低かった。100 mg/kg/日の雄および 300 mg/kg/日の雌では対照群に比し有意な一過性の摂餌量減少がみられた。

肝臓での糖新生に関与する遺伝子の発現について，100 mg/kg/日の雄では FOXO1，PEPCK および G6P（試験 2 日のみ），300 mg/kg/日の雌では PGC1α（試験 2 日および試験 22 日）および FOXO1（試験 50 日のみ）の有意な発現上昇が認められたが，急性もしくは散発性であり，糖新生を誘導するには変化の程度も小さいことから，生物学的意義のある変化ではないと考えられた。

各サイクルにおける 3 週間の投与後に実施した OGTT では，100 mg/kg/日の雄で血清グルコースの軽微な上昇およびグルコース AUC の高値傾向（時に統計学的に有意）が認められたが，これは 15 週間の試験期間中に進行しなかった。10 mg/kg/日の雄では第 4 サイクル後に，グルコース AUC の有意な上昇が認められたが，これは対照群の値が著しく低かったためであり，生物学的に意義のある変化ではないと考えられた。

糖代謝に関連するバイオマーカー／血液生化学的検査（血清グルコース，インスリン，グルカゴン，C-ペプチド，フルクトサミン，コルチコステロンおよび HbA1c）では，パルボシクリブに関連した変化は認められなかった。尿検査では，100 mg/kg/日の雄で尿糖，尿タンパクまたは尿比重の軽微な高値ならびに 10 mg/kg/日以上の雄および 300 mg/kg/日の雌で摂水量の軽微な増加を伴う尿量の軽微な高値が試験 2 日以降に認められ，非進行性の腎尿細管機能への影響と一致していた。

病理組織学的検査では，3 週間の投与後に 100 mg/kg/日の雄で軽微な膵島細胞の空胞化および膵島細胞好酸性封入体が認められ，15 週間試験終了時までに発現率は上昇したものの重篤度は軽微なままであり，それぞれ超微細構造的所見である粗面小胞体（RER）の拡張および核内または細胞質内封入体と関連していた。100 mg/kg/日の雄で膵島の線維化/出血が 7 週間の投与後（試験 50 日，軽微）にみられ，15 週間の投与後（試験 106 日，軽微～軽度）にはその頻度および程度が上昇した。さらに 15 週間の投与後に 100 mg/kg/日の雄 1 例の肝臓で軽微な類洞内色素（鉄を含む）が認められた。細胞増殖マーカーである Ki-67 の免疫組織化学染色では，3 週間以上の投与により，100 mg/kg/日の雄および 300 mg/kg/日の雌で膵臓における Ki-67 染色陽性細胞の減少が認められ，試験が進行するに従い染色陽性細胞はさらに減少した。また，膵臓β細胞のインスリン/Ki-67 染色陽性細胞および眼（脈絡膜および毛様体の間質細胞）の Ki-67 染色陽性細胞の減少は用量依存的で非進行性であり，10 mg/kg/日以上の雄および 300 mg/kg/日の雌（膵臓のみ）で認められた。3 週間の投与後に 10 mg/kg/日以上の雄で用量依存的で非進行性の膵島β細胞サイズの高値が認められたが，これは 15 週間の試験期間中に進行しなかった。このパラメータは算出値（β細胞面積/核数）で，実際の膵島β細胞サイズ以外の要因の影響を受ける可能性があり，また関連する病理組織学的変化も伴わない（100 mg/kg/日の雄でみられた膵島細胞の空胞化および膵島細胞好酸性封入体は，広範囲にみられず，その程度も軽微であったため膵島β細胞サイズに影響しないと考えられた）ことから，この所見とパルボシクリブ投与との関連性については不明である。3 週間の投与後に 100 mg/kg/日の雄でα/β細胞比の軽微な上昇が認められたが，統計学的な有意差は認められなかったことから，膵島細胞の分類における測定誤差の範囲であると考えられ，生物学的意義は乏しいと考えられた。

以上，OGTT による血清グルコース上昇および膵臓における軽微な病理組織学的変化が認められ，非進行性で軽微な糖代謝異常が示唆されたものの，パルボシクリブに関連した臨床病理・バイオマーカーパラメータ（投与終了後の血清グルコース，インスリン，C-ペプチド，フルクトサミン，HbA1c など）の変化および眼の病理組織学的変化（白内障または水晶体変性）は認められず，本試験では生物学的意義のある糖代謝異常はみられなかった。

8.2.2. 加齢ラットを用いた 27 週間投与探索毒性試験

参考資料 [redacted]LJ143，概要表 2.6.7.17C

加齢 Sprague Dawley ラット（約 12 ヵ月齢）にパルボシクリブを 0（溶媒対照：0.5%メチルセルロース），10 または 100 mg/kg/日の用量で 27 週間投与（3 週間反復経口投与して 1 週間休薬，計 7 サイクル，雄 16 匹/群），または 0 または 100 mg/kg/日の用量で同様に 15 週間投与（計 4 サイクル，雄 10 匹/群）して，パルボシクリブによる糖代謝異常の発症の特性を評価した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，摂水量測定，眼科学的検査，血液学的検査（ヘモグロビン A1c［HbA1c］），OGTT，糖代謝に関連するバイオマーカー測定／血液生化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検，免疫組織化学染色（膵臓，眼）／病理組織学的検査，遺伝子発現検査（肝臓）および超微細構造評価（膵臓および副腎皮質）を実施した。また，試験 8 および 49 日に 27 週間間欠投与群（3~4 例/群）の血清中パルボシクリブ濃度を測定した。

対照群の 2 例が試験 15 または 46 日に死亡し，死因は投与過誤と考えられた。その他に対照群の 3 例および 100 mg/kg/日の 2 例が試験 9~102 日の間に死亡発見あるいは瀕死状態のため安楽殺されたが，一般状態，体重変化，剖検および病理組織学的検査によっても死因を明らかにできなかっ

た。パルボシクリブ投与に関連した一般状態の変化として，100 mg/kg/日で切歯の変色（白色）が第 2 サイクルの試験 43 日以降みられた。その他に，30 mg/kg/日以上で皮膚の痛み，痂皮形成，30 mg/kg/日で無形便（対照の 1/16 例に対して 6/16 例）がみられた。100 mg/kg/日では体重は対照に比し 11%低値となった。

OGTT を実施した 5 日のうち 3 日（試験 46，74 および 130 日）ではグルコース投与後 15 分に，100 mg/kg/日で軽微ながら統計的に有意なインスリンの高値が認められた（対照群の 1.4~2.0 倍）が，残りの 2 日（試験 18 および 186 日）には変化はみられなかった。また，OGTT のいずれの評価時点においても，パルボシクリブと関連する血清グルコースの変化は認められなかった。臨床病理パラメータおよびバイオマーカー（インスリン，グルコース，C-ペプチド，HbA1c など），病理組織学的所見ならびに血清インスリンの高値は試験期間中に進行せず尿検査値とも関連しなかったため，毒性学的意義のある変化とは考えなかった。肝臓の遺伝子発現検査では 27 週間投与の 100 mg/kg/日で PEPCK の発現を有意に低下させたが，その他の遺伝子発現（PGC1α, FOXO1 および G6Pase）には 15 および 27 週間投与とも変化はみられず，糖新生の増加は示唆されなかった。27 週間投与の 100 mg/kg/日で脾臓および精巣重量の減少（絶対および相対重量が対照の 0.7~0.9 倍）が認められた。15 または 27 週間投与により，100 mg/kg/日で認められた切歯の変色（白色）と関連して，30 mg/kg/日以上で切歯の病理学的所見（エナメル芽細胞の変性・壊死，好中球性炎症または色素が沈着したマクロファージの浸潤）が認められた。27 週間投与の 100 mg/kg/日では肝細胞空胞化の頻度が増加した。膵臓，眼または腎臓には病理組織学的変化は認められなかった。Ki-67 免疫組織化学染色では，溶媒対照の膵島細胞およびインスリン染色膵島細胞の染色性は概して非常に低かったが，パルボシクリブ投与群では Ki-67 の染色は認められなかったことから，膵島細胞の増殖はなかったことが示唆された。眼の水晶体嚢細胞ではパルボシクリブと関連する Ki-67 染色の変化は認められなかった。15 週間投与の 100 mg/kg/日で，また 27 週間投与の 30 mg/kg/日以上で，膵島β細胞サイズの高値が認められたが，関連する病理組織学的所見はみられなかった。若齢ラットを用いた 15 週間経時変化試験の結果と同様に，このパラメータは算出値（β細胞面積/核数）であり，β細胞の実際のサイズ以外の要因の影響を受ける可能性があるため，この所見の生物学的意義は不明である。15 週間または 27 週間投与したとき，α/β細胞数の比およびα/β細胞の面積の比率にパルボシクリブと関連する変化はみられなかった。以上のように，加齢ラットにパルボシクリブを 100 mg/kg/日までの用量で最長 27 週間間欠投与したとき，糖代謝に生物学的意義のある変化は認められず，この用量における C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ，2270 ng/mL，36400 ng•h/mL であった。

8.3. In Vitro 光毒性試験

参考資料 [redacted]SAN-07_3，概要表 2.6.7.17A

355 nm（UVA 領域）においてパルボシクリブは pH 7.4 でモル吸光係数 16751 L $mol^{-1}cm^{-1}$ の吸収を示したことから，3T3 線維芽細胞を用いた in vitro ニュートラルレッド取込み（NRU）試験により，パルボシクリブの光毒性を評価した。Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞（クローン 31）を，パルボシクリブの 0（Earle 平衡塩類溶液に溶解した 1% DMSO），0.061, 0.244, 0.977, 3.906, 15.625, 62.50，250.0 および 1000 µg/mL の濃度で約 1 時間処理した後，5 J/cm^2 の UVA を照射した。細胞生存率を UVA 照射の 24 時間後に NRU によって求め，非照射の細胞生存率との比率で表した。陽性対照（クロルプロマジン塩酸塩）と陰性対照（ドデシル硫酸ナトリウム）も同様に評価した。UVA 照射の有無による細胞生存率の用量反応性から IC_{50} 値を求め，さらにパルボシクリブの光

毒性を評価するために photo irritation factor（PIF）および mean photo effect（MPE）の値を算出した。

陽性対照であるクロルプロマジン塩酸塩では PIF >5 および MPE >0.15，陰性対照であるドデシル硫酸ナトリウムでは PIF <2 および MPE <0.1 であり，本試験の条件がパルボシクリブの光毒性を評価するために適切であることが確認された。細胞生存率に対するパルボシクリブの IC_{50} 値は，UVA 非照射では 42.18 µmol/L，UVA 照射では 29.46 µmol/L であり，PIF は 1.44，MPE は 0.003 であった。なお，パルボシクリブ未処理の対照細胞およびパルボシクリブ処理の細胞のいずれにおいても，UVA 照射の有無にかかわらず細胞生存率の低下は認められなかった。

以上の結果から，パルボシクリブは光毒性を有する可能性は低いと考えられた。

8.4. 不純物および分解物の毒性評価

原薬の不純物 2 種類（PF-00710042 および PF-00447880）および製剤分解物（PF-06694807）の変異原性を評価した。さらに，PF-00447880 については安全性の確認が必要となる閾値を超える可能性があったことから，染色体異常誘発性および異数性誘発性についても評価した。なお，in vitro 遺伝毒性試験における代謝活性化は，Aroclor 1254 を投与した雄ラットの肝臓 S9 mix の存在下で行った。

なお，2 種類の不純物（PF-00710042 および PF-00447880）は，ラットを用いた 3 週間経口投与毒性試験で用いられたロット（LCD-4245）に含まれており，雌雄ラットの投与に用いられた用量における曝露量は，臨床で曝露される可能性のある不純物の最大値を上回っていた（非結合型 C_{max} および AUC に基づく曝露量比較）。また，分解物（PF-06694807）については，ラット血漿中に代謝物 M26 として検出されており（血漿中放射能濃度の 1.3%）[a]，ラットを用いた反復投与毒性試験で用いられた用量における曝露量は，臨床で曝露される可能性のある不純物の最大値を上回っていた。これらのことから，2 種類の不純物（PF-00710042 および PF-00447880）および製剤分解物（PF-06694807）の一般毒性についてはラットの一般毒性試験で評価されていると考えられた。

8.4.1. PF-00710042

8.4.1.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

参考資料 eAMES20[redacted]-15，概要表 2.6.7.17D

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* pKM101）を用い，代謝活性化系の存在下および非存在下で，PF-00710042 の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。

PF-00710042 の 0.005～5.0 mg/plate の濃度範囲で，各濃度 3 枚のプレートを用いて，代謝活性化系の存在下および非存在下で実施した。インキュベーション後には 0.50 mg/plate 以上の濃度で，

[a] CTD 2.6.4.5.1.1 項

全菌株に不溶性物質が認められた。最高濃度である 5.0 mg/plate では，TA 98，TA 100 および TA 1535 の全プレートに過剰な被験物質の沈殿が認められたため，細胞毒性を評価できなかった。5.0 mg/plate 未満の濃度では，TA 98，TA 100 および TA 1535 に細胞毒性は認められなかった。陰性対照との比較では，代謝活性化系の存在下および非存在下で試験した TA 98，TA 100 および TA 1535 において，PF-00710042 の 0.005 mg/plate～0.15 mg/plate の濃度範囲で復帰突然変異体コロニー数の増加は認められなかった。なお，TA 1537 および WP2 *uvrA* pKM101 は，それぞれ増殖不十分および背景カウント高値のため，これらの菌株のデータを得ることができなかった。

TA 1537 および WP2 *uvrA* pKM101 について，PF-00710042 の 0.005 mg/plate～5.0 mg/plate の濃度範囲で，各濃度 3 枚のプレートを用いて，代謝活性化系の存在下および非存在下で再試験を実施した。インキュベーション後には, 0.5 mg/plate 以上の濃度で, 両菌株に不溶性物質が認められた。最高濃度である 5.0 mg/plate では, 両菌株のプレートに過剰な被験物質の沈殿が認められたため, 細胞毒性を評価できなかった。5.0 mg/plate 未満の濃度では，TA 1537 および WP2 *uvrA* pKM101 に細胞毒性は認められなかった。陰性対照との比較では，代謝活性化系の存在下および非存在下で試験した TA 1537 および WP2 *uvrA* pKM101 において，PF-00710042 の 0.005 mg/plate～0.15 mg/plate の濃度範囲で復帰突然変異体コロニー数の増加は認められなかった。

PF-00710042 は，代謝活性化系の存在下および非存在下で *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* に対して，細胞毒性を示す用量まで塩基対置換型あるいはフレームシフト型の変異原性を示さなかった。

8.4.1.2. PF-00710042 の毒性評価

ラットの 3 週間経口投与毒性試験（報告書番号 745-03731）で用いた原薬ロットに含まれる PF-00710042 の量は 0.19%であった。この試験でみられた精巣毒性に基づき算出した雄ラットにおける最小毒性量（LOAEL）50 mg/kg/日（雌ラットの NOAEL：200 mg/kg/日）での PF-00710042 の量は 0.095 mg/kg/日であり，これはパルボシクリブの 1 日最大投与量を 125 mg，PF-00710042 の規格を 0.4%以下，患者の体重を 50 kg と仮定して算出したヒトへの最大曝露量（MHE）0.010 mg/kg/日の 9.5 倍以上である。このように，これまで得られている非臨床の安全性情報により，PF-00710042 は規格である 0.4%以下において安全性は確認されたものと考えられる。

8.4.2. PF-00447880

8.4.2.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

参考資料 20[redacted]-1QA-GN，概要表 2.6.7.17E

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* pKM101）を用い，代謝活性化系の存在下および非存在下で，PF-00447880 の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。

PF-00447880 の 0.050 mg/plate～5.0 mg/plate の濃度範囲で，各濃度 3 枚のプレートを用いて，代謝活性化系の存在下および非存在下で実施した。インキュベーション後には，0.50 mg/plate 以上の濃度で，全菌株に不溶性物質が認められた。WP2 *uvrA* pKM101 では細胞毒性は認められなかったが，*Salmonella* 菌株では，最高濃度である 5.0 mg/plate において代謝活性化系の存在下および非存在下で全菌株に細胞毒性が認められた。陰性対照との比較では，代謝活性化系の存在下および非

存在下で試験した TA 1535 および WP2 *uvrA* pKM101 ならびに代謝活性化系の存在下で試験した TA 98 において，PF-00447880 の 0.050 mg/plate～1.5 mg/plate または 0.050 mg/plate～5 mg/plate の濃度範囲で復帰突然変異体コロニー数の統計学的に有意な用量依存的な増加は認められなかった。なお，TA 98 では代謝活性化系の非存在下における陽性対照の復帰突然変異体の増加がみられず, TA 100 および TA 1537 では細胞毒性が認められない 3 用量以上の結果が得られなかった。

TA 100 および TA 1537 について，PF-00447880 の 0.0015 mg/plate～0.5 mg/plate の濃度範囲で，各濃度 3 枚のプレートを用いて, 代謝活性化系の存在下および非存在下で再試験を実施した。TA 98 については，PF-00447880 の 0.050 mg/plate～5.0 mg/plate の濃度範囲で，各濃度 3 枚のプレートを用いて，代謝活性化系の非存在下で再試験を実施した。インキュベーション後には，0.15 mg/plate 以上の濃度で，全菌株に不溶性物質が認められた。代謝活性化系の存在下または非存在下において，試験した最高用量（TA 100 および TA 1535 では 0.50 mg/plate，TA 98 では 5.0 mg/plate）で細胞毒性が認められた。陰性対照との比較では，代謝活性化系の存在下および非存在下で試験した TA 100 および TA 1537 ならびに代謝活性化系の非存在下で試験した TA 98 において, PF-00447880 の 0.0015 mg/plate～0.15 mg/plate または 0.050 mg/plate～1.50 mg/plate の濃度範囲で復帰突然変異体コロニー数の統計学的に有意な用量依存的な増加は認められなかった。

PF-00447880 は，代謝活性化系の存在下および非存在下で *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* に対して，細胞毒性を示す用量まで塩基対置換型あるいはフレームシフト型の変異原性を示さなかった。

8.4.2.2. In vitro 小核試験

参考資料 eTK620[redacted]-5，概要表 2.6.7.17F

ヒトリンパ芽球由来 TK6 細胞を用い，PF-00447880 の小核誘発の有無を検討した。S9 mix および補酵素であるニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸からなる代謝活性化系の存在下および非存在下で TK6 細胞を PF-00447880 で 4 時間処理した後, 培養細胞から PF-00447880 を除去し，その後約 40 時間通常培養した（短時間処理法）。これとは別に，代謝活性化系の非存在下で 27 時間 PF-00447880 で連続処理した（連続処理法）。顕微鏡観察により，小核誘発性を評価した。

代謝活性化系の存在下および非存在下において，それぞれ PF-00447880 の 0.41 µmol/L～3.28 µmol/L および 0.82 µmol/L～6.55 µmol/L の濃度範囲で 4 時間処理した。また，代謝活性化系の非存在下において PF-00447880 の 0.2 µmol/L～1.64 µmol/L の濃度範囲で 27 時間処理した。6.55 µmol/L 以上の濃度で，培地に被験物質の沈殿が認められた。代謝活性化系の非存在下において PF-00447880 で 4 時間処理したところ，評価可能な最高濃度である 3.28 µmol/L において 58%（55% ± 10%）[4]の細胞毒性が認められたことから，濃度範囲は至適であると考えられた。代謝活性化系の非存在下で 4 時間処理したものと，その陰性対照（溶媒対照）との比較では，1.64 µmol/L および 0.82 µmol/L において，小核を有する細胞数の増加は認められなかった。代謝活性化系の存在下での 4 時間処理および代謝活性化系の非存在下での 27 時間処理では評価可能な最高濃度（それぞれ 1.64 µmol/L および 0.82 µmol/L）で十分な細胞毒性（55% ± 10%）が得られず，27 時間処理では統計学的有意差はみられなかったものの小核を有する細胞が増加して背景値を上回ったことから，これらの 2 つの条件について再試験を実施した。

代謝活性化系の存在下での 4 時間処理および代謝活性化系の非存在下での 27 時間処理について，それぞれ 1.06 µmol/L～5.05 µmol/L および 0.17 µmol/L～2.07 µmol/L の濃度範囲で再試験を実施した。4 時間処理および 27 時間処理で試験した最高濃度では，それぞれ 55.7%および 66.3%[a]の細胞毒性が認められた（27 時間試験では，1.65 µmol/L においても 49.6%の細胞毒性が認められた）。代謝活性化系の存在下での 4 時間処理では, 2.07 µmol/L において小核を有する細胞が背景値を上回って有意に増加したものの，既存の陰性対照の基準上限を下回っており，評価した全濃度範囲に有意な増加傾向は認められなかった（Cochran-Armitage 傾向検定）。27 時間処理では, 1.65 µmol/L および 2.07 µmol/L で有意な増加が認められ，評価した全濃度範囲に増加傾向が認められた。27 時間処理の 0.17 µmol/L および 0.35 µmol/L では影響はみられなかった。

TK6 細胞を用いた探索的 in vitro 小核試験において，PF-00447880 は 27 時間連続処理により小核を誘発した。

8.4.2.3. 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（FISH）

参考資料 20[redacted]ETK6-5 FISH，概要表 2.6.7.17G

染色体異常誘発性または異数性誘発性のいずれの機序で小核形成が行われているかを検討するため，パルボシクリブで処理したヒトリンパ芽球由来 TK6 細胞を蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（FISH）により評価した。PF-00447880 の in vitro 小核試験（2.6.6.8.4.2.2 項）で，代謝活性化系の非存在下で 27 時間連続処理したところ, 1.65 µmol/L および 2.07 µmol/L において小核を有する細胞の統計的に有意な増加が認められたことから, これらの濃度で TK6 細胞を処理して小核の動原体の有無を FISH により評価した。あらゆるヒト染色体の動原体を標識する汎セントロメア DNA プローブでスライドを染色した。溶媒対照（1% DMSO）および陽性対照である noscapine で処理した細胞を，それぞれ異数性誘発性の陰性対照および陽性（染色）対照とした。陰性対照（溶媒）では，汎セントロメアシグナルの有無について小核 40 個を，また PF-00447880 で処理した細胞および陽性対照では，汎セントロメアシグナルの有無について小核 100 個[b]を評価した。

汎セントロメアシグナルについて，陰性対照で評価した小核 40 個のうち 22 個（55.0%）が染色陽性，18 個（45.0%）が染色陰性であり，2.07 µmol/L の PF-00447880 で評価した小核 88 個のうち 80 個（90.9%）が染色陽性，8 個（9.1%）が染色陰性，1.65 µmol/L の PF-00447880 で評価した小核 75 個のうち 66 個（88.0%）が染色陽性，9 個（12.0%）が染色陰性であった。陰性対照の結果は背景データの範囲内であり，陽性対照での動原体陽性小核の発現率（95.0%）は陰性対照よりも大幅に増加していたことから，試験の妥当性が示された。

PF-00447880 は, 代謝活性化系の非存在下で 27 時間連続処理により動原体陽性の小核を誘発した。

---

[a] 2.07 µmol/L における 66.3%の細胞毒性は，至適濃度の基準からわずかに外れているが，PF-00447880 の細胞毒性は急勾配で上昇することから，本試験の評価に組み入れた。

[b] PF-00447880 処理のプレートにおいて，実際に評価できた小核は 100 個未満であった。

8.4.2.4. PF-00447880 の毒性評価

PF-00447880 は異数性誘発作用を介して小核を誘発することが示唆された。異数性誘発物質の異数性誘発には閾値があることが広く知られているため[5,6,7]，パルボシクリブの in vivo ラット小核試験（報告書番号 745-03731）の結果に基づき，PF-00447880 の異数性誘発の無作用量（NOEL）を算出した。すなわち，PF-00447880 の含有量が 0.94%で小核形成の NOEL が 50 mg/kg/日であったことから，PF-00447880 の NOEL は 0.47 mg/kg/日と算出された。

ラット 15 週間経口投与毒性試験（報告書番号 20026125）で用いた原薬ロットに含まれる PF-00447880 の値は 0.23%であったことから，この試験の NOAEL である 10 mg/kg/日を雄ラット（雌ラットの NOAEL：200 mg/kg/日）に投与した際の PF-00447880 の量は 0.023 mg/kg/日であり，これはパルボシクリブの 1 日最大投与量を 125 mg，PF-00447880 の規格を 0.5%以下，患者の体重を 50 kg と仮定して算出した MHE 0.0125 mg/kg/日の 1.8 倍以上である。また，in vivo 小核試験で算出した PF-00447880 の NOEL は，MHE の 37.6 倍である。以上のように，これまで得られている非臨床の安全性に関する情報により，PF-00447880 は規格である 0.5%以下において安全性は確認されたものと考えられる。

8.4.3. PF-06694807

8.4.3.1. 細菌を用いる復帰変異原性試験

参考資料 eAMES20[redacted]-8，概要表 2.6.7.17H

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* pKM101）を用い，代謝活性化系の存在下および非存在下で，PF-06694807 の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。

PF-06694807 の 0.004 mg/plate～5.0 mg/plate の濃度範囲で，各濃度 3 枚のプレートを用いて，代謝活性化系の存在下および非存在下で実施した。インキュベーション後には，0.4 mg/plate 以上の濃度で，全菌株に不溶性物質が認められた。最高濃度である 5.0 mg/plate では，過剰な沈殿がみられたため，細胞毒性を評価できなかった。1.5 mg/plate 以下の濃度では，代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれの菌株にも細胞毒性は認められなかった。陰性対照との比較では，代謝活性化系の存在下および非存在下で試験したいずれの菌株にも，PF-06694807 の 0.004 mg/plate～1.5 mg/plate の濃度範囲で復帰突然変異体コロニー数の増加は認められなかった。

PF-06694807 は，代謝活性化系の存在下および非存在下で *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* に対して，細胞毒性を示す用量まで塩基対置換型あるいはフレームシフト型の変異原性を示さなかった。

8.4.3.2. PF-06694807 の毒性評価

パルボシクリブの吸収，分布，代謝および排泄（ADME）を評価する試験において，PF-06694807 は雌雄ラットの血漿および糞中に検出され，雌ラットの糞中の PF-06694807 の量は投与量の 0.5%であった。PF-06694807 の毒性については，パルボシクリブのラット毒性試験において代謝物として評価されていると考えられた。ラット 15 週間経口投与毒性試験（報告書番号 20026125）において 200 mg/kg/日（雌の NOAEL）での PF-06694807 の推定総体内負荷量は 1.0 mg/kg/日と算出された。ヒト ADME 試験（A5481011 試験）において，[^{14}C]パルボシクリブ 125 mg を単回経口

投与した結果，糞中の PF-06694807 の量は投与量の 1.3%であった。ヒトの体内で生成される PF-06694807 の量はヒトの体重を 50 kg と仮定したとき 0.0325 mg/kg/日と算出された。

上述のラット毒性試験における NOAEL 投与時のラットの PF-06694807 への曝露量（1.0 mg/kg/日）およびヒト ADME 試験における推奨用量を投与したときのヒトの PF-06694807 への曝露量（0.0325 mg/kg/日）は，パルボシクリブの 1 日最大投与量を 125 mg，PF-06694807 の規格を 0.8%以下，患者の体重を 50 kg と仮定して算出した MHE 0.02 mg/kg/日よりも多い。

以上のように，これまで得られている非臨床の安全性に関する情報，また PF-06694807 はラット及びヒトにおける代謝物であることから，設定する規格「0.8%以下」において PF-06694807 の安全性は確認されたものと考えられる。

8.5. In vitro 血液適合性試験

8.5.1. ウサギ血液を用いた試験

参考資料 [redacted]LJ093，概要表 2.6.7.17A

In vivo ウサギ局所刺激性試験に先立ち，パルボシクリブの血液適合性試験を実施した。50 µg/mL パルボシクリブ静脈内投与製剤およびその溶媒（1 mmol/L クエン酸緩衝液，5.0% w/v マンニトール，pH 4.0～4.2）の溶血性を，New Zealand White ウサギの全血を用い，Dacie の方法[8]の変法により評価した。50 µg/mL パルボシクリブ製剤および溶媒を生理食塩液で 2.5，5，10 および 25%に希釈したものに，5 µL のウサギ全血を加えてインキュベートした。

いずれの割合でも，パルボシクリブ製剤および溶媒で有意な溶血は認められなかった。

以上，50 µg/mL パルボシクリブ製剤および溶媒のいずれにおいても，溶血作用はないと考えられた。

8.5.2. ヒト血液を用いた試験

参考資料 [redacted]LJ095，概要表 2.6.7.17A

ヒトにおける静脈内投与による薬物動態試験に先立ち，パルボシクリブの血液適合性試験を実施した。50 µg/mL パルボシクリブ静脈内投与用製剤およびその溶媒（1 mmol/L クエン酸緩衝液，5.0% w/v マンニトール，pH 4.16）の溶血性を，3 人のドナーから採取したヒト全血を用い，Reed および Yalkowsky の方法[9]で評価した。50 µg/mL パルボシクリブ製剤および溶媒に対して血液を 1：20，1：10，1：6 または 1：4 の割合で混合し，インキュベートした。

いずれの割合でも，パルボシクリブ製剤および溶媒で有意な溶血はみられなかった。パルボシクリブ製剤を 1：6 の割合で血液と混合した場合，溶血率は 2%であったが，用量依存性はみられなかったことから，毒性学的に意義のある変化ではないと考えた。

以上，50 µg/mL パルボシクリブ製剤および溶媒のいずれにおいても，溶血作用はないと考えられた。

9. 考察及び結論

9.1. 標的臓器毒性

パルボシクリブの毒性プロファイルを評価するために一連の非臨床試験（一般毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験，光毒性試験）を実施した結果，パルボシクリブによる主な標的臓器への影響は，ラットおよびイヌで認められたリンパ造血系および雄性生殖器に関連するものであった。その他の標的臓器における所見として，ラットでは糖代謝異常とそれに起因する膵臓，眼，腎臓および脂肪組織への影響ならびに骨および活発に成長する切歯への影響がみられた。このほか，パルボシクリブは胚・胎児発生に関する試験で胎児毒性および遺伝毒性試験で異数性誘発性を示した。パルボシクリブと関連するその他の所見には，多数組織での空胞化ならびに肝臓，腎臓，副腎，消化管，呼吸系および凝固時間（延長）への影響がみられたが，重症度が低いまたは変性を認めないものであった（2.6.6.9.1.9 項）。パルボシクリブの単回投与および反復投与により，体重または摂餌量が用量依存的に減少した。さらに，ラットでは 100 mg/kg/日以上，イヌでは 10 mg/kg/日以上で忍容性不良を示す一般状態の変化がみられ，瀕死状態となった。このときの非結合型 AUC_{24}（それぞれ，3663 ng•h/mL 以上および 10119 ng•h/mL 以上）は，臨床用量における非結合型 AUC_{24} を上回っていた。

パルボシクリブの安全域は，各毒性所見に関する無作用量または最小作用量における非結合型 AUC を 125 mg を 1 日 1 回反復投与したときの臨床曝露量（非結合型 C_{max}：27 ng/mL，非結合型 AUC_{24}：417 ng•h/mL）[a]で除して算出した。血漿蛋白結合率に種差が認められたことから，安全域算出には非結合型の曝露量を利用した。非結合型曝露量の算出には，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトの平均非結合型分率として，それぞれ 0.125，0.0733，0.413 および 0.147 を用いた[b]。

9.1.1. リンパ造血系

ラットおよびイヌにパルボシクリブを最長 39 週間反復投与したとき，骨髄およびリンパ組織への影響が認められた。血液学的変化として，10 mg/kg/日以上を反復投与したラットおよび 0.2 mg/kg/日以上を反復投与したイヌで，赤血球パラメータ（赤血球数・ヘモグロビン・ヘマトクリット），白血球数（好中球数・リンパ球数・単球数・好酸球数・好塩基球数）または網状赤血球数または血小板が用量依存的に減少した。このほか，30 mg/kg 以上を単回投与したイヌでも同様の血液学的変化が認められた。ラットでは，1 週間または 2 週間の投与後に血小板数が減少したが，3 週間以上の投与では血小板数または血小板容積が増加した。これらの変化は骨髄刺激に対する反応性変化と考えられ，骨髄の病理組織学的検査で認められた巨核球の増加と関連していた。ラットおよびイヌにそれぞれ 10 mg/kg/日以上および 0.6 mg/kg/日以上を 3 週間以上反復投与したとき，赤血球数はヘモグロビンおよびヘマトクリットに比して大幅に減少し，それは大球性赤血球の存在ならびに平均赤血球ヘモグロビン量，平均赤血球容積または赤血球分布幅の増加と一致していた。

---

[a] 125 mg を 1 日 1 回投与したときの第 1 サイクルの第 8 日の幾何平均値（A5481010 試験, 2.7.2.3.1.2 項）

[b] CTD 2.6.4.4.3.1 項

ラットまたはイヌの15週間投与毒性試験, 27週間投与毒性試験および39週間投与毒性試験では，各サイクル間に設けた1週間の休薬期間中に骨髄の再生反応が認められた。次の投与サイクル開始までに必ずしも完全な回復性はみられなかったが，試験期間中に血液学的変化の増悪は概してみられなかった。4週間および12週間の休薬期間後には，すべての血液学的変化に回復傾向が認められた。

末梢血の血液学的パラメータの変化と関連する骨髄細胞の減少およびリンパ組織におけるリンパ球の減少がラットおよびイヌで認められた。イヌに最高100 mg/kgを単回漸増投与したとき，骨髄の汎血球減少が認められた。ラットおよびイヌにそれぞれ10 mg/kg/日以上および0.6 mg/kg/日以上を最長39週間反復投与したとき，骨髄の細胞減少が認められ，重症度は用量依存的に高くなった（軽微から重度）。ラットに100 mg/kg/日を27週間投与したとき，雄の骨髄で巨核球の増加（軽微から軽度）が認められた。ラットおよびイヌにそれぞれ10 mg/kg/日以上および0.6 mg/kg/日以上を最長39週間反復投与したとき，脾臓，胸腺，腸間膜リンパ節，膝窩リンパ節，肺径リンパ節または消化管関連リンパ組織に，リンパ球の減少またはリンパ球溶解（リンパ組織の細胞密度低下）が認められ，重症度は用量依存的に高くなり（軽微から重度），また脾臓重量および胸腺重量の減少とも関連していた。雄ラットに100 mg/kg/日を15週間投与したとき, 肝臓，脾臓および骨髄に，赤血球造血の抑制に起因する鉄取り込みの遅延によると考えられる鉄沈着が認められた。イヌに0.6 mg/kg/日以上を3週間投与したとき，胸腺リンパ組織の退縮が増悪したが，より長期の試験では認められなかった。ラットおよびイヌでは，4週間および12週間の休薬期間後に骨髄およびリンパ組織の変化は回復傾向を示した。いずれの試験においても，最大耐量までの投与でみられた血液学的パラメータの変化は重篤ではなく，忍容性は高いと判断されたことから，ラットおよびイヌで認められたリンパ造血系における変化は，それぞれの非結合型AUC_{24}が2663 ng•h/mLおよび954 ng•h/mLまでは毒性学的に意義の乏しい変化であると考えられた。

3種の細胞傷害性抗がん剤（パクリタキセル，ドキソルビシンおよびカルボプラチン）との比較を含むhBMNCのin vitro探索的試験により，パルボシクリブによる骨髄抑制メカニズムが明らかにされた。パルボシクリブは，G1細胞周期停止により，有意なアポトーシス，細胞老化またはDNA損傷を伴わずにhBMNCの増殖を阻害することが示された。パルボシクリブに対するhBMNCの反応とは対照的に，細胞傷害性抗がん剤による細胞生存率の低下は，主にDNA損傷およびアポトーシス経路を介したものと考えられた。これに一致して，パルボシクリブによるhBMNC増殖阻害は，パルボシクリブ除去後4日以内に完全な回復性を示したが，細胞傷害性抗がん剤によるhBMNC増殖阻害について休薬期間内に認められた回復性は軽微であった。抗エストロゲン剤であるフルベストラントと併用した場合，hBMNCの細胞生存率，細胞老化および回復性（5日間の休薬期間中）に及ぼす影響に，パルボシクリブ単独処理した場合との差異は認められなかった。この探索試験の結果から，パルボシクリブでは，従来の細胞傷害性抗がん剤より優れた血液学的安全性プロファイルが期待される。

