TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 3
本項で使用する用語・略語 4
1. まとめ 5
2. 単回投与毒性試験 8
2.1. ラット 8
2.2. イヌ（用量漸増投与毒性試験） 8
3. 反復投与毒性試験 9
3.1. 重要な試験以外の試験 9
3.1.1. ラットを用いた 2 日間投与毒性試験 9
3.1.2. ラットを用いた 7 日間投与毒性試験 9
3.1.3. ラットを用いた 14 日間投与毒性試験 10
3.1.4. イヌを用いた 14 日間投与毒性試験 12
3.2. 重要な試験 13
3.2.1. ラット 4 週間経口投与および 4 週間回復性試験 13
3.2.2. ラット 13 週間経口投与および 4 週間回復性試験 15
3.2.3. イヌ 4 週間経口投与および 4 週間回復性試験 18
3.2.4. イヌ 13 週間経口投与毒性試験 19
4. 遺伝毒性試験 22
4.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験 22
4.2. In vitro 小核試験 23
4.3. 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 23
4.4. In vivo 小核試験 25
5. がん原性試験 25
6. 生殖発生毒性試験 25
6.1. In vitro および in vivo 探索的試験 25
6.1.1. マウス胚性幹細胞を用いた試験 25
6.1.2. ゼブラフィッシュを用いた試験 26
6.2. 受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験 27
6.3. 胚・胎児発生に関する試験 27

6.3.1. ラット 27
6.3.2. ウサギ 28
6.4. 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 30
7. 局所刺激性試験 30
8. その他の毒性試験 30
8.1. ロルラチニブを用いた試験 30
8.1.1. 血液適合性試験 30
8.1.1.1. ウサギ 30
8.1.1.2. ヒト 31
8.1.2. 光毒性試験 31
8.1.3. 7 日間投与脂質プロファイル検討試験 32
8.1.4. 網膜電図検討試験 32
8.1.5. 14 日間投与摂餌制限検討試験 33
8.1.6. 4 週間投与脂質プロファイル検討試験 34
8.2. 不純物を用いた試験 35
8.2.1.類縁物質A* の細菌を用いる復帰突然変異試験 35
8.2.2.類縁物質B* の細菌を用いる復帰突然変異試験 36
8.2.3.類縁物質C* の細菌を用いる復帰突然変異試験 36
8.2.4.類縁物質D* の細菌を用いる復帰突然変異試験 37
8.2.5.類縁物質E* の細菌を用いる復帰突然変異試験 38
8.2.6.類縁物質F* の細菌を用いる復帰突然変異試験 38
8.2.7.類縁物質G* の細菌を用いる復帰突然変異試験 39
8.2.8.類縁物質H* の細菌を用いる復帰突然変異試験 40
8.2.9. ロルラチニブ，類縁物質I*，類縁物質J*，類縁物質B* および類縁物質K* を用いたラットの 4 週間投与毒性試験 40
8.3. 代謝物を用いた試験 41
8.3.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験 41
8.3.2. 小核試験 42
9. 考察および結論 42
9.1. 標的臓器毒性 42
9.1.1. 炎症 43

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

9.1.2. 膵臓 44
9.1.3. 肝胆道系 45
9.1.4. 心血管系 46
9.1.5. 雄性生殖器 47
9.1.6. 消化管 48
9.1.7. 末梢神経 48
9.1.8. 認知機能および神経機能 49
9.1.9. 腎臓 50
9.1.10. リンパ造血系 50
9.1.11. 脂質および体重変化 51
9.1.12. 胚・胎児発生 53
9.1.13. 異数性誘発性 54
9.1.14. その他の所見 54
10. 総括 55
11. 参考文献 55

LIST OF TABLES

Table 1. ロルラチニブの毒性試験一覧 5

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
A2M	alpha-2 macroglobulin：α_2マクログロブリン
AGP	alpha glycoprotein：α糖タンパク質
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
BID	bis in die：1 日 2 回
bpm	beat per minute：一分当たりの心拍数
BUN	blood urea nitrogen：血中尿素窒素
C_{max}	最高血漿中濃度
CSF	cerebrospinal fluid：脳脊髄液
DMSO	Dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
ERG	electroretinogram：網膜電図
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
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
GALT	gut-associated lymphoid tissue：腸管関連リンパ組織
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
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
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
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
LOAEL	lowest observed adverse effect level：最小毒性量
LPL	Lipoprotein lipase：リポタンパク質リパーゼ
MCV	mean corpuscular volume：平均赤血球容積
mES 細胞	murine embryonic stem cell：マウス胚性幹細胞
mEST	murine embryonic stem cell test：マウス胚性幹細胞試験
MNPCE	micronucleated polychromatic erythrocyte：小核を有する多染性赤血球
MPV	mean platelet volume：平均血小板容積
MTD	maximum tolerated dose：最大耐量
NOAEL	no observable adverse effect level：無毒性量
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
PCE	polychromatic erythrocytes：多染性赤血球
QD	quaque die：1 日 1 回
RDW	red cell distribution width：赤血球容積粒度分布幅
UV	ultraviolet：紫外線
VLDL	very low-density lipoprotein：超低密度リポタンパク質

1. まとめ

ロルラチニブ（PF-06463922）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。特記しない限り，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）は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に関する規則を遵守して実施した。

Table 1.　ロルラチニブの毒性試験一覧

試験の種類および試験期間 [a]	投与経路	動物種	投与化合物 [b]
単回投与毒性試験			
単回投与 [c]	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922
漸増投与 [c]	強制経口投与	イヌ/ビーグル	PF-06463922
反復投与毒性試験			
2 日間投与 [c]	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922-14[d]
7 日間投与 [c] (トキシコキネティクス)	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922
14 日間投与 [c]	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922
4 週間投与および 4 週間回復	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922-14[d]
13 週間投与および 4 週間回復	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922
14 日間投与 [c]	強制経口投与	イヌ/ビーグル	PF-06463922-01[e]
4 週間投与および 4 週間回復	強制経口投与	イヌ/ビーグル	PF-06463922-14[d]
13 週間投与	強制経口投与	イヌ/ビーグル	PF-06463922
遺伝毒性試験			
細菌を用いる復帰突然変異試験	In Vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	PF-06463922-14[d]
小核試験	In Vitro	TK6 細胞	PF-06463922-14[d]
小核試験 ＋FISH[c]	In Vitro	TK6 細胞	PF-06463922-14[d]
小核試験 [14LJ084]	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922-14[d]
生殖発生毒性試験			
生殖発生毒性試験 [c]	In Vitro	マウス胚性幹細胞	PF-06463922
生殖発生毒性試験 [c]	In Vitro	ゼブラフィッシュ	PF-06463922-14[d]
胚・胎児発生に関する試験	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922
胚・胎児発生に関する試験	強制経口投与	ウサギ/New Zealand White	PF-06463922
局所刺激性試験			
単回投与 [c]	静脈内投与 血管周囲内投与	ウサギ/New Zealand White	PF-06463922
その他の毒性試験			
ロルラチニブを用いた試験			
血液適合性試験 [c]	In Vitro	ウサギ全血	PF-06463922
血液適合性試験 [c]	In Vitro	ヒト全血	PF-06463922
3 日間投与光毒性試験	強制経口投与	ラット /Long-Evans	PF-06463922
脂質プロファイル検討試験（7 日間投与+7 日間回復）[c]	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922-14[d]

