TABLE OF CONTENTS

LIST OF FIGURES 2
本項で使用する用語・略語 3
1. 非臨床試験計画概略 5
1.1. 薬理 5
1.2. 薬物動態 6
1.3. 毒性 6
2. 薬理試験 6
2.1. 効力を裏付ける試験 6
2.2. 副次的薬理試験 7
2.3. 安全性薬理試験 7
3. 薬物動態試験 7
3.1. 吸収 8
3.2. 分布 8
3.3. 代謝 9
3.4. 排泄 10
3.5. 薬物動態学的薬物相互作用 10
4. 毒性試験 10
4.1. 単回投与毒性 10
4.2. 反復投与毒性 10
4.3. 遺伝毒性試験 13
4.4. がん原性 13
4.5. 生殖発生毒性 13
4.6. 局所刺激性試験 13
4.7. 血液適合性試験 13
4.8. 光毒性試験 14
4.9. 脂質および体重変化への影響 14
4.10. 網膜電図検討試験 14
4.11. その他の試験 14
5. 総括及び結論 14
5.1. 薬理 14
5.2. 薬物動態 16

5.3. 毒性 17
5.4. 結論 17

LIST OF FIGURES

Figure 1. ロルラチニブの構造式 5
Figure 2. [^{14}C]ロルラチニブ（PF-06463922）の構造 8
Figure 3. ロルラチニブのラット, イヌおよびヒトにおける血漿中ならびに排泄物中代謝物 9

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
AGP	alpha glycoprotein：α糖タンパク質
ALK	anaplastic lymphoma kinase：未分化リンパ腫キナーゼ
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_{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
BCRP	breast cancer resistance protein：乳癌耐性蛋白質
BID	bis in die：1 日 2 回
CAR	constitutive androstane receptor
CL_{tot}	total clearance：全身クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CSF	cerebrospinal fluid：脳脊髄液
CYP	cytochrome P450：シトクロム P450
ERG	electroretinogram：網膜電図
FISH	fluorescent in situ hybridization：蛍光 in situ ハイブリダイゼーション
FOB	functional observational battery：機能観察総合評価
f_u	fraction unbound：非結合型分率
GABA	γ-aminobutyric acid：γ-アミノ酪酸
GGT	γ-glutamyltransferase：γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GLDH	glutamate dehydrogenase：グルタミン酸デヒドロゲナーゼ
HDL	high density lipoprotein：高密度リポタンパク質
hERG	human ether-à-go-go related gene：ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HPLC	high performance liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィ
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
LDL	low density lipoprotein：低密度リポタンパク質
MATE	multidrug and toxin extrusion
MS/MS	tandem mass spectrometry：タンデム質量分析法
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
NSCLC	non-small cell lung cancer：非小細胞肺癌
OAT	organic anion transporter：有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide：有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter：有機カチオントランスポーター
PD	pharmacodynamics：薬力学
P-gp	P-glycoprotein：P-糖蛋白質
PK	pharmacokinetics：ファーマコキネティクス
PXR	pregnane X receptor
QD	quaque die：1 日 1 回
RDW	red cell distribution width：赤血球容積粒度分布幅
RTK	receptor tyrosine kinase：受容体チロシンキナーゼ
$t_{½}$	apparent terminal half-life：終末相の見かけの消失半減期
UGT	uridine diphosphate glucuronosyl transferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
UV	ultraviolet：紫外線

VLDL	very low-density lipoprotein：超低密度リポタンパク質
V_{ss}	volume of distribution at steady state：定常状態における分布容積

1. 非臨床試験計画概略

ロルラチニブ（開発番号 PF-06463922，Figure 1）は未分化リンパ腫キナーゼ（ALK）および ROS1 受容体チロシンキナーゼ（RTK）に選択的で，ALK 阻害剤耐性に関わる変異型 ALK も強く阻害する，脳移行性のある経口投与可能な ATP 競合的低分子阻害剤であり，ALK チロシンキナーゼ阻害剤に抵抗性または不耐容の *ALK* 融合遺伝子陽性の切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌（NSCLC）に対する治療薬として開発された。

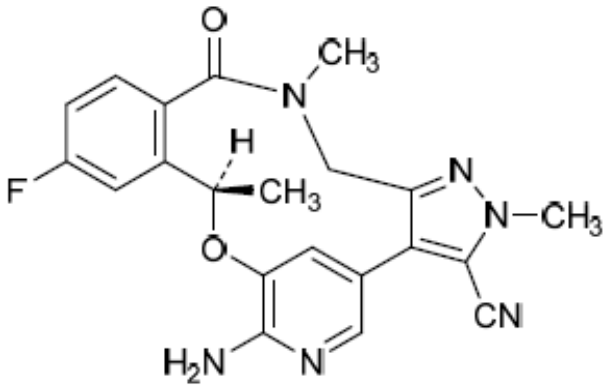


Figure 1.　ロルラチニブの構造式

1.1. 薬理

効力を裏付ける試験では，ロルラチニブの ALK（野生型および臨床的に認められる二次変異体）ならびに ROS1 チロシンキナーゼ活性に対する阻害作用およびキナーゼ選択性を，in vitro において酵素レベルおよび細胞レベルで評価した。また，種々の ALK 融合タンパクまたは ROS1 融合タンパクを発現する細胞を用いて細胞増殖阻害活性を評価した。In vivo では，これらの細胞を皮下移植したヌードマウスのヒト腫瘍異種移植モデルを用いて，抗腫瘍効果，PK/PD 相関およびバイオマーカーの検討を実施した。さらに，脳同所性移植モデルについても評価した。また，ロルラチニブのヒトでの主代謝物である PF-06895751 についても野生型 ALK に対する阻害作用を検討した。

副次的薬理試験では，広範な受容体，酵素，トランスポーターおよびイオンチャネルに対するロルラチニブおよび PF-06895751 の作用を評価した。

安全性薬理試験では，ロルラチニブの心血管系，呼吸器系および中枢神経系に対する作用を評価した。心血管系および神経機能の評価は，ラットまたはイヌにおける反復投与毒性試験（2.6.6.3 項）にも組み込んで実施した。ロルラチニブが中枢神経系に移行し，シナプス可塑性，長期増強および記憶過程に関与するトロポミオシン受容体キナーゼ B（TrkB）を阻害することから，認知障害を引き起こす可能性を評価するための ex vivo および in vivo 試験も実施した。また，PF-06895751 について in vitro ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）試験を実施した。