パルボシクリブが誘発した骨髄の汎血球減少およびリンパ組織におけるリンパ球減少は，細胞周期が進行している細胞を標的とするパルボシクリブの薬理作用によるものと考えられる。サイトカインで前処理したヒト骨髄CD34+造血幹細胞を用いたin vitro探索試験において，パルボシクリブによる赤芽球，顆粒球または巨核球分化に対する細胞系統特異的な影響は認められず，これはラットおよびイヌで認められた汎血球減少反応と同様の変化と考えられた。CDKおよび関連

細胞周期調節蛋白質は骨髄前駆細胞内に存在していることが確認されており，造血の調節に関与しているものと考えられている[10,11]。また， CDK 阻害薬 flavopiridol についてもマウスを用いた試験で白血球パラメータの減少ならびに脾臓，胸腺およびリンパ節でのリンパ球減少が認められている[12]。このように，in vitro で認められたパルボシクリブによる hBMNC の細胞周期停止，イヌを用いた 2 週間投与毒性試験の骨髄検査で認められた巨赤芽球，ならびにラットおよびイヌを用いた反復投与毒性試験で認められた大球性赤血球は，いずれもパルボシクリブの薬理作用（CDK4/6 阻害）に基づくものと考えられる。

9.1.2. 雄性生殖器

ラットおよびイヌにパルボシクリブを 3 週間以上反復投与したとき，雄性生殖器（精巣，精巣上体，前立腺および精嚢）への影響が認められた。最長 39 週間の試験では，30 mg/kg/日以上のラットおよび 0.2 mg/kg/日以上のイヌで，精細管上皮の変性（精巣変性）が認められた。この変化は，精子形成上皮における変性精子細胞数または変性精母細胞数の増加，精子細胞数および精母細胞数の減少もしくはセルトリ細胞の空胞化を特徴としていた。また脱落した生殖細胞の増加（ラットを用いた 3 週間投与試験のみ），精巣上体管の萎縮，精巣上体の精液減少または管腔内壊死細胞片も認められ，精巣変性に伴う二次的変化であると考えられた。精巣および精巣上体における所見の発現率および重症度は用量依存的であり，概して精巣重量および精巣上体重量の減少と関連していた。また，ラットの 3 週間投与試験および 15 週間投与試験でも，前立腺における軽微から軽度の萎縮または容積減少と関連する重量低下が認められたが，可逆的であった。ラット 27 週間投与試験では，30 mg/kg/日以上の雄で精巣および精巣上体の変化に伴った中等度からやや重度の精嚢分泌物の減少が認められた。また，ラットの 27 週間投与試験では，瀕死状態となり安楽殺した 100 mg/kg/日の雄で前立腺の分泌物減少（やや重度）および変性・壊死（軽微）が認められた。雄性生殖器への影響は，ラットに 10 mg/kg/日を 27 週間投与したときには認められなかったが（非結合型 AUC_{24}：750 ng•h/mL），イヌに 0.2 mg/kg/日（検討した最低用量）を 39 週間投与したときには認められた（非結合型 AUC_{24}：40 ng•h/mL）。ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24} は 417 ng•h/mL であることから，雄性生殖器に対する無作用量は治療用量を下回ると考えられた。なお，動物における本薬の雄性生殖器に対する影響については，添付文書で注意喚起している。

ラットおよびイヌの 3 週間投与試験では，4 週間の休薬後に精巣への影響の増悪が示唆されたが，ラットの 27 週間投与試験およびイヌの 39 週間投与試験で 12 週間休薬したところ，雄性生殖器の所見に回復性が認められた（ラットの 15 週間投与試験でも，4 週間の休薬後に回復傾向がみられている）。精原細胞の成熟には 7～8 週間を要するため[13]，3 週間の投与期間中に受けた影響がすべて顕在化するには，投与期間終了後約 4～5 週間かかることから，3 週間投与試験でみられた精巣変性の増悪は，精子形成周期による自然な進行によるものと考えられた。このように 3 週間投与試験では，投与期間終了時と比較して休薬後に強度の精子細胞欠損を示す動物がみられたものと考えられる。

生殖細胞の細胞周期は速やかに連続して進行することから，パルボシクリブによる精巣変性は，CDK 阻害および細胞周期動態の変化と関連していると考えられる。正常なヒト精原細胞では CDK4 の発現が認められており[14]，また CDK が関与する経路が精子形成に何らかの役割を果たしていると考えられている[15]。

雄ラットを用いた受胎能評価において，反復投与毒性試験で認められた雄性生殖器の所見と一致して，30 mg/kg/日以上の 15 週間の投与により精巣への影響および精巣上体への二次的影響が認められた。精巣に対する影響は，精巣上体における軽微から中等度の壊死細胞片の増加および軽微からやや重度の精液減少に関連する軽微からやや重度の精細管上皮の変性を特徴とし，これらの変化は 100 mg/kg/日における精巣および精巣上体重量の減少と関連していた。100 mg/kg/日における精巣および精巣上体への影響は，精子運動性の低下，精巣上体尾部の精子濃度および精巣の精子細胞密度の低下とも関連していた。これらの精巣および精巣上体への影響を除いて，雄の交尾行動および受胎能ならびに交配した無処置の雌の生殖器系（卵巣および子宮パラメータ，胚生存率）に対する影響は，いずれの用量においても認められなかった。雄の生殖器に関する無毒性量は 10 mg/kg/日と考えられた（投与後 4 時間の血漿中濃度：360 ng/mL，試験 12 日）。

9.1.3. 骨

ラット 27 週間投与試験では，骨への影響が認められた。10 mg/kg/日以上の雄の大腿骨で軽度から中等度の骨梁の減少がみられ，これは骨端軟骨の厚さの減少，一次海綿骨および二次海綿骨の減少または部分的な消失もしくは骨幹端内の骨梁の減少を特徴としていた。10 mg/kg/日以上でみられた大腿骨における軽度から重度の骨梁減少は，回復性が認められなかった。ラット 27 週間投与試験において，雌では最高用量である 300 mg/kg/日においても骨への影響は認められず，その曝露量は 10 mg/kg/日の雄の曝露量の約 2 倍程度であった。骨芽細胞および破骨細胞の機能に対する CDK4/6 の役割を示唆する報告があること[16]，またパルボシクリブでヒト破骨細胞を培養したときに破骨細胞形成の減少がみられたことから[17]，骨への影響は薬理作用に起因するものと考えられる。

最低用量である 10 mg/kg/日で大腿骨の骨梁減少がみられたことから，雄ラットでは骨への影響に対する無毒性量は得られなかった。10 mg/kg/日における非結合型 AUC_{24}（750 ng•h/mL）は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の約 1.8 倍であった。最長 39 週間のイヌを用いた試験では，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの 2.3 倍［非結合型 AUC_{24}（954 ng•h/mL）］の曝露量においても骨への影響は認められなかった。二次海綿骨への影響が一次海綿骨の減少に起因するのか，あるいは直接作用によるものなのかは明らかにされていないため，成長期を過ぎたヒト成人に対するリスクは不明である。

9.1.4. 糖代謝異常，膵臓毒性および二次的影響との関連

9.1.4.1. 若齢ラットにおける糖代謝異常

若齢ラットにパルボシクリブを 15 週間および 27 週間投与したとき，糖代謝異常として高血糖および尿糖の増加が認められた。ラットを用いたパルボシクリブの 15 週間投与試験では，100 mg/kg/日の雄 10 例中 3 例で尿糖（100 mg/dL～1000 mg/dL）が認められ，これらの動物の血清グルコース濃度（253，199 および 233 mg/dL）は対照群の値の上限（180 mg/dL）を超えていた。若齢ラットを用いた 15 週間投与探索毒性試験では，100 mg/kg/日（雄）で経口糖負荷試験（OGTT）による軽微で非進行性の糖代謝異常がみられた。ラットを用いた 27 週間投与試験では，30 mg/kg/日以上の雄で尿糖（250 mg/dL～1000 mg/dL 以上）発現率の上昇が用量依存的に認められ，さらに 50 mg/kg/日の雌 1 例にも尿糖（1000 mg/dL 以上）が確認された。30 mg/kg/日以上の雄および 50 mg/kg/日の雌 1 例では，尿糖とともに血清グルコースの上昇［対照値の上限（137 mg/dL）と比較］を示す例もあった。本毒性試験では，計画屠殺前に 17 時間かけて採取した尿試料を用い

て定性検査（尿試験紙）で尿糖を測定していることから，血糖値のように短期変動に左右された可能性は低いと考えられ，これは 27 週間投与試験の結果からも裏づけられている。このため，これらの試験での動物の糖代謝に関する評価においては，尿糖が信頼性の高いバイオマーカーであると考えられ，血糖値に比して感度も高かった。ラットを用いた 15 週間投与試験では，4 週間の休薬後に尿糖は認められなかったが，対照値の上限（189 mg/dL）を超える血清グルコースの上昇（205 mg/dL）が 1 例にみられた。また，ラットを用いた 27 週間投与試験では，12 週間の休薬後に 30 mg/kg/日の雄 5 例中 1 例および 100 mg/kg/日の雄 5 例中 3 例で尿糖または血糖値上昇が認められ，回復性はみられなかった。若齢ラットを用いた 15 週間投与投与探索毒性試験では，第 1 サイクル終了後に僅かに高値の尿糖（70 mg/dL 未満）がみられ，尿タンパクおよび尿比重が高かったが，血清グルコースの値は高くなかった。

ラット 27 週間投与試験では 50 mg/kg/日（雌の最低用量）の雌で糖代謝異常が認められたことから，糖代謝異常に対する無作用量は得られなかった。最低用量における非結合型 AUC_{24}（331 ng•hr/mL）は，臨床推奨用量である 125 mg 1 日 1 回投与におけるヒトの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）をやや下回った。イヌに最高 3 mg/kg/日を最長 39 週間投与した試験では，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの 2.3 倍［非結合型 AUC_{24}（954 ng•h/mL）］の曝露量で糖代謝異常は認められなかった。

CDK4 およびサイクリン D1 が糖代謝恒常性の制御因子として重要である[18,19]ことから，糖代謝異常は薬理作用に起因したものであると考えられる。若齢ラットの 15 週間投与探索毒性試験（試験 2 日ならびに投与第 1，第 2 および第 4 サイクル終了後）および加齢ラットを用いた 27 週間投与探索毒性試験（第 4 および第 7 サイクル終了後）で糖代謝が変化するときの肝臓の糖新生の関与を調べた。雄ラットでは，肝臓の糖新生に関与する遺伝子の発現が急性の反応を示したが，激しい運動を行ったラットや糖尿病ラットでみられる変化[20,21]に比べて変化は小さかったことから生物学的に意味のある変化だとは考えなかった。雌ラットでは投与第 1 および第 2 サイクル投与後にいくつかの遺伝子が散発性に変化したが，肝臓の糖新生の律速酵素である PEPCK や G6Pase には変化はみられなかった。ラットへのパルボシクリブの慢性投与では評価した遺伝子の発現増加はみられなかったことから，パルボシクリブの反復投与時にみられる糖新生の異常には肝臓の糖新生の増加は関与せず，糖代謝異常が生じるメカニズムは膵臓のβ細胞に対する直接作用による可能性が考えられた。CDK4 のノックアウト動物のデータ[22]およびラットやヒトのβ細胞における CDK4 または CDK6 の細胞質中への発現[23,24]の成績からも，パルボシクリブが膵臓のβ細胞に直接作用することが裏付けられる。加齢ラットを用いた 27 週間投与探索毒性試験では，100 mg/kg/日まで（非結合型 AUC_{24}：4550 ng•h/mL まで）の用量で 15 週または 27 週投与したところ，パルボシクリブによる糖代謝への影響はみられなかったことから，若齢ラットは糖代謝異常の進展に感受性が高いと考えられた。また，この感受性の差はβ細胞の増殖能あるいは生理機能の差によるものと思われる。

9.1.4.2. 若齢ラットにおける膵臓毒性

ラットの 15 週間投与試験，および 27 週間投与試験ならびに若齢ラットの 15 週間投与探索毒性試験（3 週以降）で膵島細胞の空胞化が認められた。空胞性変化は，不均一な大きさの独立した透明な空胞や，均一な淡い好酸性の物質または微細顆粒から硝子様の黄褐色物質を含む空胞を特徴としていた。若齢ラットの 15 週間投与探索毒性試験およびラットの重要な毒性試験の 100 mg/kg/日の雄でみられた空胞化はほとんどが軽微（27 週間投与試験では 3 例が軽度）であり，

若齢ラットの 15 週間投与探索毒性試験ではこの変化とともに軽微な好酸性封入体がみられた。若齢ラットの 15 週間投与探索毒性試験の電子顕微鏡観察では，軽微な膵島細胞の空胞化とともに粗面小胞体（RER）の拡張がみられ，膵島細胞の好酸性封入体がβ細胞の核内または細胞質内に存在した。β細胞数やα細胞/β細胞の比にはパルボシクリブ投与による影響はみられなかった。膵臓におけるこれらの所見は OGTT での軽微な糖代謝異常と関連していたが，血清インスリンや C-ペプチドなどの糖代謝恒常性に関しては意味のある変化はなかった。27 週間投与試験において，30 mg/kg/日以上の雄および 50 mg/kg/日の雌で認められた空胞性変化は軽微から中等度と変化の程度が高くなった。膵臓の画像解析では 100 mg/kg/日の雄でα細胞に対するβ細胞の数や面積の有意な減少がみられた。軽微から中等度の膵島細胞の空胞化およびβ細胞の消失がみられた場合に，尿糖，高血糖，低インスリンまたは C-ペプチドの変化のような糖代謝恒常性の損失が認められた（30 mg/kg/日以上）。膵島細胞の空胞化（免疫組織化学的および超微細構造的にはβ細胞の消失）は 4 週間（15 週間投与試験）の休薬後には発現率が低下し，12 週間（27 週間投与試験）の休薬後には認められなくなったが，27 週間投与試験の 100 mg/kg/日の雄では休薬後もインスリンは低下していた。

27 週間投与試験の雌雄ラットでみられた膵島細胞の空胞化に対し，無作用量は得られなかった。膵島細胞の空胞化は 30 mg/kg/日の雄および 50 mg/kg/日の雌でみられ，曝露量に性差が認められた。50 mg/kg/日の雌の曝露量は 30 mg/kg/日の雄に比して低く，そのときの非結合型 AUC_{24}（331 ng•h/mL）は臨床推奨用量である 125 mg 1 日 1 回をヒトに投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）と同程度であった。イヌに最高 3 mg/kg/日を最長 39 週間投与した試験では，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの 2.3 倍［非結合型 AUC_{24}（954 ng•h/mL）］の曝露量においても膵島細胞の空胞化は認められなかった。

ラットの 27 週間投与試験と同様に，インスリン欠乏による糖尿病を発症する CDK4 ノックアウトマウスで膵β細胞数の減少が認められている [22]。また，膵臓の正常な発生および機能に CDK4 が重要であることが知られている[25]。パルボシクリブ投与後の糖代謝異常発生にヒトよりもラットが感受性が高いのは，β細胞の増殖能に違いがあるためであると考えられる。すなわち，ヒトではβ細胞の急速な増殖は幼少期を過ぎるとすぐにみられなくなり，成人まで細胞は静止状態となる[26]。一方，ラットにおけるβ細胞の増殖は加齢とともに低下し（幼若期で 1 日-10%），1 歳までにヒトと同等まで減少し，β細胞増殖の程度は軽微となる[27,28]。もう一つのβ細胞における生物学的差異として，げっ歯類は膵切除などの各種刺激に対してβ細胞増殖誘発能を有するが，成人ではみられないことが挙げられる[29]。しかしながら，最近の文献では，CDK4 がβ細胞において細胞周期阻害以外の役割を果たしている可能性が示唆されている [23]。たとえば，マウスを用いた実験では CDK4 経路がグルコース誘発性のインスリン分泌の制御に関与することが示されている[30]。したがって，パルボシクリブ投与による糖代謝異常に対する動物種の感受性の差異には複数の因子が関与している可能性がある。

糖代謝異常メカニズムにおける膵β細胞増殖状態の重要性について，加齢ラット（投与開始時 12 ヵ月齢）を用いて検討した。Ki-67 免疫組織化学染色では，対照群において染色された膵島細胞数は非常に低値で，パルボシクリブ投与群では染色された膵島細胞が認められず細胞増殖停止が示唆された。パルボシクリブを 15 週間または 27 週間投与したとき，α細胞/β細胞の数の比または面積の比にパルボシクリブ投与による変化はみられなかった。OGTT ではグルコースを負荷 15 分後に，100 mg/kg/日で 5 日中 3 日（試験 46，74 および 130 日，試験 18 日または 186 日では有

意な差はみられず），軽微ながら統計的に有意な一過性のインスリンの高値が認められた（対照群との比較）。OGTT 実施中に，パルボシクリブと関連する血清グルコースの変化は認められなかった。グルコース負荷による血清インスリンの上昇はパルボシクリブ投与によるものと考えられたが，投与期間中に進行は認められず，尿検査および臨床病理のバイオマーカーパラメータ（インスリン，グルコース，C ペプチドおよび HbA1c）または病理組織学的所見との相関性もみられないことから，軽微な変化と考えられた。これらの結果から，加齢ラットにパルボシクリブを 100 mg/kg/日までの用量で最長 27 週間投与したとき，糖代謝に生物学的意義のある変化は認められなかったと考えられた。加齢ラットにおける 100 mg/kg/日による非結合型 AUC_{24} は 4550 ng•h/mL であった。

加齢ラットを用いた試験の結果から，パルボシクリブによりヒトで膵β細胞の減少およびそれに伴う糖代謝異常が引き起こされる可能性は低いと考えられた。ヒトのβ細胞増殖率との類似性が報告されている 12 ヵ月齢の加齢ラット[27,28]を用いた 27 週間投与探索毒性試験では，（若齢）ラットの 27 週間毒性試験で糖代謝異常および膵β細胞の減少が認められた曝露量においても糖代謝異常は認められず，膵臓の病理組織学的所見も認められなかった（加齢ラットおよび（若齢）ラットの試験における非結合型 AUC_{24} はそれぞれ 4550 ng•h/mL および 3663 ng•h/mL）。若齢ラットにおける内分泌および代謝に対する感受性の高さは，イヌではヒト臨床曝露量の 2.3 倍まで類似の所見がみられなかったことからも裏付けられる。

9.1.4.3. ラットにおける糖代謝異常に関連した二次的所見

ラットの 27 週間投与毒性試験で認められた眼（水晶体変性），腎臓（尿細管上皮細胞の空胞化）および脂肪組織（萎縮）の病理組織学的所見は，膵β細胞の減少に伴う血糖値上昇によるものである可能性が高いと考えられる。各動物でみられたこれらの所見と尿糖または血糖値上昇には関連性がみられた。一方，加齢ラットを用いた試験では，糖代謝に対する影響および膵臓に病理組織学的変化がみられなかったことと一致して，15 週間または 27 週間投与により眼または腎臓の変化はみられなかった（脂肪組織の病理組織学的検査は実施していない）。

9.1.4.3.1. 白内障・水晶体変性

ラットにパルボシクリブを 27 週間投与したとき，白内障または水晶体変性が認められた。ラットを用いた 27 週間投与毒性試験でスリットランプ検査を実施したところ，30 mg/kg/日以上の雄で白内障（前皮質白内障，不完全白内障または完全白内障）が認められ，用量依存的に増悪した。雌ラットには眼科検査での異常はみられなかった。100 mg/kg/日の雄 3 例でみられた前皮質白内障または不完全白内障は，休薬期間中に完全白内障に進行した。病理組織学的検査では，スリットランプ検査で白内障がみられた全例に加え，雌 3 例でも水晶体変性が認められた。水晶体線維膨張，小滴形成または水晶体上皮の肥大・過形成を特徴とする両側性または片側性の水晶体変性が認められ，10 mg/kg/日の雄ならびに 50 mg/kg/日および 100 mg/kg/日の雌では軽微（300 mg/kg/日の雌では水晶体変性は認められなかった），30 mg/kg/日以上の雄では軽微から中等度であった。水晶体への影響については，12 週間の休薬によっても回復しなかった。

ラットの 27 週間投与毒性試験では，病理組織学的所見として水晶体変性が最低用量から認められたため，白内障形成に対する無作用量は得られなかった。最低用量である 50 mg/kg/日の雌および 10 mg/kg/日の雄では曝露量に性差がみられ，50 mg/kg/日の雌の方が 10 mg/kg/日の雄に比して

曝露量は小さく，非結合型 AUC_{24}（331 ng•h/mL）はヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）と同程度であった。

げっ歯類での高血糖は水晶体変性の原因であることが知られている[31,32]。27 週間投与毒性試験で水晶体変性のみられた雄ラット 11 例中 10 例および雌ラット 3 例中 1 例では，尿糖・高血糖または膵島細胞の空胞化が認められた。白内障の発現に先行して，15 週間投与後に糖代謝異常または膵臓の変化が認められた。これらの発現順序（15 週間投与試験での高血糖の後に白内障が発現）および強い相関関係は，眼への影響がパルボシクリブによる内分泌または代謝異常に起因することを示唆している。なお，ラットの水晶体上皮層および水晶体線維において CDK4 が発現（mRNA およびタンパク質）していることから，眼への影響は薬理作用に起因している可能性もある[33]。しかしながら，3 週間および最長 15 週間までの投与により 10 mg/kg/日以上の雄ラットの眼において，水晶体細胞の Ki-67 免疫反応性に差異は認められなかった（脈絡膜および毛様体の間質細胞では多少の Ki-67 陽性細胞が認められたが，関連する病理組織学的変化を伴わず，投与期間中の進行はみられなかった）。イヌに最高 3 mg/kg/日を最長 39 週間投与した試験では，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの 2.3 倍［非結合型 AUC_{24}（954 ng•h/mL）］の曝露量においても白内障または水晶体変性は認められなかった。さらに，最高 100 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：最大 4550ng•h/mL）を 15 週間または 27 週間投与した加齢ラットの眼に，パルボシクリブによる Ki-67 の免疫反応および病理組織学的変化は認められなかった。

9.1.4.3.2. 腎尿細管の空胞変性

ラットの 15 週間投与毒性試験および 27 週間投与毒性試験では腎尿細管の空胞化がみられた。腎尿細管の空胞化は，15 週間投与毒性試験では 100 mg/kg/日の雄のみ，27 週間投与毒性試験では 30 mg/kg/日以上の雄のみで認められた。尿細管の空胞性変化（軽微から中等度）は，概して髄質外層の内帯に局在し，多くの場合，小滴性から大滴性の好酸性細胞質を多量に含む細胞によって裏打ちされた尿細管の特徴を有しており，髄質外層の腎尿細管細胞の肥大を示した。腎尿細管の空胞化を認めた全例に，糖代謝の変化または膵島細胞の空胞化が認められた。ラットの 27 週間投与毒性試験では，腎臓の空胞化と糖代謝異常に相関が認められ，腎臓の空胞化がみられた個体では，概して膵島細胞の空胞化も認められた（15 週間投与毒性試験および 27 週間投与毒性試験）。げっ歯類では，高血糖が腎尿細管上皮細胞の空胞化の原因となることが広く知られているため[34]，腎尿細管上皮細胞の空胞化は，30 mg/kg/日以上のラットでみられた内分泌または糖代謝異常によるものと考えられた。15 週間投与毒性試験および 27 週間投与毒性試験で内分泌または糖代謝異常に回復性がみられなかったことと一致して，12 週間の休薬後も腎尿細管細胞の空胞化は回復せず，軽度から中等度のままであった。27 週間投与した雄ラットでは，腎尿細管の空胞化に対する無作用量は 10 mg/kg/日であり，このときの非結合型 AUC_{24}（750 ng•h/mL）は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の約 1.8 倍であった。加齢ラットにパルボシクリブを最高 100 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} 4550 ng•h/mL）で 15 週間または 27 週間投与しても，糖代謝異常はみられず，腎臓にもパルボシクリブに関連した病理組織変化はみられなかった。さらに，イヌに最高 3 mg/kg/日を最長 39 週間投与した試験では，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの 2.3 倍［非結合型 AUC_{24}（954 ng•h/mL）］の曝露量においても腎尿細管の空胞化は認められなかった。

9.1.4.3.3. 脂肪組織の萎縮

ラットにパルボシクリブを 27 週間投与したとき，脂肪細胞への影響が認められた。ラット 27 週間投与毒性試験では，100 mg/kg/日の雄の皮膚または皮下組織および胸腺に，軽微から中等度の脂肪萎縮が認められた。インスリンは筋肉および脂肪などの糖の利用において重要な役割を果たしていることから[35]，ラットの脂肪細胞における影響は，膵β細胞への影響の二次的作用に起因するものと考えられた。しかしながら，サイクリン D3 変異マウスでは脂肪細胞の縮小および脂肪生成遺伝子の発現抑制がみられることから[36]，サイクリン - cdk - Rb - E2F1 経路を介した薬理作用が関与している可能性も考えられる。12 週間の休薬後には，皮膚または皮下組織では脂肪萎縮はみられなかったが，胸腺では軽度から中等度の脂肪萎縮が認められた。雄ラットにおける脂肪への影響に対する無作用量は 30 mg/kg/日であり，そのときの曝露量（非結合型 AUC_{24} が 2663 ng•h/mL）は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の約 6.4 倍であった。イヌに最高 3 mg/kg/日を最長 39 週間投与した試験では，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの 2.3 倍［非結合型 AUC_{24}（954 ng•h/mL）］の曝露量においても脂肪細胞への影響は認められなかった。

9.1.5. 切歯

活発に成長する切歯への影響が，ラット 27 週間投与毒性試験で認められた。100 mg/kg/日の雄では，投与 43 日以降の一般状態観察期間中に白色（変色）切歯が認められ，病理組織学的検査で認められた軽微から中等度のエナメル芽細胞の変性・壊死または軽微から軽度の色素性単核球浸潤と関連していた。切歯における軽微から軽度の好中球性炎症は，瀕死状態により安楽殺した動物でも認められた。エナメル芽細胞の先端は概して正常であったが，エナメル芽細胞の遠位側には進行性の変性・壊死が認められた。12 週間の休薬中に白色切歯は回復し，休薬後にはエナメル芽細胞の変性・壊死はみられなかった。しかしながら，30 mg/kg/日以上の雄（30 mg/kg/日では 1 例のみ）で認められた軽微から軽度の色素性単核球浸潤は，切歯への影響が完全には回復しなかったことを示している。

げっ歯類で広く認められている高血糖と歯のエナメル芽細胞の変性との関連性を踏まえると[37,38]，切歯への影響は，30 mg/kg/日以上を 15 週間または 27 週間投与したラットで認められた内分泌または代謝異常と関連する可能性があると考えられた。しかしながら，加齢ラットの 30 mg/kg/日以上（非結合型 AUC_{24}：1590 ng•h/mL 以上）で，若齢ラットに 4 サイクルまたは 7 サイクルの投与したときと同様に切歯への影響が認められたが，糖代謝異常および膵臓の病理組織学的変化は認められなかったことから，内分泌または代謝異常を伴わない変化であると考えられた。切歯への影響の回復性は，膵β細胞の減少に関連する糖代謝異常を維持している動物でもみられた。したがって，切歯で認められた所見は他の機序によるものと考えられる。歯の発生過程において，細胞周期調節に関連する遺伝子（サイクリンおよび CDK6 などの CDK）の発現により，前エナメル芽細胞の成熟が制御されることが示されていることから，主薬効と関連する可能性があることが示唆された[39]。

雄ラットでは，切歯への影響の無作用量は 10 mg/kg/日であり，このときの非結合型 AUC_{24}（750 ng•h/mL）は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の 1.8 倍であった。加齢ラットでは，切歯への影響の無作用量は得られなかった。イヌに最高 3 mg/kg/日を最長 39 週間投与した試験では，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの 2.3 倍［非

結合型 AUC_{24}（954 ng•h/mL）］の曝露量においても切歯への影響は認められなかった。活発に成長する切歯への影響に限られるため，この所見は成人には外挿されないものと考えられた。

9.1.6. 発生毒性

ラットおよびウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験で，母体および胎児への影響が認められた。妊娠ラットおよび妊娠ウサギにそれぞれ 300 mg/kg/日および 20 mg/kg/日のパルボシクリブを投与したとき，母動物の体重増加抑制および摂餌量の減少がみられた。また，300 mg/kg/日のラットでは胎児の体重減少（対照群と比較して-5%）がみられた。20 mg/kg/日のウサギでは，前肢指骨の短縮が低頻度（2 組の同腹子のうち 3 例）で認められた。このほか，毒性学的意義の乏しい変化と考えられる胎児形態の変化として，100 mg/kg/日以上のラットで頸肋（骨格変異）および 10 mg/kg/日以上のウサギで 13 肋骨（骨格変異）の発現率上昇が認められた。頸肋の発現率上昇は，骨化部がもともと小さく生後の影響はないと考えられたこと [1]，またウサギでは胎児の 13 肋骨はよくみられる骨格変異 [2] であり軸骨格のほかの変異を併発していないことから，毒性学的に意義の乏しい変化であると考えられた。

母動物および発生に関する無毒性量は，ラットでは 100 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：370 ng•h/mL），ウサギでは 10 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：547 ng•h/mL）であった。これは，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）とほぼ同じであった。なお，胚・胎児発生に関する試験で母体および胎児への影響が認められたことは，添付文書で注意喚起している。

9.1.7. 異数性

遺伝毒性試験においてパルボシクリブは異数性誘発性を示したが，変異原性および染色体構造異常誘発性は認められなかった。雄ラットにパルボシクリブを 100 mg/kg/日以上投与したところ，小核が用量依存的に増加した。In vitro 小核試験で動原体染色を実施したところ，in vitro および in vivo でみられた小核誘発が異数性誘発性に起因することが明らかになった。異数性誘発性には閾値が存在するとの考え方が広く受け入れられていることから [5,6,7]，ラットを用いた in vivo 試験結果に基づき小核形成に対する無作用量を求めたところ，パルボシクリブを 3 週間投与した雄ラットにおける小核形成に対する無作用量は 50 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：2163 ng•h/mL）であり，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の約 5.2 倍であった。なお，本薬の遺伝毒性試験における異数性誘発性については，添付文書で注意喚起している。

9.1.8. 心血管系[a]

In vitro 試験または in vivo イヌ心血管系評価試験では，QT 間隔延長の可能性および血行動態への影響が認められた。hERG 試験での IC_{50} 値は 3.2 µmol/L（1432 ng/mL）であり，またイヌプルキンエ線維を用いた試験では，パルボシクリブ 10 µmol/L（4475 ng/mL）添加により APD_{90} のわずかながらも有意な延長が認められた。覚醒イヌを用いた経口投与テレメトリー試験では，血漿中非結合型濃度が 67 ng/mL 以上のときに QTc 延長が示唆されたが，イヌを用いた 3 週間経口投与毒性試験，15 週間経口投与毒性試験または 39 週間経口投与毒性試験では，最高用量である 2 また

[a] CTD 2.6.2.4 項

は 3 mg/kg/日まで QT 間隔延長は認められず，このときの非結合型 C_{max} はそれぞれ 80 ng/mL，41 ng/mL および 53 ng/mL であった。覚醒イヌを用いたテレメトリー試験では，QT 間隔延長のほかに血行動態への影響が認められ，血漿中非結合型濃度が 140 ng/mL 以上のときに，RR 間隔延長（最長 73 msec）と相関する心拍数（最大 8 拍/分）の減少および収縮期血圧のわずかな上昇（最高 6 mmHg）が認められた。

これらのことから，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 C_{max}（27 ng/mL）の約 2.5 倍以上で，心血管系への影響がみられた。

9.1.9. その他の所見

9.1.9.1. 消化管

ラットおよびイヌにパルボシクリブを単回投与または反復投与したとき，消化管への影響が認められた。単回投与および 3 週間以下の反復投与試験において，30 mg/kg/日以上のラットおよび 1 mg/kg/日以上のイヌで糞便異常（無便，減少，変色，粘液便，下痢または着色便）が認められた。イヌに 30 mg/kg/日以上を単回投与および 0.2 mg/kg/日以上を最長 3 週間反復投与したところ嘔吐あるいは嘔吐の発現率上昇（時々からほぼ毎日）がみられたが，0.2 mg/kg/日以上をより長期（15 週間および 39 週間）投与したイヌでは認められなかった。このほか，ラットおよびイヌにそれぞれ 50 mg/kg/日以上および 10 mg/kg/日以上を 2 週間または 3 週間投与したとき，流涎が認められた。ラットおよびイヌにそれぞれ 300 mg/kg/日および最高 10 mg/kg/日を 2 週間投与したとき，病理組織学的検査において胃の幽門部または小腸および大腸に，核肥大および好塩基性細胞質を特徴とする軽微から中等度の異常上皮が認められた。さらに，300 mg/kg/日を 2 週間投与したラットでは，大腸陰窩において杯細胞が減少した。また，ラットおよびイヌにそれぞれ 300 mg/kg/日および 10 mg/kg/日を 2 週間投与したとき，小腸において軽微から軽度の絨毛萎縮が認められた。300 mg/kg/日を 2 週間投与した雄ラットでは，小腸および胃幽門粘膜において軽微な多巣性の好中球浸潤が認められた。200 mg/kg/日以上を 3 週間投与したラットでは，軽微から軽度の胃粘膜および腸管のびらんが認められ, 0.2 mg/kg/日以上を 3 週間投与したイヌでは腸陰窩および腺窩上皮の軽微な核の異常ならびに細胞質の変化が認められた。3 週間投与したイヌで認められた上皮の変化は，2 週間投与試験と同様に主に腺および陰窩の深部に局在しており，概して大腸よりも小腸に多くみられた。ラットおよびイヌの 15 週間投与試験では消化管への影響は認められず，ラットで前胃への影響が認められたのみであった。ラット 27 週間投与試験では，30 mg/kg/日以上の雄ラットで腺胃の腺粘液の軽度の減少，前胃では軽微から軽度の上皮細胞の変性，過形成・過角化，好中球性炎症またはびらん・潰瘍が認められた。瀕死状態により安楽殺した 100 mg/kg/日の雄ラットでは，回腸における中等度の筋線維の変性・再生，軽度の出血および軽度の好中球性炎症が認められた。ラットおよびイヌの 3 週間投与試験では，4 週間の休薬後に消化管毒性の回復傾向が認められたが，ラット 27 週間投与試験で認められた腺胃および前胃の変化については，12 週間の休薬後にも回復性はみられなかった。なお，ラットの前胃で認められた変化は，前胃を有さないイヌでは認められなかったことから，げっ歯類特異的な変化でヒトには外挿できないと考えられた。

重要な試験においてラットおよびイヌで認められた消化管の所見は，重症度が低かったことから毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。10 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：750 ng•h/mL）を 27 週間投与した雄ラットまたは 3 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：954 ng•h/mL）を 39 週間投与したイヌ

では，消化管への影響は認められなかった。このときの曝露量は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの曝露量（417 ng•h/mL）の約 2 倍であった。

9.1.9.2. 細胞の空胞化

ラットの 3，15 および 27 週間投与試験では，リン脂質症と形態学的に一致する細胞の空胞化が認められた。ラット 3 週間投与試験では, 50 mg/kg/日以上で肺に軽微から中等度の空胞性変化（泡沫状マクロファージ）が認められた。15 週間投与試験では，30 mg/kg/日以上で腸間膜リンパ節，100 mg/kg/日で肺および骨髄に，軽微から中等度の空胞性変化（多数の小さな泡沫状の空胞）が認められた。27 週間投与試験では, 100 mg/kg/日の雄で肺に軽微からやや重度の肺胞マクロファージ（リン脂質症と形態学的に一致）の増加があったことを除いては，細胞の空胞化は瀕死状態となり安楽殺した個体でのみ認められた。瀕死状態による安楽殺例においては，細胞の空胞化が多数の組織［骨髄，肢，心臓および舌（1 例）］で認められた。胸骨および大腿骨の骨髄では軽微な空胞化が認められ，肢の軽微な空胞化マクロファージ浸潤は，軽微から重度の粘液腫性変性，好中球性炎症または出血と関連していた。心臓における軽微な空胞化マクロファージ浸潤は，心臓の好中球性炎症または間葉系細胞の過形成（軽微から軽度）に関連しており，大動脈の軽微な好中球性炎症を伴うこともあった。また，舌における空胞化マクロファージの浸潤は，軽微な筋線維の変性・再生および好中球性炎症を伴っていた。組織の細胞空胞化は概して雄ラットで認められた。耐量投与では，これらの組織において細胞空胞化に関連する毒性所見は認められず，空胞化は 4 週間または 12 週間の休薬期間後に発現率または重症度の低下がみられ回復性を示した。このため，耐量投与時の空胞化は毒性学的意義の乏しい変化であると考えられた[40]。27 週間投与試験の雄ラットにおける空胞性変化に対する無毒性量は 30 mg/kg/日であり, このときの非結合型 AUC_{24}（2663 ng•h/mL）はヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の 6.4 倍であった。イヌに最高 3 mg/kg/日を最長 39 週間投与した試験では，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの 2.3 倍［非結合型 AUC_{24}（954 ng•h/mL）］の曝露量においても空胞性変化は認められなかった。