Table 1.　ロルラチニブの毒性試験一覧

試験の種類および試験期間 [a]	投与経路	動物種	投与化合物 [b]
網膜電図検討試験（12 日間投与+2 週間回復）[c]	強制経口投与	ラット/Long-Evans	PF-06463922-01[e]
14 日間投与摂餌制限検討試験（摂餌量，体重，コレステロール）[c]	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922
4 週間投与脂質プロファイル試験 [c]	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF-06463922-14[d]
不純物を用いた試験			
細菌を用いる復帰突然変異試験 [c]	In Vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	類縁物質A* [f]
細菌を用いる復帰突然変異試験 [c]	In Vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	類縁物質B* [f]
細菌を用いる復帰突然変異試験 [c]	In Vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	類縁物質C* [f]
細菌を用いる復帰突然変異試験 [c]	In Vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	類縁物質D* [f]
細菌を用いる復帰突然変異試験 [c]	In Vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	類縁物質E* [f]
細菌を用いる復帰突然変異試験	In Vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	類縁物質F* [f]
細菌を用いる復帰突然変異試験	In Vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	類縁物質G* [f]
細菌を用いる復帰突然変異試験	In Vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	類縁物質H* [f]
4 週間投与毒性試験	強制経口投与	ラット/Wistar Han	PF 06463922, 類縁物質I* [f], 類縁物質J* [f], 類縁物質B* [f], 類縁物質K* [f]
代謝物を用いた試験			
細菌を用いる復帰突然変異試験	In Vitro	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	PF-06895751[g]
小核試験	In Vitro	TK6 細胞	PF-06895751[g]

FISH = Fluorescent in situ hybridization 法; GLP = Good Laboratory Practice.

a. 特記しない限り GLP 基準を遵守して実施した。

b. 特記しない限りロルラチニブは遊離塩基（PF-06463922，無水形）で投与した。

c. GLP 不適用

d. ロルラチニブ酢酸溶媒和物

e. ロルラチニブ塩酸塩

f. ロルラチニブの不純物

g. ヒトでのロルラチニブの主代謝物

***；**新薬承認情報提供時に置き換えた。

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。ロルラチニブのヒトでの主代謝物である PF-06895751 については in vitro 遺伝毒性試験および in vitro ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）試験（2.6.2.4 項）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（2.6.4.3.2 項）ならびにヒトの主要代謝経路との類似性が認められた（2.6.4.5.1 項）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。ロルラチニブの曝露に性差が認められたため，ラットの重要な反復投与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。

ラットおよびイヌの毒性試験では BID で最長 13 週間ロルラチニブを投与した。反復投与毒性試験では，ラットでは 30 mg/kg/日以上で，イヌでは 25 mg/kg/日以上で瀕死状態につながる一般状態の変化がみられ，そのときの曝露量はヒトに臨床用量を投与したときの曝露量よりも高かった。ラットに 13 週間 BID 投与したときには，高用量で皮膚，膵臓，肝臓，坐骨神経および腎臓に毒性がみられ，無毒性量（NOAEL）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，瀕死期安楽殺または肺，下顎骨および口腔の炎症ならびに肝臓の所見に一致して一般状態の変化および病理学的毒性変化がみられたことから，NOAEL は 7 mg/kg/日と考えられた。ロルラチニブの非臨床毒性試験成績から，ラットおよびイヌにおける重要な毒性は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であった。加えて，ラットでは末梢神経，認知および神経機能ならびに腎臓にみられた所見も重要と考えられた。その他に，血液リンパ系（炎症とは関連せず）ならびに脂質の変化が

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。さらに，ロルラチニブは胚・胎児毒性を有し，異数性誘発物質であった。

2. 単回投与毒性試験

2.1. ラット

報告書番号 [redacted]LJ011，概要表 2.6.7.5

Wistar Han ラット（雄 3 匹/群）にロルラチニブを 0（溶媒対照），10，30 または 100 mg/kg の用量で単回経口投与し，急性毒性および曝露量を評価した。ロルラチニブの全身曝露量，脳内および脳脊髄液中（CSF）のロルラチニブ濃度を試験 1 日に評価した。また，一般状態観察，体重測定，血液生化学検査（アミラーゼおよびリパーゼ）ならびに膵臓の病理組織学的検査を行った。

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 の雄 1 例で軽微な膵島細胞の変性（空胞化と単細胞壊死の増加）が見られたがアミラーゼおよびリパーゼに変化はみられなかった。膵臓では，このほかに 100 mg/kg の雄 1 例で軽微な腺房変性/壊死および 10 mg/kg の雄 1 例で軽微な小葉の萎縮がみられた。これらの変化は散発的であったが，その後の試験で認められた所見からロルラチニブに関連するものと考えた。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は 10～30 mg/kg の間でほぼ用量に比例して増加したが，100 mg/kg では吸収の限界と排出の飽和により非線形となり，曝露が用量比を下回った。CSF 中のロルラチニブ濃度は 30～100 mg/kg の間で用量比を上回って増加したが, 10 mg/kg では検出されなかった。脳内のロルラチニブ濃度は用量比を上回って増加した。

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（血漿中非結合型 C_{max}：2270 ng/mL，血漿中非結合型 AUC_{24}：35500 ng•h/mL，脳内総濃度：1700 ng/g，CSF 中総濃度：460 ng/mL），概略の致死量は 100 mg/kg 超であった。

2.2. イヌ（用量漸増投与毒性試験）

報告書番号 [redacted]LJ032，概要表 2.6.7.5

ビーグル犬（雌雄 1 匹/群）にロルラチニブを 25，50 または 100 mg/kg/日（それぞれ 12.5，25 または 50 mg/kg BID）の用量で単回漸増経口投与し，急性毒性および曝露量を評価した。一般状態観察，体重測定，臨床病理検査（血液学的検査および血液生化学検査：投与前および投与 24 時間後，アミラーゼおよびリパーゼ：投与前，投与 4 および 24 時間後）を行った。ロルラチニブの曝露量を試験 1 日に評価した。

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がみられた。
50 mg/kg/日の雌を除き，100 mg/kg/日以下で体重減少（0.92～0.94 倍：投与前値との比較，以下同）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（それぞれ 1.1～2.1 倍，1.3～3.3 倍および 1.0～2.5 倍），100 mg/kg/日で塩素の減少（0.92～0.87 倍）が認められ