1.2. 薬物動態

ロルラチニブの薬物動態は，主として毒性試験で使用した動物種であるラットおよびイヌを用いて検討した。吸収，代謝および薬物トランスポーターに関する検討には目的に応じた in vitro 試験系を用いた。分布，代謝および排泄の検討には[^{14}C]ロルラチニブを使用した。生体試料中のロルラチニブの定量には高速液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析法（HPLC/MS/MS）を用いた。

1.3. 毒性

ロルラチニ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 13 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，in vitro 生殖発生探索試験ならびに胚・胎児発生に関する試験を実施した。また，in vitro 血液適合性試験，in vivo 光毒性試験および局所刺激性試験を実施した。高脂血症および体重増加のメカニズムならびに眼毒性を評価するために，ロルラチニブを用いて in vitro および in vivo の検討試験を行った。PF-06895751 については in vitro 遺伝毒性試験を実施した。原薬または製剤に含まれる不純物については，細菌を用いる復帰突然変異試験およびラットの 4 週間投与毒性試験を実施した。十分な曝露量が得られることならびにヒトの主要代謝経路との類似性が認められたことから，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。

投与経路は臨床適用経路である経口投与とした。重要な毒性試験では塩酸酸性化水（pH 約 3）を用いてロルラチニブを 1 日 2 回（BID）投与した。重要な反復投与試験では 24 時間の適切な薬物曝露を行うために BID 投与とした。BID 投与の間隔はおよそ 6～7 時間とした。多くの重要な毒性試験では市販用製剤であるロルラチニブ遊離塩基（PF-06463922，無水物）を用いたが，遺伝毒性試験ならびに一部の重要な試験および重要な試験以外の試験ならびに検討試験ではロルラチニブ酢酸溶媒和物（PF-06463922-14）を，イヌの 14 日間投与試験およびラットの網膜電図試験ではロルラチニブ塩酸塩（PF-06463922-01）を用いた。なお，ロルラチニブ遊離塩基とロルラチニブ酢酸溶媒和物では同等の曝露が得られた。

ラットの単回投与毒性試験，2，7 および 14 日間投与毒性試験，4 および 13 週間投与毒性試験ならびにイヌの漸増投与試験，14 日間投与毒性試験，4 および 13 週間投与毒性試験ではロルラチニブの血漿中濃度を測定するために採血を行った。ラットの in vivo 小核試験，胚・胎児発生毒性試験，光毒性試験，眼毒性試験，脂質プロファイル検討試験および不純物の毒性試験でも血漿中濃度を測定するために採血を行った。ラット単回投与毒性試験でロルラチニブの曝露に性差が認められたため，以降のラットの試験では雄への投与量を雌の倍量とした。ラットの単回，14 日間および 4 週間投与毒性試験ならびにイヌの 14 日間および 4 週間投与毒性試験では，ロルラチニブ濃度を測定するために脳および脳脊髄液（CSF）を採取した。ラットおよびイヌの 13 週間投与毒性試験では代謝物である PF-06895751 の血漿中濃度を測定するために採血を行った。

2. 薬理試験

2.1. 効力を裏付ける試験

ロルラチニブの ALK および ROS1 チロシンキナーゼ活性阻害，キナーゼ選択性，抗腫瘍効果，PK/PD 相関ならびに作用機序について，種々の in vitro および in vivo 試験によって評価した。In vitro で，ロルラチニブは野生型 ALK，二次変異を有する変異型 ALK（G1269A, L1196M, C1156Y, L1152R，S1206Y，1151Tins，G1202R，F1174L および I1171T）ならびに ROS1 キナーゼの活性を

酵素レベル（Ki 値：0.005 nmol/L 未満～0.9 nmol/L）および細胞レベル（IC_{50} 値：0.2～65 nmol/L）で強力かつ濃度依存的に阻害した。ロルラチニブはまた，ヒト NSCLC 細胞株における ALK および ROS1 依存性の発がんに関わる機能活性を阻害し，ALK および ROS1 融合タンパクならびに臨床的に認められる二次変異を有する変異型 ALK の融合タンパクを発現する腫瘍細胞株において強力かつ選択的な増殖阻害作用およびアポトーシス誘導作用を示した。In vivo では，EML4-ALKv1^{L1196M}，EML4-ALKv1^{G1269A}，EML4-ALKv1^{I1171T} および EML4-ALKv1^{G1202R} 変異体などの ALK および ROS1 融合タンパクを発現する腫瘍異種移植モデルにおいて顕著な抗腫瘍効果を示した。また，マウスの脳同所性移植モデル（EML4-ALKv1 および EML4-ALKv1^{L1196M}）においても腫瘍縮小効果および延命効果を示した。ロルラチニブの抗腫瘍効果は用量依存的であり，ALK または ROS1 リン酸化の阻害と強い相関を示した。ロルラチニブが EML4-ALKv1^{L1196M} のリン酸化阻害作用および EML4-ALKv1^{L1196M} 依存的ヒト NSCLC モデルにおいて抗腫瘍効果を示すのに必要な血漿中濃度を用いて，臨床試験開始にあたっての目標ヒト血漿中濃度を予測した。PF-06895751 は野生型 ALK に対して 10 μmol/L までの濃度で阻害作用を示さなかった。

これらの非臨床試験成績から，ロルラチニブが ALK および ROS1 キナーゼの強力な阻害剤であることが示された。ロルラチニブは，臨床的に報告されているクリゾチニブ，アレクチニブおよびセリチニブに耐性の多くの変異型 ALK 融合タンパクに対して阻害作用を示した。また，脳同所性移植モデルにおいて野生型および変異型の ALK 融合タンパクを発現する腫瘍に対して退縮効果を示した。

2.2. 副次的薬理試験

副次的薬理試験において，ロルラチニブは安全性薬理評価において関与する可能性のある複数のイオンチャネルに対して作用を示し，また TrkB を阻害した。PF-06895751 は評価したいずれの標的に対しても作用を示さなかった。