9.1.9.3. 肝臓

ラットおよびイヌの反復投与試験では，肝臓の変化（肝酵素の変化または病理組織学的変化）が認められた。100 mg/kg/日以上を 2 週間または 3 週間反復投与した雄ラットにおいて，主に早期死亡と関連する低頻度で軽微から軽度の肝細胞の単細胞壊死が認められたが，肝酵素の上昇はみられなかった。ラットの 15 週間投与試験では，100 mg/kg/日の雄で AST，ALT，ALP および γ-GT が上昇（対照群の最大 2 倍）したが，肝臓に病理組織学的所見は認められなかった（ラット 3 週間反復投与試験の 100 mg/kg/日の AUC_{24} と同等の曝露量）。これらの肝酵素の変化は，4 週間の休薬後に回復した。ラット 27 週間投与試験では，100 mg/kg/日の雄で AST，ALT および ALP の可逆的な上昇が同様に（対照群の最大 3 倍）みられたが，肝臓に関連する病理組織学的所見は認められなかった。

ラット 27 週間投与試験では，10 mg/kg/日以上の雄で肝細胞肥大または肝細胞の空胞化の発現頻度および変化の程度が上昇した。肝細胞の肥大・空胞化は，多量の細かい好酸性細胞質，多量の粗い好塩基性細胞質もしくは主に小葉中心性に分布する微小または巨大小胞形成の増加を伴う肝細胞を特徴としていた。なお，雌ラットでは最高 300 mg/kg/日（対照群の雌を含む）まで肝細胞肥大または肝細胞の空胞化は認められず，300 mg/kg/日での曝露量は 10 mg/kg/日（雄）の曝露量の約 2 倍であった。肝細胞肥大または肝細胞の空胞化はグルコース濃度上昇に関連したものと

も考えられたが[41]，この所見は内分泌または糖代謝異常がみられた用量よりも低い用量で認められたことから，自然発生性病変の増悪を反映したものであり，毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。なお，この所見は 12 週間の休薬後に完全に回復した。

イヌの 2 週間投与試験では，10 mg/kg/日以上の一般状態の悪化した個体においてコレステロール（2.8 倍）ならびに AST，ALT または ALP（最大 8 倍）の上昇が認められた（投与前値との比較）。この試験では，10 mg/kg/日を投与して瀕死状態となったイヌで軽微から中等度の肝臓うっ血および類洞細胞の肥大，胆管肥大または胆管の炎症が認められた［非結合型 AUC_{24} は 3188 ng•h/mL（瀕死状態のため，投与 1 日の値を用いた）］。胆管肥大のみられたイヌ 3 例中 1 例で，ビリルビンの上昇（投与前値の 7 倍）が認められた。イヌの 3，15 または 39 週間投与試験では，3 mg/kg/日まで肝臓にパルボシクリブと関連する変化は認められなかった。

ラットおよびイヌの反復投与毒性試験で認められた上記の肝臓への影響は，重篤度が低かったことから毒性学的意義の乏しい変化であると考えられた。27 週間投与時の雄ラットでの肝酵素上昇に対する無作用量は 30 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：2663 ng•h/mL）であったが，イヌでは最高 3 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：954 ng•h/mL）を 39 週間投与しても肝臓の変化は認められなかった。このときの曝露量は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）のそれぞれ 6.4 倍および 2.3 倍であった。

ラットの 27 週間投与試験と同様に，加齢ラットの 27 週間投与探索毒性試験では，さまざまな大きさの明るい色調の細胞質内空胞を特徴とする肝細胞の空胞化の発現頻度および程度が上昇した。

9.1.9.4. 腎臓

ラットおよびイヌにパルボシクリブを 2 週間以上の反復投与したとき，腎臓への影響として慢性進行性腎症と一致する所見（ラット）および尿細管の変性（イヌ）が認められた。なお，ラットで認められた腎尿細管の空胞化は，糖代謝異常の二次的変化であると考えられた。ラットの 15 週間投与試験では，30 mg/kg/日以上の雄で尿細管の変性および再生像の発現率または変化の程度が上昇した。100 mg/kg/日の雄では，髄質外層のヘンレループの尿細管上皮細胞の肥大および間質性組織の拡大による髄放線の明瞭化が認められた。30 mg/kg/日以上の雄ラットでは，尿比重の低下と尿量の増加（対照群の最大 2.3 倍）が認められ，さらに 100 mg/kg/日では尿円柱も認められた。これらの変化は，4 週間の休薬後に完全に回復した。若齢ラットの 15 週間投与探索毒性試験では，100 mg/kg/日の雄で尿化学パラメータ（尿糖［個々の値は 70 mg/dL 未満］，尿タンパクまたは尿比重）の軽微な高値ならびに 10 mg/kg/日以上の雄および 300 mg/kg/日の雌で摂水量の軽微な増加を伴う尿量の軽微な高値が試験 2 日以降に認められ，尿検査パラメータにおけるこれらの軽微で非進行性の変化は腎尿細管への薬物の影響を反映したものだと考えられた。ラット 27 週間投与試験では，10 mg/kg/日以上の雄で軽微から軽度の腎尿細管拡張または慢性進行性腎症が認められた。100 mg/kg/日の雄では，尿中に白血球および顆粒円柱または細胞性円柱が認められた。さらに，瀕死状態となり安楽殺した 100 mg/kg/日の雄で，軽微から軽度の腎尿細管上皮の変性および再生像が認められた。ラット 27 週間投与試験の雌では，最高 300 mg/kg/日を投与してもパルボシクリブと関連する腎臓への影響は認められず，このときの曝露量は 10 mg/kg/日（雄）における曝露量の約 2 倍であった。慢性進行性腎症に対する雄ラットの感受性の高さは，雄で慢性

進行性腎症が高頻度でみられることと一致している[42]。12 週間の休薬後には，30 mg/kg/日以上の雄では慢性進行性腎症のみが認められた。

イヌの 2 週間投与試験では，瀕死状態となった 10 mg/kg/日［非結合型 AUC_{24}：3188 ng•h/mL，投与 1 日（瀕死状態であったため，投与 14 日の値を得られなかった）］の個体に，腎尿細管の軽微な変性が認められ，少数の核濃縮を示す過好酸性の尿細管管腔の上皮細胞およびまれに過好酸性の尿細管上皮細胞がみられることを特徴としていた。クレアチニンおよび尿素窒素の上昇（それぞれ投与前の 2 倍および 4.5 倍）が 1 例でみられ，尿細管の軽微な変性と一致していた。イヌに最高 3 mg/kg/日を最長 39 週間投与した試験では，腎臓への影響は認められず，このときの非結合型 AUC_{24}（最高 954 ng•h/mL）は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の 2.3 倍であった。

27 週間投与毒性試験では，雄ラットの腎臓への影響に対する無作用量は得られず，10 mg/kg/日における曝露量［非結合型 AUC_{24}（750 ng•h/mL）］はヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の 1.8 倍であった。加齢ラットの 27 週間投与探索毒性試験では，15 週間あるいは 27 週間のパルボシクリブ投与後に 100 mg/kg/日［非結合型 AUC_{24}（4550 ng•h/mL）］まで腎臓に病理組織学的変化はみられなかった。

9.1.9.5. 副腎

ラットの 15 週間投与試験および 27 週間投与試験で副腎への影響が認められた。10 mg/kg/日以上の雄では，主に束状帯に軽微から中等度の皮質細胞の肥大が認められ，副腎重量増加と関連していた。この細胞は多量の細かい好酸性細胞質を含んでいた。27 週間投与試験の雌では最高用量である 300 mg/kg/日においても副腎への影響は認められず，そのときの AUC_{24} は影響のみられた 10 mg/kg/日の雄の約 2 倍超であった。4 週間もしくは 12 週間の休薬により，副腎の変化は完全に回復した。副腎皮質肥大は，重症度が低く変性を伴わない変化であることから毒性学的意義の乏しい変化であると考えられた[43]。雄では最小作用量においてもストレス性の変化（たとえば，体重増加量減少またはリンパ器官でのリンパ球減少）は認められなかったことから，副腎の変化の発現機序はストレス反応だけではないと考えられる。ラット 27 週間投与試験では，副腎皮質肥大に対する無作用量は得られなかった。雄に最小作用量（10 mg/kg/日）を投与したときの非結合型 AUC_{24}（750 ng•h/mL）は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の 1.8 倍であった。イヌに最高 3 mg/kg/日を最長 39 週間投与した試験では，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの 2.3 倍［非結合型 AUC_{24}（954 ng•h/mL）］の曝露量においても副腎の肥大はみられなかった。

加齢ラットに最高 100 mg/kg/日を 15 週間あるいは 27 週間投与した時［非結合型 AUC_{24}（4550 ng•h/mL）］には，副腎皮質に病理組織学的変化はみられなかった。

9.1.9.6. 呼吸系

ラットにパルボシクリブを単回および反復投与したとき，呼吸系への影響を示唆する一般状態変化および病理組織学的所見が認められた。ラットに単回投与または 2 週間および 3 週間反復投与したときに呼吸系への影響が認められたが，15 週間もしくは 27 週間投与したラットでは認められなかった。1000 mg/kg 以上を単回投与したラットでは呼吸困難が認められた。ラットで最長 3 週間投与した試験では 50 mg/kg/日以上で用量依存的にラッセル音が，200 mg/kg/日以上では呼吸

困難が認められた（200 mg/kg/日は雄における致死量）。ラッセル音および呼吸困難の症状は投与中断により回復した。ラット 3 週間投与試験における病理組織学的検査では，50 mg/kg/日以上の雄および 100 mg/kg/日以上の雌で気管上皮の菲薄化・扁平化および線毛消失を特徴とする軽微から軽度の気管粘膜萎縮が認められ，無作用量は得られなかった。また，200 mg/kg/日の雄 2 例ならびに 200 mg/kg/日および 400 mg/kg/日の雌各 1 例で，気管粘膜の好中球浸潤が認められた。さらに，瀕死状態となった 400 mg/kg/日の雌 1 例で，気管粘膜の壊死が認められた。4 週間の休薬後，気管萎縮は部分的に回復した。ラットで認められた呼吸系への影響は，重症度が低かったことから毒性学的意義の乏しい変化であると考えられた。雄に最高 100 mg/kg/日および雌に最高 300 mg/kg/日投与したラット 15 週間および 27 週間投与試験では，気道に関連する一般状態の変化および病理組織学的変化は認められなかった。このときの AUC_{24}（最高 5200 ng•h/mL）は 3 週間投与試験で呼吸器への影響が認められたときの AUC_{24} と同等またはそれを上回り，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の最大 12.5 倍であった。

イヌにパルボシクリブを最長 39 週間経口投与したところ，呼吸系に関連する一般状態変化および肺の病理組織学的変化は認められなかったが，プロポフォール麻酔下でパルボシクリブを静脈内投与したイヌの呼吸系に関する安全性薬理試験では影響が認められた。5 mg/kg の急速静脈内投与後数分以内に 4 例中 2 例で呼吸が停止したが，補助療法により回復した。この変化が認められたときの非結合型の血漿中パルボシクリブ濃度の最高値は，843 ng/mL～3312 ng/mL であった。認められた変化は中枢性呼吸機能抑制薬であるプロポフォールとの薬物相互作用に関連していた可能性があり，プロポフォール誘発性呼吸抑制に対する相加または相乗作用は，オピオイド系鎮痛薬を含む他の薬剤でも認められている[44]。イヌの呼吸機能に対しては，非結合型の血漿中パルボシクリブ濃度で最大 171 ng/mL まで有意な変化はみられなかった。これはヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 C_{max}（27 ng/mL）の約 6.3 倍であった。

9.1.9.7. 凝固系

イヌの 2 週間投与試験で凝固系への影響が認められた。10 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：3188 ng•h/mL）では，プロトロンビン時間の延長（投与前値と比較して最大 39%）および活性化部分トロンボプラスチン時間の延長（投与前値と比較して最大 5.2 倍）が認められ，そのときの曝露量はヒトに 125 mg を 1 日 1 回投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の 7 倍超であった。凝固パラメータの変化に関連する一般状態の変化が認められなかったため，これらは毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。より長期の試験では，ラットに最高 300 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：最高 5200 ng•h/mL）またはイヌに最高 3 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：最高 954 ng•h/mL）を最長 27 週間または 39 週間反復投与しても，凝固パラメータへの影響は認められなかった。このときの曝露量は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）のそれぞれ約 14 倍および約 2.6 倍であった。

9.1.9.8. その他の変化

ラットに 15 週間または 27 週間投与したとき，膵臓の線維化または出血が高頻度でみられ，イヌの 2 週間または 15 週間投与で，フィブリノゲンまたはリンの変化が認められた。

ラット 27 週投与試験の 10 mg/kg/日および 30 mg/kg/日（100 mg/kg/日ではみられず）の雄および若齢ラットの 15 週間探索毒性試験の 100 mg/kg/日で，膵島細胞の線維化または出血の発現率が上

昇したが，用量依存性はみられず高用量（100 mg/kg/日）では対照群と同等であった。このことから，この変化は自然発生性病変の増悪であると考えられた[45]。

イヌに 2 週間投与したとき，3 mg/kg/日以上の雌でフィブリノゲンが 92%増加（10 mg/kg/日以上では投与前値の 6.7 倍）した。フィブリノゲンは最大耐量投与時に増加したが，全身性炎症を示唆する他の所見を伴わなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。イヌの 39 週間投与試験では，最高 3 mg/kg/日（954 ng•h/mL）までフィブリノゲンの変化は認められなかった。このときの曝露量は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の 2.3 倍であった。

イヌの 15 週間投与試験では，2 mg/kg/日で軽度なリンの減少（投与前値の 24%以下）がみられたが変化の程度が小さく，関連する変化も認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化であると考えた。この変化は，休薬により回復傾向（雄のみ）を示した。

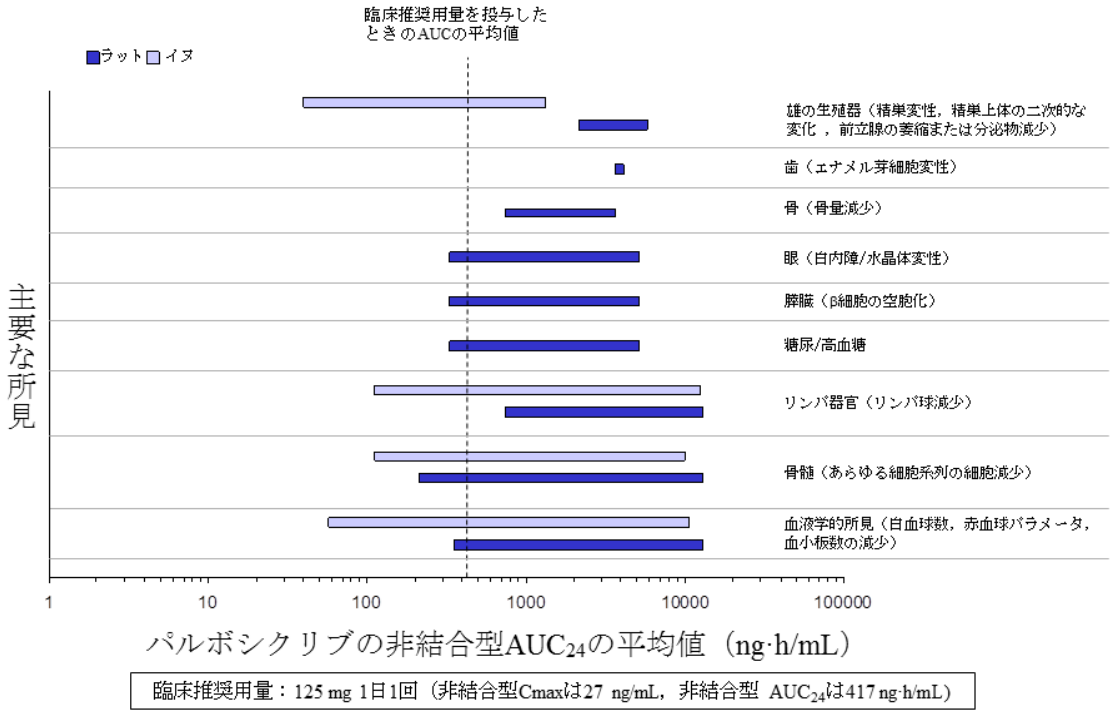
イヌを用いた 39 週間投与毒性試験で最高 3 mg/kg/日（954 ng•h/mL）を投与したときにリンの変化はみられず，このときの曝露量は，ヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24}（417 ng•h/mL）の 2.3 倍であった。

9.2. 結論

単回投与毒性試験，最長 39 週間の反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験および光毒性試験により，パルボシクリブの非臨床毒性プロファイルを明らかにした。パルボシクリブの薬理作用（細胞周期の阻害，CDK4/6 の阻害）に関連する標的臓器における主な所見として，ラットおよびイヌでリンパ造血系および雄の生殖器への影響，ラットで骨および活発に成長する歯への影響，ラットで膵臓への影響ならびに膵β細胞の減少に伴う糖代謝異常に関連した眼，腎臓および脂肪組織への影響が反復投与試験で認められた。これらの所見とヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの非結合型 AUC_{24} との比較を Figure 1 に示す。臨床的に忍容性があるリンパ造血系への影響を除いては，直接的な毒性（および二次的影響）は毒性と考えた。ラットにおける眼，腎臓および脂肪組織での内分泌/代謝への影響およびそれに関連する変化は，加齢ラットでの検討試験成績から若齢ラットにおける膵臓の高い増殖状態とそれによる高い感受性を反映したものと考えられた。このように，内分泌/代謝への影響は活発に成長する歯への影響とともに成人には外挿されないと考えた。糖代謝，膵臓，眼，腎臓および骨への影響については，12 週間の休薬後にも回復性はみられなかったが，リンパ造血系および雄性生殖器，歯および脂肪組織への影響については回復傾向が認められた。パルボシクリブは細胞周期を阻害することから消化管への影響が予測され，ラットおよびイヌの単回投与試験および最長 3 週間の反復投与試験で消化管への影響（嘔吐，糞便異常および消化管の病理組織学的変化）が認められたが，臨床用量に相当する曝露量では軽度であった。より長期の試験では顕著な消化管への影響はみられなかったが，ラットの 27 週間投与試験では腺胃の変化およびげっ歯類特異的な前胃の変化が認められ，12 週間の休薬後も回復性は認められなかった。その他，パルボシクリブ投与に関連する変化として，多数の組織における細胞空胞化（形態学的にリン脂質症と一致），肝酵素上昇および肝細胞の肥大・空胞化，慢性進行性腎症，副腎皮質細胞の肥大および呼吸系の変化（一般状態の変化および気管上皮細胞の萎縮）ならびに血液凝固時間の延長が認められたが，軽度または関連する変性性変化を伴わないことから毒性学的意義の乏しい変化であると判断した。また，これらの変化の多くで回復傾向がみられた。用量依存性の体重および摂餌量の減少，薬物不耐性による一般状態悪化がヒトに 125 mg 1 日 1 回を投与したときの曝露量を超える曝露量を示した単回投与試験および反復投与試験でみられた。ラットを用いた生殖発生毒性試験では雌雄の交尾行動および受胎能への影響はみられなかった。ヒトの骨髄単核球細胞を用いた in vitro の探索試験成績では，典型的な細胞障害性化学療法薬がアポトーシスを示すのに対し，パルボシクリブは細胞周期停止の回復性を示したことから，パルボシクリブは典型的な細胞障害性抗がん剤よりも優れた血液学的安全性プロファイルが期待される。3T3NRU の成績から，光毒性はないことが示された。なお，パルボシクリブは異数性誘発性を示したが，異数性に対する無作用量が明らかにされている。

以上の成績より，パルボシクリブ投与に関連する影響は，臨床的に管理可能であるか，本薬の適応対象である患者への投与に際しては容認できるリスクであると考えられる。

Figure 1.　反復投与毒性試験でのパルボシクリブの曝露量（非結合型）と主要な所見との関係



10. 図表

図表は，本文の適切な箇所および 2.6.7 に記載した。

11. 参考文献

[1] Chernoff N, Rogers JM. Supernumerary ribs in developmental toxicity bioassays and in human populations: incidence and biological significance. J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2004;7(6):437-49.

[2] Holson JF, Nemec MD, Stump DG, et al. Chapter 9: Significance, reliability, and interpretation of developmental and reproductive toxicity study findings. In: Developmental and Reproductive Toxicology: A Practical Approach, 2nd ed. Hood RD 2006;378-82.

[3] Jänicke RU, Sprengart ML, Wati MR, et al. Caspase-3 is required for DNA fragmentation and morphological changes associated with apoptosis. J Biol Chem 1998;273(16):9357-60.

[4] OECD, In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test (MNvit). OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 487, OECD, Paris, 2010.

[5] Elhajouji A, Van Hummelen P, Kirsch-Volders M. Indications for a threshold of chemically-induced aneuploidy in vitro in human lymphocytes. Environ Mol Mutagen 1995;26(4):292-304.

[6] Parry JM, Fielder RJ, McDonald A. Thresholds for aneuploidy-inducing chemicals. Mutagenesis 1994;9(6):503-4.

[7] Bentley KS, Kirkland D, Murphy M, et al. Evaluation of thresholds for benomyl- and carbendazim-induced aneuploidy in cultured human lymphocytes using fluorescence in situ hybridization. Mutation Res 2000;464(1):41-51.

[8] Dacie JV. The hemolytic anaemias, 2nd edition, p.96-100, New York: Grune and Straton, 1960.

[9] Reed KW, Yalkowsky SH. Lysis of human red blood cells in the presence of various cosolvents. J Parenter Sci Technol. 1985;39(2):64-9.

[10] Furukawa Y, Kikuchi J, Nakamura M, Iwase S, Yamada H, Matsuda M. Lineage-specific regulation of cell cycle control gene expression during haematopoietic cell differentiation. Br J Haematol. 2000;110(3):663-73.

[11] Fink JR, LeBien TW. Novel expression of cyclin-dependent kinase inhibitors in human B-cell precursors. Exp Hematol. 2001;29(4):490-8.

[12] Arguello F, Alexander M, Sterry JA, et al. Flavopiridol induces apoptosis of normal lymphoid cells, causes immunosuppression, and has potent antitumor activity In vivo against human leukemia and lymphoma xenografts. Blood. 1998;91(7):2482-90.

[13] Clermont Y, Leblond CP, Mesier B. The duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the rat. Arch Anat Microscop Morphol Exptl Suppl 1959;48:37-56.

[14] Bartkova J, Lukas C, Sørensen CS, et al. Deregulation of the RB pathway in human testicular germ cell tumours. J Pathol. 2003;200(2):149-56.

[15] Ravnik SE, Wolgemuth DJ. Regulation of meiosis during mammalian spermatogenesis: the A-type cyclins and their associated cyclin-dependent kinases are differentially expressed in the germ-cell lineage. Dev Biol. 1999;207(2):408-18.

[16] Sosa-García B, Gunduz V, Vázquez-Rivera V, et al. A role for the retinoblastoma protein as a regulator of mouse osteoblast cell adhesion: implications for osteogenesis and osteosarcoma formation. PLoS One. 2010;5(11):e13954.

[17] Feng R, Huang X, Roodman GD, et al. Inhibition of cdk4/6 by PD 0332991 results in abrogation of osteoclast formation. Blood 2008; 112(11):1259, Abstr 3676.

[18] Lee Y, Dominy JE, Choi YJ, et al. Cyclin D1-Cdk4 controls glucose metabolism independently of cell cycle progression. Nature. 2014;510(7506):547-51.

[19] Bhalla K, Liu WJ, Thompson K, et al. Cyclin D1 represses gluconeogenesis via inhibition of the transcriptional coactivator PGC1α. Diabetes. 2014;63(10):3266-78.

[20] Banzet S, Koulmann N, Simler N, et al. Control of gluconeogenic genes during intense/prolonged exercise: hormone-independent effect of muscle-derived IL-6 on hepatic tissue and PEPCK mRNA. J Appl Physiol 2009;107(6):1830-9.

[21] Prasath GS. Pillai SI, Subramanian SP. Fisetin improves glucose homeostasis through the inhibition of gluconeogenic enzymes in hepatic tissues of streptozotocin induced diabetic rats. European Journal of Pharmacology 2014;740:248-54.

[22] Rane SG, Dubus P, Mettus RV, et al. Loss of Cdk4 expression causes insulin-deficient diabetes and Cdk4 activation results in β-islet cell hyperplasia. Nature Genetics 1999;22 (1):44-52.

[23] Fiaschi-Taesch NM, Kleinberger J, Salim FG, et al. Human pancreatic β-cell G1/S molecule cell cycle atlas. Diabetes 2013;62:2450-9.

[24] Fiaschi-Taesch NM, Kleinberger J, Salim FG, et al. Cytoplasmic-nuclear trafficking of G1/S cell cycle molecules and adult human β-cell replication: a revised model of human β-cell G1/S control. Diabetes 2013;62:2460-70.

[25] Martin J, Hunt SL, Dubus P, et al. Genetic rescue of Cdk4 null mice restores pancreatic beta-cell proliferation but not homeostatic cell number. Oncogene 2003;22:5261-9.

[26] Meier JJ, Butler AE, Saisho Y, et al. Beta-cell replication is the primary mechanism subserving the postnatal expansion of beta-cell mass in humans. Diabetes 2008;57:1584-94.

[27] Teta M, Long SY, Wartschow L, et al. Very slow turnover of β-cells in aged adult mice. Diabetes 2005;54:2557-67.

[28] Cozar-Castellano I, Fiaschi-Taesch N, Bigatel TA, et al. Molecular control of cell cycle progression in the pancreatic β-cell. Endocrine Reviews 2006;27(4):356-70.

[29] Fiaschi-Taesch NM, Salim F, Kleinberger J, et al. Induction of human β-cell proliferation and engraftment using a single G1/S regulatory molecule, cdk6. Diabetes 2010;59:1926-36.

[30] Annicotte J-S, Blanchet E, Chavey C, et al. The CDK4-pRB-E2F1 pathway controls insulin secretion. Nature Cell Biology 2009;11(8):1017-23.

[31] Swamy-Mruthinti S, Shaw SM, Zhao HR, et al. Evidence of a glycemic threshold for the development of cataracts in diabetic rats. Curr Eye Res. 1999;18(6):423-9.

[32] Wilcock BP. "Eye and Ear," Pathology of Domestic Animals, Jubb, Kennedy & Palmer, (ed.) M. Grant Maxie, Fifth Ed., 2007;1:459-552.

[33] Gao CY, Rampalli AM, Cai HC, et al. Changes in cyclin dependent kinase expression and activity accompanying lens fiber cell differentiation. Exp Eye Res 1999;69(6):695-703.

[34] Tsuchitani M, Kuroda J, Nagatani M, et al. Glycogen accumulation in the renal tubular cells of spontaneously occurring diabetic WBN/Kob rats. J Comp Pathol. 1990;102(2):179-90.

[35] Arrieta-Blanco F, Botella-Carretero JI, Iglesias P, et al. Insulin action in adipose tissue in type 1 diabetes. Int J Gen Med. 2011;4:153-7.

[36] Sarruf DA, Iankova I, Abella A, et al. Cyclin D3 promotes adipogenesis through activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. Mol Cell Biol. 2005;25(22):9985-95.

[37] Yeh CK, Harris SE, Mohan S, et al. Hyperglycemia and xerostomia are key determinants of tooth decay in type 1 diabetic mice. Lab Invest. 2012;92(6):868-82.

[38] Silva-Sousa YT, Peres LC, Foss MC. Are there structural alterations in the enamel organ of offspring of rats with alloxan-induced diabetes mellitus? Braz Dent J. 2003;14(3):162-7.

[39] Liu C, Niu Y, Zhou X, et al. Cell cycle control, DNA damage repair, and apoptosis-related pathways control pre-ameloblasts differentiation during tooth development. BMC Genomics 2015;16:592-607.

[40] Reasor MJ, Hastings KL, Ulrich RG. Drug-induced phospholipidosis: issues and future directions. Expert Opin Drug Saf. 2006;5(4):567-83.

[41] Phillips M, Poucell S, Patterson J, et al. Metabolic liver disease. The Liver: An Atlas and Text of Ultrastructural Pathology 1987; Ch. 5, pp. 239-391, Raven Press: New York.

[42] Hard GC, Khan KN. A contemporary overview of chronic progressive nephropathy in the laboratory rat, and its significance for human risk assessment. Toxicol Pathol. 2004 ;32(2):171-80.

[43] Harvey PW, Sutcliffe C. Adrenocortical hypertrophy: establishing cause and toxicological significance. J Appl Toxicol. 2010;30(7):617-26.

[44] Marshall BE and Longnecker DE. General Anesthetics. In: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th Edition, Pergamon Press, 1990;285-310.

[45] Imaoka M, Satoh H, Furuhama K. Age- and sex-related differences in spontaneous hemorrhage and fibrosis of the pancreatic islets in Sprague-Dawley rats. Toxicol Pathol. 2007;35(3):388-94.

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW 3
2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC STUDIES 7
2.6.7.3.A TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA....9
2.6.7.3.B TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA....11
2.6.7.3.C TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA....13
2.6.7.3.D TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA....15
2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE....17
2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY....19
2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 21
2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY....24
2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY 30
2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY 41
2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY 46
2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY 50
2.6.7.7F REPEAT-DOSE TOXICITY....70
2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO 76
2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO 79
2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO 81
2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO 82
2.6.7.10 CARCINOGENICITY....83
2.6.7.11 REPRODUCTICE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 84
2.6.7.12A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION....85
2.6.7.12B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION....89
2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 91
2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 94
2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION (PIVOTAL)....96

2.6.7.15 STUDIES IN JUVENILE ANIMALS 100
2.6.7.16 LOCAL TOLERANCE 101
2.6.7.17A OTHER TOXICITY STUDIES 102
2.6.7.17B OTHER TOXICITY STUDIES 104
2.6.7.17C OTHER TOXICITY STUDIES 106
2.6.7.17D OTHER TOXICITY STUDIES 112
2.6.7.17E OTHER TOXICITY STUDIES 115
2.6.7.17F OTHER TOXICITY STUDIES 117
2.6.7.17G OTHER TOXICITY STUDIES 120
2.6.7.17H OTHER TOXICITY STUDIES 121

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PD-0332991

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Single-Dose Toxicity								
Acute	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	Single	125, 250, 500, 1000, 2000 mg/kg	Yes	PWRD	745-03742	NA
Escalating	Dog/Beagle	Oral capsule	Single	1 to 100 mg/kg[c]	Yes	PWRD	745-03662[b]	NA
Repeat-Dose Toxicity[d]								
Nonpivotal								
	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	2 Weeks	M: 0, 300, 600 F: 0, 30, 100, 300	No	PWRD	745-03781	NA
	Dog/Beagle	Oral gavage	2 Weeks	0, 1, 3, 10, 20, 40	No	PWRD	745-03765	NA
Pivotal								
	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	3 Weeks[e]	M: 0, 50, 100, 200 F: 0, 100, 200, 400	Yes	PWRD	745-03731	NA
	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	15 Weeks[e]	M: 0, 10, 30, 100; F: 0, 50, 100, 200	Yes	[redacted][h]	20026125	[redacted]LJ025
	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	27 Weeks	0, 10, 30, 100 (M) 0, 50, 100, 300 (F)	Yes	[redacted][i]	8282224	[redacted]LJ036
	Dog/Beagle	Oral gavage	3 Weeks[e]	0, 0.2[f], 0.6, 2[f]	Yes	PWRD	745-03871	NA
	Dog/Beagle	Oral gavage	15 Weeks[e]	0, 0.2[f], 0.6, 2[f]	Yes	[redacted][h]	20026126	[redacted]LJ024
	Dog/Beagle	Oral gavage	39 Weeks	0, 0.2, 0.6, 3[g]	Yes	[redacted][i]	8282225	[redacted]LJ037

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PD-0332991

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Genotoxicity								
Bacterial Mutation	*Salmonella typhimurium* (TA-98, TA-100, TA-1535, and TA-1537) *Escherichia coli* (WP2*uvrA* pKM101)	In vitro	NA	16 to 5000 µg/plate	Yes	PWRD	745-03858	NA
Kinetochore Micronucleus	CHO-WBL cells	In vitro	NA	0.7, 2.5, 8.8, 18, 35 µg/mL	No	PWRD	PD-0332991-0054	NA
Structural Chromosome Aberration	Human lymphocytes	In vitro	NA	0.311 to 50 µg/mL[k] 3.13 to 100 µg/mL[l]	Yes	[redacted][j]	25093-0-449OECD	745-03873
In Vivo Micronucleus	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	3 Weeks	M: 0, 50, 100, 200; F: 0, 100, 200, 400	Yes	PWRD	745-03731	NA
Reproductive and Developmental Toxicity[d]								
Embryofetal Development DRF	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6-17	0, 30, 100, 300	No	[redacted][m]	20036581	[redacted]LJ116
Embryofetal Development DRF	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	GD 7-19	0, 3, 10, 30, 100	No	[redacted][m]	20036582	[redacted]LJ117
Embryofetal Development	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6-17	0, 30, 100, 300	Yes	[redacted][m]	20039574	[redacted]GR062
Embryofetal Development	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	GD 7-19	0, 2, 10, 20	Yes	[redacted][m]	20039575	[redacted]GR063
Female Fertility and Early Embryonic Development	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	Through GD 7[n]	0, 30, 100, 300	Yes	[redacted][m]	20037853	[redacted]GR034
Male Fertility and Early Embryonic Development	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	15 Weeks	0, 10, 30, 100	Yes	[redacted][m]	20057548	[redacted]GR327
Pre- and Postnatal Development	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6-LD 20	0, 30, 100, 300	Yes	[redacted][m]	20084675	[redacted]GR387

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PD-0332991

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Local Tolerance								
Tissue Irritation	Rabbit/New Zealand White	IV; PV	1 Day	50 µg (IV) or 2.5 µg (PV)	No	PWRD	[redacted]LJ094	NA
Other Toxicity Studies								
Phototoxicity	Balb/c 3T3 fibroblasts	In vitro	NA	0.061 to 1000 µg/mL	No	PWRD	08SAN-07_3	NA
Hemolysis	New Zealand White Rabbit blood	In vitro	NA	50 µg/mL	No	PWRD	[redacted]LJ093	NA
Hemolysis	Human blood	In vitro	NA	50 µg/mL	No	PWRD	[redacted]LJ095	NA
Bone Marrow Toxicity Assay	Human bone marrow mononuclear cells; Human bone marrow hematopoietic stem cells	In vitro	NA	Up to 3 µM	No	PWRD	[redacted]LJ125	NA
15-Week Investigatory Toxicity study in Young Rats	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	15 Weeks[o]	0, 10 (M), 100 (M), 300 (F)	No	PWRD	[redacted]LJ122	NA
27-Week Investigatory Toxicity study in Aged Rats	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	27 Weeks[p]	0, 30, 100	Yes	[redacted][i]	8313012	[redacted]LJ143
Impurities								
PF-00710042								
Bacterial Reverse Mutation (impurity PF-00710042)	*Salmonella typhimurium* (TA-98, TA-100, TA-1535, and TA-1537) *Escherichia coli* (WP2*uvrA* pKM101)	In vitro	NA	Up to 5.0 mg/plate	No	PWRD	eAmes20[redacted]-15	NA
PF-00447880								
Bacterial Reverse Mutation (impurity PF-00447880)	*Salmonella typhimurium* (TA-98, TA-100, TA-1535, and TA-1537) *Escherichia coli* (WP2*uvrA* pKM101)	In vitro	NA	Up to 5.0 mg/plate	No	PWRD	20[redacted]-1QA-GN	NA
In Vitro Micronucleus Assay (impurity PF-00447880)	TK6 cells	In vitro	NA	0.41 to 5.05 µM	No	PWRD	eTK620[redacted]-5	NA

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PD-0332991

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Fluorescent In Situ Hybridization Analysis (impurity PF-00447880)	TK6 cells	In vitro	NA	1.65, 2.07 µM	No	PWRD	20[redacted]ETK6-5 FISH	NA
Degradants								
PF-06694807								
Bacterial Reverse Mutation (degradant PF-06694807)	*Salmonella typhimurium* (TA-98, TA-100, TA-1535, and TA-1537) *Escherichia coli* (WP2*uvrA* pKM101)	In vitro	NA	Up to 5.0 mg/plate	No	PWRD	eAMES20[redacted]-8	NA

CHO-WBL = Chinese hamster ovary cells; [redacted]; DRF = Dose range-finder; F = Female; FISH = Fluorescent In Situ Hybridization; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; M = Male; NA = Not applicable; NOAEL = No observed adverse effect level; PV = Perivascular; PWRD = Pfizer Worldwide Research & Development.

a. Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. Dihydrochloride salt.
c. Escalating-dose regimen; animals received 1 mg/kg (Day 1), 3 mg/kg (Day 2), 10 mg/kg (Day 3), 30 mg/kg (Day 7), 100 mg/kg (Day 8), 60 mg/kg (Day 9), 30 mg/kg (Day 22); animals not dosed on Days 4 to 6 and 10 to 21.
d. Unless specified otherwise, for definitive repeat-dose toxicity and reproductive toxicity studies, the NOAEL is underlined.
e. Includes a 4-week treatment-free observation period.
f. NOAEL is 0.2 mg/kg/day in males and 2 mg/kg/day in females.
g. NOAEL in females only, not established in males.
h. [redacted].
i. [redacted].
j. [redacted]
k. Without metabolic activation.
l. With metabolic activation.
m. [redacted].
n. 15 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until GD 7. Females only.
o. Dosing was for a total of 2 days or one, two, or four 3-weeks on/1-week off dosing cycles. Dosing cycles consisted of 3 weeks of daily dosing followed by a 1-week period without dosing.
p. Four or 7 cycles of once daily dosing for 3 weeks followed by a 1-week non dosing period.