た。100 mg/kg/日の雄でリパーゼの増加が認められたが，当該動物のリパーゼの投与前値が背景データの範囲外であったことから毒性変化とは考えなかった。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は 25～50 mg/kg/日の間で用量の増加に伴い増加したが，100 mg/kg/日では 50 mg/kg/日での曝露をさらに上回ることはなく，曝露はプラトーに達した。曝露量に性差は認められなかった。

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（非結合型 C_{max}：1390 ng/mL，非結合型 AUC_{24}：16700 ng•h/mL），概略の致死量は 100 mg/kg/日超であった。

3. 反復投与毒性試験

3.1. 重要な試験以外の試験

3.1.1. ラットを用いた 2 日間投与毒性試験

報告書番号 [redacted]LJ077，概要表 2.6.7.6

Wistar Han ラット（雌雄 3 匹/群）にロルラチニブを 2 日間経口投与し，ロルラチニブに対する急性の忍容性および曝露量を評価した。本試験では，ロルラチニブ酢酸溶媒和物を雄に 0 mg/kg/日（溶媒対照），100 または 300 mg/kg/日，雌に 0（溶媒対照），50 または 150 mg/kg/日の用量で投与した。曝露量に性差が生じることが予想されたため，雌雄で異なる投与量とした。一般状態観察，体重測定を実施した。試験 2 日に採血し，血漿中ロルラチニブ濃度を測定した。

300 mg/kg/日の雄では，1 回（雄 1/3 例）または 2 回（雄 2/3 例）投与後に瀕死状態となり安楽殺した。活動性および体の緊張性低下，労作性呼吸，軽度から中等度の皮膚弾力の減少（脱水），平伏姿勢，四肢の開脚，被毛粗剛ならびに流涎が認められた。雌では死亡例はなかったが，150 mg/kg/日で活動性低下，皮膚弾力の減少（脱水），四肢の開脚および被毛粗剛がみられた。

雄の 300 mg/kg/日では瀕死期安楽殺のためロルラチニブの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は算出されなかったが，同群の雄 2 例の試験 2 日の投与後 1～4 時間の血漿中薬物濃度は 150 mg/kg/日の雌と類似していた。雌の 50～150 mg/kg/日における曝露は用量比を下回った。投与量を調節したにも関わらず曝露には性差が認められ，雌の 50 mg/kg/日の総 C_{max} および総 AUC_{24} は雄の 100 mg/kg/日の総 C_{max} および総 AUC_{24} よりも高かった。

雄の 300 mg/kg/日で 1 回または 2 回投与後にそれぞれ 1/3 例または 2/3 例が瀕死状態となったことから，本薬をラットに単回投与した時の概略の致死量は 300 mg/kg と考えられた。また，ラット 2 日間投与時のロルラチニブの最大耐量（MTD）は雄で 100 mg/kg/日（非結合型 C_{max}：6090 ng/mL，AUC_{24}：100600 ng•h/mL），雌で 150 mg/kg/日（非結合型 C_{max}：14100 ng/mL，AUC_{24}：239000 ng•h/mL）と考えられた。

3.1.2. ラットを用いた 7 日間投与毒性試験

報告書番号 [redacted]LJ025，概要表 2.6.7.6

Wistar Han ラット（雄 3 匹/群）にロルラチニブを 7 日間経口投与し，ロルラチニブに対する忍容性および曝露量を評価した。本試験では，ロルラチニブを 2 mg/kg/日（1 mg/kg BID），8 mg/kg/日（4 mg/kg BID）または 15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）の用量で投与した。なお，2 および 8 mg/kg/

日群は 1 日のみ BID 投与を行い，15 mg/kg/日群は 7 日間 BID 投与を行った。一般状態観察，体重測定を実施した。試験 1 日に採血し，血漿中ロルラチニブ濃度を測定した。

死亡例や瀕死例はみられず，一般状態の異常や体重の変化もみられなかった。

試験 1 日におけるロルラチニブの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加にほぼ比例して増加した。

本試験の MTD は 15 mg/kg/日（非結合型 C_{max}：867 ng/mL，　AUC_{24}：9790 ng•h/mL）と考えられた。

3.1.3. ラットを用いた 14 日間投与毒性試験

報告書番号 [redacted]LJ022，概要表 2.6.7.6

Wistar Han ラット（雄 5 匹/群）にロルラチニブを 14 日間経口投与し，ロルラチニブの毒性および曝露量を評価した。本試験では，ロルラチニブを 0 mg/kg/日（溶媒対照），6 mg/kg/日（3 mg/kg BID），20 mg/kg/日（10 mg/kg BID）または 60 mg/kg/日（30 mg/kg BID）の用量で投与した。一般状態観察，体重測定，機能観察総合評価（FOB，試験 3 および 13 日），心エコー検査（投与前，試験 2 および 10 日），臨床病理（試験 15 日，血液学的検査，凝固系検査，血液生化学検査），器官重量測定（脳，心臓および肝臓），剖検および病理組織学的検査を実施した。試験 1，7，14 日または安楽殺時に採血し，血漿中ロルラチニブ濃度を測定した。また，試験 15 日または安楽殺時の脳および CSF 中のロルラチニブ濃度を測定した。

60 mg/kg/日の 2/5 例が瀕死となり，試験 13 日に安楽殺した。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。

一般状態の変化は 60 mg/kg/日のみでみられ，脱水，活動性低下，削痩，被毛粗剛，尿の着色，尿量増加，軟便，眼瞼下垂および中枢神経系の所見（反射の消失，平伏姿勢，痙攣様動作，旋回，頭の上下運動，後方突進，振戦および四肢開脚）であった。60 mg/kg/日の 2 例では体重抑制（0.78 倍～0.88 倍，投与前値との比較）がみられ，試験 13 日に瀕死状態となり，病理組織学的検査で胃の潰瘍および炎症が認められた。その他の動物は用量依存的な体重増加量の増加を示した（0，6，20 および 60 mg/kg/日でそれぞれ 1.02，1.05，1.08 および 1.12 倍，投与前値との比較）。

試験 3 および 13 日の FOB 検査では，60 mg/kg/日で上記の一般状態の変化に加え，中枢神経系への影響［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。ロルラチニブの曝露が高い動物では，同じ投与量で低い曝露の動物に比べて中枢神経系への影響の発現頻度が高かった。試験 13 日にみられたこれらの変化が中枢神経系への直接作用であるのか，あるいは瀕死状態による二次的なものかは不明であった。しかしながら，いくつかの中枢神経症状が認められた試験 3 日の FOB 検査よりも以前には瀕死の兆候はみられなかった。20 mg/kg/日以下では FOB 検査での異常所見はみられなかった。

心エコー検査では，試験 2 および 10 日に 20 mg/kg/日以上で心室拡張末期容積，拡張期面積，壁厚，1 回拍出量，左室急速流入血流速度，心房収縮期流入血流速度の用量依存的な増加が認められ，試験 10 日にはそれらの値が増大したが，機能的なパラメータに変化はなかった。これらの