2.3. 安全性薬理試験

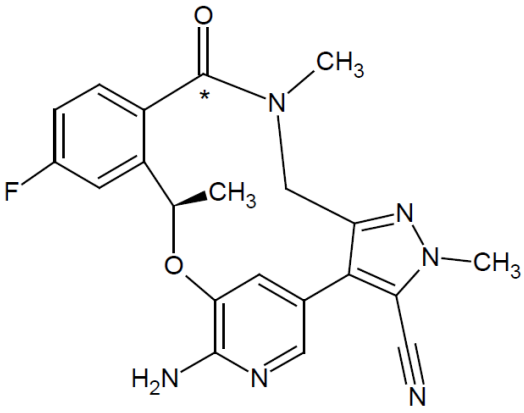
心血管系の評価では，ロルラチニブはヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）カリウムチャネルを弱く阻害した。また，L 型カルシウムチャネルを阻害し，遅延ナトリウム電流を増加させた。Ex vivo ランゲンドルフ心モデルでは PR 間隔を最大 46.9%増加させ，大動脈リングモデルでは血管収縮を惹起しなかった。ロルラチニブをラットに単回投与したところ，収縮期血圧，拡張期血圧および平均血圧が上昇し，心拍数は二相性に変化した。イヌへの反復投与では，心拍数の増加，収縮期血圧の低下ならびに QRS および PR 間隔の延長が認められた。中枢神経系の評価では，ラットの文脈更新モデルにおいて，軽度で用量依存性のない認知機能障害の可能性が示唆された。ラット海馬スライスモデルでは，1 μmol/L で長期増強が減少したが 0.1 μmol/L では影響は認められなかった。γ-アミノ酪酸（$GABA_A$）受容体を介したクロライド電流は阻害しなかった。呼吸器系の評価においてロルラチニブをラットに投与したところ，一回換気量が減少したが呼吸数および分時換気量に変化は認められなかった。PF-06895751 は hERG カリウムイオンチャネルを阻害しなかった。

3. 薬物動態試験

ロルラチニブの薬物動態は，主としてラットおよびイヌを用いて検討した。吸収，代謝および薬物トランスポーターに関する検討には目的に応じた in vitro 試験系を用いた。分布，代謝および

排泄の検討には[^{14}C]ロルラチニブを使用した。[^{14}C]ロルラチニブの構造および標識位置を Figure 2 に示す。生体試料中のロルラチニブの定量には HPLC/MS/MS を用いた。

Figure 2.　[^{14}C]ロルラチニブ（PF-06463922）の構造



*：^{14}C 標識位置

3.1. 吸収

ロルラチニブをラットおよびイヌに静脈内投与したとき，CL_{tot} はそれぞれ 15.5 mL/min/kg および 9.05 mL/min/kg といずれも低値を示し，V_{ss}（それぞれ 2.66 L/kg および 2.80 L/kg）はいずれも総体液量を上回り，ロルラチニブが体組織に広範に分布することが示唆された。$t_{½}$はそれぞれ 2.71 時間および 4.62 時間であった。経口バイオアベイラビリティはラットでは 100%超，イヌでも 96.6%といずれも良好であった。

ラットおよびイヌを用いたトキシコキネティクス試験では，曝露量は用量にほぼ比例して増加した。ラットでは雌の方が雄より高い曝露量を示したが，イヌでは曝露量に性差は認められなかった。ラットおよびイヌのいずれにおいても反復投与によるロルラチニブの顕著な蓄積は認められなかった。ヒト血漿中の主代謝物である M8（PF-06895751）の曝露量は用量の増加に伴い増加し，いずれの用量においても未変化体と比較して顕著に低かった。ラットおよびイヌの 4 週間反復投与毒性試験の剖検時に採取した脳および CSF 中のロルラチニブ濃度は用量の増加に伴い増加した。

P-gp または BCRP 発現細胞を用いた in vitro 試験の結果から，ロルラチニブはこれらの排出トランスポーターの基質とならないと考えられた。

3.2. 分布

[^{14}C]ロルラチニブを有色ラット（Long-Evans）に単回経口投与したところ，放射能はほとんどの組織および体液に広く分布した。放射能濃度はブドウ膜で最も高く，見かけの $t_{½}$ 287 時間で消失した。[^{14}C]ロルラチニブ由来放射能は血液脳関門を通過し，脳室周囲以外の中枢神経系組織で投与後 24 時間においても検出された。投与後 96 時間には，ほとんどの組織の放射能濃度は最高値の 10%未満まで低下した。

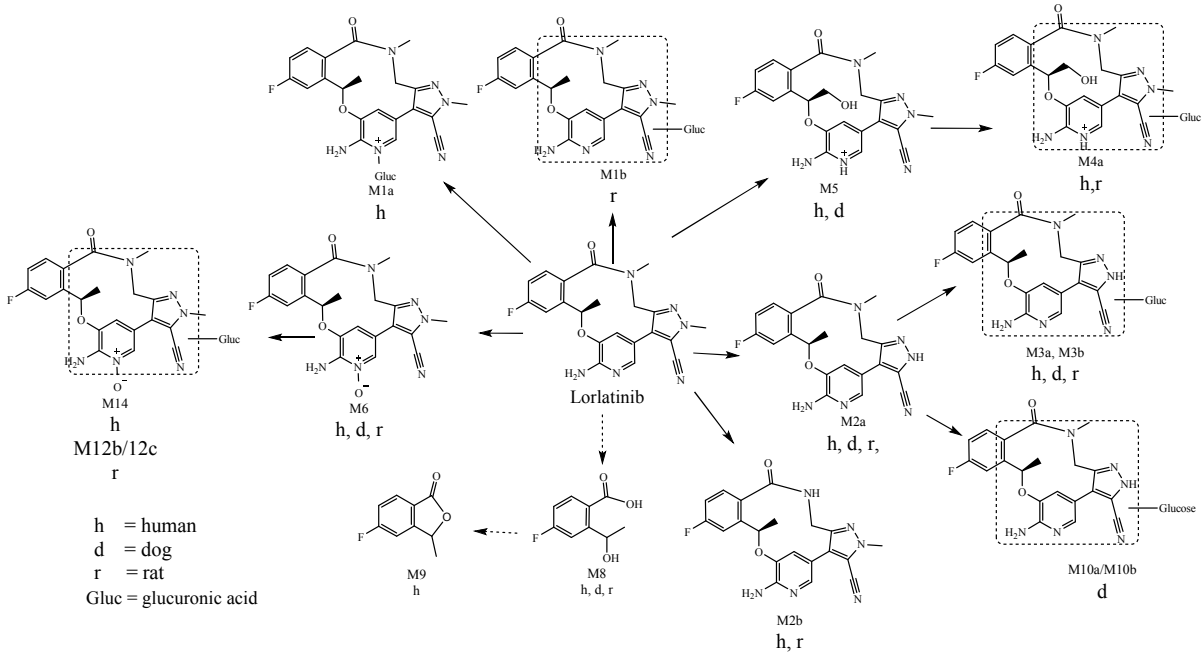
ロルラチニブの血漿蛋白結合率に明確な濃度依存性は認められず，マウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒト血漿に対するロルラチニブの f_u は 0.239, 0.303, 0.358, 0.287 および 0.340 であった。ロルラチニブのマウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトにおける血液/血漿中濃度比は 0.776～1.05 と，赤血球および血漿へほぼ均等に分布した。