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC STUDIES

Test Article: PD-0332991

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Dose[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number
Single-Dose Safety Pharmacology					
Safety Pharmacology – CNS Evaluation	Rats/Sprague-Dawley (male)	Oral	30, 300 mg/kg	Yes	745-03890
Safety Pharmacology – Pulmonary	Dogs/Beagle (male)	IV	1, 5 mg/kg	Yes	745-03892
Safety Pharmacology – Cardiovascular	Dogs/Beagle (male)	Oral	10, 30 mg/kg	Yes	745-03696
Safety Pharmacology – Cardiovascular	Dogs/Beagle (male)	Oral	3, 10, 30 mg/kg	Yes	[redacted]GR248
Repeat-Dose					
2-Week Dose-Ranging	Rats/Sprague-Dawley	Oral	M: 300, 600 mg/kg/day F: 30, 100, 300 mg/kg/day	No	745-03781
3-Week Toxicity & 4-Week Recovery	Rats/Sprague-Dawley	Oral	M: 50, 100, 200 mg/kg/day F: 100, 200, 400 mg/kg/day	Yes	745-03731
15-Week Toxicity & 4-Week Recovery	Rats/Sprague-Dawley	Oral	M: 10, 30, 100 mg/kg/day F: 50, 100, 200 mg/kg/day	Yes	20026125
27-Week Toxicity & 12-Week Recovery	Rats/Sprague-Dawley	Oral	M: 10, 30, 100 mg/kg/day F: 50, 100, 300 mg/kg/day	Yes	8282224 ([redacted]LJ036)
Dose Escalating Toxicity	Dogs/Beagle	Oral	1, 3, 10, 30, 60, 100	Yes	745-03662
2-Week Dose-Ranging	Dogs/Beagle	Oral	1, 3, 10, 20, 40	No	745-03765
3-Week Toxicity& 4-Week Recovery	Dogs/Beagle	Oral	0.2, 0.6, 2	Yes	745-03871
15-Week Toxicity & 4-Week Recovery	Dogs/Beagle	Oral	0.2, 0.6, 2	Yes	20026126
39-Week Toxicity & 12-Week Recovery	Dogs/Beagle	Oral	0.2, 0.6, 3	Yes	8282225 ([redacted]LJ037)

CNS = Central nervous system; EED = Early embryonic development; F = Females; GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; M = Males.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC STUDIES

Test Article: PD-0332991

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Dose[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number
Repeat-Dose Reproductive Toxicity					
Fertility & EED	Rats/Sprague-Dawley (female)	Oral	30, 100, 300 mg/kg/day	Yes	20037853
Embryo-Fetal Development	Rats/Sprague-Dawley (female)	Oral	30, 100, 300 mg/kg/day	Yes	20039574
Embryo-Fetal Development	Rabbits/New Zealand White (female)	Oral	2, 10, 20 mg/kg/day	Yes	20039575
Pre- and Postnatal Development	Rats/Sprague-Dawley (female)	Oral	30, 100, 300 mg/kg/day	Yes	20084675

CNS = Central nervous system; EED = Early embryonic development; F = Females; GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; M = Males.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.

2.6.7.3.A TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA

Test Article: PD-0332991

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	Palbociclib Total Steady State AUC_{24} (ng•h/mL) (Mean ± SD)					
			Rat		Rabbit	Dog		Human
			M	F	F	M	F	M/F
0.2	3-Week	745-03871				232 ± 85.3	179 ± 17.5	
0.2	15-Week	20026126				153 ± 24.0	129 ± 16.1	
0.2	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				96.6 ± 22.7	83.3 ± 21.7	
0.6	3-Week	745-03871				614 ± 146	548 ± 153	
0.6	15-Week	20026126				521 ± 139	543 ± 80.6	
0.6	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				193 ± 135	349 ± 179	
1.8[c]	3-Week	A5481003						1980
2	3-Week	745-03871				3290 ± 1050	3230 ± 789	
2	15-Week	20026126				1660 ± 311	1650 ± 947	
2	GD7 - 19	20039575			924 ± 126			
3	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				2580 ± 1090	2050 ± 2030	
10	15-Week	20026125	3770 ± 559					
10	GD7 - 19	20039575			7460 ± 1040			
10	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	6000 ± 416					
20	GD7 - 19	20039575			17200 ± 3150			
30	15-Week	20026125	18300 ± 4090					
30	Pre - to GD7[d]	20037853		740 ± 281				
30	GD6 - 17	20039574		836 ± 213				
30	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	21300 ± 2270					

AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours after dosing; CV = Coefficient of variation; F = Female; GD = Gestation day; M = Male; QD = Once-daily; SD = Standard deviation.

a. Doses were QD. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day, with the exception of the human dose, which is expressed as mg of active drug moiety.

b. Only toxicokinetic data from pivotal repeat-dose toxicity studies and fertility and embryo-fetal development studies are included in this overview table.

c. Approximately 1.8 mg/kg, based on an average human body weight of 70 kg (125 mg /70 kg).

d. Once-daily oral administration beginning 15 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until GD 7.

2.6.7.3.A TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA

Test Article: PD-0332991

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	Palbociclib Total Steady State AUC_{24} (ng•h/mL) (Mean ± SD)					
			Rat		Rabbit	Dog		Human
			M	F	F	M	F	M/F
50	3-Week	745-03731	17300					
50	15-Week	20026125		1710 ± 383				
50	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)		2650 ± 353				
100	3-Week	745-03731	45300	2530				
100	Pre - to GD7[d]	20037853		3040 ± 821				
100	15-Week	20026125	41600 ± 14900	2820 ± 418				
100	GD6 - 17	20039574		2960 ± 914				
100	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	29300 ± 11400	4450 ± 2030				
200	3-Week	745-03731	46600	5930				
200	15-Week	20026125		7050 ± 4150				
300	Pre - to GD7[d]	20037853		8010 ± 3060				
300	GD6 - 17	20039574		7310 ± 3050				
300	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)		12800 ± 5350				
400	3-Week	745-03731		11100				

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	PF-05089326 Total Steady State AUC_{24} (ng•h/mL) (Mean ± SD)				
			Rat		Dog[e]		Human
			M	F	M	F	M/F
1.8[c]	Single-dose	A5481009					110[f]
10	15-Week	20026125	52.1 ± 8.40				
30	15-Week	20026125	463 ± 101				
50	15-Week	20026125		28.6 ± 10.7			
100	15-Week	20026125	895 ± 266	83.8 ± 26.9			
200	15-Week	20026125		192 ± 155			

AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours after dosing; CV = Coefficient of variation; F = Female; GD = Gestation day; M = Male; QD = Once-daily; SD = Standard deviation.

a. Doses were QD. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day, with the exception of the human dose, which is expressed as mg of active drug moiety.

b. Only toxicokinetic data from pivotal repeat-dose toxicity studies and fertility and embryo-fetal development studies are included in this overview table.

c. Approximately 1.8 mg/kg, based on an average human body weight of 70 kg (125 mg/70 kg).

d. Once-daily oral administration beginning 15 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until GD7.

e. Plasma concentrations of the lactam metabolite, PF-05089326, were evaluated in the 15-week dog toxicity study; however, there was no measured exposure to the metabolite.

f. Combined gender data and %CV = 26.

2.6.7.3.B TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA

Test Article: PD-0332991

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	Palbociclib Unbound[c] Steady State AUC_{24} (ng•h/mL) (Mean ± SD)					
			Rat		Rabbit	Dog		Human
			M	F	F	M	F	M/F
0.2	3-Week	745-03871				95.8 ± 35.2	73.9 ± 7.23	
0.2	15-Week	20026126				63.2 ± 9.91	53.3 ± 6.65	
0.2	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				39.9 ± 9.38	34.4 ± 8.96	
0.6	3-Week	745-03871				254 ± 60.3	226 ± 63.2	
0.6	15-Week	20026126				215 ± 57.4	224 ± 33.3	
0.6	39-Week	8282225([redacted]LJ037)				79.7 ± 55.8	144 ± 73.9	
1.8[d]	3-Week	A5481003						291
2	3-Week	745-03871				1360 ± 434	1330 ± 326	
2	15-Week	20026126				686 ± 128	681 ± 391	
2	GD7 - 19	20039575			67.7 ± 9.2			
3	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				1070 ± 450	847 ± 838	
10	15-Week	20026125	471 ± 69.9					
10	GD7 - 19	20039575			547 ± 76.2			
10	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	750 ± 52.0					
20	GD7 - 19	20039575			1260 ± 231			
30	15-Week	20026125	2290 ± 511					
30	Pre - to GD7[e]	20037853		92.5 ± 35.1				
30	GD6 - 17	20039574		105 ± 26.6				
30	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	2660 ± 284					
50	3-Week	745-03731	2160					
50	15-Week	20026125		214 ± 47.9				
50	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)		331 ± 44.1				

AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours after dosing; CV = Coefficient of variation; F = Female; fu = Unbound fraction; GD = Gestation day; M = Male; QD = Once-daily; SD = Standard deviation.

a. Doses were QD. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day, with the exception of the human dose, which is expressed as mg of active drug moiety.

b. Only toxicokinetic data from pivotal repeat-dose toxicity studies and fertility and embryo-fetal development studies are included in this overview table.

c. AUC unbound = AUC (total) × mean fu in rat, rabbit, dog, or human plasma (fu = 0.125, 0.0733, 0.413, or 0.147, respectively).

d. Approximately 1.8 mg/kg, based on an average human body weight of 70 kg (125 mg/70 kg).

e. Once-daily oral administration beginning 15 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until GD 7.

2.6.7.3.B TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA

Test Article: PD-0332991

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	Palbociclib Unbound[c] Steady State AUC_{24} (ng•h/mL) (Mean ± SD)					
			Rat		Rabbit	Dog		Human
			M	F	F	M	F	M/F
100	3-Week	745-03731	5660	316				
100	Pre - to GD7[e]	20037853		380 ± 103				
100	15-Week	20026125	5200 ± 1860	353 ± 52.3				
100	GD6 - 17	20039574		370 ± 114				
100	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	3660 ± 1430	556 ± 254				
200	3-Week	745-03731	5830	741				
200	15-Week	20026125		881 ± 519				
300	Pre - to GD7[e]	20037853		1000 ± 383				
300	GD6 - 17	20039574		914 ± 381				
300	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)		1600 ± 669				
400	3-Week	745-03731		1390				

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	PF-05089326 Unbound[f] Steady State AUC_{24} (ng•h/mL) (Mean ± SD)				
			Rat		Dog[g]		Human
			M	F	M	F	M/F
1.8[d]	Single-dose	A5481009					5.39[h]
10	15-Week	20026125	2.52 ± 0.406				
30	15-Week	20026125	22.4 ± 4.88				
50	15-Week	20026125		1.38 ± 0.517			
100	15-Week	20026125	43.2 ± 12.8	4.05 ± 1.30			
200	15-Week	20026125		9.27 ± 7.49			

AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours after dosing; CV = Coefficient of variation; F = Female; fu = Unbound fraction; GD = Gestation day; M = Male; QD = Once-daily; SD = Standard deviation.

a. Doses were QD. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day, with the exception of the human dose, which is expressed as mg of active drug moiety.

b. Only toxicokinetic data from pivotal repeat-dose toxicity studies and fertility and embryo-fetal development studies are included in this overview table.

c. AUC unbound = AUC (total) × mean fu in rat, rabbit, dog, or human plasma (fu = 0.125, 0.0733, 0.413, or 0.147, respectively).

d. Approximately 1.8 mg/kg, based on an average human body weight of 70 kg (125 mg/70 kg).

e. Once-daily oral administration beginning 15 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until GD 7.

f. PF-05089326 AUC unbound = AUC (total) × mean fu in rat, dog, or human plasma (fu = 0.0483, 0.255, or 0.0490, respectively).

g. Plasma concentrations of the lactam metabolite, PF-05089326, were evaluated in the 15-week dog toxicity study; however, there was no measured exposure to the metabolite.

h. Combined gender data and %CV = 1.27.

2.6.7.3.C TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA

Test Article: PD-0332991

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	Palbociclib Total Steady State C_{max} (ng/mL) (Mean ± SD)					
			Rat		Rabbit	Dog		Human
			M	F	F	M	F	M/F
0.2	3-Week	745-03871				13.7 ± 4.10	10.7 ± 0.803	
0.2	15-Week	20026126				9.58 ± 1.91	8.22 ± 0.275	
0.2	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				5.97 ± 1.33	5.37 ± 1.26	
0.6	3-Week	745-03871				37.2 ± 7.56	33.4 ± 10.5	
0.6	15-Week	20026126				29.5 ± 8.75	32.4 ± 4.49	
0.6	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				11.3 ± 9.11	21.6 ± 11.4	
1.8[c]	3-Week	A5481003						116
2	3-Week	745-03871				195 ± 43.8	192 ± 31.4	
2	15-Week	20026126				98.7 ± 34.5	101 ± 59.9	
2	GD7 - 19	20039575			178 ± 25.0			
3	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				138 ± 57.5	119 ± 111	
10	15-Week	20026125	367 ± 32.7					
10	GD7 - 19	20039575			1280 ± 252			
10	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	573 ± 83.3					
20	GD7 - 19	20039575			2470 ± 377			
30	15-Week	20026125	1260 ± 204					
30	Pre - to GD7[d]	20037853		92.5 ± 37.1				
30	GD6 - 17	20039574		111 ± 23.2				
30	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	1490 ± 95.0					

C_{max} = Highest drug concentration observed in plasma; CV = Coefficient of variation; F = Female; GD = Gestation day; M = Male; QD = Once-daily; SD = Standard deviation.
a. Doses were QD. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day, with the exception of the human dose, which is expressed as mg of active drug moiety.
b. Only toxicokinetic data from pivotal repeat-dose toxicity studies and fertility and embryo-fetal development studies are included in this overview table.
c. Approximately 1.8 mg/kg, based on an average human body weight of 70 kg (125 mg / 70 kg).
d. Once-daily oral administration beginning 15 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until GD 7.

2.6.7.3.C TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA

Test Article: PD-0332991

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	Palbociclib Total Steady State C_{max} (ng/mL) (Mean ± SD)					
			Rat		Rabbit	Dog		Human
			M	F	F	M	F	M/F
50	3-Week	745-03731	1800					
50	15-Week	20026125		247 ± 63.5				
50	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)		447 ± 88.0				
100	3-Week	745-03731	2200	296				
100	Pre - to GD7[d]	20037853		306 ± 92.9				
100	15-Week	20026125	2260 ± 618	308 ± 64.7				
100	GD6 - 17	20039574		278 ± 80.5				
100	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	1970 ± 357	1200 ± 1040				
200	3-Week	745-03731	2310	494				
200	15-Week	20026125		586 ± 237				
300	Pre - to GD7[d]	20037853		627 ± 256				
300	GD6 - 17	20039574		456 ± 207				
300	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)		1010 ± 447				
400	3-Week	745-03731		954				

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	PF-05089326 Total Steady State C_{max} (ng/mL) (Mean ± SD)				
			Rat		Dog[e]		Human
			M	F	M	F	M/F
1.8[c]	Single-dose	A5481009					7.25[f]
10	15-Week	20026125	6.91 ± 0.699				
30	15-Week	20026125	27.7 ± 3.56				
50	15-Week	20026125		3.21 ± 1.25			
100	15-Week	20026125	55.1 ± 19.2	7.29 ± 2.48			
200	15-Week	20026125		10.0 ± 7.55			

C_{max} = Highest drug concentration observed in plasma; CV = Coefficient of variation; F = Female; GD = Gestation day; M = Male; QD = Once-daily; SD = Standard deviation.
a. Doses were QD. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day, with the exception of the human dose, which is expressed as mg of active drug moiety.
b. Only toxicokinetic data from pivotal repeat-dose toxicity studies and fertility and embryo-fetal development studies are included in this overview table.
c. Approximately 1.8 mg/kg, based on an average human body weight of 70 kg (125 mg/70 kg).
d. Once-daily oral administration beginning 15 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until GD 7.
e. Plasma concentrations of the lactam metabolite, PF-05089326, were evaluated in the 15-week dog toxicity study; however, there was no measured exposure to the metabolite.
f. Combined gender data and %CV = 35.

2.6.7.3.D TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA

Test Article: PD-0332991

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	Palbociclib Unbound[c] Steady State C_{max} (ng/mL) (Mean ± SD)					
			Rat		Rabbit	Dog		Human
			M	F	F	M	F	M/F
0.2	3-Week	745-03871				5.66 ± 1.69	4.42 ± 0.332	
0.2	15-Week	20026126				3.96 ± 0.789	3.39 ± 0.114	
0.2	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				2.47 ± 0.549	2.22 ± 0.520	
0.6	3-Week	745-03871				15.4 ± 3.12	13.8 ± 4.34	
0.6	15-Week	20026126				12.2 ± 3.61	13.4 ± 1.85	
0.6	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				4.67 ± 3.76	8.92 ± 4.71	
1.8[d]	3-Week	A5481003						17.0
2	3-Week	745-03871				80.5 ± 18.1	79.3 ± 13.0	
2	15-Week	20026126				40.8 ± 14.2	41.7 ± 24.7	
2	GD7 - 19	20039575			13.0 ± 1.83			
3	39-Week	8282225 ([redacted]LJ037)				57.0 ± 23.7	49.1 ± 45.8	
10	15-Week	20026125	45.9 ± 4.09					
10	GD7 - 19	20039575			93.8 ± 18.5			
10	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	71.6 ± 10.4					
20	GD7 - 19	20039575			181 ± 27.6			
30	15-Week	20026125	158 ± 25.5					
30	Pre - to GD7[e]	20037853		11.6 ± 4.64				
30	GD6 - 17	20039574		13.9 ± 2.9				
30	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	186 ± 11.9					
50	3-Week	745-03731	225					
50	15-Week	20026125		30.9 ± 7.94				

C_{max} = Highest drug concentration observed in plasma; CV = Coefficient of variation; F = Female; fu = Unbound fraction; GD = Gestation day; M = Male; QD = Once-daily; SD = Standard deviation.

a. Doses were QD. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day, with the exception of the human dose, which is expressed as mg of active drug moiety.

b. Only toxicokinetic data from pivotal repeat-dose toxicity studies and fertility and embryo-fetal development studies are included in this overview table.

c. C_{max} unbound = C_{max} (total) × mean fu in rat, rabbit, dog, or human plasma (fu = 0.125, 0.0733, 0.413, or 0.147, respectively).

d. Approximately 1.8 mg/kg, based on an average human body weight of 70 kg (125 mg/70 kg).

e. Once-daily oral administration beginning 15 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until GD 7.

2.6.7.3.D TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETIC DATA

Test Article: PD-0332991

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	Palbociclib Unbound[c] Steady State C_{max} (ng/mL) (Mean ± SD)					
			Rat		Rabbit	Dog		Human
			M	F	F	M	F	M/F
50	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)		55.9 ± 11.0				
100	3-Week	745-03731	275	37.0				
100	Pre - to GD7[e]	20037853		38.3 ± 11.6				
100	15-Week	20026125	283 ± 77.3	38.5 ± 8.09				
100	GD6 - 17	20039574		34.8 ± 10.1				
100	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)	246 ± 44.6	150 ± 130				
200	3-Week	745-03731	289	61.8				
200	15-Week	20026125		73.3 ± 29.6				
300	Pre - to GD7[e]	20037853		78.4 ± 32.0				
300	GD6 - 17	20039574		57.0 ± 25.9				
300	27-Week	8282224 ([redacted]LJ036)		126 ± 55.9				
400	3-Week	745-03731		119				

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type[b]	Study Number	PF-05089326 Unbound[f] Steady State C_{max} (ng/mL) (Mean ± SD)				
			Rat		Dog[g]		Human
			M	F	M	F	M/F
1.8[d]	Single-dose	A5481009					0.355[h]
10	15-Week	20026125	0.334 ± 0.0338				
30	15-Week	20026125	1.34 ± 0.172				
50	15-Week	20026125		0.155 ± 0.0604			
100	15-Week	20026125	2.66 ± 0.927	0.352 ± 0.120			
200	15-Week	20026125		0.483 ± 0.365			

C_{max} = Highest drug concentration observed in plasma; CV = Coefficient of variation; F = Female; fu = Unbound fraction; GD = Gestation day; M = Male; QD = Once-daily; SD = Standard deviation.

a. Doses were QD. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day, with the exception of the human dose, which is expressed as mg of active drug moiety.

b. Only toxicokinetic data from pivotal repeat-dose toxicity studies and fertility and embryo-fetal development studies are included in this overview table.

c. C_{max} unbound = C_{max} (total) × mean fu in rat, rabbit, dog, or human plasma (fu = 0.125, 0.0733, 0.413, or 0.147, respectively).

d. Approximately 1.8 mg/kg, based on an average human body weight of 70 kg (125 mg/70 kg).

e. Once-daily oral administration beginning 15 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until GD 7.

f. PF-05089326 C_{max} unbound = C_{max} (total) × mean fu in rat, dog, or human plasma (fu = 0.0483, 0.255, or 0.0490, respectively).

g. Plasma concentrations of PF-05089326 were evaluated in the 15-week dog toxicity study; however, there was no measured exposure to the metabolite.

h. Combined gender data and %CV = 1.72.

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: PD-0332991

Lot/Batch Number	Assay (%)	Specified Impurities		Study Number	Type of Study
		PF-00447880	PF-00710042		
Proposed Specification:	98.0%-102.0%	NMT 0.5%	NMT 0.4%		
LCD-4245[a]	97.3	0.94	0.19	745-03858	Bacterial Mutagenicity
T[a]	100.1	0.09	NR	745-03742	Single-Dose Rat
R[b]	98.6	NR	NR	745-03662	Escalating-Dose Dog
P[a]	99.9	0.11	NR	745-03781	Nonpivotal 2-Week Rat
T[a]	100.1	0.09	NR	745-03765	Nonpivotal 2-Week Dog
LCD-4245[a]	97.3	0.94	0.19	25093-0-449OECD	Chromosomal Aberration
LCD-4245[a]	97.3	0.94	0.19	745-03731	Pivotal 3-Week Rat
LCD-4201[a]	100	0.06	ND	745-03871	Pivotal 3-Week Dog
LCD-4245[a]	97.3	0.94	0.19	745-03731	In Vivo Micronucleus Rat
PF-00080665-73-006	NAV	NAV	NAV	[redacted]SAN-07_3	Phototoxicity in 3T3 Neutral Red Assay
GR01681[a]	98.7	0.52	ND	PD-0332991-0054	Kinetochore Micronucleus
GR06533[c]	101.7	0.15	ND	[redacted]LJ093	In Vitro blood compatibility-rabbit
GR06533[c]	101.7	0.15	ND	[redacted]LJ095	In Vitro blood compatibility-human
GR06533[c]	101.7	0.15	ND	[redacted]LJ094	Tissue Irritation in Rabbit
GR06533[c]	101.7	0.15	ND	8282224	Pivotal 27-Week Rat
GR06533[c]	101.7	0.15	ND	8282225	Pivotal 39-Week Dog
GR06024	99.8	0.23	ND	20026125	Pivotal 15-Week Rat
GR06024	99.8	0.23	ND	20026126	Pivotal 15-Week Dog
E010013487[c]	101.7	0.15	ND	20036581	Dose-Range Finding Development in Rat
E010013487[c]	101.7	0.15	ND	20036582	Dose-Range Finding Development in Rabbit
E010013487[c]	101.7	0.15	ND	20039574	Embryo-fetal Development in Rats
E010013487[c]	101.7	0.15	ND	20039575	Embryo-fetal Development in Rabbits
E010013487/GR06533[c]	101.7	0.15	ND	20037853	Fertility in Rats
E010014102	98.9	0.09	ND	20057548	Fertility in Male Rats
PF-00080665-73-0002	NAV	NAV	NAV	[redacted]LJ125	Bone Marrow Mechanistic Study
GR08498	100.6	0.06[d]	0.05[e]	[redacted]LJ122	Nonpivotal 15-Week Rat
E010014769	100.6	0.06[d]	0.05[e]	[redacted]LJ143	Pivotal 27-Week Rat
E010014768	100.7	0.06[d]	0.05[e]		
E010014255	99.4	0.09	0.06	20084675	Pre- and Postnatal Development in Rat

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: PD-0332991

Lot/Batch Number	Assay (%)	Specified Impurities	Study Number	Type of Study

NA = Not applicable; NAV = Not available; ND = Not detected; NMT = Not more than; NR = Not reported.
a. PD-0332991-0054 (Isethionate Salt).
b. PD-0332991-0002 (Dihydrochloride Salt).
c. Lot number E010013487 was retested and renumbered as GR06533; Certificate of Analysis authorized on [redacted] 20[redacted].
d. NMT 0.9%.
e. NMT 0.3%.

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY

Test Article: PD-0332991-54 (isethionate salt)
PD-0332991-2B (dihydrochloride salt)

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage, 10 mL/kg, (deionized water/solution) Lot T	125, 250, 500, 1000, 2000[b]	3M/3F	500M 2000F	1000 M >2000 F	**≤1000 mg/kg:** Moribund euthanasia[c], fecal changes (M), hypoactivity (M), dyspnea (M), body weight loss (M). **2000 mg/kg:** Death[d], fecal changes (F); red muzzle staining (F), urine staining (F); ↓ skin turgor (F); dyspnea (F); body weight loss (F); dilatation of stomach and intestines (F).	745-03742/Yes
Dog/Beagle	Oral gavage; (gelatin capsules) Lot R	1 to 100[e]	1M/1F	100	>100[f]	**≥30 mg/kg:** emesis, fecal changes, ↓ food consumption, ↓ body weight; ↓ RBC count, ↓ hemoglobin, ↓ hematocrit, ↓ platelets, ↓ MPV, ↓ WBC count, ↓ absolute neutrophil counts, lymphocytes; pancytopenic bone marrow suppression.	745-03662/Yes

Toxicokinetic Parameters (745-03662) (M/F):

Dose (mg/kg)	1	30
C_{max} (ng/mL)	29.4/32.8	1220 (F)
AUC_{24} (ng•h/mL)	529/500	21200 (F)

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY

Test Article: PD-0332991-54 (isethionate salt)
PD-0332991-2B (dihydrochloride salt)

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance

AUC_{24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; MPV = Mean platelet volume; RBC = Red blood cell; WBC = White blood cell.

a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight.

b. PD-0332991 was administered on Day 1 as a single-dose at all dose levels and animals were observed for clinical signs during a 14-day observation period.

c. On Day 6, 1 male at 1000 mg/kg and 1 male at 2000 mg/kg were sacrificed moribund. All surviving males at 1000 and 2000 mg/kg were euthanized on Day 8 due to deteriorating clinical condition.

d. On Day 6, 1 male was found dead.

e. Escalating-dose regimen; animals received 1 mg/kg (Day 1), 3 mg/kg (Day 2), 10 mg/kg (Day 3), 30 mg/kg (Day 7), 100 mg/kg (Day 8), 60 mg/kg (Day 9), 30 mg/kg (Day 22, female only); animals not dosed on Days 4 to 6 and 10 to 21.

f. Male euthanized moribund on Day 18 after receiving single doses up to 100 mg/kg and a subsequent 60 mg/kg dose, but the interdigital cyst formation in the male dog was considered incidental and not attributed to palbociclib administration.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES — Test Article: PD-0332991-54 (isethionate salt)

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/ day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage; QD; 10 mL/kg; vehicle (deionized water/solution) Lot P	2 weeks	0, 300, 600 (M); 0, 30, 100, 300 (F)	5M/5F	ND	**≥30 mg/kg (F):** ↓ feces. **300 mg/kg (F):** Rales; red muzzle staining; ↓ TNC, myeloid, and erythroid cells; pancytopenic bone marrow suppression, intestinal crypt epithelial change. **≥300 mg/kg (M):** Mortality; poor general condition, alopecia, rales, reduced feces, salivation, red muzzle staining, ↓ body weight loss, ↓ food consumption; ↓ RBC and WBC parameters; pancytopenic bone marrow suppression, lymphoid tissue depletion/lymphocytolysis, intestinal crypt and glandular epithelial changes, single cell hepatocyte necrosis, stomach, small and large intestine grossly dilated, small thymus. **600 mg/kg (M):** Mortality; stomach, and small and large intestine grossly dilated.	745-03781/No

Toxicokinetic Parameters:

Dose (mg/kg/day)	**0**		**30**	**100**	**300**		**600**
Sex	**M**	**F**	**F**	**F**	**M**	**F**	**M**
Day 1							
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	NA[b]	211	291	3250	2400	3140
AUC_{24} (ng•h/mL)[c]	NA[b]	NA[b]	887	2960	50500	37300	64400
Day 8 (males only)							
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	NA[b]	NT	NT	5620	NC	NC
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	NA[b]	NT	NT	104000	NC	NC
Day 14 (females only)							
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	NA[b]	191	403	NC	634	NC

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES — Test Article: PD-0332991-54 (isethionate salt)

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/ day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Toxicokinetic Parameters:							
Dose (mg/kg/day)			**0**	**30**	**100**	**300**	**600**
Sex			**M F**	**F**	**F**	**M F**	**M**
AUC_{24} (ng•h/mL)[c]			NA[b] NA[b]	1020	3170	NC 9370	NC
Dog/Beagle	Oral gavage; QD; 5 mL/kg vehicle (deionized water/solution); Lot T	2 weeks	0, 1, 3, 10, 20, 40	2M/2F	ND	**1 and 3 mg/kg:** Emesis, fecal changes, ↓ food consumption, lacrimation; ↓ neutrophils; pancytopenic bone marrow suppression, intestinal crypt and glandular epithelial change, ↑ total lymphocytes. **3 mg/kg:** ↓ reticulocytes in males, platelets, lymphocytes. **10 mg/kg:** Mortality; villous atrophy in small intestine (2 males); bile duct hypertrophy and inflammation, abnormal epithelium pyloric stomach (1). **≤10 mg/kg:** enlarged nuclei, basophilic cytoplasm in intestinal glands. **≥10 mg/kg:** Poor general condition, emesis, fecal changes, ↓ food consumption; salivation; ↑ fibrinogen; ↓ RBC parameters, ↓ lymphocytes; prolonged PT and APTT; gastrointestinal tract mucosal hemorrhage, red discoloration/erosion. **40 mg/kg:** ↓ body weight in 1 male and 1 female by 10% and 8%, respectively, on Day 8.	745-03765/No

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES — Test Article: PD-0332991-54 (isethionate salt)

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/ day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Toxicokinetic Parameters (Male and Female Combined Sexes):							
Dose (mg/kg/day)	**0**	**1**	**3**	**10**	**20**	**40**	
Day 1							
C_{max} (ng/mL)	NA[d]	26	119	449	559	560	
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[d]	392	1890	7720	9630	9430	
Day 14							
C_{max} (ng/mL)	NA[d]	59.5	313	1120[e]	849[e]	1250[e]	
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[d]	992	5700	24500[e]	18900[e]	25600[e]	

APTT = Activated partial thromboplastin time; AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; NC = Not collected; ND = Not determined; NOAEL = No observed adverse effect level; NT = Not tested; PT = Prothrombin time; QD = Once daily; RBC = Red blood cell; TK = Toxicokinetic; TNC = Total nucleated cell; WBC = White blood cell.

a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.

b. Blood not collected from control animals (rats). No control TK groups (rats).

c. Percent of extrapolated area from 12 to 24 hours postdose ranged from 21% to 30% of AUC_{24} for females in the 30 mg/kg and 100 mg/kg groups on Days 1 and 14.

d. Blood collected but not analyzed (dogs).

e. Day 9 C_{max} and AUC values.