変化は左心室腔の拡大，左心室壁厚の増大および心容積の増大を示唆していた。この変化は高血圧の代償性変化を反映したものであり，心臓の病理組織学的変化がなかったことからも心組織への直接的な作用ではないと考えられた。すべての用量でこれに関連した機能的パラメータへの影響はみられなかった。

ロルラチニブ投与により臨床病理ならびに胃，膵臓，肝臓，精巣，精巣上体，脾臓，腸間膜リンパ節，胸腺または大腸の器官重量，剖検所見および病理組織学的所見に変化がみられた。試験 13 日に瀕死期安楽殺した 2 例では腺胃の中等度から重度のびらん/潰瘍および前胃の軽度から中等度の浮腫がみられ，剖検では異常な胃の内面を呈していた。膵臓では 60 mg/kg/日で腺房細胞の萎縮（中等度から重度），チモーゲン顆粒の減少（軽微），膵島の血管拡張（軽微から軽度）が認められ，剖検では色調と堅さの異常がみられた。肝臓では 6 mg/kg/日以上で肝臓実重量の増加（1.08～1.74 倍，対照群との比較，以下同じ）が認められ，60 mg/kg/日では剖検で肝臓の腫大が，病理組織学的検査では胆管過形成（軽微から軽度），時に単細胞壊死（軽微）を伴う肝細胞肥大（軽微），髄外造血および類洞細胞の増加がみられた。これらの病理学的変化に一致して血液生化学検査では 60 mg/kg/日で ALT，AST，ALP，GGT，総ビリルビンの増加（それぞれ 1.54 倍，1.74 倍，2.38 倍，最高 6 U/L，最高 4.6 mg/dL）が，20 mg/kg/日以上で GLDH の増加（1.27～1.73 倍）が認められた。60 mg/kg/日ではコレステロールの増加（1.65 倍）もみられたが，病理組織学的変化はなかった。精巣上体では 20 mg/kg/日以上で管腔の組織片（軽微から軽度）および炎症がみられ，剖検では変色が認められた。また，精巣では 20 mg/kg/日以上で精細管の変性（軽微から中等度）がみられた。

ロルラチニブ投与によるものの毒性学的意義の低いと考えられる所見が脾臓，腸間膜リンパ節，胸腺，小腸および大腸に認められた。脾臓では 20 mg/kg/日以上で辺縁帯の細胞減少（軽微から軽度）および髄外造血（軽微から軽度）がみられ，腸間膜リンパ節では 6 mg/kg/日以上で組織球増加（軽微から軽度）および 60 mg/kg/日で洞赤血球の増加が認められた。脾臓およびリンパ節におけるこれらの病理組織学的所見は血液学的検査所見と関連していた。6 mg/kg/日以上で生存した動物では赤血球パラメータの減少（赤血球数：0.88～0.70 倍，ヘモグロビン濃度：0.87～0.70 倍，ヘマトクリット値：0.88～0.68 倍）がみられ，赤血球の再生反応を示す赤血球容積粒度分布幅（RDW）および網状赤血球数の増加（それぞれ 1.06～1.32 倍および 0.99～1.64 倍）と関連していた。60 mg/kg/日の生存した 3 例では血小板数および平均血小板容積（MPV）が増加（それぞれ 1.11 倍および 1.09 倍）し，再生性の変化と考えられた。6 mg/kg/日以上では白血球数，リンパ球数および大型非染色細胞の増加（それぞれ 1.03～1.58 倍，0.80～1.65 倍および 1.80～2.53 倍）が，20 mg/kg/日以上では好中球数の増加（1.43～1.84 倍）が，60 mg/kg/日では単球数の増加（2.41 倍）が用量依存的に認められた。60 mg/kg/日で瀕死期安楽殺した動物では状態悪化のため，赤血球数および白血球数の減少に対する再生性の変化はみられず，胸腺では小型化，暗色化がみられ，胸腺のリンパ球減少が認められた。60 mg/kg/日の多くの動物では小腸および大腸の単細胞壊死（軽微）あるいはびらん/潰瘍（軽微から軽度）がみられた。

ロルラチニブの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）はほぼ用量に比例して増加し，20 mg/kg/日以下では蓄積はみられず，試験 1 日と 14 日で同等の曝露量を示した。一方，60 mg/kg/日では試験 1 日に比し試験 14 日で曝露量の軽度な増加（1.4 倍）がみられた。瀕死期安楽殺の 2 例を含む 60 mg/kg/日の 3 例では脳内ロルラチニブ濃度が同群の他の 2 例に比し高く，FOB パラメータ変化の頻度上昇と関連しているものと考えられた。

60 mg/kg/日では瀕死状態となった動物がいることおよび毒性学的に意義のある変化が胃，膵臓，肝臓および精巣に認められたことから無毒性量（NOAEL）は 20 mg/kg/日と考えられた。ロルラチニブの 20 mg/kg/日を投与した雄ラットの試験 14 日における非結合型 C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 600 ng/mL および 7480 ng•h/mL であった。

3.1.4. イヌを用いた 14 日間投与毒性試験

報告書番号 [redacted]LJ056，概要表 2.6.7.6

ビーグル犬（雌雄 1 匹/群）にロルラチニブを 14 日間経口投与し，ロルラチニブの毒性および曝露量を評価した。本試験では，ロルラチニブ塩酸塩を 0 mg/kg/日（溶媒対照），5 mg/kg/日（2.5 mg/kg BID），15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）または 50 mg/kg/日（25 mg/kg BID）の用量で投与した。一般状態観察，体重測定，テレメトリー検査（投与前，試験 2 および 11 日），血液学的検査（投与前および試験 14 日），血液生化学検査（投与前，試験 7 および 15 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。試験 1，7，14 日に採血し，血漿中ロルラチニブ濃度を測定した。また，試験 15 日または死亡時の CSF 中のロルラチニブ濃度を測定した。

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。この動物の瀕死状態に伴って二次的に生じた所見は，剖検所見では空腸，回腸および盲腸の変色と粘膜面の異常であり，病理組織学的には十二指腸，空腸および回腸の充血ならびに腸間膜リンパ節およびパイエル板の細胞充実性低下（軽微）であった。

生存した動物にみられた一般状態の変化は，5 mg/kg/日での軟便，15 mg/kg/日での軽微な皮膚病変，50 mg/kg/日での活動性低下，嘔吐および軟便/水様便であった。15 mg/kg/日以下では体重に影響はみられなかったが，試験 3 日に安楽殺した雄と 50 mg/kg/日の雌では体重減少（それぞれ，0.96 倍および 0.91 倍，投与前値との比較，以下同じ）が認められ，嘔吐および水様便に一致した変化であった。