In vitro 試験の結果から，ロルラチニブが OATP1B1 および OATP1B3 の基質となる可能性は低いことが示された。

3.3. 代謝

[^{14}C]ロルラチニブを単回経口投与後の生体試料を用いた評価から，ラットとヒトにおけるロルラチニブの主な代謝経路は酸化およびグルクロン酸抱合であり，イヌにおける主代謝経路は酸化であることが示された。ヒトにおける主要な酸化的代謝はラットおよびイヌにおいてもみられた。ヒト血漿中の主な成分は未変化体および安息香酸体である M8（PF-06895751）であり，それぞれ薬物関連物質の血漿中総量の 44.4%および 21.0%を占めた。ラットおよびイヌの 13 週間毒性試験においても，M8 はヒトよりも顕著に低い曝露量であったが血漿中から検出された。ラット，イヌおよびヒトの血漿中および排泄物中で認められた代謝物の推定構造ならびに推定代謝経路を Figure 3 に示す。ロルラチニブをマウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトの肝ミクロソームならびに肝細胞とインキュベートしたところ，いずれの in vitro 系においてもロルラチニブはあまり代謝されなかったが，ヒトの肝ミクロソームおよび肝細胞で生成した酸化的代謝物は，毒性試験に用いたラット，ウサギおよびイヌの肝ミクロソームまたは肝細胞でも生成した。ロルラチニブの酸化的代謝およびグルクロン酸抱合に関与する主な分子種は CYP3A4 および UGT1A4 であり，それぞれ CYP2C19，CYP2C8 および CYP3A5 ならびに UGT1A3 も関与することが示唆された。

Figure 3.　ロルラチニブのラット，イヌおよびヒトにおける血漿中ならびに排泄物中代謝物



3.4. 排泄

ラットおよびイヌにおいて, [^{14}C]ロルラチニブ由来の放射能の 53.0%～82.4%は糞中に排泄され, 13.6%～25.5%が尿中へ排泄された。胆管カニューレ挿入ラットへの投与後 48 時間までの胆汁中回収率は投与量の 27.2%～47.6%であった。

3.5. 薬物動態学的薬物相互作用

In vitro 試験において，ロルラチニブは CYP3A4/5 の可逆的および時間依存的な阻害作用ならびに誘導作用を示したが，ヒト生体内では誘導作用を示した。ロルラチニブは in vitro では CYP2C9 の阻害作用を示したが，その発現を調節する PXR を活性化し，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C19 および CYP2D6 をほとんど阻害しなかった。また，ロルラチニブは CYP3A4 および CYP2B6 を誘導し，PXR および CAR1 を活性化したが，臨床で想定される濃度において CYP1A2 を誘導する可能性は低いと考えられた。ロルラチニブは UGT1A1 を可逆的に阻害した。

ロルラチニブは，BCRP（消化管以外），OAT1，OCT2 および MATE2K の阻害を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いが，P-gp，BCRP（消化管），OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OAT3 および MATE1 を阻害する可能性が考えられた。

PF-06895751 が，評価した CYP 分子種，UGT 分子種および薬物トランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

4. 毒性試験

4.1. 単回投与毒性

ラットにロルラチニブを 100 mg/kg まで単回経口投与し，急性毒性を評価した。死亡はみられず体重変化もみられなかった。一般状態では 100 mg/kg で活動性低下がみられたのみであった。100 mg/kg で軽微な膵島細胞の変性および軽微な腺房変性/壊死がみられた。雄ラットにロルラチニブを単回投与したときの最大耐量（MTD）は 100 mg/kg，概略の致死量は 100 mg/kg 超であった。

ビーグル犬にロルラチニブを 100 mg/kg まで単回漸増経口投与し，急性毒性を評価した。死亡例および瀕死例はみられなかった。100 mg/kg/日以下で嘔吐および水様便ならびに体重減少が認められた。臨床病理検査では，100 mg/kg/日以下で白血球数，好中球数および単球数の増加が認められた。イヌにロルラチニブを単回投与したときの MTD は 100 mg/kg/日，概略の致死量は 100 mg/kg/日超であった。

4.2. 反復投与毒性

重要な試験以外の反復投与試験では，ラットの 2 日間投与の雄で 100 mg/kg/日，雌で 150 mg/kg/日まで，7 日間投与で 15 mg/kg/日まで，14 日間投与で 20 mg/kg/日まで，イヌの 14 日間投与で 15 mg/kg/日まで忍容性が認められた。ラットでは忍容性が認められない用量で活動性低下，体の緊張性低下，労作性呼吸，平伏姿勢および中枢神経系の症状などの一般状態の変化がみられた。ラットの 14 日間投与試験では 60 mg/kg/日の 2/5 例を試験 13 日に瀕死期安楽殺した。病理組織学的検査の結果，これらの死因は炎症および細菌を伴う腺胃の穿孔性潰瘍と局所性腹膜炎および前胃の浮腫であった。イヌの 14 日間投与試験では，50 mg/kg/日の雄 1 例を一般状態の悪化（嘔吐，軟便/水様便，活動性低下，単攣縮，運動失調，頭の上下運動）から試験 3 日に安楽殺を行った。この動物でみられた病理組織学的所見は膵臓の腺房細胞の萎縮（軽微），胸腺の可染性マクロ