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY Report Title: 3-Week Oral Toxicity Study of PD 332991-54 in Rats Test Article: PD-0332991-54 (Isethionate Salt)

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Initial Age: ~ 7-8 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Vehicle/Formulation: Deionized water/solution
Duration of Dosing: 3 weeks
Duration of Postdose: 4 weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: 745-03731
Lot Number: LCD-4245
GLP Compliance: Yes
Special Features: PD-332991-54 was positive for micronucleus formation in males at ≥100 mg/kg and negative for micronucleus formation in females up to 400 mg/kg/day.
No Observed Adverse Effect Level: <50 mg/kg/day (males); 200 mg/kg/day (females)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**	**100**		**200**		**400**
Sex	**M**	**F**	**M**	**M**	**F**	**M**	**F**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	15	15	15	15	15	15	15	15
Toxicokinetics	0	0	6	6	6	6	6	6
Toxicokinetics:								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	1170	1740	306	1710	435	319
Day 21	NA[b]	NA[b]	1800	2220	296	2310	494	954
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	18600	30900	2050	35200	4090	4850
Day 21	NA[b]	NA[b]	17300	45300	2530	46600	5930	11100
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	1[c]	0	0	0	0	5[c,d]	1[c]	2[d]
Toxicokinetics	NA	NA	2[e]	0	0	3[d]	1[c]	0
Body Weight g[f]								
Day 8	280.6	193.0	-6.2*	-13.8*	-2.1	-23*	-5.3*	-4.3†
Day 21	357.4	220.7	-10*	-20*	-1	-23*	-3	-3
Food Consumption g[f]								
Day 8	142.8	97.3	-14.5*	-33*	-4	-57*	-14*	-18.8*
Day 21	144.5	104.1	-11†	-19*	-2	-4	-2	-4

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 745-03731
(continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		50	100		200		400
Sex	**M**	**F**	**M**	**M**	**F**	**M**	**F**	**F**
Clinical Observations[g]								
Chromodacryorrhea	0	0	1	1	0	2	0	0
Decreased skin turgor	0	0	0	0	0	9	1	0
Dyspnea	0	0	0	0	0	3	1	2
Fecal changes[h]	0	0	2	15	11	26	17	16
Hypoactive	0	0	0	0	0	3	0	1
Pallor	0	0	0	0	0	1	0	0
Rales	0	0	1	3	2	15	3	9
Red staining[i]	0	0	2	7	7	20	10	12
Rough pelage	0	0	0	0	0	9	0	0
Salivation	1	0	7	17	13	21	15	19
Thin	0	0	0	0	0	3	1	1
Urine Staining	0	0	2	7	5	14	7	13
Hematology/Coagulation- Week 2								
Red blood cells (10e6/µL)	7.409	7.563	7.085†	7.125†	7.258	8.077	7.682	7.334
Hemoglobin (g/dL)	14.95	14.95	14.51	14.59	14.69	16.05	15.10	14.54
Hematocrit (%)	43.44	43.41	41.93	41.85	42.58	46.25	44.08	42.31
Mean corpuscular volume (fL)	58.64	57.44	59.27	58.79	58.69	57.37†	57.42	57.68
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	20.18	19.78	20.53	20.51	20.26	19.92	19.64	19.84
Reticulocyte, absolute (10e3/µL)	396.2	217.3	152.0*	63.2*	169.4*	32.6*	134.2*	96.3*
White blood cells (10e3/µL)	12.55	10.64	9.54*	10.95†	12.28	6.34*	9.72	10.92
Neutrophils, absolute (10e3/µL)	1.74	0.75	0.35*	0.50*	0.86	0.36*	1.15	1.05
Lymphocytes, absolute (10e3/µL)	9.95	9.09	8.88	10.25	10.68	5.87*	7.99	9.29
Monocytes, absolute (10e3/µL)	0.67	0.58	0.25*	0.13*	0.53	0.08*	0.44	0.38*
Eosinophils, absolute (10e3/µL)	0.19	0.18	0.05*	0.05*	0.19	0.01*	0.15	0.13
Platelets (10e3/µL)	1231.8	1281.1	641.8*	436.1*	1204.3	460.0*	1185.5	1035.6*
Mean platelet volume (fL)	5.81	5.60	5.59	6.12	5.40	6.44*	5.56	5.33
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 745-03731
(continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		50	100		200		400
Sex	**M**	**F**	**M**	**M**	**F**	**M**	**F**	**F**
Bone Marrow - Week 4								
Total nucleated cell (10e6/femur)	166.8	80.04	66.38*	46.42*	69.60	42.60*	49.90*	36.48*
Total myeloid (10e6/femur)	76.18	33.64	26.64*	18.92*	26.70†	18.78*	19.40*	14.68*
Total erythroid (10e6/femur)	79.94	40.42	34.40*	24.80*	35.30	21.26*	25.82*	18.18*
Total lymphocytes (10e6/femur)	11.62	6.18	4.82*	2.32*	7.10	2.40*	4.58†	3.62*
Megakaryocytes (10e6/femur)	0.78	0.50	0.52	0.28*	0.50	0.28*	0.30*	0.34*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Micronucleus[j,k] Week 4								
PE (%)	65.82	68.84	68.76	68.50	74.16	63.38	66.26	70.76
MPE (%)	0.52	0.54	1.04	1.10†	0.68	1.38†	0.74	0.86
Organ Weights[c]								
Spleen								
Absolute (g)	0.728	0.424	-29*	-35*	+10	-39*	+4	+5
Relative (g/100g body weight)	0.216	0.206	-21*	-19†	+13	-19†	+8	+10
Relative (g/g brain weight)	0.358	0.225	-28*	-33*	+9	-37*	+7	+7
Thymus								
Absolute (g)	0.546	0.427	-66*	-69*	-6	-55*	-38*	-36*
Relative (g/100g body weight)	0.162	0.207	-62*	-61*	-4	-39*	-35*	-34*
Relative (g/g brain weight)	0.269	0.226	-66*	-68*	-7	-54*	-36*	-35*
Testes								
Absolute (g)	3.203	NA	-1	-8*	NA	-10*	NA	NA
Relative (g/100g body weight)	0.951	NA	+11*	+16*	NA	+19*	NA	NA
Relative (g/g brain weight)	1.578	NA	+1	-5	NA	-7*	NA	NA
Epididymides								
Absolute (g)	1.057	NA	-3	-12*	NA	-15*	NA	NA
Relative (g/100g body weight)	0.314	NA	+9	+12†	NA	+12†	NA	NA
Relative (g/g brain weight)	0.52	NA	-2	-8†	NA	-12*	NA	NA
Gross Pathology								
Number Examined	10	10	10	10	10	15	11	10
Small intestine								
Abnormal content	0	0	0	0	0	1	0	0
Dilatation	0	0	0	0	0	3	0	1

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 745-03731
(continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		50	100		200		400
Sex	M	F	M	M	F	M	F	F
Stomach								
Abnormal color, glandular	0	0	1	0	0	0	0	0
Abnormal color	0	0	1	0	0	0	0	0
Dilatation	0	0	0	0	0	3	0	1
Discoloration	0	0	0	0	0	1	0	0
Mesenteric lymph node								
Abnormal color	0	0	1	1	0	0	0	0
Enlarged	0	0	0	1	0	2	0	0
Spleen								
Small	0	1	0	0	0	3	0	0
Thymus								
Abnormal texture	0	0	0	1	0	1	0	0
Enlarged	1	0	0	0	1	0	0	0
Small	0	0	7	9	0	5	0	4
Lung								
Abnormal color, lobe	0	0	0	0	0	1	0	0
Abnormal color, pleura	1	0	0	0	0	0	0	0
Histopathology								
Number Examined	10	10	10	10	10	15	11	10
Small intestine								
Erosion	0	0	0	0	0	4	0	1
Stomach								
Cyst	0	0	1	0	0	0	0	0
Erosion, glandular stomach	0	0	0	0	0	3	1	1
Mesenteric lymph node								
Depletion, lymphoid	0	0	4	4	0	11	1	2
Hemorrhage	0	0	2	1	0	0	0	1
Infiltrate, foamy macrophages; medulla	0	0	0	0	0	6	0	0
Bone Marrow								
Depletion	0	0	10	10	2	15	9	10
Spleen								
Depletion, lymphoid	0	0	4	5	0	12	1	2

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 745-03731
(continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		50	100		200		400
Sex	**M**	**F**	**M**	**M**	**F**	**M**	**F**	**F**
Thymus								
Depletion, lymphoid	0	0	10	10	0	12	1	2
Not identified – area sampled	0	0	0	0	0	2	0	0
Hemorrhage	0	1	0	0	1	0	0	0
Necrosis	0	0	0	0	0	0	0	1
Liver								
Necrosis, single cell, hepatocyte	0	0	0	1	0	4	0	0
Testis								
Atrophy, seminiferous tubule	0	NA	0	0	NA	1	NA	NA
Degeneration, spermatogenic epithelium	0	NA	4	8	NA	13	NA	NA
Prostate								
Atrophy	1	NA	4	3	NA	4	NA	NA
Decreased, content	0	NA	2	2	NA	7	NA	NA
Epididymis								
Abnormal content	0	NA	0	0	NA	12	NA	NA
Lung								
Hemorrhage, alveolus	0	0	1	0	0	0	0	0
Infiltrate, eosinophilic; perivascular	0	1	2	0	0	0	0	0
Infiltrate, foamy macrophages; alveolus	0	1	7	10	6	15	7	5
Infiltrate, lymphocytic	1	1	0	0	0	0	0	0
Infiltrate, mixed cell; peribronchial	0	0	0	2	0	0	0	0
Inflammation, neutrophilic; pleura	1	0	0	0	0	0	0	0
Abnormal content, alveolus	0	0	0	0	1	0	1	0
Fibrosis, terminal bronchiole	0	0	0	0	0	0	1	0
Ossification	0	0	0	0	1	0	0	0
Trachea								
Atrophy, mucosa	0	0	8	3	5	9	7	7
Infiltrate, neutrophilic	0	0	0	0	0	2	1	1
Necrosis	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 745-03731
(continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		50	100		200		400
Sex	M	F	M	M	F	M	F	F
Post-dose Evaluation								
Histopathology								
Number Examined	5	5	5	5	5	0	4	5
Trachea								
Atrophy; mucosa	0	0	3	0	1	0	3	2
Infiltrate, mixed cell	0	0	0	1	0	0	0	0
Testis								
Atrophy, seminiferous tubule	2	NA	0	0	NA	0	NA	NA
Degeneration, spermatogenic epithelium	0	NA	3	4	NA	0	NA	NA

∗ Mean value significantly different from primary control mean at 1% level or (†) 5% level by linear trend test within one factor analysis of variance.
p ≤0.05 significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; MPE = Micronucleated polychromatic erythrocytes; NA = Not applicable; PE = Polychromatic erythrocytes; QD = Once daily; TK = Toxicokinetic.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. No toxicokinetic animals assigned to this group.
c. Gavage trauma; one control male on Day 4, one 200 mg/kg/day male on Day 8, one 200 mg/kg/day female on Day 19, one 200 mg/kg/day TK female on Day 24. Deaths were not considered test-article related.
d. Two 200 mg/kg/day males found dead on Day 9 or 15; two 200 mg/kg/day males euthanized moribund on Days 8 or 9; three 200 mg/kg/day TK males found dead on Days 10 or 14; two 400 mg/kg/day females, one euthanized moribund on Day 4 and one found dead on Day 20. Deaths were considered test-article related.
e. Two 50 mg/kg/day TK males died during blood collection procedure for toxicokinetics on study Day 21. Deaths were not considered test-article related.
f. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.
g. Combined with toxicokinetic animals.
h. Fecal changes including absent feces, reduced feces, discolored feces, fecal staining, and soft feces.
i. Muzzle, hair coat, forelimb.
j. Micronucleus summary can be found in Tabulated Summary 2.6.7.9.
k. Positive control cyclophosphamide at 20 mg/kg; 31.76% PE (males) and 3.14% MPE (males); 21.54% PE (females) and 4.02% MPE (females).

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY Report Title: A 15-Week Toxicity Study of PD-0332991 by Oral Gavage Administration in Rats with a 4-Week Recovery Period Test Article: PD-0332991

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Initial Age: ~ 8 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (M); [redacted] 20[redacted] (F)
Duration of Dosing: 15 weeks
Duration of Postdose: 4 weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: 20026125
Lot Number: GR06024
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose in reverse osmosis deionized water.
Special Features: Rats were dosed orally by gavage for 3 weeks followed by a 1-week off dose period repeated up to 4 times during a 15-week period.
No Observed Adverse Effect Level: 10 mg/kg/day (M); 200 mg/kg/day (F)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals								
Toxicity	15	15	10	10	10	10	15	15
Toxicokinetics	3	3	6	6	6	6	6	6
Toxicokinetics (PD-0332991):								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	270	265	1270	356	2110	704
Day 49	NA[b]	NA[b]	385	349	1140	268	2270	639
Day 105	NA[b]	NA[b]	367	247	1260	308	2260	586
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	2920	1400	18000	3280	35300	6450
Day 49	NA[b]	NA[b]	3600	1430	15100	1850	43700	5640
Day 105	NA[b]	NA[b]	3770	1710	18300	2820	41600	7050
Toxicokinetics (PF-05089326 [lactam metabolite]):								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	2.10	3.56	14.4	7.34	24.2	7.05
Day 49	NA[b]	NA[b]	6.69	3.88	23.2	6.09	49.7	8.0
Day 105	NA[b]	NA[b]	6.91	3.21	27.7	7.29	55.1	10.0

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 20026125
(continued)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	19.8	25.9	196	59.0	386	69.6
Day 49	NA[b]	NA[b]	47.6	26.4	301	52.8	927	116
Day 105	NA[b]	NA[b]	52.1	28.6	463	83.8	895	192
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	1[c]	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	1[c]	0
Body Weight (g)[d]								
Day 1	259	-	-1.5	-	-2.2	-	-0.3	-
Day 105	598	-	-4.6	-	-9.3	-	-24.2*	-
Food Consumption (g)[d] – Days 1-8	25.0	-	-0.5	-	-7.4	-	-28.3*	-
Clinical Observations								
Struggling	5	4	5	7	5	4	11	15
Extremities appear yellow	0	0	0	0	0	0	1	0
Thin appearance/rough coat	0	0	0	0	0	0	1	0
Swelling	0	0	0	0	0	0	3	0
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation- Day 106								
Erythrocytes (10^6/cmm)	8.29	7.82	7.49*	7.44	6.53*	7.29*	4.99*	7.03*
Hemoglobin (g/dL)	14.4	13.6	14.1	13.5	13.6	13.2	12.4*	13.4
Hematocrit (%)	43.1	42.6	42.5	42.5	41.2	41.8	38.9*	42.4
Mean corpuscular volume (FL)	52.0	54.5	56.9	57.2*	63.1*	57.3*	78.3*	60.3*
Red cell distribution width (%)	14.1	12.5	15.7*	12.8	19.0*	13.3*	19.1*	14.2*
Mean corpuscular hemoglobin (PG)	17.4	17.4	18.9*	18.2*	20.9*	18.2	25.0*	19.0*
Reticulocytes (10^9/L)	196.9	162.4	189.9	184.9	168.9	171.8	156.6	168.5
Leukocytes (10^3/cmm)	8.20	5.28	7.90	6.70	5.18*	5.51	2.45*	5.28
Lymphocytes (10^3/cmm)	6.46	4.16	6.43	5.69	4.13*	4.56	1.67*	4.38
Monocytes (10^3/cmm)	0.27	0.16	0.29	0.22	0.14*	0.18	0.04*	0.17
Neutrophils (10^3/cmm)	1.27	0.82	1.03	0.63	0.83	0.66	0.70*	0.63

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 20026125
(continued)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Eosinophils (10^3/cmm)	0.10	0.08	0.06	0.09	0.03*	0.06	0.02*	0.04*
Platelet counts (10^3/cmm)	1090	959	1226	1055	1396*	1080	1316*	1172*
Mean platelet volume (FL)	7.5	7.8	7.8	8.1	8.1*	8.2	9.1*	8.3*
Clinical Chemistry- Day 106								
Aspartate aminotransferase (IU/L)	89	-	79	-	89	-	161*	-
Alanine aminotransferase (IU/L)	22	-	24	-	34	-	45*	-
Alkaline phosphatase (IU/L)	52	-	55	-	55	-	74	-
GGT, serum (IU/L)	0.00	-	0.00	-	0.00	-	1.77*	-
Albumin (g/dL)	2.86	-	2.92	-	2.97	-	2.48*	-
A/G Ratio (ratio)	1.00	-	0.96	-	0.96	-	0.82*	-
Glucose (mg/dL)	153	-	163	-	165	-	175[e]	-
Urinalysis- Day 106								
Urine Volume (mL)	7.800	-	11.889	-	15.300	-	18.000*	-
Specific gravity	1.030	-	1.025	-	1.018	-	1.019	-
Glucose (≥100 mg/dL, incidence)	0	-	0	-	0	-	3	-
Casts – microscopic (incidence)	1	-	0	-	0	-	4	-
Organ Weights[d]- Day 106								
Adrenal gland								
Absolute (g)	0.058	0.065	-9	+1	+2	-1	+33*	-2
Relative (% Relative to body weight)	0.0104	0.0228	-5	-4	+11	-4	+91*	-5
Relative (% Relative to brain weight)	2.5177	3.0192	-8	+1	+7	-1	+37*	-2
Spleen								
Absolute (g)	0.84	0.53	-3	0	-16*	-6	-34*	-3
Relative (% Relative to body weight)	0.148	0.190	+1	-5	-7	-10	-5	-7
Relative (% Relative to brain weight)	36.047	24.869	-1	+2	-11	-5	-31*	-2

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 20026125
(continued)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Testes								
Absolute (g)	3.82	NA	+1	NA	-7	NA	-40*	NA
Relative (% Relative to body weight)	0.679	NA	+5	NA	+2	NA	-14	NA
Relative (% Relative to brain weight)	164.20	NA	+3	NA	-2	NA	-38*	NA
Epididymides								
Absolute (g)	1.45	NA	0	NA	-7	NA	-37*	NA
Relative (% Relative to body weight)	0.257	NA	+4	NA	+3	NA	-10	NA
Relative (% Relative to brain weight)	62.154	NA	+2	NA	-1	NA	-35*	NA
Prostate								
Absolute (g)	1.38	NA	-12	NA	-12	NA	-30*	NA
Relative (% Relative to body weight)	0.245	NA	-9	NA	-2	NA	-2	NA
Relative (% Relative to brain weight)	59.345	NA	-11	NA	-7	NA	-28*	NA
Thymus								
Absolute (g)	0.196	0.205	-20	+3	-53*	-12	-80*	-19
Relative (% Relative to body weight)	0.0348	0.0730	-17	-3	-49*	-16	-72*	-23
Relative (% Relative to brain weight)	8.3821	9.5580	-18	+4	-50*	-12	-79*	-19
Gross Pathology- Day 106								
Number Examined	10	10	10	10	10	9	10	10
Thymus								
Small	0	0	0	0	2	0	10	0
Testes								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	6	NA
Soft	0	NA	0	NA	0	NA	6	NA

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 20026125
(continued)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Prostate								
Area, pale	1	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Discoloration, pale	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA
Epididymides								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Kidney								
Discoloration, pale	0	0	0	0	0	0	5	0
Liver								
Discoloration, pale	0	0	0	0	1	0	5	0
Lung								
Discoloration, pale foci	0	0	0	0	0	0	5	0
Discoloration, pale area	0	0	0	0	0	0	2	0
Lymph node, mesenteric								
Discoloration, pale,	0	0	0	0	0	0	4	0
Carcass								
Discoloration, pale	0	0	0	0	0	0	7	0
Adipose tissue decreased	0	0	0	0	0	0	1	0
Histopathology Day 106								
Number Examined	10	10	10	10	10	9	10	10
Adrenal gland								
Hypertrophy, cortical,								
Minimal	0	0	0	0[f]	0	0[f]	7	0
Bone marrow, femur								
Hypocellularity								
Minimal	0	0	4	1	0	1	0	3
Mild	0	0	5	0	6	1	2	0
Moderate	0	0	0	0	4	0	8	0

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 20026125
(continued)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Vacuolated cells								
Minimal	0	0	0	0	0	0	5	0
Pigment[g]								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	5	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Bone marrow, sternum								
Hypocellularity								
Minimal	0	0	3	1	5	2	3	1
Mild	0	0	2	0	5	0	4	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0
Vacuolated cells								
Minimal	0	0	0	0	0	0	7	0
Kidney								
Degeneration/regeneration, tubular								
Minimal	2	0	1	0[f]	5	0[f]	8	0
Mild	0	0	0	0[f]	0	0[f]	1	0
Vacuolar change, tubular								
Minimal	0	0	0	0[f]	0	0[f]	3	0
Mild	0	0	0	0[f]	0	0[f]	3	0
Lung								
Vacuolated alveolar macrophages								
Minimal	0	0	0	0	0	1	2	1
Mild	0	0	0	0	0	0	4	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	4	0

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY **Study Number: 20026125**
(continued)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Liver								
Pigment[g]								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	5	NA
Lymph node, mesenteric								
Vacuolated macrophages, sinusoidal								
Minimal	0	0	0	0[f]	3	0[f]	4	0
Mild	0	0	0	0[f]	0	0[f]	6	0
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0[f]	0	0[f]	4	0
Mild	0	0	0	0[f]	0	0[f]	4	0
Inflammation, chronic/active								
Minimal	0	0	0	0[f]	0	0[f]	1	0
Moderate	0	0	0	0[f]	0	0[f]	1	0
Pigment, sinusoidal[g]								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	5	NA
Pancreas, islet cells								
Vacuolar change								
Minimal	0	0	0	0[f]	0	0[f]	5	0
Mild	0	0	0	0[f]	0	0[f]	3	0
Spleen								
Decreased red cells								
Minimal	0	0	2	6	2	4	2	4
Mild	0	2	0	1	0	0	4	1
Decreased cellularity								
Minimal	0	0	0	0	0	0	4	0
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY **Study Number: 20026125**
(continued)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Testes								
Degeneration of seminiferous tubules								
Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	4	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Epididymides								
Hypospermia (uni- or bilateral)								
Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	4	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Cellular debris, intraductal (uni- and bilateral)								
Minimal	0	NA	0	NA	2	NA	9	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Spleen								
Pigment[g]								
Minimal	2	NA	4	NA	2	NA	0	NA
Mild	4	NA	2	NA	3	NA	0	NA
Moderate	3	NA	3	NA	4	NA	4	NA
Severe	1	NA	1	NA	1	NA	6	NA
Thymus								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0[f]	5	0[f]	0	0
Mild	0	0	0	0	4	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	8	0

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 20026125
(continued)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Postdose Evaluation- Day 134								
Number examined	5	5	0	0	0	0	5	5
Hematology/Coagulation								
Mean corpuscular hemoglobin (PG)	17.2	18.9	NA	NA	NA	NA	20.7*	19.8
Mean corpuscular volume (FL)	51.0	56.0	NA	NA	NA	NA	62.6*	58.3
Red cell distribution width (%)	14.6	12.6	NA	NA	NA	NA	16.3	11.9*
Clinical Chemistry								
Glucose	157	-	NA	NA	NA	NA	180[h]	-
Gross Pathology								
Testes, small	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Organ weights[d]								
Testes								
Absolute (g)	3.73	NA	NA	NA	NA	NA	-29*	NA
Relative (% Relative to body weight)	0.609	NA	NA	NA	NA	NA	-21*	NA
Relative (% Relative to brain weight)	156.99	NA	NA	NA	NA	NA	-27*	NA
Epididymis								
Absolute (g)	1.34	NA	NA	NA	NA	NA	-19*	NA
Relative (% Relative to body weight)	0.220	NA	NA	NA	NA	NA	-10	NA
Relative (% Relative to brain weight)	56.419	NA	NA	NA	NA	NA	-16*	NA

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 20026125
(continued)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Thymus								
Absolute (g)	0.154	0.230	NA	NA	NA	NA	+45*	+9
Relative (% Relative to body weight)	0.0260	0.0712	NA	NA	NA	NA	+56*	+15
Relative (% Relative to brain weight)	6.5669	10.805	NA	NA	NA	NA	+48*	+9
Spleen								
Absolute (g)	1.01	0.54	NA	NA	NA	NA	-9	+15*
Relative (% Relative to body weight)	0.167	0.166	NA	NA	NA	NA	-1	+23*
Relative (% Relative to brain weight)	42.621	25.351	NA	NA	NA	NA	-7	+16*
Histopathology - Day 134								
Bone marrow, femur								
Hypocellularity, minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Bone marrow, sternum								
Hypocellularity, minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Lung								
Vacuolated alveolar macrophages								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Lymph node, mesenteric								
Vacuolated macrophages, sinusoidal								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	2	0

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 20026125
(continued)

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	200
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Pancreas								
Vacuolar change, islet cell								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Testes								
Degeneration of seminiferous tubules								
Minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	5	NA
Epididymis								
Hypospermia, bilateral								
Minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Cellular debris, intraductal, bilateral								
Minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Mild	0	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA

∗ = $p < 0.05$, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; A/G = Albumin/Globulin; AUC_{24} = Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GGT = Gamma-glutamyltransferase; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; QD = Once daily.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. Below the lower limit of quantitation (1.00 ng/mL).
c. One 100 mg/kg/day main toxicity female and one 100 mg/kg/day toxicokinetic male were euthanized moribund on Study Days 65 and 79, respectively. The female death was a result of a gavage accident and was not considered to be test article related. The cause of death for the male could not be determined but was most likely incidental and not test-article-related since none of the findings observed were consistent with PD-0332991 treated rats.
d. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.
e. Three males had serum glucose levels outside of the control range (199, 253, and 233 mg/dL).
f. Data not examined.
g. Prussia Blue Special Stain.
h. One male had a serum glucose level outside of the control range (205 mg/dL).

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY **Report Title: 3-Week Oral Toxicity Study of PD 332991-54 in Dogs** **Test Article: PD-0332991-54 (isethionate salt)**

Species/Strain: Dog/Beagle
Initial Age: ~ 10 to 15 Months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Vehicle/Formulation: Deionized water/Solution
Duration of Dosing: 3 Weeks
Duration of Postdose: 4 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 2 mL/kg
Study Number: 745-03871
Lot Number: LCD-4201
GLP Compliance: Yes
Special Features: Blood samples were collected on Days 1 and 21 at approximately 1, 2, 4, 7, 12, and 24 hours postdose and plasma levels of PD-0332991 were measured at 72 and 168 hours after the last dose in the reversal animals because dogs demonstrated a sustained exposure to PD-0332991-54.
No Observed Adverse Effect Level: 0.2 (M) and 2 (F)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.2**		**0.6**		**2**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[b]	4	4	4	4	4	4	4	4
Toxicokinetics:								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[c]	NA[c]	7.2	6.71	17.6	18.4	80.5	80.6
Day 21	NA[c]	NA[c]	13.7	10.7	37.2	33.4	195	192
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[c]	NA[c]	111	102	290	268	1150	1150
Day 21	NA[c]	NA[c]	232	179	614	548	3290	3230
Plasma Drug Concentrations (ng/mL)	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
72 Hours post last dose (Day 24)	NA[c]		BLQ		1.76-4.68		8.46-10.1	
168 Hours post last dose (Day 28)	NA[c]		BLQ		BLQ		BLQ	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (kg) – Day 22[d]	0	+2	+1	+1	+1	+1	-2(-10)	-1
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 745-03871 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		2	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations								
Emesis	0	0	3	0	1	1	2	0
Hypoactivity	0	0	0	0	0	0	1	0
Fecal staining	0	0	0	0	0	0	1	0
Mucoid feces	0	0	0	0	0	0	1	0
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Red blood cells (10e6/μL)								
Pretreatment	6.680	-	6.220	-	6.805	-	6.333	-
Day 14	6.748	-	6.063	-	6.398	-	5.798	-
Day 21	6.793	-	6.398	-	6.455	-	5.875*	-
Hemoglobin (g/dL)								
Pretreatment	16.15	-	14.85	-	16.08	-	14.90	-
Day 14	16.13	-	14.30	-	14.88	-	13.65*	-
Day 21	15.90	-	15.25	-	15.23	-	13.98*	-
Hematocrit (%)								
Pretreatment	45.58	-	41.93	-	45.65	-	42.73	-
Day 14	45.80	-	40.73	-	42.73	-	39.38	-
Day 21	46.05	-	43.50	-	43.73	-	39.88	-
Reticulocyte (%)								
Pretreatment	0.68	0.65	0.68	0.53	0.58	0.58	0.45†	0.50
Day 7	0.70	0.63	0.70	0.55	0.50	0.43	0.23†	0.28*
Day 14	0.83	0.60	0.45†	0.43	0.45†	0.35	0.25†	0.23†
Day 21	0.73	0.58	0.63	0.53	0.43†	0.30	0.30†	0.25†
Absolute reticulocyte (10e3/μL)								
Pretreatment	45.3	47.0	42.3	32.3	38.8	37.8	28.5†	33.3
Day 7	48.0	44.5	45.8	37.0	33.5	27.8	9.3†	18.5*
Day 14	56.3	44.8	27.5†	27.5	29.0*	21.5*	14.5†	14.3†
Day 21	49.8	42.3	40.0	34.8	27.5†	18.5*	17.8†	15.8†
White blood cells (10e3/μL)								

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 745-03871 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		2	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Pretreatment	10.13	9.53	8.53	7.30	8.45	8.73	7.40	7.58
Day 7	9.58	10.10	7.18	6.98∗	6.78	7.05∗	3.20†	4.25†
Day 14	8.88	11.15	6.78	6.93†	5.98	5.25†	2.25†	3.75†
Day 21	9.33	12.53	6.48∗	5.75†	4.90†	4.55†	2.20†	2.73†
Absolute neutrophils (10e3/µL)								
Pretreatment	7.08	6.15	5.50	4.85	5.53	6.28	4.95	4.55
Day 7	6.80	6.00	4.30∗	4.03	4.35∗	4.55	1.78†	2.55†
Day 14	6.10	7.43	4.10	4.30†	3.63	2.90†	0.98†	1.80†
Day 21	6.40	8.93	4.18	3.63†	2.93†	2.45†	0.78†	1.15†
Absolute monocytes (10e3/µL)								
Pretreatment	1.25	0.88	1.00	0.65	1.10	0.68	0.88	0.93
Day 7	1.03	0.90	0.60†	0.38∗	0.43†	0.35∗	0.18†	0.18†
Day 14	0.73	0.80	0.90	0.38	0.58	0.28∗	0.13†	0.13†
Day 21	1.00	0.93	0.83	0.45	0.70	0.25†	0.10†	0.23†
Absolute lymphocytes (10e3/µL)								
Pretreatment	-	2.25	-	1.75	-	1.63	-	1.98
Day 21	-	2.40	-	1.58†	-	1.80∗	-	1.25†
Platelets (10e3/µL)								
Pretreatment	339.0	379.8	398.5	354.5	368.0	405.0	299.3	346.0
Day 14	324.0	392.0	381.8	325.0	325.5	339.3	202.8†	248.3∗
Day 21	330.8	371.0	340.5	337.5	292.5	329.5	168.5†	228.5†
Bone Marrow – Day 22								
Myeloid:erythroid ratio (:1)	1.73	1.37	1.10∗	1.13	1.03∗	1.77	0.87∗	0.65
Total myeloid (%)	61.40	56.23	51.33	49.00	48.27∗	55.00	42.67†	35.50
Maturing myeloid (%)	55.50	48.50	45.77∗	42.67	41.83†	47.00	33.00†	27.00
Total erythroid (%)	36.27	41.57	47.23∗	45.67	47.33∗	39.33	51.67∗	58.00
Maturing erythroid (%)	27.40	30.80	36.53	35.00	38.23∗	30.33	43.33†	47.00
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 745-03871 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		2	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Histopathology								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Bone marrow, depletion								
Minimal	0	0	0	0	3	1	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	2
Testis								
Degeneration, spermatogenic epithelium, minimal	0	NA	0	NA	2	NA	3	NA
Popliteal lymph node, depletion								
Minimal	0	0	0	0	1	1	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	2	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Mesenteric lymph node, depletion								
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	3	2
Gut-associated lymph node, depletion								
Minimal	0	0	0	0	1	0	2	1
Mild	0	0	0	0	1	0	1	1
Spleen, depletion, mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Thymus, lymphoid involution								
Minimal	0	1	0	1	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	2	1	3	2
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	1
Large intestine, abnormal crypt, epithelium, minimal	0	0	1	0	2	2	3	3
Small intestine, abnormal, epithelium, minimal	0	0	2	0	2	2	3	3
Postdose Evaluation								
Histopathology								
Number Examined	1	1	1	1	1	1	1	1
Popiteal lymph node, depletion, mild	0	0	0	0	0	1	0	0
Thymus, lymphoid involution, minimal	0	0	1	1	0	0	0	1

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 745-03871 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		2	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spleen, extramedullary hematopoeisis								
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Testis								
Atrophy, spermatogenic epithelium, mild	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Degeneration, spermatogenic epithelium, moderate	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Large intestine, abnormal crypt, epithelium, minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Small intestine, abnormal, epithelium, minimal	0	0	0	0	0	0	0	1

∗ $p \leq 0.05$; † $p \leq 0.01$, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); BLQ = Below limit of quantitation; C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; QD = Once daily.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. Three animals were necropsied after 3 weeks and 1 animal/sex were maintained for an additional 4 weeks without treatment to assess reversibility of potential drug-related toxicity.
c. Samples collected, but not analyzed for plasma drug concentrations.
d. Percent differences from group mean Day 1 values are shown. Body weight was decreased in 1 male at 2 mg/kg/day and individual percent difference from Day 1 value for this animal is shown in parentheses.

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY Report Title: A 15-Week Toxicity Study of PD-0332991 by Oral Gavage Administration in Dogs with a 4-Week Recovery Period **Test Article: PD-0332991**

Species/Strain: Dog/Beagle
Initial Age: 13 Months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 15 Weeks
Duration of Postdose: 4 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 1 mL/kg
Study Number: 20026126
Lot Number: GR06024
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose.
Special Features: Dogs were dosed for 3 weeks followed by a 1-week off dose period repeated up to 4 times during a 15-week period.
No Observed Adverse Effect Level: 0.2 mg/kg/day in males; 2.0 mg/kg/day in females.

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.2**		**0.6**		**2.0**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	5	5	3	3	3	3	5	5
Toxicokinetics[b]:	Combined Sexes (M/F)		Combined Sexes (M/F)		Combined Sexes (M/F)		Combined Sexes (M/F)	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[c]		4.51 (3.56/5.45)		20.1 (17.7/22.5)		62.7 (55.4/69.9)	
Day 49	NA[c]		8.40 (7.67/9.13)		22.6 (23.7/21.4)		103 (112/94.6)	
Day 105	NA[c]		8.90 (9.58/8.22)		31.0 (29.5/32.4)		100 (98.7/101)	
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[c]							
Day 1	NA[c]		63.3 (58.8/67.7)		319 (282/357)		975 (866/1080)	
Day 49	NA[c]		136 (136/135)		397 (419/375)		1860 (2040/1690)	
Day 105	NA[c]		141 (153/129)		532 (521/543)		1660 (1660/1650)	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g)[d]								
Day 1	8277	7033	-1	+3	-2	+1	0	+2
Day 92	8704	7635	-1	-1	0	+2	-2	-3
Day 105	8811	7778	0	+1	0	+2	-4	-5
Food Consumption (g)	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 20026126 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		2.0	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations								
Soft stools	1	2	2	1	1	1	5	3
Pinna(e) red/swollen	3	2	1	2	2	2	3	4
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation (Day 106)								
Red blood cells (10*6/CMM)	7.43	6.76	6.74	6.34	6.57	6.11	5.49*	5.91
Mean corpuscular hemoglobin (PG)	23.2	23.5	24.7*	24.2	25.0*	24.5	26.0*	25.9*
Hemoglobin (g/dL)	17.2	-	16.6	-	16.4	-	14.3*	-
Hematocrit (%)	51.6	-	49.7	-	49.2	-	43.7*	-
Mean corpuscular volume (FL)	69.5	70.2	73.8*	72.2	74.9*	72.8	79.6*	78.5*
Red cell distribution width (%)	13.5	13.0	13.1	13.5	13.4	14.0*	14.8*	15.0*
White blood cells (10*3/CMM)	8.68	8.07	5.65*	5.92*	4.60*	4.82*	3.46*	3.12*
Reticulocytes (10*9/L)	46.3	40.2	41.4	35.3	26.6	25.1	25.3	21.2
Neutrophils (10*3/CMM)	5.14	4.44	2.84*	3.46	2.39*	2.61*	1.62*	1.31*
Lymphocytes (10*3/CMM)	2.67	2.93	2.09	1.86*	1.74	1.81*	1.55	1.55*
Monocytes (10*3/CMM)	0.43	0.34	0.29	0.27	0.25*	0.22	0.16*	0.14*
Eosinophils (10*3/CMM)	0.27	0.24	0.28	0.21	0.16	0.10*	0.08*	0.05*
Platelets (10*3/CMM)	219	290	228	291	228	286	204	199*
Clinical Chemistry (Day 106)								
Phosphorous (mg/dL)	4.23	4.44	4.23	4.23	4.45	3.93	3.87	3.38*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[d] (Day 106)								
Thymus								
Absolute (g)	3.28	5.65	+24	+23	-24	-40	-29	-75
Relative (g/100 g body weight)	0.040	0.078	+18	+14	-27	-44	-30	-75
Relative (g/g brain weight)	4.557	7.464	+10	+35	-25	-37	-28	-70
Testes								
Absolute (g)	11.51	NA	-19	NA	-25*	NA	-49*	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.139	NA	-19	NA	-26	NA	-47*	NA
Relative (g/g brain weight)	15.911	NA	-26*	NA	-26*	NA	-48*	NA
Gross Pathology (Day 106)								

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 20026126 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		2.0	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Thymus small	0	0	0	0	0	0	0	2
Testes small	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA
Epididymis small	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Histopathology (Day 106)								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Bone marrow (femur), hypocellularity								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	1
Bone marrow (sternum), hypocellularity								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	1
Epididymis, cellular debris (intratubular)								
Minimal	1	NA	0	NA	1	NA	2	NA
Mild	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Epididymis, hypospermia								
Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Severe	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
GALT, decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Testes, degeneration, seminiferous tubules								
Minimal	2	NA	2	NA	0	NA	0	NA
Mild	0	NA	0	NA	3	NA	0	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Thymus, decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	2	1	1	0	1	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	2	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	2
Postdose Evaluation								
Number Evaluated (Day 134)	2	2	0	0	0	0	2	2
White blood cells (10*3/CMM)	-	9.39	NA	NA	NA	NA	-	6.16
Neutrophils (10*3/CMM)	-	4.86	NA	NA	NA	NA	-	3.50
Red blood cells (10*6/CMM)	7.47	-	NA	NA	NA	NA	6.16	-
Mean corpuscular hemoglobin (PG)	23.8	23.9	NA	NA	NA	NA	25.8	25.2
Mean corpuscular volume (FL)	72.5	72.8	NA	NA	NA	NA	80.8	77.7

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity

Study Number: 20026126 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		2.0	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Platelets (10*3/CMM)	-	376	NA	NA	NA	NA	-	247
Organ weights[d]								
Testes								
Absolute (g)	10.76	NA	NA	NA	NA	NA	-37	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.120	NA	NA	NA	NA	NA	-38	NA
Relative (g/g brain weight)	14.884	NA	NA	NA	NA	NA	-36	NA
Gross Pathology								
Testes, small	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Epididymis, small	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Histopathology (Day 134)								
Testes, degeneration, seminiferous tubules								
Mild, bilateral	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Moderate, bilateral	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Epididymis, cellular debris (intratubular)								
Minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Epididymis, hypospermia								
Mild	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Moderate	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA

∗ = p <0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.

- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GALT = Gut associated lymphoid tissue; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = Lower limit of quantitation; M = Male; NA = Not applicable; QD = Once daily.

a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.

b. The lactam metabolite, PF-05089326, was also measured but all the values were less than LLOQ.

c. All samples below assay limit of quantitation of 1.00 ng/mL.

d. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY Report Title: 27-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study with PD-0332991 in Rats with a 12-Week Recovery Phase Test Article: PD-0332991

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Initial Age: 6 to 7 weeks old
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 27 weeks
Duration of Postdose: 12 weeks
Method of Administration: Oral gavage, 7 cycles of once daily dosing for 3 weeks followed by a 1-week nondosing period, 10 mL/kg
Study Number: 8282224
Lot Number: E010014102
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) methylcellulose (4000 cps) in reverse osmosis water
Special Features: Karo syrup was used as the palatability article. Insulin and C-peptide analyses, immunohistochemistry evaluations of pancreas tissue, gene expression analysis of liver tissues, and electron microscopy of pancreas tissue were conducted by the sponsor.
No Observed Adverse Effect Level: Not established due to adverse findings at the lowest dose level.

Treatment Group	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals								
Toxicity	20	20	20	20	20	20	20	20
Toxicokinetics	3	3	4	4	4	4	4	4
Toxicokinetics:								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	278	193	739	287	1740	556
Day 103 (Week 15)	NA[b]	NA[b]	514	396	1490	407	2060	552
Day 187 (Week 27)	NA[b]	NA[b]	573	447	1490	1200	1970	1010
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	3080	1700	10100	2390	32200	6890
Day 103 (Week 15)	NA[b]	NA[b]	5570	2310	21700	3580	35000	5360
Day 187 (Week 27)	NA[b]	NA[b]	6000	2650	21300	4450	29300	12800
T_{max} (h)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	6.3	4.8	7.0	2.0	11	7.0
Day 103 (Week 15)	NA[b]	NA[b]	4.0	1.0	4.3	3.5	4.8	1.5
Day 187 (Week 27)	NA[b]	NA[b]	4.0	1.3	4.8	1.3	5.0	2.3

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	1[c]	7[d]	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g)[e]								
Day 8	282	211	-2	0	0	-3	-10*	-2
Day 50	529	315	-2	-1	0	-5	-24*	-9*
Day 183	799	426	-5	-3	-9*	-5	-38*	-14*
Body Weight Change (g)[e]								
Days 1-190	548	213	-6	-3	-12	-5	-55*	-21
Food Consumption (g)[e]								
Days 1-8	25	17	-4	0	-4	-6	-28*	-6
Days 8-15	26	18	-4	0	0	-6	-27*	-11*
Days 183-190	26	16	-4	+6	+4	+6	+31	-6
Clinical Observations								
Appearance								
Rigid stance	0	-	0	-	0	-	1	-
Thin	0	-	0	-	0	-	12	-
Hunched posture	0	-	0	-	0	-	14	-
Swollen feet[f]	0	-	0	-	0	-	14	-
Swollen legs[g]	0	-	0	-	0	-	2	-
Swollen midline abdomen	0	-	0	-	0	-	2	-
Swollen penis	0	-	0	-	0	-	8	-
Swollen perioral area	0	-	0	-	0	-	2	-
Teeth, discolored white[h]	0	-	0	-	0	-	18	-
Testes, small	0	-	0	-	0	-	8	-
Respiration								
Irregular	0	-	0	-	0	-	5	-
Audible	0	-	0	-	0	-	3	-
Behavior								
Recumbent, lateral	0	-	0	-	0	-	1	-
Hypoactive	0	-	0	-	0	-	1	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Excretion								
Feces, nonformed	0	-	0	-	0	-	1	-
Discharge								
Oral, clear or red	0	-	0	-	1	-	3	-
Eyes								
Pale	0	-	0	-	0	-	2	-
Skin and Pelage								
Pale[i]	0	-	0	-	0	-	9	-
Discolored skin, yellow[j]	0	-	0	-	0	-	17	-
Discolored skin, red[k]	0	-	0	-	0	-	7	-
Discolored haircoat, red[l]	0	-	0	-	1	-	3	-
Rough haircoat	0	-	0	-	0	-	14	-
Cold to touch, entire body or hind feet	0	-	0	-	0	-	2	-
Ophthalmology								
Cataract								
Anterior cortical	0	-	0	-	2	-	5	-
Incomplete	0	-	0	-	0	-	3	-
Complete	0	-	0	-	0	-	1	-
Fundus								
Degraded view	0	-	0	-	0	-	9	-
Hematology/Coagulation								
Day 22								
Red blood cell count (E6/μL)	7.80	7.98	7.44*	7.67*	6.76*	7.68*	6.22*	7.26*
Hemoglobin (g/dL)	15.8	15.9	16.1	15.6	15.5	15.7	14.0*	15.3*
Hematocrit (%)	49.3	48.2	49.5	46.5*	48.0	47.0	42.3*	45.6*
Mean corpuscular volume (fL)	63.2	60.4	66.5*	60.7	71.1*	61.2	68.0*	62.8*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	20.3	20.0	21.6*	20.4*	23.0*	20.4*	22.5*	21.1*
Red cell distribution width (%)	12.5	11.2	15.1*	11.8*	19.4*	12.4*	24.5*	14.5*
Reticulocyte count, absolute (E3/μL)	295.7	199.7	259.8*	179.4	224.7*	165.7*	232.4*	160.9*
Mean platelet volume (fL)	8.4	-	8.6	-	8.7	-	9.7*	-
White blood cell count (E3/μL)	9.87	-	8.89	-	7.01*	-	5.50*	-
Lymphocyte count, absolute (E3/μL)	7.86	-	7.36	-	5.61*	-	3.98*	-
Monocyte count, absolute (E3/μL)	0.28	-	0.41*	-	0.42*	-	0.12*	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Day 22 (continued)								
Eosinophil count, absolute (E3/µL)	0.07	0.10	0.04*	0.08	0.02*	0.06*	0.00*	0.04*
Basophil count, absolute (E3/µL)	0.04	0.04	0.03*	0.03	0.02*	0.03	0.02*	0.02*
Large unstained cell count, absolute (E3/µL)	0.06	-	0.05	-	0.05	-	0.03*	-
Day 29								
Red blood cell count (E6/µL)	8.16	8.14	7.74*	8.03	7.22*	7.91*	6.31*	7.59*
Hemoglobin (g/dL)	16.1	15.9	16.3	16.0	16.0	15.9	14.6*	15.7
Hematocrit (%)	49.5	-	49.6	-	49.6	-	45.6*	-
Mean corpuscular volume (fL)	60.7	58.4	64.2*	59.5	68.8*	60.1*	72.3*	62.1*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	19.8	19.6	21.1*	20.0	22.1*	20.1*	23.1*	20.7*
Red cell distribution width (%)	12.2	11.3	13.8*	11.9*	17.1*	12.1*	27.2*	13.9*
Mean platelet volume (fL)	7.6	-	7.8	-	8.2*	-	8.9*	-
Day 106								
Red blood cell count (E6/µL)	9.13	8.57	7.89*	8.06*	6.87*	7.64*	5.74*	7.07*
Hemoglobin (g/dL)	16.3	16.1	16.0	15.7	15.4*	15.5*	14.6*	15.1*
Hematocrit (%)	51.2	49.3	49.3*	47.9	47.9*	46.8*	45.3*	45.6*
Mean corpuscular volume (fL)	56.1	57.5	62.5*	59.5*	69.7*	61.3*	79.6*	64.6*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.9	18.8	20.3*	19.6*	22.4*	20.2*	25.6*	21.3*
Red cell distribution width (%)	14.4	12.6	15.9*	13.4*	19.0*	13.6*	21.9*	15.0*
Reticulocyte count, absolute (E3/µL)	223.2	174.5	180.6*	156.7	166.4*	128.3*	170.9*	126.8*
Platelet count (E3/µL)	1087	994	1224*	1058	1238*	1126*	1556*	1243*
Mean platelet volume (fL)	8.1	-	8.3	-	8.6*	-	9.7*	-
White blood cell count (E3/µL)	10.80	-	9.55	-	6.65*	-	4.48*	-
Lymphocyte count, absolute (E3/µL)	8.60	-	7.67	-	5.21*	-	2.95*	-
Monocyte count, absolute (E3/µL)	0.43	-	0.47	-	0.26*	-	0.10*	-
Eosinophil count, absolute (E3/µL)	0.16	0.11	0.08*	0.08*	0.03*	0.06*	0.01*	0.03*
Basophil count, absolute (E3/µL)	0.06	0.04	0.04*	0.03	0.03*	0.03	0.02*	0.02*
Large unstained cell count, absolute (E3/µL)	0.07	-	0.07	-	0.04*	-	0.02*	-
Day 113								
Red blood cell count (E6/µL)	8.95	8.39	8.05*	8.03*	7.19*	7.60*	5.92*	7.16*
Hemoglobin (g/dL)	15.9	15.7	16.0	15.6	15.7	15.3	15.0	15.1*
Hematocrit (%)	-	47.3	-	47.1	-	45.7	-	45.4*

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Mean corpuscular volume (fL)	54.4	56.4	60.3*	58.7*	67.7*	60.2*	79.1*	63.4*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.8	18.7	19.8*	19.5*	21.9*	20.2*	25.4*	21.1*
Red cell distribution width (%)	14.5	12.6	15.0	13.2*	17.2*	13.2*	20.3*	14.2*
Platelet count (E3/µL)	1054	1003	1224*	1030	1255*	1111	1705*	1225*
Mean platelet volume (fL)	7.9	-	7.9	-	8.3*	-	9.2*	-
Day 190								
Red blood cell count (E6/µL)	9.16	8.43	7.89*	7.87*	6.89*	7.47*	6.62*	6.85*
Hemoglobin (g/dL)	-	15.8	-	15.4	-	15.1	-	14.7*
Hematocrit (%)	-	47.8	-	46.4	-	45.3*	-	43.9*
Mean corpuscular volume (fL)	54.2	56.8	60.9*	59.1*	68.4*	60.7*	74.2*	64.1*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.5	18.7	19.8*	19.6*	22.3*	20.3*	24.7*	21.4*
Red cell distribution width (%)	14.9	12.3	16.7*	13.5*	19.5*	13.5*	18.7*	14.8*
Reticulocyte count, absolute (E3/µL)	217.6	162.6	204.8	156.8	188.5	143.0	174.2*	126.7*
Platelet count (E3/µL)	1074	919	1264*	941	1195*	1131*	1202	1150*
Mean platelet volume (fL)	7.4	-	7.7	-	8.1*	-	8.6*	-
White blood cell count (E3/µL)	8.62	-	6.63*	-	4.31*	-	3.58*	-
Lymphocyte count, absolute (E3/µL)	5.43	-	4.57	-	3.11*	-	1.99*	-
Monocyte count, absolute (E3/µL)	0.42	-	0.36	-	0.11*	-	0.10*	-
Eosinophil count, absolute (E3/µL)	0.16	0.09	0.06*	0.07	0.02*	0.05*	0.02*	0.03*
Basophil count, absolute (E3/µL)	0.05	0.03	0.03*	0.02	0.02*	0.02*	0.03*	0.02*
Large unstained cell count, absolute (E3/µL)	0.09	-	0.06	-	0.03*	-	0.02*	-
Clinical Chemistry								
Day 190								
Glucose (mg/dL)[m]	110	-	113	-	125	-	151*	-
Urea nitrogen (mg/dL)	13	-	12	-	14	-	30*	-
Aspartate aminotransferase (U/L)	131	-	112	-	167	-	266	-
Alanine aminotransferase (U/L)	39	-	30*	-	45	-	118	-
Alkaline phosphatase (U/L)	60	-	62	-	63	-	98	-
Chloride (mmol/L)	107	-	106	-	106	-	100*	-
Urinalysis								
Day 190								
pH	7.0	-	7.0	-	6.7	-	6.3	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Urinalysis (continued)								
Glucose[n]								
1+ (250 mg/mL)	0	-	0	-	1	-	0	-
2+ (500 mg/mL)	0	-	0	-	1	-	0	-
3+ (≥1000 mg/dL)	0	-	0	-	3	-	10	-
White blood cells[n]								
1-5 seen	9	-	3	-	10	-	4	-
6-10 seen	0	-	1	-	0	-	3	-
11-20 seen	0	-	1	-	0	-	0	-
>20 seen	0	-	0	-	0	-	2	-
Cast[n]								
Granular (1 to 5 seen)	0	-	0	-	0	-	1	-
Cellular (1 to 5 seen)	0	-	0	-	0	-	1	-
Sperm[n]	18	-	17	-	14	-	5	-
Insulin and C-Pepide Analysis								
Day 190								
Insulin (ng/mL)	1.299	-	1.382	-	<0.878	-	<0.524	-
C-peptide (pM)	1680	-	2096	-	1376	-	647	-
Organ Weights[e]								
Spleen								
Absolute (g)	1.2294	0.7045	-13	-18*	-17*	-14*	-44*	-22*
Relative to body weight (%)	0.1606	0.1821	-8	-18	-8	-11	-9	-13
Relative to brain weight (%)	52.3274	33.1641	-11	-17*	-18*	-12	-42*	-22*
Thymus								
Absolute (g)	0.1855	0.1648	-15	+3	-41	-21	-33	-22
Relative to body weight (%)	0.0240	0.0421	-9	+9	-36	-18	+2	-12
Relative to brain weight (%)	7.9034	7.7410	-14	+6	-43	-19	-30	-22
Adrenal								
Absolute (g)	0.0666	-	-5	-	0	-	+13	-
Relative to body weight (%)	0.0088	-	-1	-	+10	-	+96*	-
Relative to brain weight (%)	2.8405	-	-4	-	-2	-	+18*	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Organ Weights[c] (continued)								
Testis								
Absolute (g)	4.1161	NA	+2	NA	-9	NA	-40*	NA
Relative to body weight (%)	0.5413	NA	+8	NA	+1	NA	+5	NA
Relative to brain weight (%)	175.9368	NA	+3	NA	-10	NA	-36*	NA
Epididymis								
Absolute (g)	1.6996	NA	+2	NA	-9	NA	-37*	NA
Relative to body weight (%)	0.2240	NA	+6	NA	+1	NA	+5	NA
Relative to brain weight (%)	72.5157	NA	+3	NA	-10*	NA	-34*	NA
Gross Pathology								
Number Examined	15	-	15	-	15	-	8	-
Adrenal								
Discolored	0	-	0	-	0	-	1	-
Cecum								
Large	0	-	0	-	0	-	2	-
Duodenum								
Large	0	-	0	-	0	-	4	-
Epididymis								
Discolored	0	-	0	-	0	-	1	-
Small	0	-	0	-	0	-	1	-
Jejunum								
Large	0	-	0	-	0	-	3	-
Kidney								
Rough surface	0	-	0	-	0	-	1	-
Lung								
Discolored	0	-	0	-	0	-	1	-
Lymph node, inguinal								
Not identified	0	-	0	-	0	-	1	-
Lymph node, mesenteric								
Small	0	-	0	-	0	-	1	-
Seminal vesicle								
Small	0	-	0	-	0	-	2	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Spleen								
Small	0	-	0	-	0	-	1	-
Discolored, brown	0	-	0	-	0	-	1	-
Stomach								
Discolored	1	-	0	-	0	-	3	-
Raised area	0	-	0	-	1	-	1	-
Testis								
Small and/or discolored	0	-	0	-	0	-	5	-
Tooth, lower left incisor								
Discolored	0	-	0	-	0	-	2	-
Tooth, left upper incisor								
Discolored	0	-	0	-	0	-	4	-
Tooth, right lower incisor								
Discolored	0	-	0	-	0	-	2	-
Tooth, right upper incisor								
Discolored	0	-	0	-	0	-	4	-
Thymus								
Not identified	0	-	0	-	6	-	4	-
Histopathology								
Number Examined	15	15	15	15	15	14	8	15
Eye								
Degeneration, lens, bilateral								
Minimal	0	0	1	1	1	1	1	0
Mild	0	0	0	0	2	0	3	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	3	0
Degeneration, lens, unilateral								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Tooth, Right Upper Incisor								
Degeneration/necrosis, ameloblasts								
Minimal	0	-	0	-	0	-	3	-
Mild	0	-	0	-	0	-	3	-
Infiltrate, mononuclear cell, pigmented								
Minimal	0	-	0	-	0	-	6	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Mild	0	-	0	-	0	-	2	-
Tooth, Right Lower Incisor								
Degeneration/necrosis, ameloblasts								
Minimal	0	-	0	-	0	-	1	-
Mild	0	-	0	-	0	-	1	-
Infiltrate, mononuclear cell, pigmented								
Minimal	0	-	0	-	0	-	4	-
Mild	0	-	0	-	0	-	1	-
Tooth, Left Upper Incisor							(4)[o]	
Degeneration/necrosis, ameloblasts								
Minimal	NA	-	NA	-	NA	-	2	-
Mild	NA	-	NA	-	NA	-	2	-
Infiltrate, mononuclear cell, pigmented								
Minimal	NA	-	NA	-	NA	-	2	-
Mild	NA	-	NA	-	NA	-	2	-
Tooth, Left Lower Incisor							(2)[o]	
Degeneration/necrosis, ameloblasts								
Mild	NA	-	NA	-	NA	-	1	-
Adrenal cortex								
Hypertrophy								
Minimal	2	-	7	-	7	-	0	-
Mild	0	-	1	-	5	-	4	-
Moderate	0	-	0	-	0	-	4	-
Femur								
Trabeculae, decreased								
Mild	0	-	6	-	4	-	2	-
Moderate	0	-	0	-	7	-	6	-
Kidney								
Vacuolar change, tubular								
Minimal	0	-	0	-	0	-	2	-
Mild	0	-	0	-	1	-	3	-
Moderate	0	-	0	-	0	-	1	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Dilatation, tubule(s)								
Minimal	0	-	0	-	0	-	4	-
Nephropathy, chronic progressive								
Minimal	2	-	7	-	7	-	5	-
Mild	1	-	0	-	2	-	3	-
Liver								
Hypertrophy/vacuolation, hepatocellular								
Minimal	3	-	8	-	7	-	4	-
Mild	0	-	3	-	6	-	3	-
Lung								
Infiltrate, macrophages, alveolus								
Minimal	3	-	2	-	4	-	4	-
Moderate	0	-	0	-	0	-	2	-
Marked	0	-	0	-	0	-	1	-
Pancreas								
Vacuolar change, islet cell								
Minimal	0	0	0	1	3	0	3	0
Mild	0	0	0	0	0	0	3	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Fibrosis/hemorrhage, islet								
Minimal	3	0	6	1	8	2	2	0
Mild	3	0	6	0	2	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Stomach, glandular								
Mucous glands, decreased								
Mild	0	-	0	-	1	-	5	-
Stomach, nonglandular								
Degeneration, epithelial cell								
Minimal	0	-	0	-	2	-	0	-
Mild	0	-	0	-	1	-	2	-
Hyperplasia/hyperkeratosis								
Minimal	0	-	0	-	2	-	0	-
Mild	0	-	0	-	1	-	3	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Inflammation, neutrophilic								
Minimal	0	-	0	-	1	-	1	-
Erosion/ulcer								
Minimal	0	-	0	-	0	-	1	-
Mild	0	-	0	-	1	-	0	-
Spleen								
Lymphocytes, decreased								
Minimal	0	-	0	NA	0	NA	2	-
Mild	0	-	0	NA	0	NA	2	-
Erythrocytes, decreased								
Mild	0	-	0	NA	0	NA	1	-
Thymus					(14)[o]	(14)[o]		
Lymphocytes, decreased								
Minimal	2	3	9	2	3	3	0	6
Mild	0	0	1	0	4	0	0	7
Moderate	0	0	0	0	6	0	3	0
Marked	0	0	0	0	1	0	5	0
Atrophy, adipose								
Minimal	1	0	0	0	0	0	1	0
Mild	0	0	0	0	1	0	3	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0
Marrow, femur								
Hypocellular								
Minimal	0	-	0	NA	4	NA	3	-
Mild	0	-	0	NA	6	NA	5	-
Megakaryocytes, increased								
Minimal	0	-	0	NA	0	NA	1	-
Mild	0	-	0	NA	0	NA	2	-
Marrow, sternum					(14)[o]			
Hypocellular								
Minimal	0	-	0	NA	7	NA	2	-
Mild	0	-	0	NA	3	NA	6	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Megakaryocytes, increased								
Minimal	0	-	0	NA	0	NA	3	-
Mild	0	-	0	NA	0	NA	3	-
Lymph node, mesenteric								
Lymphocytes, decreased								
Minimal	1	0	0	0	1	0	2	0
Mild	0	0	0	0	0	0	3	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0
Infiltrate, macrophages, increased								
Minimal	0	0	2	4	6	3	2	12
Mild	0	0	0	0	1	2	2	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	4	0
Inflammation, neutrophilic								
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph node, inguinal	(14)[o]	(14)[o]			(14)[o]		(7)[o]	
Lymphocytes, decreased								
Minimal	0	-	0	NA	7	NA	1	-
Mild	0	-	0	NA	0	NA	1	-
Moderate	0	-	0	NA	0	NA	2	-
GALT/Peyer's Patch			(12)[o]		(14)[o]		(5)[o]	(14)[o]
Lymphocytes, decreased								
Minimal	0	-	0	NA	0	NA	2	-
Skin/subcutis								
Atrophy, adipose								
Minimal	0	-	0	-	0	-	2	-
Mild	0	-	0	-	0	-	1	-
Moderate	0	-	0	-	0	-	3	-
Testis								
Degeneration, seminiferous tubule								
Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Mild	0	NA	0	NA	1	NA	3	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Marked	0	NA	0	NA	1	NA	2	NA

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Epididymis								
Debris, cellular, lumen								
Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	4	NA
Mild	0	NA	0	NA	2	NA	2	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Hypospermia								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Marked	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Severe	0	NA	0	NA	1	NA	2	NA
Seminal vesicle								
Decreased secretion								
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Marked	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Immunohistochemistry								
Pancreas								
Beta cell area per section (%)	94.42	NA	NA	NA	NA	NA	69.84	NA
Beta cells per section (%)	84.34	NA	NA	NA	NA	NA	49.11	NA
Alpha:Beta cell ratio	0.19	NA	NA	NA	NA	NA	1.35	NA
Alpha cell size (pixels)	337.30	NA	NA	NA	NA	NA	474.71	NA
Gene expression	-	NA	NA	NA	NA	NA	-	NA
Electron Microscopy								
Number Examined, Unscheduled Deaths	0	0	0	0	0	0	1	0
Pancreatic islets								
Beta cell granules, large	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Number Examined, Terminal Euthanasia	3	0	0	0	0	0	3	0
Pancreatic islets								
Intracytoplasmic vacuoles within beta cells	0	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Beta cell degeneration	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5
Clinical Observations								

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Appearance								
Thin	0	-	0	-	0	-	3	-
Skin and Pelage								
Rough haircoat	0	-	0	-	0	-	4	-
Eyes								
Opaque	0	-	0	-	0	-	1	-
Discolored, light red	0	-	0	-	0	-	1	-
Body Weight Change[e]								
Days 1-85	90	77	-6	-1	-32	-17	-43	-16
Food Consumption (g)[e]								
Days 1-8	27	17	0	6	4	12	30	12
Days 8-15	32	22	-3	0	0	0	50	-5
Days 78-85	27	19	-4	-5	0	-5	30	-5
Ophthalmology								
Cataract								
Complete	0	-	0	-	0	-	3	-
Hematology/Coagulation								
Day 85								
Mean corpuscular volume (fL)	51.6	-	54.9*	-	55.9*	-	52.8	-
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	16.5	-	17.7*	-	17.7*	-	17.2	-
Clinical Chemistry								
Day 85								
Glucose (mg/dL)	111	-	106	-	127	-	124	-
Urea nitrogen (mg/dL)	12	-	12	-	13	-	32	-
Alkaline phosphatase (U/L)	53	-	53	-	67	-	112	-
Urinalysis								
Day 85								
Glucose[n]								
Trace	1	-	0	-	0	-	0	-
3+ (≥1000 mg/dL)	0	-	0	-	1	-	3	-
Insulin and C-Pepide Analysis								
Day 85								
Insulin (ng/mL)	2.070	-	2.576	-	1.556	-	1.020	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
C-peptide (pM)	2106	-	2468	-	1617	-	870	-
Organ Weight[c]								
Thymus								
Absolute (g)	0.1691	-	-22	-	-4	-	-54	-
Relative to body weight (%)	0.0199	-	-21	-	+13	-	-18	-
Relative to brain weight (%)	7.0465	-	-21	-	-2	-	-52	-
Testis								
Absolute (g)	4.1228	NA	+3	NA	-1	NA	-27*	NA
Relative to body weight (%)	0.4922	NA	+4	NA	+13	NA	+30	NA
Relative to brain weight (%)	172.9062	NA	+4	NA	-1	NA	-25*	NA
Epididymis								
Absolute (g)	1.6991	NA	+2	NA	-1	NA	-25*	NA
Relative to body weight (%)	0.2032	NA	+3	NA	+13	NA	+31*	NA
Relative to brain weight (%)	71.3042	NA	+3	NA	-1	NA	-23*	NA
Gross Pathology								
Number Examined	5	5	5	5	5	5	5	5
Cecum								
Large	0	-	0	-	0	-	1	-
Duodenum								
Abnormal contents, gas	0	-	0	-	0	-	2	-
Large	0	-	0	-	0	-	2	-
Epididymis								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Eye								
Discolored	0	-	0	-	0	-	2	-
Ileum								
Abnormal contents, gas	0	-	0	-	0	-	2	-
Large	0	-	0	-	0	-	2	-
Jejunum								
Abnormal contents, gas	0	-	0	-	0	-	2	-
Large	0	-	0	-	0	-	2	-
Testis								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Thymus								
Not identified	0	-	0	-	0	-	1	-
Histopathology								
Number Examined	5	5	5	5	5	5	5	5
Eye								
Degeneration, lens, bilateral								
Moderate	0	-	0	-	0	-	2	-
Marked	0	-	0	-	0	-	1	-
Degeneration, lens, unilateral								
Minimal	0	-	0	-	1	-	0	-
Tooth, Right Upper Incisor								
Infiltrate, mononuclear cell, pigmented								
Minimal	0	-	0	-	0	-	3	-
Mild	0	-	0	-	0	-	2	-
Tooth, Right Lower Incisor								
Infiltrate, mononuclear cell, pigmented								
Minimal	0	-	0	-	1	-	3	-
Femur								
Trabeculae, decreased								
Mild	0	-	2	-	1	-	0	-
Moderate	0	-	0	-	1	-	1	-
Marked	0	-	0	-	0	-	2	-
Kidney								
Vacuolar change, tubular								
Mild	0	-	0	-	0	-	2	-
Moderate	0	-	0	-	0	-	1	-
Nephropathy, chronic progressive								
Minimal	2	-	2	-	4	-	3	-
Mild	0	-	1	-	0	-	1	-
Moderate	0	-	0	-	1	-	1	-
Lung								
Infiltrate, macrophages, alveolus								
Minimal	1	-	1	-	0	-	0	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Mild	0	-	0	-	0	-	1	-
Stomach, glandular								
Mucous glands, decreased								
Moderate	0	-	0	-	0	-	3	-
Stomach, nonglandular								
Degeneration, epithelial cell								
Minimal	0	-	0	-	0	-	1	-
Mild	0	-	0	-	0	-	1	-
Hyperplasia/hyperkeratosis								
Minimal	0	-	0	-	0	-	1	-
Moderate	0	-	0	-	0	-	1	-
Inflammation, neutrophilic								
Minimal	0	-	0	-	0	-	1	-
Spleen								
Hematopoiesis, extramedullary, increased								
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Thymus	(4)[o]							(4)[o]
Lymphocytes, decreased								
Minimal	0	0	0	0	1	0	1	0
Mild	1	0	1	0	0	1	2	0
Atrophy, adipose								
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph node, mesenteric								
Lymphocytes, decreased								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Infiltrate, macrophages, increased								
Minimal	1	0	0	0	0	3	2	4
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Testis								
Degeneration, seminiferous tubule								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Epididymis								
Debris, cellular, lumen								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Hypospermia								
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Immunohistochemistry								
Pancreas								
Beta cell area per section (%)	95.52	NA	NA	NA	NA	NA	62.29	NA
Beta cells per section (%)	89.23	NA	NA	NA	NA	NA	51.04	NA
Alpha:Beta cell ratio	0.12	NA	NA	NA	NA	NA	2.16	NA
Alpha cell size (pixels)	333.96	NA	NA	NA	NA	NA	413.02	NA
Electron Microscopy								
Number Examined, Recovery Euthanasia	3	0	0	0	0	0	3	0
Pancreatic islets								
Beta cell granules, absent	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Alpha cell rough endoplasmic reticulum, increased	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F

* p ≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (1 ng/mL).
c. One female given 100 mg/kg/day was found dead on Day 57 of the dosing phase. The cause of death was an aortic rupture (considered unrelated to the test article); related microscopic findings included a rupture in the aorta and periaortic hemorrhage. No test article-related macroscopic or microscopic findings were observed in this animal.
d. Five males given 100 mg/kg/day were euthanized in moribund condition on Day 43 or 44 of the dosing phase due to test article-related clinical observations, and remaining animals in this group were placed on a dosing holiday starting on Day 43; dosing was resumed at the same dose level on Day 57. Clinical observations noted for the five males euthanized on Day 43 or 44 included hunched posture, swollen feet, discolored (white) teeth, thin appearance, hypoactivity, irregular or audible respiration, yellow skin, and rough haircoat. The cause of the moribund condition was attributed to degeneration and/or inflammation in one or more of the feet. One male given 100 mg/kg/day was euthanized on Day 180 of the dosing phase in moribund condition attributed to inflammation of the prostate and mesenteric lymph node. One male given 100 mg/kg/day was found dead on Day 164; death was attributed to a mesenteric thrombus. The cause of death for these two animals is considered to be of uncertain relationship to the test article. Notable clinical pathology findings in males given 100 mg/kg/day euthanized on Day 43 or 44 of the dosing phase included mildly to markedly lower white blood cell count with a generalized decrease in all leukocytes; mildly to moderately lower absolute reticulocyte count, total protein, albumin, albumin:globulin ratio, cholesterol, and calcium; and minimally to moderately higher red cell distribution width, glucose, and gamma glutamyltransferase activity. Some of these animals also had mildly to moderately lower red cell mass (ie, red blood cell count, hemoglobin, and hematocrit). Decreased reticulocyte and leukocyte counts in these animals were similar to those observed in terminal euthanasia animals and considered test article-related. The male given 100 mg/kg/day euthanized on Day 180 of the dosing phase also had similar clinical pathology findings to animals euthanized on Day 43 or 44 of the dosing phase. High glucose in these animals correlated with pancreatic islet cell vacuolation, renal tubular vacuolation, tooth ameloblast degeneration, and/or eye lens degeneration. At unscheduled euthanasias and deaths, test article-related macroscopic findings were observed in the foot (swollen), incisor tooth (discolored), spleen (small), thymus (not identified), inguinal lymph node (discolored), mesenteric lymph node (discolored), adrenal (large), lung (discolored), duodenum (large), jejunum (large), cecum (large), epididymis (small), prostate (small), seminal vesicle (small), testis (small and/or soft), adipose (gelatinous), and skin/subcutis (discolored and/or gelatinous). At unscheduled euthanasias and deaths, test article-related microscopic findings in males were observed in the foot (myxomatous degeneration, vacuolated macrophage infiltrates, neutrophilic inflammation, and/or hemorrhage), stifle joint (myxomatous degeneration and/or neutrophilic inflammation), eye (bilateral lens degeneration), heart (mesenchymal cell hyperplasia, neutrophilic inflammation, and/or vacuolated macrophage infiltrates), aorta (neutrophilic inflammation), incisor tooth (ameloblast degeneration/necrosis, pigmented mononuclear cell infiltrate, and/or neutrophilic inflammation), adrenal cortex (hypertrophy), femur (decreased trabeculae), kidney (tubular degeneration/regeneration, tubular vacuolar change, and/or tubule dilatation), liver (hepatocellular hypertrophy/vacuolation), lung (alveolar macrophage infiltrates), femoral and sternal marrow (hypocellular, increased megakaryocytes, and/or vacuolated cells), and pancreas (islet cell vacuolar change).

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282224 (continued)

Treatment	Control		Low Dose		Mid Dose		High Dose	
Dose[a] (mg/kg/day)	0		10	50	30	100	100	300
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F

e. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.
f. Swollen feet includes observations of all feet, front feet, hind feet, right front foot, right hind foot, and left front foot.
g. Swollen legs includes observations of all legs, front legs, and hind legs.
h. Teeth, discolored white includes observations of bottom left incisor, bottom right incisor, top left incisor, and top right incisor.
i. Pale includes observations of all feet, ears, hind feet, oral mucosa, and tail.
j. Discolored yellow skin includes observations of ears, all feet, entire body, hind feet, nose, and tail.
k. Discolored red skin includes observations of front feet, nose, penis, right hind foot, and distal tail.
l. Discolored red haircoat includes observations of entire head, nose, perioral, and right front foot.
m. One female given 50 mg/kg/day had increased glucose concentration at the end of the dosing phase that correlated with pancreatic islet cell vacuolation and eye lens degeneration.
n. Values indicate the number of animals for which the indicated observation was noted.
o. Missing protocol-required organs/tissues in some groups. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically.

2.6.7.7F REPEAT-DOSE TOXICITY Report Title: 39-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study with PD-0332991 in Dogs with a 12-Week Recovery Phase Test Article: PD-0332991

Species/Strain: Dog/Beagle
Initial Age: 14 to 15 months old
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 39 Weeks
Duration of Postdose: 12 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, 10 cycles of once daily dosing for 3 weeks followed by a 1-week nondosing period, 2 mL/kg
Study Number: 8282225
Lot Number: E010014102
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) methylcellulose (4000 cps) in reverse osmosis water
Special Features: None.
No Observed Adverse Effect Level: 3 mg/kg/day in females only. Not determined in males- adverse effects were observed at all dose levels.