血液学的検査ではロルラチニブ投与による変化はみられなかった。ロルラチニブ投与による変化が 50 mg/kg/日で血液生化学検査ならびに胃，空腸，盲腸，結腸および胸腺の剖検所見ならびに病理組織学的所見に認められ，5 mg/kg/日以上では膵臓の変化とそれに伴う 50 mg/kg/日での血液生化学検査の変化が認められた。5 mg/kg/日以上でみられた軽微な膵臓の腺房細胞の萎縮は顆粒の消失，細胞質の空胞化および時に中等度の単細胞壊死を伴う（50 mg/kg/日の雌）腺房細胞の萎縮を特徴とし，さらなる腺房細胞の消失と小葉内線維組織の増加と関連していた。膵臓における中等度の腺房細胞萎縮は試験 15 日におけるアミラーゼおよびリパーゼの増加（それぞれ 4.7 倍および 7.7 倍）と関連していた。胃では 50 mg/kg/日の雌で胃表面の異常（剖検所見）がみられ，中等度の局所的潰瘍が認められた。その他の毒性学的意義の低いと考えられる所見は，15 mg/kg/日以上での空腸，盲腸あるいは結腸の萎縮（軽微），50 mg/kg/日での可染性マクロファージ（軽微）および病理組織学的変化を伴わないコレステロールの増加（1.34～1.45 倍）であった。

テレメトリー検査では，15 mg/kg/日で試験 11 日に，50 mg/kg/日では試験 2 および 11 日に心拍数の増加および血圧の低下が認められた（50 mg/kg/日の投与後 12～22 時間で収縮期血圧-37

mmHg；心拍数+9 bpm）。そのほかに PR 間隔，QT 間隔および QTc 間隔の一過性の延長（投与後 1～3 時間）がみられたが，ロルラチニブの最大曝露の時間との関連性はなく，ロルラチニブ投与との関連性は不明であった。5 mg/kg/日では心血管系への影響はなかった。

試験 1 日と 14 日のロルラチニブの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）はほぼ用量に比例して増加し，蓄積はみられなかった。すべての用量で曝露量に性差はみられなかった。試験 3 日に安楽殺した 50 mg/kg/日の雄の脳および CSF のロルラチニブ濃度は，試験 15 日に計画屠殺した同じ群の雌よりも高く（50 倍および 85 倍），安楽殺する前の雄にみられた一般状態の変化（単攣縮，運動失調，頭の上下運動）との関連性があるものと考えられた。

50 mg/kg/日では，安楽殺された動物がいることおよび毒性学的に意義があると考えられる変化が胃および膵臓に認められたことから NOAEL は 15 mg/kg/日と考えられた。ロルラチニブの 15 mg/kg/日での試験 14 日における非結合型 C_{max} および AUC_{24}（雌雄合算）はそれぞれ 236 ng/mL および 2980 ng•h/mL であった。

3.2. 重要な試験

3.2.1. ラット 4 週間経口投与および 4 週間回復性試験

報告書番号 [redacted]GR341，概要表 2.6.7.7A

Wistar Han ラット（15 匹/性/群）にロルラチニブを 4 週間経口投与し，その毒性および曝露量を評価し，4 週間休薬後の回復性を調べた。ロルラチニブ酢酸溶媒和物を雄に 0 mg/kg/日（溶媒対照），2 mg/kg/日（1 mg/kg BID），8 mg/kg/日（4 mg/kg BID）または 30 mg/kg/日（15 mg/kg BID），雌に 0 mg/kg/日（溶媒対照），1 mg/kg/日（0.5 mg/kg BID），4 mg/kg/日（2 mg/kg BID）または 15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）の用量で投与した。用量はロルラチニブの雄ラット 14 日間投与毒性試験（[redacted]LJ022）の成績に基づいて設定した。すなわち，60 mg/kg/日の雄で瀕死期安楽殺を行ったこと，また，曝露量に性差が予想されたことから，本試験では雄の高用量を 30 mg/kg/日とし，以下 8 mg/kg/日，2 mg/kg/日および溶媒対照群，雌では高用量を 15 mg/kg/日とし，以下 4 mg/kg/日，1 mg/kg/日および溶媒対照群を設けた。本試験では 3 または 5 匹/性/群を 4 週間の回復性試験に供した。サテライト動物 3 または 4 匹/性/群を加え，血漿中ロルラチニブ濃度（試験 1，21，30 日）および CSF 中ロルラチニブ濃度測定（試験終了時）に供した。一般状態観察，体重および摂餌量測定，眼科学的検査，機能観察総合評価（FOB，試験 2 および 26 日：雄 6 匹/群），臨床病理検査（血液学的検査，凝固系検査，血液生化学検査，尿検査：試験 29/30 日および試験 58 日［休薬期間］；アミラーゼおよびリパーゼ：試験 16，29/30 日および試験 46 日［休薬期間］ならびに試験 58 日［休薬期間］），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。

30 mg/kg/日の雄 2 例は腹部膨満，活動性低下，皮膚弾力の減少，運動失調，軟便，泌尿生殖器の汚れまたは被毛の汚れがみられ，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，中等度から重度の脾臓の髄外造血，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。30 mg/kg/日サテライト群の雄 1 例でも同様の症状がみられたことから試験 24 日に瀕死状態のため安楽殺した。

生存例では，腹部膨満，皮膚弾力の減少，軟便，運動失調，被毛の汚れ，泌尿生殖器の汚れ，耳介/尾の黄変，擦過傷（頸部，胸部，鼻口部，後肢，前肢，頭部，肩および顎），立毛，頭部傾斜および振戦が主に 30/15 mg/kg/日群（雄/雌，以下同）で認められた。口唇，頸部，肩および頭の擦過傷は，4 mg/kg/日群の雌 1 例でも認められた。雌の 4 mg/kg/日以上の群では，試験 14～28 日には，平均体重の増加（対照群の 1.03～1.13 倍）および体重増加量の増加（1.43～1.91 倍）が，平均摂餌量の増加（1.05～1.35 倍）を伴って認められた。雄の 30 mg/kg/日群で，平均摂餌量の増加（1.09～1.19 倍）が認められた。ロルラチニブに関連した眼の変化，FOB パラメータおよび自発運動量に対する影響は認められなかった。