ファージ（軽微）および結腸と盲腸の萎縮（軽微）であり，他の動物でみられた所見と同じであったことから，瀕死に至った原因は不明であった。

重要な試験の反復投与試験では，4 週間投与試験ではラットで 8/4 mg/kg/日（雄/雌）まで，イヌで 25 mg/kg/日まで，13 週間投与試験ではラットで 15 mg/kg/日まで，イヌで 7 mg/kg/日まで忍容性が認められた。ラットの 4 週間投与試験では，30 mg/kg/日の雄 2 例が瀕死状態になったことから，試験 18 または 19 日に安楽殺した。これらの動物が瀕死状態となった原因は明らかでなく，複数の要因による可能性が高い。これらの動物では，中等度から重度の髄外造血，脾臓辺縁帯の重度な細胞減少，尿路感染，膵臓腺房の重度な萎縮，軽度な胆管過形成，軽微な末梢神経軸索変性，小腸の陰窩上皮または胃幽門腺の細胞壊死または消化管の拡張がみられた。イヌの 13 週間投与試験では，一般状態の悪化がみられたことから 25 mg/kg/日群の雄 1 例および雌 2 例を安楽殺した。一般状態悪化の原因は，炎症部位に認められた誤嚥性の異物または物理的外傷に関連する肺の炎症（2 例）および下顎骨の炎症（1 例）によるものであった。ロルラチニブ 25 mg/kg/日投与によってこれらの傷害が悪化し，不測の安楽殺に至った可能性も考えられた。安楽殺したイヌでみられたロルラチニブ関連の病理組織学的所見および臨床病理パラメータの変化の大部分は，25 mg/kg/日群の計画屠殺例で認められたものとほぼ同様であった。ラットの 13 週間投与試験およびイヌの 4 週間投与試験では瀕死例または死亡例はみられなかった。

13 週間までの反復投与試験での主な所見は，ラットおよびイヌにおける複数の組織での炎症に関連した所見ならびに膵臓，肝胆道系，雄性生殖器，心血管系および消化管の所見であった。その他の主な所見は，ラットの末梢神経，中枢神経系（認知機能および神経機能）ならびに腎臓で認められた。4 週間以上のイヌおよびラットの反復投与毒性試験では，軽微から重度の炎症がみられ，用量に伴った重症度を示し，一般状態，臨床病理パラメータあるいは剖検所見と関連がみられた。ラットでみられた皮膚の病理組織学的所見はびらん/潰瘍，表皮の炎症，皮膚の線維化を特徴とし，皮膚病変（創傷/瘢痕/痂皮形成）に関連していた。ラットでは子宮頸部の炎症もみられた。イヌでは，肺および気管の亜急性炎症，表皮の潰瘍，皮膚の炎症および痂皮形成，リンパ節の形質細胞増加および炎症ならびに口腔の炎症がみられ，異常な色調および堅さの異常と関連していた。イヌまたはラットに 2 週間以上ロルラチニブを投与したところ，白血球数，白血球分画，フィブリノーゲンおよびグロブリンの増加，アルブミンの減少ならびに A/G 比の低下がみられ，炎症所見に関連していた。ラットの 13 週間投与試験およびイヌの 4 週間投与試験では，白血球数の変化と符合して骨髄の顆粒球系細胞充実性またはリンパ節のリンパ球細胞充実性の上昇が認められた。

膵臓では，2 週間以上のラット試験および 4 週以内のイヌの試験でチモーゲン顆粒の減少を伴い，時に単細胞壊死や炎症を伴う軽微から重度の腺房細胞の萎縮がみられ，用量に伴った重症度を示した。また，より長期の投与では線維化が増加した。ラットの 2 週間投与試験では軽微から軽度の膵島細胞の血管拡張を伴っていた。また，膵臓の変化はラットおよびイヌでのアミラーゼおよびリパーゼの増加と関連していた。

肝胆道系では，2 週間以上のラット試験で時に軽微な単細胞壊死，ビリルビンの増加ならびに黄疸を伴う軽微から軽度の胆管過形成が認められ，肝酵素（ALT，AST，ALP，GGT，GLDH）の増加と関連していた。イヌの 13 週間投与試験でも軽微から中等度の胆管過形成がみられた。ラットでは肝臓の肥大や肝細胞肥大を伴う肝臓重量の増加がみられた。一方，イヌでも肝臓重量の増加がみられたが，剖検あるいは病理組織学的検査で異常はみられなかった。

雄性生殖器では，ラットの 14 日間投与毒性試験またはイヌの 13 週間投与試験で，精巣精細管の変性（軽微から中等度），精巣上体管腔の組織片の増加（軽微から軽度）または精巣上体の炎症が認められた。前立腺では，イヌに軽微から軽度の腺萎縮が認められ，精巣，精巣上体および前立腺の重量減少と関連していた。

ラットおよびイヌの 14 日間投与試験では，忍容性の無い用量で腺胃の中等度から重度のびらん/潰瘍が認められた。このほかにラット 14 日間投与試験では，小腸および大腸で軽微から軽度の単細胞壊死びらん/潰瘍がみられたが毒性学的意義の低い変化であった。イヌの 14 日間投与試験または 13 週間投与試験では，軽微から軽度の胃粘膜萎縮ならびに軽微から中等度の小腸の絨毛萎縮，陰窩過形成，上皮の変性および亜急性炎症が認められた。

ラットの 14 日間投与毒性試験の心エコー検査では，心室拡張末期容量，拡張期面積，壁厚，1 回拍出量，左室急速流入血流速度および心房収縮期流入血流速度の用量依存的な上昇が認められたが，機能的なパラメータに変化はなかった。これらの変化はラットの 4 週間投与試験および 13 週間投与試験での心臓重量の増加あるいはラットの 13 週間投与試験でのアニチコフ細胞の軽微な増加と関連していた。イヌの 14 日間投与毒性試験では，心拍数の増加，血圧の低下ならびに PR 間隔，QT 間隔および QTc 間隔の一過性の延長がみられたが，剖検および病理組織学的検査では異常はみられなかった。

ロルラチニブをラットに 4 週間以上投与したところ，末梢神経に軽微な軸索変性が認められた。ラットの 14 日間投与毒性試験の機能観察総合評価（FOB）検査では忍容性の無い用量で，異常行動（歯打ち音），不随意運動（後方突進，震え），歩行異常，協調性のない空中正向反射，伸筋突伸反応の低下がみられた。これらの中枢神経系への影響はロルラチニブ投与に関連するか，あるいは，瀕死に至る一般状態の悪化に伴って生じたものと考えられた。ラットの 4 週間以上の試験では FOB の所見に異常はみられなかった。

腎臓では，ラットの 4 週間投与試験で尿素窒素およびクレアチニンの増加がみられたが病理組織学的検査で腎臓に異常はみられなかった。ラットの 13 週間投与試験では軽微から軽度の動脈壁の変性/壊死, 軽微な糸球体腎症, 尿細管色素沈着および軽微な硝子円柱がみられ, 尿検査パラメータの変化と関連していた。