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.2**		**0.6**		**3.0**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	6	6	6	6	6	6	6	6
Toxicokinetics:	Combined Sexes (M/F)		Combined Sexes (M/F)		Combined Sexes (M/F)		Combined Sexes (M/F)	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]		2.16 (2.46/1.86)		9.18 (10.3/8.03)		40.7 (33.8/47.6)	
Day 49	NA[b]		6.22 (7.33/5.11)		21.7 (18.8/24.7)		77.0 (98.8/55.2)	
Day 99 (Week 15)	NA[b]		4.92 (5.70/4.15)		12.6 (11.5/13.7)		71.1 (83.8/58.3)	
Day 267 (Week 39)	NA[b]		5.67 (5.97/5.37)		16.4 (11.3/21.6)		128 (138/119)	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]		35.4		138		545	
Day 49	NA[b]		104		375		1290	
Day 99 (Week 15)	NA[b]		84.1		218		1250	
Day 267 (Week 39)	NA[b]		89.9		271		2310	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7F REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282225 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		3.0	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Day 22								
Red blood cell count (E6/µL)	6.87	6.46	6.48	6.56	6.81	6.41	6.10	6.41
Mean corpuscular volume (fL)	69.7	68.5	69.4	69.5	68.4	70.4	70.6	70.1
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	23.8	23.4	23.5	23.7	23.1	24.1	24.2	24.0
Red cell distribution width (%)	12.5	12.5	12.7	13.1	13.6*	13.5	15.1*	14.3*
Absolute reticulocyte count (E3/µL)	32.0	21.5	23.3	24.6	28.3	22.1	12.8*	14.3
White blood cell count (E3/µL)	8.70	9.80	7.68	9.69	7.79	7.61	4.12*	5.42*
Absolute neutrophil count (E3/µL)	5.20	5.55	4.37	5.20	4.08	4.57	2.01*	3.19*
Absolute lymphocyte count (E3/µL)	2.68	3.27	2.50	3.58	2.89	2.25	1.83	1.87*
Absolute monocyte count (E3/µL)	0.39	0.41	0.43	0.52	0.48	0.41	0.15*	0.18*
Absolute eosinophil count (E3/uL)	0.25	0.43	0.25	0.22	0.18	0.21*	0.08	0.10*
Absolute basophil count (E3/µL)	0.14	0.10	0.10	0.13	0.12	0.13	0.02*	0.06
Platelet count (E3/µL)	283	372	286	314	284	338	216*	276
Mean platelet volume (fL)	16.2	-	15.2	-	16.0	-	17.4	-
Day 29								
Red blood cell count (E6/µL)	6.76	6.52	6.53	6.46	6.49	6.30	6.06	6.44
Mean corpuscular volume (fL)	69.7	68.4	69.6	69.7	68.6	70.6	71.2	70.1
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	24.2	23.7	24.1	24.2	23.6	24.4	24.5	24.2
Red cell distribution width (%)	12.6	12.5	12.7	13.2	13.5*	13.3	15.6*	14.3*
Platelet count (E3/µL)	270	349	283	311	263	317	205	248*
Mean platelet volume (fL)	14.7	-	14.3	-	15.1	-	16.3	-
Day 106								
Absolute reticulocyte count (E3/µL)	30.1	20.6	21.7	23.0	23.9	26.7	14.8	18.0
White blood cell count (E3/µL)	8.45	8.99	6.47*	7.80	6.54*	5.30*	3.62*	4.45*
Absolute neutrophil count (E3/µL)	5.20	5.05	3.68*	3.93*	3.16*	3.02*	1.78*	2.56*
Absolute lymphocyte count (E3/µL)	2.46	3.13	2.12	3.11	2.72	1.81*	1.62*	1.62*
Absolute monocyte count (E3/µL)	0.37	0.33	0.36	0.34	0.32	0.25	0.12*	0.13*
Absolute eosinophil count (E3/µL)	0.25	0.37	0.19	0.29	0.21	0.12*	0.06*	0.10*
Absolute basophil count (E3/µL)	0.13	0.08	0.08	0.09	0.10	0.07	0.02*	0.03*

2.6.7.7F REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282225 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		3.0	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day 106 (continued)								
Red blood cell count (E6/µL)	6.94	6.66	6.53	6.27	6.53	5.98	5.59*	5.66*
Mean corpuscular volume (fL)	69.4	68.5	69.9	70.4	70.5	72.8*	77.4*	75.3*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	23.4	22.8	23.4	23.6	23.4	24.3*	25.6*	25.1*
Red cell distribution width (%)	12.5	12.2	12.6	12.7	12.9	13.2	14.4*	13.9*
Platelet count (E3/µL)	243	318	251	293	259	287	188	270
Mean platelet volume (fL)	15.3	-	15.1	-	15.1	-	17.6*	-
Day 113								
Red blood cell count (E6/µL)	6.89	6.59	6.43	6.15	6.52	6.08	5.75*	5.95
Mean corpuscular volume (fL)	69.2	68.0	69.7	70.4	70.5	72.7*	77.2*	75.2*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	23.6	23.1	23.6	24.1	23.8	24.6*	25.9*	25.3*
Red cell distribution width (%)	12.4	12.2	12.5	12.7	12.7	12.8	14.1*	13.4
Platelet count (E3/µL)	248	313	246	273	233	263	168	264
Mean platelet volume (fL)	14.2	-	13.5	-	14.8	-	16.2	-
Day 190								
Red blood cell count (E6/µL)	6.86	6.31	6.52	6.60	6.47	6.01	5.67*	5.88
Mean corpuscular volume (fL)	69.6	68.2	70.3	70.8	70.9	71.7	77.0*	73.6*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	23.4	22.8	23.5	24.0*	23.7	24.2*	25.6*	24.6*
Red cell distribution width (%)	12.5	12.5	12.3	12.5	12.6	13.1	14.9*	13.5*
Absolute reticulocyte count (E3/µL)	34.4	22.8	22.7	28.6	22.7	23.3	14.3*	13.1
White blood cell count (E3/µL)	9.26	8.84	6.66	8.35	6.08	5.40*	3.21*	3.51*
Absolute neutrophil count (E3/µL)	5.78	4.96	3.86	4.54	3.36	3.03*	1.43*	1.75*
Absolute lymphocyte count (E3/µL)	2.59	3.02	2.10	3.01	2.11	1.84*	1.58*	1.52*
Absolute monocyte count (E3/µL)	0.43	0.32	0.32	0.38	0.32	0.29	0.10	0.10*
Absolute eosinophil count (E3/µL)	0.25	0.41	0.25	0.25	0.16	0.14*	0.04*	0.06*
Absolute basophil count (E3/µL)	0.16	0.09	0.08*	0.12	0.08	0.06	0.02*	0.04
Platelet count (E3/µL)	234	332	239	280	218	263	158*	213*
Mean platelet volume (fL)	15.5	-	14.7	-	15.6	-	17.4*	-
Day 197								
Red blood cell count (E6/µL)	6.68	6.19	6.63	6.89	7.01	6.06	5.60*	5.98
Mean corpuscular volume (fL)	70.8	69.3	71.3	72.1	72.0	73.3*	79.1*	75.3*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	23.3	23.2	23.5	23.8	23.6	24.4	25.6*	24.7*
Red cell distribution width (%)	13.0	13.1	12.9	13.1	13.2	13.6	15.4*	14.2*

2.6.7.7F REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282225 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		3.0	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Platelet count (E3/µL)	250	345	243	296	224	271*	173*	233*
Mean platelet volume (fL)	16.2	-	15.1	-	14.8	-	17.6	-
Day 274								
Red blood cell count (E6/µL)	6.74	6.68	6.55	6.32	6.30	5.91	5.43*	5.43*
Mean corpuscular volume (fL)	69.6	68.6	70.5	70.6	71.3	72.5*	77.9*	76.0*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	23.3	22.7	23.4	23.7	23.6	24.2*	25.8*	25.1*
Red cell distribution width (%)	12.3	12.2	12.5	12.6	12.7	12.5	15.1*	14.0*
Absolute reticulocyte count (E3/µL)	23.8	21.0	17.5	17.9	17.2	21.9	14.8	16.3
White blood cell count (E3/µL)	9.21	8.25	7.10	8.79	6.08*	5.43*	2.64*	3.48*
Absolute neutrophil count (E3/µL)	6.08	4.95	4.35*	5.22	3.34*	3.00*	1.25*	1.84*
Absolute lymphocyte count (E3/µL)	2.30	2.56	2.04	2.80	2.15	1.90	1.25*	1.41*
Absolute monocyte count (E3/µL)	0.42	0.27	0.36	0.45*	0.30	0.28	0.07*	0.10*
Absolute eosinophil count (E3/µL)	0.32	0.39	0.26	0.22	0.20	0.14*	0.04*	0.07*
Absolute basophil count (E3/µL)	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.04	0.01*	0.02
Platelet count (E3/µL)	260	323	262	302	231	304	157*	303
Mean platelet volume (fL)	14.6	-	13.4	-	14.3	-	15.9	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis								
Urine sediment: presence of sperm	4	-	0	-	0	-	0	-
Organ Weights[c]								
Spleen								
Absolute (g)	57.693	35.056	+44	+9	+5	+14	-14	-23
Relative to Body Weight (%)	0.697	0.4393	+31	+13	+2	+29	-22	-13
Relative to brain weight (%)	76.931	45.2022	+43	+16	0	+29	-12	-13
Testis								
Absolute (g)	10.544	NA	-5	NA	-22	NA	-39	NA
Relative to Body Weight (%)	0.1274	NA	-14	NA	-26	NA	-45*	NA
Relative to brain weight (%)	14.1239	NA	-6	NA	-28	NA	-40	NA
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Marrow, Sternum								
Hypocellularity, hematopoietic								

2.6.7.7F REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282225 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		3.0	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
GALT, Peyer's Patches								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	2	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	2	2
Mesenteric Lymph Node								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	3	3	2
Spleen								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Mild	0	0	0	0	0	3	1	1
Thymus								
Decreased cellularity, lymphoid								
Mild	0	0	1	0	0	3	3	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Testis								
Degeneration, seminiferous tubules								
Minimal	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Mild	0	NA	2	NA	2	NA	0	NA
Moderate	0	NA	1	NA	2	NA	0	NA
Marked	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Severe	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Epididymides								
Cellular debris, intratubular								
Minimal	0	NA	3	NA	0	NA	0	NA
Mild	0	NA	1	NA	3	NA	1	NA
Moderate	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Hypospermia								
Mild	0	NA	1	NA	3	NA	0	NA
Moderate	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Severe	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA

2.6.7.7F REPEAT-DOSE TOXICITY — Study Number: 8282225 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.2		0.6		3.0	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2
Urinalysis								
Urine sediment: Presence of Sperm	1	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Histopathology								
Testis								
Degeneration, seminiferous tubules								
Mild	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA
Epididymides								
Cellular debris, intratubular								
Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA

∗ $p \leq 0.05$, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GALT = Gut-associated lymphoid tissue; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (1 ng/mL).
c. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO **Report Title: Bacterial Mutagenicity Assay of PD 332991-54** **Test Article: PD-0332991-54** (isethionate salt)

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium* strains TA 98, TA 100, TA 1535 and TA 1537, *Escherichia coli* strain WP2 *uvrA* pKM101
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 2 for preliminary and 3 for definitive
Study Number: 745-03858
Lot Number: LCD-4245
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: 1489
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 mixture
Vehicles: **For Test Article:** Deionized water **For Positive Controls:** DMSO with the exception of 9-aminoacridine which was dissolved in ethanol.
Treatment: Plate incorporation for 72 hours with and without metabolic activation
Cytotoxic Effects: In the absence of metabolic activation, cytotoxicity was observed at 500 µg/plate in TA 1537 and TA 98, ≥800 µg/plate in TA 1535, and 1600 µg/plate in TA 100. Cytotoxicity was not observed in WP2*uvrA* pKM101. In the presence of metabolic activation, cytotoxicity was observed at 1600 µg/plate in TA 98, TA 100, TA 1535, and TA 1537, and was not observed in WP2*uvrA* pKM101.
Genotoxic Effects: None

Test Article	Dose (µg/plate)	Preliminary Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 2 plates)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (Deionized water)	0.1 mL/plate	20.5	105.5	18.0	5.0	204.0
PD-0332991-54	16	16.5	106.5	18.5	7.0	208.5
	50	21.0	109.5	20.5	12.0	222.5
	160	22.5	111.5	19.5	8.5	219.0
	500	16.0	91.0	9.5	2.0	204.0
	1600	0.0	0.5	1.0	2.0	131.0
	5000	0.0	0.0	0.0	0.0	77.0
Positive Controls[b]	[b]	138.0	633.0	223.0	158.0	1782.5
With Metabolic Activation						
Control (Deionized water)	0.1 mL/plate	27.0	123.0	14.5	10.5	220.5
PD-0332991-54	16	31.5	111.5	15.5	8.5	226.5
	50	22.5	124.0	13.0	11.0	229.0
	160	23.0	133.0	15.5	7.0	222.0
	500	32.0	119.0	18.5	10.0	234.0
	1600	1.5	16.5	0.0	1.5	175.0
	5000	0.0	0.5	0.0	1.0	169.5

Test Article	Dose (µg/plate)	Preliminary Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 2 plates)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Positive Controls[c]	[c]	220.5	1456.0	230.5	298.5	1328.0
		Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 3 plates)				
Without Metabolic Activation						
Control (Deionized water)	0.1 mL/plate	31.0	89.7	13.7	7.0	143.3
PD-0332991-54	31.25	32.3	NA	NA	6.7	NA
	62.5	24.0	NA	NA	6.7	NA
	100	NA	94.7	14.0	NA	NA
	125	32.0	NA	NA	9.0	NA
	200	NA	83.0	13.7	NA	NA
	250	31.7	NA	NA	6.0	NA
	312.5	NA	NA	NA	NA	150.3
	400	NA	89.3	9.0	NA	NA
	500	12.0	NA	NA	3.3	NA
	625	NA	NA	NA	NA	138.3
	800	NA	81.0	3.0	NA	NA
	1250	NA	NA	NA	NA	142.0
	1600	NA	50.7	0.0	NA	NA
	2500	NA	NA	NA	NA	139.3
	5000	NA	NA	NA	NA	141.3
Positive Controls[b]	[b]	240.7	884.0	497.3	434.3	2263.0
With Metabolic Activation						
Control (Deionized water)	0.1 mL/plate	26.7	95.3	11.7	9.3	160.7
PD-0332991-54	100	25.0	104.7	12.0	11.0	NA
	200	31.0	104.7	9.7	11.0	NA
	312.5	NA	NA	NA	NA	158.0
	400	33.3	108.0	11.0	8.0	NA
	625	NA	NA	NA	NA	167.0
	800	18.0	77.7	9.0	5.3	NA
	1250	NA	NA	NA	NA	158.7

Test Article	Dose (µg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 3 plates)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
	1600	3.3	22.3	0.0	1.0	NA
	2500	NA	NA	NA	NA	160.3
	5000	NA	NA	NA	NA	109.0
Positive Controls[c]	[c]	150.0	2136.7	441.0	442.7	1273.7

∗ = Criteria for significance: 2-fold (TA 98, TA 100, and WP2 *uvrA* pKM101) and 3-fold (TA 1535 and TA 1537) over controls.
DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable; S9 = Postmitochondrial supernatant.
a. Mean refers to the mean number of colonies/plate.
b. Mean values for positive controls without activation; sodium azide, 9-aminoacridine, 2-nitroflourene, and 4-nitroquinoline-N-oxide. The concentration of positive controls used ranged from 1-75 µg/mL/plate.
c. Mean values for positive controls with activation; 2-aminoanthracene and benzo[a]pyrene. The concentration of positive controls used ranged from 2-20 µg/mL/plate.

2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO **Report Title: In Vitro Structural Chromosome Aberration Assay of PD-332991-54** **Test Article: PD-0332991-54** (isethionate salt)

Test for Induction of: Chromosome aberrations **Number of Independent Assays:** 2 **Study Number:** 25093-0-449OECD
Test Cells: Purified human lymphocytes **Number of Replicate Cultures:** 2 **Lot Number:** LCD-4245
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 **Number of Cells Analyzed/Culture:** 200; PC = ~ 100-157 **GLP Compliance:** Yes
Vehicles: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** DMSO **S9 Batch Number:** 1393
Treatment: 3-hour treatment with and without metabolic activation, ~ 22-hour treatment without metabolic activation (confirmatory assays).

Cytotoxic Effects: In the confirmatory 22-hour trial without metabolic activation, reductions of 39%, 53%, 63%, 68%, 77%, 77%, and 94% were observed in the MI of the cultures treated with 0.311, 0.393, 0.785, 1.57, 3.13, 6.25, and 12.5 µg/mL, respectively. In the assay with metabolic activation, reductions of 25%, 34%, 55%, 58%, 63%, 69%, 66%, 72%, and 66% were observed in the MI of the cultures treated with 3.13, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 60.0, 70.0, 85.0, and 100 µg/mL, respectively.
Genotoxic Effects: None.

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Aberrations	Mitotic Suppression[a] Mean %	Abnormal Cells Mean %[b]	Polyploidy Mean %	Hyperdiploidy Mean %
3-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO (control)	10 µL/mL	200	0	0	0	NA
PD-0332991-54	11.6	200	ND	0	0	NA
	23.7	200	46	0.5	0.5	NA
	48.4	200	48	1.5	0.5	NA
	69.2	126[c]	73	0	0	NA
Mitomycin C	1	157	ND	19.7	0	NA
3-Hour Treatment With Metabolic Activation						
DMSO (control)	10 µL/mL	200	0	0	0	NA
PD-0332991-54	11.6	200	40	0.5	0.5	NA
	23.7	200	54	1.5	0	NA
	48.4	200	47	0.5	0.5	NA
	69.2	200	58	1.5	0	NA
Cyclophosphamide	25	100	ND	34	0	NA
22-Hour Treatment Without Metabolic Activation (confirmatory assay)						
DMSO	10 µL/mL	200	0	1.5	0	NA
PD-0332991-54	0.311	200	39	2.0	0	NA

2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO Study Number: 25093-0-449OECD

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Aberrations	Mitotic Suppression[a] Mean %	Abnormal Cells Mean %[b]	Polyploidy Mean %	Hyperdiploidy Mean %
	0.393	200	53	0.5	0	NA
	0.785	200	63	0.5	0	NA
	1.57	200	68	0.5	0	NA
Mitomycin C	0.2	102	ND	33.3	0	NA
3-Hour Treatment With Metabolic Activation (confirmatory assay)						
DMSO	10 µL/mL	200	0	0	0	NA
PD-0332991-54	25.0	200	58	0	0	NA
	50.0	200	63	0	0	NA
	60.0	200	69	0.5	0	NA
	70.0	200	66	1.5	0	NA
Cyclophosphamide	25.0	103	ND	36.9	0	NA

DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MI = Mitotic index; NA = Not applicable; ND = Not determined; PC = Positive control; S9 = Postmitochondrial supernatant.

a. Mitotic Suppression = [One minus the quotient (mean test article mitotic index/mean negative control mitotic index)] x 100.

b. (Sum of abnormal cells excluding gaps for duplicate cultures/sum of cells scored) x 100.

c. Only 126 cells were analyzed for chromosome aberrations due to toxicity.

2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: Exploratory Kinetochore In Vitro Micronucleus Analysis in CHO-WBL Cells

Test Article: PD-0322991-54 (isethionate salt)

Test for Induction of: Presence or absence of kinetochore signals in the micronuclei
Test Cells: CHO-WBL
Metabolizing System: Not used
Vehicles: DMSO
Treatment: 24-hour treatment without metabolic activation
Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: At the dose level of 35 µg/mL, kinetochore staining results (85% of micronucleated cells were positive) are indicative of an aneugenic mechanism.

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 1
Number of Cells Analyzed/Culture: 1000

Study Number: PD-0332991-0054
Lot Number: GR01681
GLP Compliance: No
S9 Batch Number: Not applicable

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Aberrations	Kinetochore Negative %	Kinetochore Positive %
DMSO (vehicle control)	0	1000	65	35
PD-0332991-54	35.0	1000	15	85
Mitomycin-C (positive control)	0.05	500	86	14
Noscapine (aneugenic staining control)	15.0	500	29	71

CHO-WBL = Chinese hamster ovary cells; DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; S9 = Postmitochondrial supernatant.

2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO

Report Title: 3-Week Oral Toxicity Study of PD 332991-54 in Rats

Test Article: PD-0332991-54 (isethionate salt)

Test for Induction of: Bone Marrow Micronuclei
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Age/Weight: ~ 7 to 8 Weeks/172-289 g
Cells Evaluated: PCEs
Special Features: None

Treatment Schedule: 3 Weeks
Sample Time: ~ 24 hours after the last dose
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: Deionized water/solution

Study Number: 745-03731[a]
Lot Number: LCD-4245
GLP Compliance: Yes

Toxic/Cytotoxic Effects: Lethality in males at 200 mg/kg and females at 400 mg/kg. Pancytic bone marrow and lymphoid depletion, decreases in circulating blood cells, testicular degeneration, and pulmonary changes occurred at ≥50 mg/kg/day.
Genotoxic Effects: Positive for micronucleus formation in male. Dose-dependent increases and statistically significant increases in the % MNPCE in male animals were noted at ≥100 mg/kg/day. No induction of micronucleus formation in female rats when tested up to 400 mg/kg/day. Results indicate that palbociclib has clastogenic/aneugenic potential in male rats only at doses ≥100 mg/kg/day.
Evidence of Exposure: Toxicokinetic parameters are presented in 2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity tabulated summary.

Test Article	Dose[c] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	PCE (%) Mean ± SD		MNPCE (%) Mean ± SD	
			Male	Female	Male	Female
Vehicle	0	5M/5F	65.82 ± 8.530	68.84 ± 5.570	0.52 ± 0.335	0.54 ± 0.288
PD-0332991-54	50	5M	68.76 ± 7.599	NA	1.04 ± 0.488	NA
	100	5M/5F	68.50 ± 3.962	74.16 ± 3.575	1.10 ± 0.255*	0.68 ± 0.164
	200	5M/5F	63.38 ± 14.890	66.26 ± 6.637	1.38 ± 0.870*	0.74 ± 0.114
	400	5F	NA	70.76 ± 10.027	NA	0.86 ± 0.397
Positive control Cyclophosphamide	20[b]	5M/5F	31.76 ± 2.847†	21.54 ± 3.954†	3.14 ± 1.322†	4.02 ± 1.008†

* p ≤0.05, † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; MNPCE = Micronucleated polychromatic erythrocytes; NA = Not applicable; PCE = Polychromatic erythrocytes; QD = Once daily; SD = Standard deviation.
a. Assay conducted in 3-week oral toxicity study and also reported on 2.6.7.7A Repeat Dose Toxicity.
b. Positive-control cyclophosphamide animals dosed ~ 24 and 48 hours prior to study termination.
c. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.

2.6.7.10 CARCINOGENICITY **Test Article: PD-0332991**

Not Available

2.6.7.11 REPRODUCTICE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PD-0332991

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)/ Test Article Lot Number	Dosing Period	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage, QD, 10 mL/kg, (0.5% (w/v) Methylcellulose/ suspension in RO water), Lot E010013487	GD 6-17	0, 30, 100, 300	6F	**300 mg/kg/day**[b]: ↓ average fetal body weight (male and female combined), ↓ maternal body weight gain between GD 6-9, ↓ maternal food intake between GD 6-12.	20036581/No
Rabbit/New Zealand White	Oral gavage, QD, 5 mL/kg, (0.5% (w/v) Methylcellulose/ suspension in RO water), Lot E010013487	GD 7-19	0, 3, 10, 30, 100	6F	**≥30 mg/kg/day**: Mortality 2/6 on GD 21 (1 euthanized and 1 aborted); adverse clinical signs; ↓ maternal body weight, maternal food consumption, and average gravid uterine weight; ↓ litter sizes; ↑ average number of early and late resorptions/litter, ↑ postimplantation loss. **100 mg/kg/day:** 100% mortality, ↓ activity.	20036582/No

F = Female; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; QD = Once daily; RO = Reverse osmosis deionized water.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. One control and one 100 mg/kg/day female rat were euthanized immediately following early parturition on Day 21 and were not test-article-related.

2.6.7.12A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Report Title: A Fertility and Early Embryonic Development Study of PD-0322991 by Oral Gavage in Male Rats

Test Article: PD-0332991

Design Similar to ICH 4.1.1: Yes

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley (Crl:CD[SD])

Initial Age: **M:** ~ 71 days
F: NA

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Special Features: NA

No Observed Adverse Effect Level:
Male Reproduction: 10 mg/kg/day

Dosing Period: M: 15 weeks, in 3-week on and 1-week off dosing cycles for a total of 4 cycles (84 doses) and a mating trial with test article naïve females during the last 2 weeks of the overall dosing period.
F: NA

Day of Mating (F): NA

Day of Cesarean Section: NA

Method of Administration: Oral Gavage, QD, 10 mL/kg

Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose in Reverse Osmosis Deionized Water

Study Number: 20057548
(Sponsor reference [redacted]GR327)
Lot Number: E010014102

GLP Compliance: Yes

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**100**
Number of Male Rats Toxicity	20	20	20	20
Toxicokinetics Concentrations[b] Day 12 4 hours postdose (ng/mL)	NA[c]	360	874	2413
Number Died or Euthanized Moribund Toxicity	1[d]	0	0	2[d]
Clinical Observations Dehydration	0	1	2	7
Body weight (g) (Day 106)	598.9	615.6	565.5	526.6†
Body Weight change (g)[e] (Days 1-106)	+240.4	+6.7	-14	-31†

2.6.7.12A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: 20057548 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**100**
Food Consumption[e] (g) (Days 1-106)	25.8	+2	-2	-9†
Mean number of days prior to mating	-	-	-	-
Number of males mated	19	20	20	18
Number of fertile males	19	20	20	16
Necropsy observations				
Small and/or Flaccid Testes	0	0	0	12
Yellow Prostate	0	0	0	3
Yellow Forepaws and Hindpaws	0	0	0	2
Organ Weights[e] (g)				
Testis (Right)	1.8760	0	-2	-29†
Testis (Left)	1.8768	0	-1	-29†
Epididymis (Right)	0.8598	-1	-6	-18†
Epididymis (Left)	0.8290	0	-2	-18†

2.6.7.12A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: 20057548 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	100
Histopathology				
Testis (Right) Degeneration, seminiferous tubules				
Minimal	0	0	0	3
Mild	0	0	0	3
Moderate	0	0	2	10
Marked	0	0	0	1
Epididymis (Right) Debris, cellular, lumen				
Minimal	0	0	0	3
Mild	0	0	2	5
Moderate	0	0	0	7
Epididymis (Right) Hypospermia				
Minimal	0	0	0	3
Mild	0	0	2	6
Moderate	0	0	0	3
Marked	0	0	0	1
Epididymis (Left) Debris, cellular, lumen				
Minimal	0	0	0	3
Mild	0	0	2	5
Moderate	0	0	0	7
Epididymis (Left) Hypospermia				
Minimal	0	0	0	3
Mild	0	0	2	6
Moderate	0	0	0	3
Marked	0	0	0	1
Sperm motility (% motile cells)	92.7	89.9	90.5	73.6†
Sperm count (million sperm/gram cauda weight)	1051.87	921.61	988.76	763.64†
Testicular spermatid density	107.65	123.19	103.41	55.96†
Females (Untreated)				
Number of pregnant females	19	20	20	16
Cesarean Section Observations	-	-	-	-
Number Evaluated	19	20	20	16

2.6.7.12A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: 20057548 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	100
Mean Number Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean Number Implantations	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	-
Mean % Postimplantation Loss	-	-	-	-
Mean Number Viable Conceptuses	-	-	-	-

† p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonization; M = Male;
NA = Not applicable; QD = Once daily.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. Samples collected and analyzed.
c. Concentrations determined from blood taken from first 4 main study animals per group.
d. Due to a gavage accident based on, but not limited to, the presence of spongy lungs, yellow gelatinous material and brown cloudy fluid in the thoracic cavity, and/or a perforation at necropsy examination and/or microscopic observations of moderate to marked suppurative (neutrophilic) inflammation with marked fibrin deposition involving the mediastinum and pleura. In addition, mild or moderate hemorrhage was also present in the lung and mediastinum at microscopic examination.
e. Group means (grams) are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.

2.6.7.12B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Report Title: A Fertility and Early Embryonic Development Study of PD-0322991 by Oral (Gavage) Administration in Female Rats

Test Article: PD-0332991

Design Similar to ICH 4.1.1: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley (Crl:CD[SD])

Dosing Period: **M:** NA
F: 15 days before cohabitation, during cohabitation and continuing until GD 7

Study Number: 20037853
Lot Number: E010013487/GR06533

Initial Age: **M:** NA
F: ~ 10 weeks

Day of Mating (F): GD 0

GLP Compliance: Yes

Day of Cesarean Section: GD 14

Date of First Dose: [redacted]20[redacted]

Method of Administration: Oral Gavage, QD, 10 mL/kg

Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose in Reverse Osmosis Deionized Water

Special Features: Toxicokinetic satellite phase
No Observed Adverse Effect Level:
Female Systemic Toxicity: 300 mg/kg
Female Fertility and Early Embryonic Development: 300 mg/kg

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Number of Female Rats				
Toxicity	20	20	20	20
Toxicokinetics	3	5	5	5
Toxicokinetics Concentrations, Day 14				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	92.5	306	627
AUC_{24}(ng•h/mL)	NA[b]	740	3040	8010
Females				
Number Died or Euthanized Moribund				
Toxicity	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight (g)[c]	-	-	-	-
Gestation Body Weight (g)[c]				
GD 10	302.1	+4.2%*	+4.0*	+3.0
GD 14	321.0	+4.9†	+4.5*	+3.8*

2.6.7.12B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY– FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: 20037853 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Gestation Body Weight Changes(g)[c]				
GD 7-14	28.1	+16.7*	+15.7	+20.6*
GD 0-14	55.3	+14.3*	+17.5†	+11.2
Premating Food Consumption (g/day)[c]	-	-	-	-
Gestation Food Consumption (g/day)[c]				
GD 7-10	21.0	+8.6†	+4.8	+7.1*
Estrous Cyclicity	-	-	-	-
Mean Cohabitation Length (days)	2	1.6	1.9	1.8
Number of Females Mated (Confirmed)	20	20	20	20
Number of Pregnant Females	20	20	20	20
Number Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Necropsy Observations				
Number Evaluated	20	20	20	20
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	20	20	20	20
Mean Number Corpora Lutea	14.1	16.1	16.3*	17.3†
Mean Number Implantations	13.6	15.6	15.8	16.6†
Mean % Preimplantation Loss	3.9	2.9	2.7	4.0
Mean % Postimplantation Loss	4.7	4.8	5.8	8.8
Mean Number Viable Conceptuses	12.8	14.8	15.0	15.3

* $p \leq 0.05$, † $p \leq 0.01$, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; M = Male; NA = Not applicable.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. Samples below assay level of quantitation (1 ng/mL).
c. Group means (grams) are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study of PD-0322991 by Oral (Gavage) in Rats

Test Article: PD-0332991

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Initial Age: ~ 10 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Dosing Period: GD 6-17
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 21
Method of Administration: Oral Gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose

Study Number: 20039574
Lot Number: E010013487
GLP Compliance: Yes

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal Females: 100 mg/kg
Fetuses: 100 mg/kg

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Maternal Females				
Number of Animals				
Toxicity	20	20	20	20
Toxicokinetics	3	5	5	5
Toxicokinetics – GD 17:				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	111	278	456
AUC_{24} (ng•hr/mL)	NA[b]	836	2960	7310
Number Died or Euthanized Moribund				
Toxicity	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0
Number Pregnant (Toxicity)	20	19	20	20
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)[c]				
GD 11	297.4	+1.0	-0.7	-2.8*
Body Weight Change (g)[c]				
GD 6-9	14.8	-8.8	-14.2	-41.2†
GD 6-18	91.6	-2.9	-1.5	-13.8†
GD 6-21	142.7	+2.8	+2.5	-8.5*
Corrected Maternal Body Weight Change GD 6-21(g)[c]	36.0	+11.1	+9.7	-22.5

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT **Study Number: 20039574 (continued)**

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Food Consumption g/day				
GD 9-12[c]	23.4	-1.7	-1.7	-8.5
GD 15-18[c]	25.9	0.4	+2.3	-6.6*
GD 6-18[c]	23.9	0	+0.8	-6.3*
Food Consumption g/kg/day				
GD 9-12[c]	79.5	-2.4	-0.8	-6.3†
Uterine Weight (g)[c]	106.7	0	0	-3.8
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	19[d]	19	20	20
Mean Number Corpora Lutea	14.6	14.8	15.0	14.8
Mean Number Implantations	14.4	14.4	14.7	14.5
Mean % Preimplantation Loss	1.4	2.9	2.0	1.7
Mean % Postimplantation Loss	2.9	2.6	4.3	2.7
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	266	266	282	282
Mean Number Live Fetuses	14.0	14.0	14.1	14.1
Mean Number Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean Fetal Body Weight (g)	5.70	5.66	5.69	5.42†
Male	5.83	5.86	5.87	5.58*
Female	5.57	5.46	5.51	5.23†
Sex Ratios (% males)	51.3	51.3	53.3	56.6
Fetal Observations[e]				
External Malformation				
Number Fetuses/Litters Evaluated	266/19	266/19	282/20	282/20
Fore and/or hindlimbs: digits fused	0.0/0.0	0.0/0.0	1.4/5.0†	0.0/0.0
Fore and/or hindlimbs: digits extra	0.0/0.0	0.0/0.0	1.4/5.0†	0.0/0.0
External Variations	-	-	-	-
Visceral Observations				
Number Fetuses/Litters Evaluated	129/19	128/19	137/20	135/20

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT **Study Number: 20039574 (continued)**

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Skeletal Malformations	-	-	-	-
Skeletal Variations				
Number Fetuses/Litters Evaluated	138/19	138/19	145/20	147/20
Cervical rib present at 7th cervical vertebra	2.2/15.8	1.4/10.5	6.2/35.0	11.6†/65.0†

* $p \leq 0.05$, † $p \leq 0.01$, significantly different from control based on appropriate pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; QD = Once daily.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (1 ng/mL).
c. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.
d. One control rat delivered on the day of scheduled euthanasia and thus was excluded from cesarean section and fetal evaluations.
e. Values shown are fetuses affected (mean %/litter)/ followed by litter incidence (%).

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study of PD-0322991 by Oral (Gavage) in Rabbits

Test Article: PD-0332991

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rabbit/NZW
Initial Age: ~ 6 months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Dosing Period: GD 7-19
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 29
Method of Administration: Oral Gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose

Study Number: 20039575
Lot Number: E010013487
GLP Compliance: Yes

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal Females: 10 mg/kg
Fetuses: 10 mg/kg

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	2	10	20
Maternal Females				
Number of Animals				
Toxicity	20	20	20	20
Toxicokinetics	3	5	5	5
Toxicokinetics – GD 19:				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	178	1280	2470
AUC_{24} (ng•hr/mL)	NA[b]	924	7460	17200
Number Died or Euthanized Moribund				
Toxicity	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0
Number Pregnant (Toxicity)	19	20	20	19
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)	-	-	-	-
Body Weight Change (kg)[c]				
GD 7-10	0.06	+16.7	-50	-50*
GD 7-20	0.21	+19	+9.5	-23.8
GD 20-24	0.09	0	+11.1	+66.7†
Corrected Maternal Body Weight Change (kg)[c]	-	-	-	-
Relative Food Consumption (g/day)[c]				
GD 10-13	158.7	+3.3	-3.6	-12.4*
GD 7-20	156.6	+0.6	0	-11.8

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT **Study Number: 20039575 (continued)**

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	2	10	20
Uterine Weight (g)[c]	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	19	20	20	19
Mean Number Corpora Lutea	10.0	10.4	9.7	9.3
Mean Number Implantations	9.3	9.8	9.0	8.8
Mean % Preimplantation Loss	6.9	6.3	7.7	5.4
Mean % Postimplantation Loss	2.1	2.5	0.6	4.3
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	173/19	190/20	179/20	160/19
Mean Number Live Fetuses	9.1	9.5	9.0	8.4
Mean Number Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean Fetal Body Weight (g)	42.51	42.59	43.89	43.81
Sex Ratios (% males)	46.0	52.1	48.6	46.2
Fetal Observations				
Number Fetuses/Litters Evaluated	173/19	190/20	179/20	160/19
External Malformation				
Short forelimb[d]	0/0	0/0	0/0	0.6/5.3
External Variations	-	-	-	-
Visceral Observations	-	-	-	-
Skeletal Malformations	-	-	-	-
Skeletal Variations				
Small phalanx forelimb[d]	0/0	0/0	0/0	1.9†/10.5
Mean Number 13 rib pairs	12.52	12.40	12.68	12.82†

* $p \leq 0.05$, † $p \leq 0.01$, significantly different from control based on appropriate pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; NZW = New Zealand White; QD = Once daily.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (1 ng/mL).
c. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.
d. Values shown are fetuses affected (mean %/litter)/ followed by litter incidence (%).