ロルラチニブ投与により，皮膚，膵臓，肝臓，脾臓，末梢神経，胃，雄の乳腺，心臓および腎臓に関わる臨床病理パラメータ，剖検所見，病理組織学的所見および器官重量に変化が認められた。30/15 mg/kg/日群では，一般状態観察および剖検で頭部，頸部または四肢の皮膚の創傷/瘢痕/痂皮形成がみられ，病理組織学的検査でびらん/潰瘍または皮膚の線維化が認められた。雄の 8 mg/kg/日以上の群および雌の 1 mg/kg 以上の群で白血球数（対照群の 1.29～2.47 倍），好中球数（1.65～4.47 倍）および単球数（1.61～7.14 倍）の増加が，雌の 1 mg/kg/日以上の群でリンパ球数（1.63～2.45 倍）および大型非染色細胞（3.29～5.43 倍）の増加が認められた。雌雄の全ロルラチニブ投与群で，フィブリノーゲン（1.16～1.86 倍）およびグロブリン（1.02～1.07 倍）の増加，A/G 比の減少（0.98～0.92 倍）が認められた。臨床病理パラメータの変化は，炎症性の白血球像および皮膚の肉眼的，病理組織学的所見との関連が認められた。膵臓では，軽度から重度の腺房細胞の萎縮が雄の 8 mg/kg/日以上の群でみられ，全ロルラチニブ投与群でアミラーゼ（1.17～1.78 倍）の増加が，30/15 mg/kg/日群でリパーゼ（1.11～1.15 倍）の増加が認められた。グルコース(1.17～1.37 倍)およびコレステロール(1.28～2.20 倍)の増加が雄では 8 mg/kg/日以上の群，雌では 1 mg/kg/日以上の群で認められた。肝臓では，30/15 mg/kg/日群で軽微から軽度の胆管過形成がみられ，雄の 3 例でのビリルビンの増加（試験 29 日に 1.1～5.4 mg/dL）あるいは毒性変化とは考えなかった軽微な小葉中心性の肝細胞肥大と関連していた。肝臓の病理組織学的所見は，雄の 8 mg/kg/日以上の群，雌の 1 mg/kg/日以上の群で認められた ALT (0.90～4.96 倍），AST（0.78～2.24 倍），ALP（0.89～1.76 倍）および肝臓実重量（1.08～1.60 倍）の増加との関連が示唆された。末梢神経では，30/15 mg/kg/日群で軽微な軸索変性が認められた。脾臓では，8/4 mg/kg/日以上の群で辺縁帯の細胞充実性の軽微から重度の低下がみられ，30/15 mg/kg/日の変化は毒性変化と判断した。また，髄外造血も認められたが毒性変化とは考えなかった。脾臓の病理組織学的所見は，雄の 30 mg/kg/日群（1.52 倍）および雌の 4 mg/kg/日以上の群（1.11～1.63 倍）でみられた脾臓実重量の増加との関連が示唆された。赤血球パラメータの減少（赤血球数[0.96～0.86 倍]およびヘモグロビン濃度 [0.96～0.88 倍]）が雄の 2 mg/kg/日以上の群，雌の 4 mg/kg/日以上の群で認められた。これらの赤血球パラメータの減少は，8/4 mg/kg/日以上の群における平均赤血球容積(MCV, 1.03～1.07 倍)，RDW(1.10～1.39 倍)および網状赤血球数(1.16～1.56 倍）の用量依存的な増加，雄の 2 mg/kg/日以上の群，雌の 4 mg/kg/日以上の群における平均血小板容積（1.05～1.31 倍）の増加を伴い，骨髄の再生性の反応と符合するものであった。その他に，ロルラチニブに関連するものの毒性変化とみなす必要はないと考えられる変化が以下の様に認められた。すなわち，30/15 mg/kg/日群で腺胃の軽微から軽度の単細胞壊死，雄の 30 mg/kg/日群での乳腺の萎縮，8/4 mg/kg/日以上の群で病理組織学的所見を伴わない心臓実重量の増加（1.06～1.89 倍）が認められた。また，尿素窒素（雄 2 mg/kg/日以上の群および雌 15 mg/kg/日群で 1.16～1.65 倍）の増加ならびにクレアチニン（1.18～1.44 倍）の増加および尿 pH の低下

（0.93～0.91 倍）が 30/15 mg/kg/日群で認められたが，腎臓に病理組織学的所見はみられなかった。
投与期間中に認められた症状は，休薬期間中に概ね消失した。休薬 1 週に 30/15 mg/kg/日でみられた摂餌量減少（対照群の 0.86～0.80 倍）は体重増加量の減少との関連が示唆されたが，同群の休薬期間終了時の体重は対照群と同等であった。休薬後も肝臓実重量の増加（1.13～1.17 倍）が雌の 4 mg/kg/日以上の群で認められたものの，投与終了時に比べて回復傾向がみられ，肝細胞の肥大や肝酵素の増加は認められなかった。30 mg/kg/日群の雄 2 例で脾臓の軽微な髄外造血がみられたが，赤血球パラメータは，ロルラチニブと対照群とで同等で，回復傾向が認められた。皮膚，膵臓，末梢神経，胃，乳腺，心臓および腎臓で投与終了時にみられたその他のロルラチニブ関連の所見はいずれも回復した。

試験 1 および 30 日のロルラチニブの曝露量（Cmax および AUC24）は，用量の増加に伴って増加した。雌雄とも試験 30 日の曝露量は試験 1 日と比較してほぼ同等かわずかに高かった。本試験では曝露量に性差が認められ，雄の半量を投与した雌は，対応する各用量群の雄とほぼ同等の血漿中曝露量（C_{max} および AUC_{24}）を示した。脳または CSF 中のロルラチニブ濃度は，雄よりも雄の半量を投与した雌の各用量群で高かった。

30/15 mg/kg/日投与により瀕死例が認められ，膵臓，脾臓，末梢神経および皮膚に毒性変化がみられたことから，本試験における NOAEL は雄で 8 mg/kg/日および雌で 4 mg/kg/日と考えられた。NOAEL での試験 30 日における非結合型 C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ，雄で 382 ng/mL および 4850 ng·h/mL，雌で 292 ng/mL および 5700 ng·h/mL であった。

3.2.2. ラット 13 週間経口投与および 4 週間回復性試験

報告書番号 8001588（Sponsor Reference Number [redacted]LJ022），概要表 2.6.7.7B

Wistar Han ラット（10 または 15 匹/性/群）にロルラチニブを 13 週間経口投与し，その毒性および曝露量を評価し，4 週間休薬後の回復性を調べた。ロルラチニブを雄に 0 mg/kg/日（溶媒対照），2 mg/kg/日（1 mg/kg BID），8 mg/kg/日（4 mg/kg BID）または 15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID），雌に 0 mg/kg/日（溶媒対照），1 mg/kg/日（0.5 mg/kg BID），4 mg/kg/日（2 mg/kg BID）または 15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）の用量で投与した。曝露量に性差が予測されたことから，低用量および中用量群については雌雄で異なる用量を設定したが，ロルラチニブのラット 4 週間投与毒性試験（[redacted]GR341）では 30 mg/kg/日（15 mg/kg BID）の雄 2 例で忍容性がみられなかったものの，15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）の雌では死亡例がみられなかったことから，高用量は雌雄で同一用量の 15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）とし，雄では以下 8 mg/kg/日，2 mg/kg/日および溶媒対照群，雌では以下 4 mg/kg/日，1 mg/kg/日および溶媒対照群を設けた。本試験ではサテライト動物（3 匹/性/群）を追加し，ロルラチニブについては試験 1 および 13 週に，ヒトの主要代謝物（PF-06895751）については試験 4 週に曝露量を測定した。雄の 0，8 および 15 mg/kg/日群，雌の 0，4 および 15 mg/kg/日群については 5 匹/性/群を 4 週間の回復性試験に供した。一般状態観察，体重および摂餌量測定，眼科学的検査，機能観察総合評価（FOB；投与開始前，試験 2～4 日，試験 12 週および休薬期間終了時），臨床病理検査（血液学的検査，凝固系検査，血液生化学検査，尿検査：投与終了時および休薬期間終了時；アミラーゼおよびリパーゼ：試験 4，8 週および投与終了時ならびに休薬期間終了時），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。