ラットおよびイヌでの（炎症とは関連しない）リンパ造血系の変化，脂質の変化およびラットでの体重・摂餌量変化は，変化の程度が限定的であることまたは変化の本態から，毒性変化とみなす必要はないと考えられた。ラットおよびイヌで 2 週間以上の試験でみられたリンパ系組織（脾臓，リンパ節および胸腺）における細胞充実性低下はコルチコステロイド誘発性のストレス反応による二次的なものと考えられ, 赤血球パラメータの減少と関連していた。これに付随して, RDW, 網状赤血球数，血小板数，血小板容積の増加，脾臓や肝臓での髄外造血および脾臓重量の増加といった再生性の反応がみられた。ラットおよびイヌの 14 日間以上の試験でコレステロールまたはトリグリセリドの増加みられた。ラットの 14 日間以上の試験で摂餌量の増加に関連した体重および体重増加量の増加がみられたが，イヌでは認められなかった。その他の所見で，ラットおよびイヌで 4 週間以上の投与によりみられたが一貫性がなかった所見は, 乳腺の萎縮（雄ラット），唾液腺に軽微な分泌減少（ラット），副腎重量の変化（ラットで減少，イヌで増加），電解質の変動（ラットおよびイヌ），子宮萎縮（ラット）および軽微な脳重量の減少（ラット）であった。

ラットの 13 週間投与試験でみられた胆管過形成が 4 週間の休薬後もみられたが，ラットの 4 週間投与試験および 13 週間投与試験ならびにイヌの 4 週間投与試験で投与後にみられた変化は 4 週間の休薬により回復または回復傾向を示した。

ラットに 13 週間 BID 投与したときには，15 mg/kg/日投与により皮膚，膵臓，肝臓，坐骨神経および腎臓に毒性変化がみられたことから，無毒性量は雄で 8 mg/kg/日，雌で 4 mg/kg/日と考えられた。イヌに 13 週間 BID 投与したときには，25 mg/kg/日投与により瀕死例が認められ，肺，下顎骨，口腔および肝臓に毒性変化がみられたことから，無毒性量は 7 mg/kg/日と考えられた。

4.3. 遺伝毒性試験

ロルラチニブの遺伝毒性を細菌を用いる復帰突然変異試験，in vitro 小核試験，蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（FISH）法を用いた in vitro 小核試験および in vivo 小核試験により評価したところ，ロルラチニブは異数性誘発性を示したものの，変異原性は示さなかった。In vitro 小核試験での動原体の評価により，小核試験での陽性結果（in vitro および in vivo）は異数性誘発性メカニズムに基づくことが確認された。異数性誘発物質による異数性の増加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，in vivo 試験での小核形成に関する無作用量は雌雄ラットで 30 mg/kg/日であり，この時の雄および雌の曝露量はト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24} のそれぞれ 9.92 倍および 26 倍であった。

4.4. がん原性

ロルラチニブの治療対象が進行がん患者とされていることから，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，がん原性試験は実施しなかった。

4.5. 生殖発生毒性

ラットの胚・胎児発生毒性試験では，低用量（1 mg/kg/日）で平均胎児体重の減少，胚･胎児生存率の低下，外表および内臓異常の低頻度の発生がが認められたことから，次世代の発生に関する無毒性量は得られず，最小毒性量は 1 mg/kg/日と考えられた。一方，ウサギの胚・胎児発生毒性試験では，4 mg/kg/日投与により外表および内臓奇形がみられ，4 mg/kg/日以上の投与で胚･胎児生存率の低下が認められたことから, 次世代の発生に関する無毒性量は 1 mg/kg/日と考えられた。

ロルラチニブの治療対象が進行がん患者とされていることから，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，受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験ならびに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は実施しなかった。

4.6. 局所刺激性試験

静脈内または血管周囲への投与によっても，ロルラチニブおよびその注射用製剤は生理食塩液と同様，ウサギにおいて局所刺激性を誘発しなかった。

4.7. 血液適合性試験

ロルラチニブの非経口製剤は，ウサギまたはヒトへの静脈内投与によって溶血性を誘発しないものと考えられた。

4.8. 光毒性試験

ロルラチニブは，UVA（長波長紫外線）範囲に最大吸収波長を有する紫外線（UV）光を吸収し，全身投与後に日光に曝された組織に到達する可能性がある。しかしながら，ラット光毒性試験（in vivo）の結果，光毒性を誘発する物質ではないと考えられた。

4.9. 脂質および体重変化への影響

7 日間投与脂質プロファイル検討試験では，試験中にラットの体重増加量の増加，炎症応答に関連した白血球パラメータおよびハプトグロビンの増加，総コレステロール，コレステロール分画およびα糖タンパク質（AGP）の増加が認められた。これらのロルラチニブとの関連が示唆される変化はいずれも 7 日間の休薬により回復性が認められた。

14 日間投与摂餌制限検討試験では，ロルラチニブ投与と摂餌量増加との関連が示唆され，これがロルラチニブを投与し自由摂食させたラットにおける体重増加の主な原因と考えられた。ペアフィード（対照群の前日の平均摂餌量と同量の飼料を給餌）を行ったラットと自由摂食ラットとの間で血液学的検査値，血液生化学検査値および肝臓重量が同等であったことから，摂餌量または体重変化とは無関係に，ペアフィードと自由摂食の間でロルラチニブに対する反応に差がないことを示すものと考えられた。

4 週間投与脂質プロファイル検討試験では，ロルラチニブの 15 mg/kg/日をラットに 28 日間投与すると，総コレステロール，HDL および LDL の変化が認められたが，トリグリセリドまたは VLDL には変化はみられなかった。

4.10. 網膜電図検討試験

ロルラチニブの 2～10 mg/kg/日を Long-Evans ラットに 10～12 日間経口投与しても，眼科的パラメータまたは網膜電図（ERG）パラメータに変化は認められなかった。

4.11. その他の試験

ロルラチニブの不純物について，細菌を用いる復帰突然変異試験（8 化合物）あるいはラットの 4 週間投与毒性試験（4 化合物）を実施した。いずれの不純物も突然変異誘発性は陰性であった。また，4 週間投与毒性試験では新規な毒性は認められなかった。

ロルラチニブの主要なヒト代謝物である PF-06895751 について，細菌を用いる復帰突然変異試験および in vitro 小核試験を実施した。突然変異誘発性，小核誘発性とも陰性であった。