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION (PIVOTAL)

Report Title: A Pre- and Postnatal Developmental Toxicity Study of PD-0332991 by Oral Gavage in Rats

Test Article: PD-0332991

Design Similar to ICH 4.1.2: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley
Age at First Dose: 60-70 Days
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal: 100 mg/kg/day
Developmental: 300 mg/kg/day

Dosing Period: GD 6 through LD 20
Day of Mating: GD 0
Method of Administration: Oral gavage, 10 mL/kg, QD
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) methylcellulose/suspension
Litters Culled/Not Culled: Culled to 8/sex/litter

Study Number: 20084675
Sponsor Reference Number: [redacted]GR387
Lot Number: E010014255 (GR07475)
GLP Compliance: Yes

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
F0 Females				
Number of Animals	22	22	22	22
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Number Pregnant	21	22	22	22
Clinical Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight Change (g)[b] Days 6 to 20	135.7	0.91	0.93	0.80†
Gestation Body Weight (g)[b,c] Day 20	362.5	0.97	0.98	0.93†
Lactation Body Weight (g)[b,c] Day 21	-	-	-	-
Gestation Food Consumption (g)[b,c] Days 6-21	23.6	0.94	0.96	0.89†
Lactation Food Consumption (g)[b,c] Days 10-14	-	-	-	-
Mean Duration of Gestation (days)	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 20084675 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
F1 Litters (Preweaning)				
Number Litters Evaluated	21	22	22	22
Mean Number Pups/Litter	-	-	-	-
Mean Number Liveborn Pups/Litter	-	-	-	-
Mean Number Stillborn Pups/Litter	-	-	-	-
Postnatal Survival to Day 4 (%)	-	-	-	-
Postnatal Survival to Weaning (%)	-	-	-	-
Body Weights (g)[b,d] Day 21	51.7	1.0	0.99	0.95*
Sex Ratios (% males) Day 21	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
F1 Males (Postweaning)				
Rats in Cohabitation	22	22	22	22
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight Change (g)[b,e] Day 92	-	-	-	-
Food Consumption (g)[b,e] Days 85-92	-	-	-	-
Preputial Separation (PND)[f]	-	-	-	-
Acoustic Startle Response (amplitude)	-	-	-	-
Motor Activity (total movements)	-	-	-	-
Morris Water Maze (number of observations)	-	-	-	-
Mean Number Days in Cohabitation	-	-	-	-
Number of Males Mated (Confirmed)	22	22	21	22
Number of Pregnancies/Number of Male Rats Mated	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
F1 Females (Postweaning)				
Number Evaluated	22	22	22	22
Number Pregnant	22	22	21	21
Number Included in Analysis	22	22	20[g]	21

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 20084675 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight Change (g)[b,e] Day 92	-	-	-	-
Gestation Body Weight Change (g)[b] Days 0 to 14	-	-	-	-
Food Consumption (g)[b,e] Days 85-92	-	-	-	-
Vaginal Patency (days)	-	-	-	-
Acoustic Startle Response (amplitude)	-	-	-	-
Motor Activity (total movements)	-	-	-	-
Morris Water Maze (number of observations)	-	-	-	-
Estrous Cycle Length (days)	-	-	-	-
Mean Number Days in Cohabitation	-	-	-	-
Number of Females Mated (Confirmed)	22	22	22	22
Rats Pregnant/Rats in Cohabitation (%)	-	-	-	-

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function

Study Number: 20084675 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	30	100	300
Necropsy Observations (F1 Females)	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	22	22	21[g]	21
Mean Number Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean Number Implantations	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	-
Mean % Postimplantation Loss	-	-	-	-
Mean Number Viable Fetuses	-	-	-	-

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01; significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; F0 = maternal/paternal generation; F1 = First generation; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; LD = Lactation day; NA = Not applicable; PND = Postnatal Day; QD = Once a day.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per day.
b. Group mean is shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
c. At end of gestation or lactation.
d. Mean pup body weights at 300 mg/kg/day were lower than the control group mean on Days 7, 10, 14, 18, and 21 postpartum, and reached statistical significance on Days 7, 10, 14, and 21 postpartum. The lower pup weights at 300 mg/kg/day were PD-0332991-related, but the differences were not considered to be adverse because they were of low magnitude, there was evidence of a rebound in body weight at the end of the preweaning phase, and there were no PD-0332991-related effects on body weights postweaning.
e. From weaning to mating.
f. Average day postpartum that the prepuce was observed to be separated and the vagina was observed to be patent.
g. Exclusion of animal 1861 which did not have a confirmed mating date.

2.6.7.15 STUDIES IN JUVENILE ANIMALS

Test Article: PD-0332991

Not Available

2.6.7.16 LOCAL TOLERANCE

Test Article: PD-0332991

Species/Strain	Method of Administration Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Local Vascular Tissue Irritation Rabbit/New Zealand White[a]	Intravenous or perivascular/ Lot GR06533	1 Day	50 µg (IV); 2.5 µg (PV)[b]	4F	PD-0332991 and/or its associated vehicle did not cause irritation in rabbits when given intravenously or perivascularly at the doses tested.	[redacted]LJ094/No

F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; PV = Perivascular.

a. Females only.

b. A control group of animals (4/group) received saline using the same dose volume and dose regimen while another group (also 4/group) received the vehicle: 1 mM Citrate Buffer, 5.0% w/v mannitol (pH 4.0-4.2).

2.6.7.17A OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PD-0332991

In Vitro

Type of Test	Test Cells/Tissues (Test Article Lot Number)	Concentrations (μg/mL)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Phototoxicity: 3T3 Neutral Red Uptake Assay[a]	Mouse/Balb/c 3T3 Clone 31 fibroblasts (PF-00080665-73-006)	0.061, 0.244, 0.977, 3.906, 15.625, 62.5, 250, and 1000	PD-0332991 is classified as not having phototoxic potential based on a Photo-Irritancy Factor (PIF) value of 1.44 and a Mean Photo Effect (MPE) of 0.03.	[redacted]SAN-07_3/No
Hemolysis	New Zealand White Rabbit blood/GR06533	50 μg/mL	Neither formulation containing 50 μg/mL PD-0332991 nor vehicle alone caused toxicologically significant hemolysis at any clinically relevant formulations.	[redacted]LJ093/No
Hemolysis	Human blood/ GR06533	50 μg/mL	The test formulation containing 50 μg/mL PD-0332991 and its vehicle did not cause toxicologically significant hemolysis at any formulation ratio.	[redacted]LJ095/No
Bone Marrow Toxicity Assay	Human bone marrow mononuclear cells; Human bone marrow hematopoietic stem cells (PF-00080665-73-0002)	0.003 to 30 μM	The palbociclib-induced hematological toxicities are due to bone marrow suppression as a result of cell cycle arrest on all hematopoietic lineages tested, and clearly differentiates it from that induced by cytotoxic chemotherapeutic agents, which involves induction of apoptosis in addition to cell cycle inhibition. Results from this work have also differentiated the mechanism of palbociclib in normal bone marrow mononuclear cells from its effects on tumor cells, which include both cell cycle inhibition and cellular senescence. These results potentially explain the quick reversibility and uncomplicated nature of palbociclib-induced myelosuppression.	[redacted]LJ125/No

2.6.7.17A OTHER TOXICITY STUDIES — Test Article: PD-0332991

GLP = Good Laboratory Practice; NRU = Neutral red uptake; UVA = Ultraviolet A.
a. The assay method followed the protocol provided by the OECD 432 Guidelines (Organisation for Economic Co-operation and Development, 2002). The 3T3 NRU test is based on the relative reduction in viability of Balb/c 3T3 fibroblasts (Clone 31) exposed to a chemical in the presence (+Irr) or absence (-Irr) of UVA light (5 Joules/cm2).

2.6.7.17B OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PD-0332991

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] Methylcellulose/ Suspension) Lot GR08498	15 Weeks[b]	0, 10 (M), 100 (M), 300 (F)	0 mg/kg/dose: 20M, 20F; 10-300 mg/kg/dose: 40M, 40F	ND	**≥10 mg/kg/day (males):** ↑ Water consumption, ↑ urine volume, ↓ Ki-67 immunoreactive beta cells (pancreas, Days 22, 50, and 106), ↑ mean calculated beta cell size, ↓ Ki-67 positive cells present in the eye and pancreas (interstitial cells in the choroid and ciliary body; Days 22, 50, and 106) **100 mg/kg/day (males)**: Hair coat staining (porphyrin discharge) observed around the eyes and nose (5/40 animals), ↓ body weights, ↓ food consumption[c], ↑ serum glucose values[d], urine (↑ protein, ↑ specific gravity, ↑ glucose, ↑ volume), diffuse pale discoloration of lymph nodes (3/10 animals), small thymus (4/10 animals), minimal islet cell vacuolar change (Days 22, 50, 106, in 1/10, 2/10, and 5/10 animals, respectively), minimal islet cell eosinophilic inclusions (Days 22, 50, and 106, in 4/10, 9/10, and 10/10 animals, respectively), minimal to mild fibrosis/hemorrhage of islet cells (Days 50 and 106 in 2/10 and 4/10 animals, respectively), dilated rough endoplasmic reticulum in pancreatic beta islet cells[e], ↑ FOXO1 (1.2x control, Day 2), PEPCK (1.8x control, Day 2) and G6Pase (2x control, Day 2) gene expression in	[redacted]LJ122/No

2.6.7.17B OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PD-0332991

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
						the liver **300 mg/kg/day (females):** ↓ Food consumption[c], ↑ urine volume, ↑ water consumption, ↓ Ki-67 immunoreactive beta cells (pancreas, Days 22, 50, and 106), ↑ PGC1α (1.8x and 1.7x control, Days 2 and 22, respectively, and FOXO1 (1.3x control, Day 50)	

F = Female; FOXO1 = Gene associated with hepatic glucose production; G6Pase = Gene associated with hepatic glucose production; GLP = Good Laboratory Practices; Ki-67 = Marker for proliferation; M = Male; NOAEL = No observed adverse effect level; ND = Not determined; OGTT = Oral glucose tolerance test; PEPCK = Gene associated with hepatic glucose production; PGC1α = A regulator of energy metabolism; QD = Once Daily; TEM = Transmission Electron Microscopy.

a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.

b. Rats were administered vehicle (20/sex) or PD-0332991 (40/sex) by oral gavage for a total of 2 days or one, two, or four 3-weeks on/1-week off dosing cycles. PD-0332991 was administered to male rats at 10 and 100 mg/kg/day and to female rats at 300 mg/kg/day. Dosing cycles consisted of 3 weeks of daily dosing followed by a 1-week period without dosing. Animals were euthanized approximately 4 hours following their second dose of either vehicle or PD-0332991 on Day 2, or 1 day following their respective final doses on Days 22, 50, or 106. Following designated dosing cycles of PD-0332991, cohorts of animals were evaluated for alterations in clinical condition, body weight, food consumption, water consumption, oral glucose tolerance testing, blood chemistry, blood biomarkers, urinalysis, urine chemistry, immunohistochemistry, liver gene expression, and tissue morphology in order to investigate the mechanism of PD-0332991-induced glucose dysregulation observed in rats.

c. Food consumption was measured in all Cohort 106 (Cohort numbers are based on respective necropsy days) animals during the first 2 weeks of the fourth dosing cycle (Days 85-99). There was PD-0332991-related, statistically significant, lower food consumption in male rats at 100 mg/kg/day from Days 85-99 and in female rats at 300 mg/kg/day from Days 92-99, compared with their respective controls.

d. Measured in Cohort 106 rats. Increased serum glucose was related to the OGTT and not terminal clinical chemistry.

e. PD-0332991-related, light microscopically-evident, eosinophilic inclusions correlated with nucleus (INI) and cytoplasm (ICI), in pancreatic islet beta cells observed by TEM. Ultrastructurally, inclusions were single, present in either the INI or the ICI, but not both in the same cell, and were only observed in pancreatic islet beta cells.

2.6.7.17C OTHER TOXICITY STUDIES **Report Title: 27-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with PD-0332991 in Aged Rats** **Test Article: PD-0332991**

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley

Initial Age: 12 Months

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (Groups 1-3); [redacted] 20[redacted] (Groups 4-5)

Duration of Dosing: 15 or 27 Weeks

Duration of Postdose: None

Method of Administration: Oral gavage, 4 or 7 cycles of once daily dosing for 3 weeks followed by a 1-week nondosing period, 10 mL/kg

Study Number: 8313012 (Sponsor reference number [redacted]LJ143)

Lot Number: E010014768 and E010014769

GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) methylcellulose (4000 cps) in reverse osmosis water

Special Features: Oral glucose tolerance test (OGTT), biomarker evaluation (insulin, C-peptide, corticosterone, HbA1c), gene expression analysis (liver and kidney [not examined]), transmission electron microscopy evaluation of the pancreas and adrenal cortex (not evaluated), and immunohistochemistry evaluation of the pancreas and eye (insulin and glucagon multiplex; insulin and Ki-67 multiplex; Ki-67; and caspase-3).

No Observed Adverse Effect Level: Not determined (not an objective of this study)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**	**100**	**0 (Control)**	**100**
Sex	**M**	**M**	**M**	**M**	**M**
Number of Animals	16	16	16	10	10
Toxicokinetics:					
C_{max} (ng/mL)					
Day 8	NA[b]	806	1990	NA	NA
Day 49	NA[b]	755	2270	NA	NA
AUC_{24} (ng•hr/mL)					
Day 8	NA[b]	13300	36700	NA	NA
Day 49	NA[b]	12700	36400	NA	NA
Noteworthy Findings					
Died or Euthanized Moribund[c]	4	0	1	1	1
Body Weight (g or %)[d]					
Day 105	NA	NA	NA	558	-11.5
Day 189	602	-1.2	-11.5*	NA	NA

2.6.7.17C OTHER TOXICITY STUDIES

Study Number: 8313012 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day) **Sex**	**0 (Control)** **M**	**30** **M**	**100** **M**	**0 (Control)** **M**	**100** **M**
Body Weight Change (g or %)[d]					
Days 1-105	NA	NA	NA	41	-159
Days 1-189	46	10.9	-139*	NA	NA
Food Consumption	-	-	-	-	-
Clinical Observations					
Teeth, bottom, left incisor, white	0	0	3	0	2
Teeth, bottom, right incisor, white	0	0	4	0	2
Teeth, top, left incisor, white	0	0	14	0	7
Teeth, top, right incisor, white	0	0	13	0	7
Scab	4	18	19	1	5
Sore	1	4	2	0	2
Feces, nonformed	1	6	1	0	1
Ophthalmology	-	-	-	NA	NA

2.6.7.17C OTHER TOXICITY STUDIES

Study Number: 8313012 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day) **Sex**	**0 (Control)** **M**	**30** **M**	**100** **M**	**0 (Control)** **M**	**100** **M**
Oral Glucose Tolerance Test					
Insulin (mg/dL*min)					
Day 46	193884.38	215418.00	222618.00	NA	NA
Day 74	151191.25	170723.25	188131.50	NA	NA
Day 130	246658.13	282143.25	264265.50	NA	NA
Glucose (mg/dL*min)					
Day 46	10385.83	12209.25	9781.50	NA	NA
Day 74	11807.50	14040.75	10958.25	NA	NA
Day 130	10300.31	12184.50	11014.50	NA	NA
Clinical Chemistry (Terminal)	-	-	-	-	-
Insulin	-	-	-	-	-
C-Peptide	-	-	-	-	-
Corticosterone	-	-	-	-	-
Urinalysis and Urine Chemistry	-	-	-	-	-
Organ Weights[d]					
Terminal Euthanasia - Day 190					
Spleen					
Absolute (g or %)	1.1191	-5	-28*	NA	NA
Relative to body weight (%)	0.1949	-4	-19*	NA	NA
Relative to brain weight (%)	52.7511	-5	-28*	NA	NA
Testis					
Absolute (g or %)	4.4456	+2	-25*	NA	NA
Relative to body weight (%)	0.7759	+3	-15*	NA	NA
Relative to brain weight (%)	209.4376	+3	-25*	NA	NA
Gross Pathology					
Interim Euthanasia - Day 106					
Number Examined	NA	NA	NA	9	9
Tooth, right lower incisor, discolored	NA	NA	NA	0	2
Tooth, right upper incisor, discolored	NA	NA	NA	0	7
Terminal Euthanasia - Day 190					
Number Examined	12	16	15	NA	NA
Tooth, right lower incisor, discolored	0	0	2	NA	NA
Tooth, right upper incisor, discolored	0	0	6	NA	NA

2.6.7.17C OTHER TOXICITY STUDIES

Study Number: 8313012 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day) Sex	0 (Control) M	30 M	100 M	0 (Control) M	100 M
Histopathology					
Interim Euthanasia - Day 106					
Number Examined	NA	NA	NA	9	9
Tooth, Right Lower Incisor					
Degeneration/necrosis, ameloblasts					
Minimal	NA	NA	NA	0	6
Mild	NA	NA	NA	0	2
Infiltrate, mononuclear cell, pigmented					
Minimal	NA	NA	NA	0	5
Mild	NA	NA	NA	0	1
Tooth, Right Upper Incisor					
Degeneration/necrosis, ameloblasts					
Minimal	NA	NA	NA	0	3
Mild	NA	NA	NA	0	3
Moderate	NA	NA	NA	0	2
Infiltrate, mononuclear cell, pigmented					
Minimal	NA	NA	NA	0	3
Mild	NA	NA	NA	0	2
Moderate	NA	NA	NA	0	1
Terminal Euthanasia - Day 190					
Number Examined	12	16	15	NA	NA
Tooth, Right Lower Incisor					
Degeneration/necrosis, ameloblasts					
Minimal	0	0	6	NA	NA
Mild	0	0	4	NA	NA
Infiltrate, mononuclear cell, pigmented					
Minimal	0	0	4	NA	NA
Mild	0	0	5	NA	NA
Infiltrate, neutrophil					
Minimal	0	0	1	NA	NA
Mild	0	0	1	NA	NA
Tooth, Right Upper Incisor					
Degeneration/necrosis, ameloblasts					
Minimal	0	3	3	NA	NA

2.6.7.17C OTHER TOXICITY STUDIES

Study Number: 8313012 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day) **Sex**	**0 (Control)** **M**	**30** **M**	**100** **M**	**0 (Control)** **M**	**100** **M**
Mild	0	0	10	NA	NA
Moderate	0	0	1	NA	NA
Infiltrate, mononuclear cell, pigmented					
Minimal	0	3	3	NA	NA
Mild	0	0	10	NA	NA
Moderate	0	0	1	NA	NA
Infiltrate, neutrophil					
Mild	0	0	1	NA	NA
Liver					
Vacuolation, hepatocyte					
Minimal	6	5	8	NA	NA
Mild	0	1	0	NA	NA
Moderate	0	0	2	NA	NA
Gene Expression Analysis[e]					
Liver					
Phosphoenolpyruvate carboxykinase	0.49-1.60	0.44-1.34	0.26-1.36	0.66-1.46	0.31-1.28
Immunohistochemistry					
Pancreas					
Cell Size (pixels)					
Beta cells	553.30	583.22	618.70*	583.47	638.50
Proliferation marker					
Ki-67 (islet cells only)					
0 positive cells	0	16	16	0	10
Absent or present	15	0	0	10	0
Ki-67/Insulin					
0 positive cells	7	16	16	0	10
Absent or present	8	0	0	10	0

2.6.7.17C OTHER TOXICITY STUDIES **Study Number: 8313012 (continued)**

* p≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. All samples were below the limit of quantitation (1 ng/mL).
c. No test article-related mortality occurred.
d. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.
e. Expressed as the range of relative fold change (RQ) for the group.

2.6.7.17D OTHER TOXICITY STUDIES Report Title: Bacterial Mutagenicity Assay of an impurity PF-00710042-01 of parent compound PD-0332991 Test Article: PF-00710042-01

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium* strains TA 98 TA 100, TA 1535 and TA 1537, *Escherichia coli* strain WP2 *uvrA* pKM101
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3 for definitive and confirmative assays
Study Number: eAmes20[redacted]-15
Lot Number: 705861-171-2
GLP Compliance: No
S9 Batch Number: 2082
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 mixture
Vehicles: **For Test Article:** distilled Water **For Positive Controls:** DMSO with the exception of Sodium Nitrite that is in 0.9 % NaCl
Treatment: Plate incorporation for ~ 48 hours (*E. coli*) and ~ 72 hours (*S. typhimurium*) with and without metabolic activation
Cytotoxic Effects: None. However, cytotoxicity could not be assessed and determined at highest concentration of 5.0 mg/plate due to excessive precipitation of test article.
Genotoxic Effects: None

Test Article	Dose (mg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 3 plates)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (distilled water)	0.1 mL/plate	28.0	150.0	10.7	48	151.3
PF-00710042-01	0.005	27.7	144.0	12.0	UD	UD
	0.015	28.3	136.3	13.0	UD	UD
	0.05	26.0	154.3	15.3	UD	UD
	0.15	27.7	147.3	13.0	UD	UD
	0.50^	22.7	156.0	19.7	UD	UD
	1.5^	25.0	136.7	14.0	UD	UD
	5.0^	28.0	102.7	14.7	UD	UD
Positive Controls[b]	[b]	1354.0	1356.7	273.0	217.3	1938.3
With Metabolic Activation						
Control (distilled water)	0.1 mL/plate	33.7	172.0	11.7	45.3	163.3
PF-00710042-01	0.005	42.7	147.3	17.7	UD	UD
	0.015	44.3	160.7	19.3	UD	UD
	0.05	41.0	174.0	11.3	UD	UD

2.6.7.17D OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-00710042-01

Test Article	Dose (mg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 3 plates)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
	0.15	32.0	153.3	15.0	UD	UD
	0.50 ^	23.0	139.0	12.0	UD	UD
	1.5^	26.3	140.7	13.3	UD	UD
	5.0^	23.3	80.3	12.0	UD	UD
Positive Controls[c]	[c]	3284.3	2083.3	177.7	556.3	1126.7
Without Metabolic Activation						
Control (distilled water)	0.1 mL/plate	NT	NT	NT	9.7	133.7
PF-00710042-01	0.005	NT	NT	NT	10.0	125.3
	0.015	NT	NT	NT	10.7	105.0
	0.05	NT	NT	NT	6.7	119.7
	0.15	NT	NT	NT	9.0	91.0
	0.50^	NT	NT	NT	11.0	84.3
	1.5^	NT	NT	NT	15.0	120.0
	5.0^	NT	NT	NT	12.0	109.3
Positive Controls[b]	[b]	NT	NT	NT	286.7	1377.3
With Metabolic Activation						
Control (distilled water)	0.1 mL/plate	NT	NT	NT	13.7	133.7
PF-00710042-01	0.005	NT	NT	NT	10.7	123.0
	0.015	NT	NT	NT	9.7	87.0
	0.050	NT	NT	NT	10.0	118.7
	0.15	NT	NT	NT	11.7	130.7
	0.50^	NT	NT	NT	11.0	95.0
	1.5^	NT	NT	NT	7.3	124.3
	5.0^	NT	NT	NT	8.7	88.3
Positive Controls[c]	[c]	NT	NT	NT	272.7	1135.3

Test Article	Dose (mg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 3 plates)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101

∗ = Criteria for significance: 2-fold (TA 98, TA 100, and WP2 *uvrA* pKM101) and 3-fold (TA 1535 and TA 1537) over controls; GLP = Good Laboratory Practice; UD = Unacceptable data; NT = Not tested; S9 = Postmitochondrial supernatant.
^. Insoluble compound observed at this concentration.
a. Mean refers to the mean number of colonies/plate.
b. Mean values for positive controls without activation; ENNG, 2-Nitrofluorene, Nitrofurantoin, Sodium nitrite, and 9-aminoacridine. The concentration of positive controls used ranged from 2-2000 µg/plate.
c. Mean values for positive controls with activation; 2-Anthramine. The concentration of positive controls used ranged from 5-100 µg/plate.

2.6.7.17E OTHER TOXICITY STUDIES Report Title: Bacterial Mutagenicity Assay of PF-00447880 Test Article: PF-00447880

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium* strains TA 98, TA 100, TA 1535 and TA 1537, *Escherichia coli* strain WP2 *uvrA* pKM101
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3 for definitive and confirmative assays
Study Number: 20[redacted]-1QA-GN
Lot Number: 705873-057-1
GLP Compliance: No
S9 Batch Number: 2082
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 mixture
Vehicles: **For Test Article:** DMSO **For Positive Controls:** DMSO with the exception of Sodium Nitrite that is in 0.9 % NaCl
Treatment: Plate incorporation for ~ 48 hours (*E. coli*) and ~ 72 hours (*S. typhimurium*) with and without metabolic activation
Cytotoxic Effects: See tables with cytotoxicity (T) effects
Genotoxic Effects: None

Test Article	Dose (mg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 3 plates)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.4 mL/plate	19	85	19	7	126
PF-00447880	0.050	UD	72	25	5	115
	0.15	UD	70 T	24	5	120
	0.50^	UD	23 T	18	2 T	125
	1.5^	UD	7 T	17	T	127
	5.0^	UD	T	2 T	T	106
Positive Controls[b]	[b]	32	1207	287	188	1341
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.4 mL/plate	29	103	25	8	105
PF-00447880	0.050	31	114	19	8	110
	0.15	35	104	18	4	142
	0.50^	31	22 T	19	6 T	127
	1.5^	29	T	18	3 T	130
	5.0^	4 T	T	4 T	T	138
Positive Controls[c]	[c]	2489	1305	183	414	1189

2.6.7.17E OTHER TOXICITY STUDIES

Study Number: 20[redacted]-1QA-GN (continued)

Test Article	Dose (mg/plate)	Confirmative Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 3 plates)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate		148	NT	9	NT
	0.4 mL/plate	21				
PF-00447880	0.0015		130	NT	7	NT
	0.005		145	NT	9	NT
	0.015		129	NT	7	NT
	0.050	18	102	NT	5	NT
	0.15^	18	82 T	NT	5	NT
	0.50^	16	51 T	NT	4 T	NT
	1.5^	17		NT		NT
	5.0^	5 T		NT		NT
Positive Controls[b]	[b]	848	1707	NT	351	NT
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	NT	160	NT	8	NT
PF-00447880	0.0015	NT	158	NT	5	NT
	0.005	NT	136	NT	9	NT
	0.015	NT	158	NT	10	NT
	0.050	NT	137	NT	8	NT
	0.15^	NT	149	NT	9	NT
	0.50^	NT	55 T	NT	6 T	NT
Positive Controls[c]	[c]	NT	1919	NT	338	NT

∗ = Criteria for significance: 2-fold (TA 98, TA 100, and WP2 *uvrA* pKM101) and 3-fold (TA 1535 and TA 1537) over controls.
DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; UD = Unacceptable data; NT = Not tested; S9 = Postmitochondrial supernatant;
T = Cytotoxicity observed at this concentration.
^. Insoluble compound observed at this concentration.
a. Mean refers to the mean number of colonies/plate.
b. Mean values for positive controls without activation; ENNG, 2-Nitrofluorene, Nitrofurantoin, Sodium nitrite, and 9-aminoacridine. The concentration of positive controls used ranged from 2-2000 μg/plate.
c. Mean values for positive controls with activation; 2-Anthramine. The concentration of positive controls used ranged from 5-100 μg/plate.

2.6.7.17F OTHER TOXICITY STUDIES Report Title: In Vitro Micronucleus Assay of PF-00447880 Test Article: PF-00447880

Test for Induction of: Micronuclei **Number of Independent Assays:** 2 **Study Number:** eTK620[redacted]-5
Test Cells: TK6 Lymphoblastoid Cells **Number of Replicate Cultures:** 96 wells in triplicate **Lot Number:** 705873-057-1
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 **Number of Cells Analyzed/Culture:** 1000 **GLP Compliance:** No
Vehicles: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** DMSO **S9 Batch Number:** MOLTOX 2959
Treatment: 4-hour and 27-hour treatment without metabolic activation , 4-hour treatment with metabolic activation

Cytotoxic Effects: Statistically significant and biologically relevant increases in micronucleus induction were observed above background when tested up to concentration levels that induced at least 49.6% relative cytotoxicity under 27 hour treatment conditions in the absence of metoblic activation.
Genotoxic Effects: Positive for the induction of micronuclei at 1.65 and 2.07 μM.

Test Article	Dose (μM)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]
Definitive						
4-Hour Treatment +40 Hour Recovery Without Metabolic Activation						
DMSO	1%	1000	0	0.7	NA	NA
PF-00447880	0.82	1000	1.74	0.8	0.5	0.307
	1.64	1000	33.9	0.9	0.401	
	3.28	1000	58.2	0.9	0.401	
	6.55[e]	1000	100	NC	NC	
Mitomycin C	0.15	1000	7.66	2.9	<0.01†	NA
	0.3	1000	27.6	5.5	<0.01†	NA
4-Hour Treatment +40 Hour Recovery With Metabolic Activation						
DMSO	1%	1000	0	1.2	NA	NA
PF-00447880	0.41	1000	1.61	1.1	0.662	0.071
	0.82	1000	2.25	0.5	0.975	
	1.64	1000	37.3	1.9	0.138	
	3.28	1000	88.8	NC	NC	
Cyclophosphamide	4.3	1000	5.96	2.2	0.059	NA
	8.96	1000	13.6	2.8	<0.01†	NA

2.6.7.17F OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-00447880

Test Article	Dose (μM)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]
27-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1%	1000	0	0.9	NA	NA
PF-00447880	0.20	1000	4.71	0.8	0.686	0.059
	0.41	1000	6.8	1.4	0.201	
	0.82	1000	29.4	1.5	0.152	
	1.64	1000	79.4	NC	NC	
Noscapine	5.6	1000	12.4	1.9	0.042*	NA
	11.1	1000	0.59	2.2	0.014*	NA
Repeat Test						
4-Hour Treatment +40 Hour Recovery With Metabolic Activation						
DMSO	1%	1000	0	0.6	NA	NA
PF-00447880	1.06	1000	5.48	0.8	0.394	0.305
	2.07	1000	30.4	1.5	0.038*	
	4.04	1000	42.6	0.9	0.302	
	5.05	1000	55.7	0.9	0.302	
Cyclophosphamide	8.95	1000	13.4	2.8	<0.01†	NA
27-Hour Continuous Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1%	1000	0	0.7	NA	NA
PF-00447880	0.17	1000	3.23	0.9	0.401	<0.01†
	0.35	1000	6.87	1.0	0.313	
	0.68	1000	9.32	1.7	0.031*	
	1.32	1000	28.9	1.7	0.031*	
	1.65	1000	49.6	2.1	<0.01†	
	2.07	1000	66.3	4.6	<0.01†	
Noscapine	11.1	1000	48.2	10.4	<0.01†	NA

2.6.7.17F OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-00447880

Test Article	Dose (μM)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]

∗ = p value <0.05; † = p value <0.01.
DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable; NC = Not counted, all cells were dead; RPD = Relative population doubling; S9 = Postmitochondrial supernatant.
a. Toxicity = 100-RPD, where RPD = (the number of population doublings in the treated cultures/the number of population doublings in the negative control cultures) x 100.
b. % MN = % Micronucleated Mononucleates = (the total number of micronucleated mononucleates/ the total number of monoculeates analyzed).
c. p value based on a Fisher's Exact test. <0.05 = significant. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
d. Trend: A Cochran-Armitage test is performed. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
e. Compound precipitate was observed in the 100X stock and in the treatment medium at dosing and at wash.

2.6.7.17G OTHER TOXICITY STUDIES **Report Title: Exploratory FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) Analysis in TK6 Cells** **Test Article: PF-00447880**

Test for Induction of: Centromere Positive Micronuclei
Test Cells: TK6 human lymphoblastoid cells
Treatment: 27 hour direct
Vehicle: DMSO
Cytotoxic Effects: NA
Genotoxic Effects: This level of centromere positive signal is indicative of an aneugenic mechanism contributing to the elevated micronucleus response.

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 1
Positive Controls: Noscapine

Study Number: 20[redacted]ETK6-5 FISH
Lot Number: 705873-057-1
GLP Compliance: No

Test Article	Concentration (μM)	Total # Micronuclei per 1000 cells[a]	Micronucleated Cells[b] (%)	Total Number FISH C+/C- Micronuclei Evaluated[c]	Total Number C+ Micronuclei[c]	Total Number C- Micronuclei[d]	% C+[e]	%C-[f]
27 hour test without activation								
Solvent Control: DMSO	1%	7	0.7	40	22	18	55.0	45.0
PF-00447880	1.65	21	2.1	75	66	9	88.0	12.0
PF-00447880	2.07	46	4.6	88	80	8	90.9	9.1
Noscapine	11.1	52	10.4	100	95	5	95.0	5.0

DMSO = Dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable.
a. Total number of micronuclei observed per 1000 cells scored by microscopy using Acridine Orange method on separate slides as part of Study eTK62013-5 prior to FISH analysis. For Noscapine only, 52 micronuclei/500 total mononucleate cells were analyzed as part of Study eTK62013-5 prior to FISH analysis.
b. % Micronucleated Cells = (# of micronucleated cells / total # cells scored) x 100.
c. Total number of evaluated micronuclei which displayed centromere signal.
d. Total number of evaluated micronuclei which did not display centromere signal.
e. %C+ = (Total C+)/(Total C+) + (Total C-) x 100.
f. %C- = (Total C-)/(Total C+) + (Total C-) x 100.

2.6.7.17H OTHER TOXICITY STUDIES Report Title: Bacterial Mutagenicity Assay of PF-06694807 A Drug Product Degradent of Parent Compound PD-332991 Test Article: PF-06694807

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium* strains TA 98, TA 100, TA 1535 and TA 1537, *Escherichia coli* strain WP2 *uvrA* pKM101
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 mixture
Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 3 for definitive
Study Number: eAMES20[redacted]-8
Lot Number: 705848-0098-00
GLP Compliance: No
S9 Batch Number: Moltox 3200
Vehicles: **For Test Article:** DMSO **For Positive Controls:** DMSO with the exception of sodium nitrite which was dissolved in 0.9% saline.
Treatment: Plate incorporation for 48 hours (*E. coli*) and 72 hours (*Salmonella*) with and without metabolic activation.
Cytotoxic Effects: No dose related cytotoxicity was observed in this study both with and without metabolic activation at any of bacterial strains tested in this study, however the background lawn could not be assessed at 5.0 mg/plate due to excessive precipitation on the replicate plates of all bacterial strains.
Genotoxic Effects: None

Test Article	Dose (mg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 3 plates)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.4 mL/plate	35.0	122.0	14.7	7.0	102.0
PF-06694807	0.004	35.0	126.7	15.3	10.0	106.3
	0.012	36.7	159.3	8.3	7.7	106.0
	0.040	35.3	136.3	15.3	7.7	101.0
	0.12	38.7	153.3	11.3	8.7	123.7
	0.40[b]	49.3	149.0	16.3	7.3	111.7
	1.5[b,c]	37.3	162.3	15.0	8.7	116.0
	5.0[b,d]	33.7	154.7	14.3	9.3	123.7
Positive Controls:						
Sodium Nitrite	2.0	NA	NA	329.3	NA	NA
Nitrofurantoin	0.002	NA	1459.3	NA	NA	NA
N-Ethyl-N-nitro-nitroguanidine	0.005	NA	NA	NA	NA	729.7
9-Aminoacridine	0.05	NA	NA	NA	150.7	NA

2.6.7.17H OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06694807

Test Article	Dose (mg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean[a] of 3 plates)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
2-Nitrofluorene	0.005	1344.3	NA	NA	NA	NA
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.4 mL/plate	36.7	128.3	19.0	9.0	118.0
PF-06694807	0.004	47.7	143.3	17.7	10.7	137.0
	0.012	45.0	157.0	16.7	10.7	126.7
	0.040	51.0	160.3	17.7	12.7	126.0
	0.12	44.0	166.0	18.3	15.0	125.7
	0.40[b]	38.3	176.7	25.0	12.3	125.0
	1.5[b,c]	35.7	179.7	21.0	14.7	121.3
	5.0[b,d]	39.7	140.0	22.3	12.7	119.7
Positive Controls						
2-Anthramine	0.005	NA	1336.3	170.0	NA	NA
2-Anthramine	0.01	3287.3	NA	NA	551.7	NA
2-Anthramine	0.1	NA	NA	NA	NA	1494.0

DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable; S9 = Postmitochondrial supernatant.

a. Mean refers to the mean number of colonies/plate.

b. Insoluble compound noted in the overlay agar layer after incubation at 37°C.

c. 0.12 mL of 12.5 mg/mL stock added to cultures.

d. 0.4 mL of 12.5 mg/mL stock added to cultures.