試験期間中にロルラチニブに関連した死亡例や眼の変化は認められなかった。雌では 4 mg/kg/日以上の群で皮膚所見（痂皮形成，薄毛，乾燥，変色および他の皮膚病変）および腹部膨満の発現率の増加，15 mg/kg/日群で脱水様症状がみられた。雄では，15 mg/kg/日群で皮膚所見（痂皮および薄毛）の発現率の増加がみられた。投与期間中，雌の 15 mg/kg/日群では体重増加（対照群の 1.13 倍）および体重増加量の増加が主に最初の 4 週間に認められ，摂餌量の増加（1.4 倍）を伴っていた。また，試験 13 週には，体重増加（1.18 倍）および体重増加量の増加（1.8 倍）が，摂餌量の増加（2.1 倍）を伴って認められた。

ロルラチニブ投与により，皮膚，膵臓，肝臓，腎臓，坐骨神経，心臓，骨髄およびリンパ器官に関わる臨床病理パラメータ，剖検所見，病理組織学的所見および器官重量に変化が認められた。雌では，皮膚の病理組織学的所見として，4 mg/kg/日以上の群で軽微から中等度の表皮の炎症および真皮の線維化がみられ，15 mg/kg/日群では毒性変化と考えられる軽微から中等度の潰瘍が認められた。これらの所見は，一般状態観察での皮膚の症状および剖検所見（痂皮形成および暗色部位）と関連するものであった。白血球数（対照群の 1.43～2.48 倍），フィブリノーゲン（1.20～2.58 倍）またはグロブリン（1.15～1.64 倍）の増加ならびにアルブミン（0.93～ 0.74 倍）および A/G 比（0.79～0.48 倍）の減少が 8/4 mg/kg/日（雄/雌）以上の群で認められた。臨床病理パラメータの変化は炎症反応と符合し，雌雄の 4 mg/kg/日以上の群でみられた皮膚または子宮頸部の病理組織学的所見と関連するものであった。

膵臓では, 線維化および炎症を伴う軽微から中等度の腺房細胞の萎縮が雌雄の 15 mg/kg/日群でみられ，アミラーゼ（雄 8 mg/kg/日以上で対照群の 1.17～1.29 倍，雌 4 mg/kg/日以上で 1.29～1.77 倍）およびリパーゼ（雌 4 mg/kg/日以上で 1.37～1.67 倍）の増加が認められた。

肝臓では，雌の 15 mg/kg/日群で黄疸を伴う軽微から軽度の胆管過形成がみられ，毒性変化と考えられた。肝臓ではその他に，軽微な単細胞壊死，軽微な類洞細胞の増加，軽微な小葉中心性の肝細胞肥大および軽度の胆管の拡張がみられたが，いずれも毒性とする必要のない所見と考えられた。これらの肝臓の病理組織学的所見は，AST（雄で 1.49 倍，雌で 3.74 倍），ALT（雄で 2.13 倍, 雌で 2.35 倍）, ALP（雌で 5.64 倍）, GGT（他の動物で 2 U/L 未満のところを雌 1 例で 10 U/L）および総ビリルビン（雌で 17.14 倍）の増加と関連するものと考えられた。雌雄の全ロルラチニブ投与群で肝臓実重量（1.15～2.08 倍）の増加が認められ，剖検で雄の 15 mg/kg/日群でみられた暗色調変色，雌の 4 mg/kg/日以上の群でみられた暗色調変色，腫大および表面粗造との関連が示唆された。

腎臓では，主に雌の 15 mg/kg/日群で軽微から軽度の動脈壁の変性/壊死が毒性変化としてみられた他，尿細管の好塩基化の発現頻度または重症度の増加が認められた。その他に，病理組織学的所見（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），剖検所見（褐色変色）および尿検査所見（軽度の尿量増加，軽微な尿比重低下，軽微な pH 低下，ビリルビン上昇を伴う尿の暗色化）が認められたが，いずれの変化も毒性とは考えなかった。

雌の 15 mg/kg/日群では坐骨神経において毒性変化と考えられる軽微な軸索変性がみられた。

心臓，骨髄，リンパ器官，胸腺，乳腺，唾液腺または子宮/子宮頸部でも病理組織学的所見が認められたが，これらの変化は，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。15 mg/kg/日の雌 2 例で心臓アニチコフ細胞の軽微な増加が認め

られ，雄の 15 mg/kg/日群および雌の全ロルラチニブ投与群では心臓実重量の増加（対照群の 1.15～1.41 倍）が認められた。

骨髄およびリンパ器官では，雌の 15 mg/kg/日群で骨髄における軽微から中等度の顆粒球系細胞充実性の上昇，雄の全ロルラチニブ投与群および雌の 4 mg/kg/日以上の群で骨髄における軽微から中等度の造血系細胞充実性の上昇および脾臓における髄外造血の亢進がみられ，剖検でみられた脾臓の腫大および脾臓実重量の増加（対照群の 1.12～1.79 倍）との関連が示唆された。骨髄および脾臓の病理組織学的変化は，赤血球パラメータの変化および網状赤血球数の増加（雄 2 mg/kg/日以上の群で 1.12～1.36 倍，雌 15 mg/kg/日群で 1.10 倍）が認められたため，再生性の造血反応と考えられた。リンパ節では，雌雄の 8/4 mg/kg/日以上の群でリンパ球の細胞充実性の上昇または造血亢進，形質細胞増加および赤血球増加が観察される傾向にあり，剖検でみられたリンパ節の暗色部位および腫大と関連する所見と考えられた。胸腺では，15 mg/kg/日群で軽微から軽度の胸腺の細胞充実性低下が認められ，剖検でみられた胸腺の小型化とそれに伴う胸腺実重量の減少（0.84～0.49 倍）と関連する所見と考えられた。全ロルラチニブ投与群で軽微または軽度の脾臓辺縁帯のリンパ球の細胞充実性の低下がみられた。