5. 総括及び結論

5.1. 薬理

ロルラチニブの ALK および ROS1 チロシンキナーゼに対する阻害作用，キナーゼ選択性，抗腫瘍効果，PK/PD 相関ならびにアポトーシス，細胞増殖およびシグナル伝達のバイオマーカーに関して，種々の in vitro および in vivo モデルを用いて評価した。In vitro において，ロルラチニブは酵素レベルおよび細胞レベルで野生型および変異型 ALK ならびに ROS1 キナーゼの活性を濃度依存的かつ強力に阻害した。ロルラチニブはまた，ヒト NSCLC 細胞株における ALK および ROS1 依存性の発がんに関わる機能活性を阻害し，ALK および ROS1 融合タンパクならびに臨床的に認められる二次変異を有する変異型 ALK の融合タンパクを発現する腫瘍細胞株において強力かつ

選択的な増殖阻害作用およびアポトーシス誘導を示した。In vivo では，EML4-ALKv1^{L1196M}，EML4-ALKv1^{G1269A}，EML4-ALKv1^{I1171T} および EML4-ALKv1^{G1202R} といった変異型 ALK および ROS1 融合タンパクを発現する腫瘍異種移植モデルにおいて，ロルラチニブは顕著な抗腫瘍効果を示した。また，マウスの脳同所性移植モデル（EML4-ALKv1 および EML4-ALKv1^{L1196M}）においても腫瘍縮小効果および延命効果を示した。ロルラチニブの抗腫瘍効果は用量依存的であり，ALK または ROS1 リン酸化の阻害と強い相関を示した。ALK または ROS1 融合タンパクを発現する腫瘍モデルを用いた PK/PD 解析より，ロルラチニブの血漿中濃度とキナーゼリン酸化または抗腫瘍効力との関係が明らかにされた。クリゾチニブ耐性の H3122-EML4-ALK^{L1196M} ヒト NSCLC モデルにおいて，EML4-ALK^{L1196M} リン酸化阻害（ほぼ EC_{50}）および抗腫瘍効果（腫瘍増殖がほぼ静止する）を示すのに必要なロルラチニブの非結合型血漿中濃度は 50 nmol/L（20 ng/mL）と推定された。ロルラチニブのヒト推奨用量（100 mg QD）での非結合型 C_{max} は 495 nmol/L（201 ng/mL）[a]であり，これらの結果はロルラチニブが臨床的に到達可能な血漿中濃度でマウスモデルにおいて抗腫瘍効果を発揮することを示唆している。

安全性薬理試験を実施して，ロルラチニブの心血管系，中枢神経系および呼吸器系に及ぼす影響を評価した。In vitro 心血管系試験において，ロルラチニブは，hERG カリウム電流［IC_{50} 値：201.1 µmol/L，82489 ng/mL；ヒトにおける非結合型 C_{max}（495 nmol/L）の 410 倍］および L 型カルシウムチャネル（IC_{50} 値：44.0 µmol/L，17871 ng/mL；ヒトにおける非結合型 C_{max} の 89 倍）を弱く阻害し，遅延ナトリウム電流を増加させた［100 µmol/L（ヒトにおける非結合型 C_{max} の 200 倍）で統計学的に有意］。Ex vivo ランゲンドルフ心臓モデルでは PR 間隔を 30 µmol/L（12193 ng/mL；ヒトにおける非結合型 C_{max} の 61 倍）で最大 46.9%増加させ，ラット大動脈リングモデルでは 30 µmol/L までの濃度で血管収縮を惹起しなかった。ラットを用いた in vivo 試験では 10 mg/kg（非結合型 C_{max}：524 ng/mL；ヒトにおける非結合型 C_{max} の 2.6 倍）以上の単回投与で収縮期，拡張期および平均血圧の上昇ならびに心拍数における二相性変化が認められた。イヌにおいては，15 mg/kg/日（非結合型 C_{max}：519 ng/mL；ヒトにおける非結合型 C_{max} の 2.6 倍）で心拍数の増加，収縮期血圧の低下ならびに PR および QRS 間隔の延長が認められた。ラット文脈更新モデルを用いた検討では，3 mg/kg（非結合型血漿中濃度：225 ng/mL；ヒトにおける非結合型 C_{max} の 1.1 倍）以上で軽度かつ用量非依存性的に認知機能障害を示す可能性が示唆された。ラット海馬スライスモデルにおいては，ロルラチニブはシータバースト刺激（TBS）によって誘発された長期増強を 1 µmol/L（406 ng/mL；ヒトにおける非結合型 C_{max} の 2.0 倍）で有意に抑制した。呼吸器系の検討では，雄ラットにおいて 30 および 100 mg/kg の単回投与で 1 回換気量を統計学的に有意に低下させたが，呼吸数および分時換気量には影響を及ぼさなかった。また，10 mg/kg（非結合型 C_{max}：524 ng/mL；ヒトにおける非結合型 C_{max} の 2.6 倍）では呼吸パラメータに変化は認められなかった。ロルラチニブの主要なヒト代謝物である PF-06895751 は，hERG カリウム電流を阻害しなかった［IC_{50} 値：300 µmol/L（55260 ng/mL）超］。

[a] 2.7.2.2.2.2.1.3 項 Table 28：日本人患者にロルラチニブを 100 mg QD で反復投与したときの第 1 サイクル第 15 日における C_{max}（591.1 ng/mL）に非結合型分率 0.340（2.6.4.4.4.1 項）を乗じて算出

5.2. 薬物動態

ロルラチニブを単回投与後の血漿中濃度推移について毒性試験で用いた動物種であるラットおよびイヌを用いて検討したところ，静脈内投与後の CL_{tot} はそれぞれ 15.5 mL/min/kg および 9.05 mL/min/kg といずれも低値を示し，V_{ss}（それぞれ 2.66 L/kg および 2.80 L/kg）はいずれも総体液量を上回り，$t_{½}$はそれぞれ 2.71 時間および 4.62 時間であった。経口バイオアベイラビリティはラットでは 100%超，イヌでも 96.6%といずれも良好であった。ラットおよびイヌを用いたトキシコキネティクス試験では，曝露量は用量にほぼ比例して増加し，ラットでは雌の方が雄より 2～3 倍程度高い曝露量を示したが，イヌでは曝露量に性差は認められなかった。ラットおよびイヌのいずれにおいても反復投与によるロルラチニブの顕著な蓄積は認められなかった。ヒト血漿中の主代謝物である M8（PF-06895751）の曝露量はいずれの用量においても未変化体と比較して顕著に低かった。In vitro 試験の結果から，ロルラチニブが P-gp, BCRP, OATP1B1 および OATP1B3 の基質となる可能性は低いことが示された。

[^{14}C]ロルラチニブを有色ラット（Long-Evans）に単回経口投与したところ，放射能はほとんどの組織および体液に広く分布した。放射能濃度はブドウ膜で最も高く，見かけの $t_{½}$ 287 時間で消失した。[^{14}C]ロルラチニブ由来放射能は血液脳関門を通過し，脳室周囲以外の中枢神経系組織で投与後 24 時間においても検出された。このことはラットを用いた中枢移行性試験ならびにラットおよびイヌの 4 週間反復投与毒性試験において脳および CSF 中のロルラチニブ濃度が検出されたことと符合するものであり，ロルラチニブが血液脳関門を通過することが示された。ロルラチニブの血漿蛋白結合率に明確な濃度依存性は認められず，マウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒト血漿に対するロルラチニブの f_u は 0.239～0.358 であった。ロルラチニブのマウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトの赤血球および血漿へほぼ均等に分布した。

ロルラチニブの主な代謝経路はラットとヒトでは酸化およびグルクロン酸抱合，イヌでは酸化であり，ヒトにおける主要な酸化的代謝はラットおよびイヌにおいてもみられた。ヒト血漿中の主な成分は未変化体であり，主代謝物である安息香酸体の M8（PF-06895751）は薬物関連物質の血漿中総量の 21.0%を占めたが，排泄された量としては尿中に投与量の 5.6%（そのラクトン体も含む）認められたのみであった。ラットおよびイヌの 13 週間毒性試験においても，M8 はヒトよりも顕著に低い曝露量であったが血漿中から検出されており，M8 の追加毒性評価を実施する必要性は低いと考えた。ヒトに経口投与された[^{14}C]ロルラチニブは広範に代謝されたが，構造が同定・推定された代謝物の大部分はロルラチニブの環構造を保持しており，5.6%程度が数段階の代謝を受け環構造が開裂して M8 およびそのラクトン体として尿中に排泄されると考えられた。ロルラチニブをマウス，ラット，ウサギ，イヌおよびヒトの肝ミクロソームならびに肝細胞とインキュベートしたところ，いずれの in vitro 系においてもロルラチニブはあまり代謝されなかったが，ヒトの肝ミクロソームおよび肝細胞で生成した酸化的代謝物は，毒性試験に用いた動物種の肝ミクロソームまたは肝細胞でも生成した。ロルラチニブの酸化的代謝およびグルクロン酸抱合に関与する主な分子種は CYP3A4 および UGT1A4 であり，それぞれ CYP2C19，CYP2C8 および CYP3A5 ならびに UGT1A3 も関与することが示唆された。

リファンピシンとロルラチニブの併用試験において肝機能検査値の上昇が認められたことから，リファンピシン処理と非処理の肝細胞による代謝について検討したところ，両者により生成した代謝物プロファイルに差はみられなかった。この in vitro 代謝試験において，投与量の 1%未満ながら細胞残渣に薬物由来の放射性成分が検出されたことから，代謝活性化が生じることが示唆さ

れたが，リファンピシンとロルラチニブの併用試験において認められた肝機能検査値の上昇との関連性は不明である。複数のキナーゼ阻害薬（ダサチニブ，エルロチニブ，エベロリムス，ゲフィチニブ，イマチニブ，ラパチニブ，ニロチニブ，ソラフェニブおよびスニチニブ等）でも in vitro で代謝活性化が生じることが知られている。しかしながら，ロルラチニブでみられたようなリファンピシンとの併用による肝機能検査値の上昇は，他の各キナーゼ阻害薬とリファンピシン（ラパチニブではカルバマゼピン）を反復投与した臨床薬物相互作用試験ではみられていない。

ラットおよびイヌにおいて，[^{14}C]ロルラチニブ由来の放射能は主として糞中に排泄されたが，ヒトにおける糞中および尿中への放射能の排泄率はそれぞれ投与量の 40.9%および 47.7%であった。

In vitro 試験において，ロルラチニブは CYP3A4/5 の可逆的および時間依存的な阻害作用ならびに誘導作用を示したが，CYP3A4 の基質薬であるミダゾラムとの併用した臨床試験では CYP3A4/5 の誘導作用を示した。ロルラチニブは in vitro では CYP2C9 の阻害作用を示したが，その発現を調節する PXR を活性化し，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C19 および CYP2D6 をほとんど阻害しなかった。また，ロルラチニブによる CYP3A4 および CYP2B6 の誘導がみられたが，これには PXR および CAR1 の活性化が寄与していることが示唆された。臨床で想定される濃度において CYP1A2 を誘導する可能性は低いと考えられた。ロルラチニブは UGT1A1 を可逆的に阻害した。ロルラチニブは，BCRP（消化管以外），OAT1，OCT2 および MATE2K の阻害を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いが, P-gp, BCRP（消化管）, OATP1B1, OATP1B3, OCT1, OAT3 および MATE1 を阻害する可能性が考えられた。PF-06895751 が，評価した CYP 分子種，UGT 分子種および薬物トランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

5.3. 毒性

ロルラチニブの非臨床安全性プロファイルを，単回投与毒性試験，13 週間までの反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，胚・胎児発生毒性試験および光毒性試験により明らかにした。複数の組織における炎症性変化ならびに膵臓，肝胆道系，雄性生殖器，心血管系および消化管の変化がラットおよびイヌで認められた。加えて，ラットでは末梢神経，中枢神経系（認知機能および神経機能）および腎臓においても毒性変化が認められた。その他に，炎症との関連のない造血器系および脂質の変化がラットおよびイヌで，体重および摂餌量の変化がラットで認められたが，いずれも毒性学的意義は乏しいものと考えられた。ラットで胆管過形成が持続して認められたのを除き，4 週間の休薬によりロルラチニブによる標的臓器毒性はいずれも回復または回復傾向を示し，変化の可逆性が確認された。ロルラチニブは胚・胎児毒性を有し，ラットおよびウサギの胚・胎児発生毒性試験でみられた奇形との関連が示唆された。また，ロルラチニブは異数性誘発性を示したが，無作用量も確認された。ロルラチニブの総合的な毒性プロファイルとしては，認められた毒性変化はモニタリングが可能であり，予定された患者集団において臨床的に管理可能または許容範囲内のリスクと考えられる。

5.4. 結論

以上の非臨床試験成績より，ロルラチニブは臨床において ALK チロシンキナーゼ阻害剤に抵抗性または不耐容の *ALK* 融合遺伝子陽性の切除不能な進行・再発の NSCLC の治療に有用であると期待された。