15 mg/kg/日群でみられ，毒性学的意義が低いと考えられた剖検および病理組織学的所見が，副腎（実重量の減少［対照群の 0.82～0.70 倍］），乳腺（色素沈着または萎縮），唾液腺（分泌減少），雌の子宮/子宮頸部（萎縮または炎症）および雌の脳（病理組織学的所見を伴わない実重量の減少［0.95～0.96 倍］）に認められた。その他に臨床病理検査では，脂質代謝の変動（コレステロール［1.24～3.01 倍］およびトリグリセリド［1.19～1.58 倍］の増加，病理組織学的所見なし）および軽微な電解質の変動（カルシウム，無機リン，塩素およびナトリウムの増加）が認められた。

FOB では，ロルラチニブによる行動変化，神経/神経筋の変化または自律神経への影響は認められなかった。投与期間および休薬期間の終了時に，15 mg/kg/日群の雄または雌で，立ち上がり回数の減少および軽微な体温低下が認められた。

4 週間の休薬後，15 mg/kg/日では休薬開始後 2 週間に摂餌量の減少（対照群の 0.8～0.7 倍）が認められたものの，体重は対照群と同等であった。軽微な皮膚の痂皮形成および腹部膨満が 15 mg/kg/日でみられた。皮膚状態の改善は，皮膚の病理組織学的所見および血液学的検査値の変化が回復し，フィブリノーゲン，グロブリンおよびアルブミンの変化に回復傾向が認められたこととの関連が示唆された。膵臓の病理組織学的所見およびアミラーゼの変化には回復傾向がみられ，リパーゼの変化は回復した。肝臓における胆管過形成は持続したが，黄疸はみられず，肝臓実重量の増加および血液生化学検査値の変化には回復または回復傾向が認められた。腎臓では，尿細管の好塩基化，糸球体腎症，硝子円柱および尿細管の色素沈着（暗色調変色を伴う）の発現頻度または重症度の低下が認められ，尿検査パラメータは対照群と同等で，回復または回復傾向が認められた。坐骨神経および心臓の変化は回復あるいは回復傾向を示した。骨髄における細胞充実性の上昇および脾臓におけるリンパ球の細胞充実性の低下には回復傾向がみられ，リンパ節，胸腺，乳腺，唾液腺，子宮および子宮頸管の変化は回復した。脳および副腎重量の減少は回復傾向を示した。

ロルラチニブの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，雌雄とも用量の増加に伴い増加したが，試験 1 日から 91 日の間で蓄積性はほとんど認められなかった。15 mg/kg/日群では曝露量に性差が認められ，試験 1 および 91 日の雌の AUC_{24} はそれぞれ雄の 1.97 倍および 2.92 倍であった。ロルラチ

ニブの代謝物である PF-06895751 の曝露量は用量の増加に伴い増加し，15 mg/kg/日群では雄の曝露量は雌より高かった。15 mg/kg/日群の試験 4 週における雄および雌の PF-06895751 の AUC_{24} は，それぞれ試験 13 週の 0.34%および 0.034%であった。

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，本試験における NOAEL は雄で 8 mg/kg/日および雌で 4 mg/kg/日と考えられた。試験 13 週における非結合型 C_{max} および AUC_{24} は，雄の 8 mg/kg/日でそれぞれ 442 ng/mL および 6240 ng·h/mL，雌の 4 mg/kg/日で 451 ng/mL および 7820 ng·h/mL であった。

3.2.3. イヌ 4 週間経口投与および 4 週間回復性試験

報告書番号 [redacted]GR342，概要表 2.6.7.7C

ビーグル犬（6 匹/性/群）にロルラチニブを 4 週間経口投与し，その毒性および曝露量を評価し，4 週間休薬後の回復性を調べた。ロルラチニブ酢酸溶媒和物を 0 mg/kg/日（溶媒対照），2 mg/kg/日（1 mg/kg BID），7 mg/kg/日（3.5 mg/kg BID）または 25 mg/kg/日（12.5 mg/kg BID）の用量で雌雄イヌに投与（雄：28 日間，雌：29 日間）した。用量はロルラチニブのイヌ 14 日間投与毒性試験（[redacted]LJ056）の成績に基づいて設定した。すなわち，50 mg/kg/日の雄では重篤な毒性がみられ，瀕死期安楽殺を行ったことから，本試験では高用量を 25 mg/kg/日とし，以下 7 mg/kg/日，2 mg/kg/日および溶媒対照群を設けた。本試験では 2 匹/性/群を 4 週間の回復性試験に供した。血漿中ロルラチニブ濃度（試験 1，28 日[雄]，29 日[雌]）および CSF 中ロルラチニブ濃度（試験終了時）を測定した。一般状態観察，体重および摂餌量測定，眼科学的検査，臨床病理検査（血液学的検査，凝固系検査，血液生化学検査，尿検査：投与前，試験 29/30 日および試験 57 日［休薬期間］；アミラーゼおよびリパーゼ：投与前，試験 16，29/30 日および試験 44 日［休薬期間］ならびに試験 57 日［休薬期間］），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。

試験期間中にロルラチニブに関連した死亡例はなかった。嘔吐，肛門生殖器の汚れ，被毛の汚れが 25 mg/kg/日群で主に認められた。加えて，嘔吐が 2 mg/kg/日群で，軟便，水様便または粘液便が 2 mg/kg/日以上の群で認められた。雄の 25 mg/kg/日群では，投与期間終了時に体重減少（投与開始時の 0.96 倍）が認められたが，摂餌量には変化はなかった。ロルラチニブに関連した眼の変化はみられなかった。

ロルラチニブ投与により，肺，膵臓，骨髄，胸腺，脾臓および精巣上体に病理組織学的所見が認められた。肺における軽度から重度の炎症が 2 mg/kg/日以上の群でみられ，リンパ節の変化（大型化または洞赤血球の増加）を伴う例も認められた。25 mg/kg/日群の雌 1 例における重度の肺の炎症は毒性変化と判断され，肺および気管支リンパ節では暗色調の変色がみられた。肺の炎症は発現が散発的で用量依存的な発現状況がみられなかったことから，当初はロルラチニブとの関連は低いものと考えたが，イヌの 13 週間反復投与毒性試験（8001589）における肺の炎症所見を詳細に検討した結果，これらの所見はロルラチニブと関連したものと判断された。組織の炎症所見と符合して，炎症性の白血球像を示す臨床病理検査パラメータの用量依存的な変化が認められた。すなわち，2 mg/kg/日以上の群で白血球数（投与前値の 1.07～2.27 倍），好中球数（1.08～2.62 倍），リンパ球数（0.96～1.61 倍），単球数（1.31～4.23 倍）および大型非染色細胞数（1.83～6.48 倍）の増加，フィブリノーゲン（1.22～4.12 倍）またはグロブリン（1.09～1.29 倍）の増加，アルブミン（0.82～0.95 倍）または A/G 比（0.65～0.88 倍）の減少が認められた。軽微から軽度の膵臓腺房細胞の萎縮が 2 mg/kg/日以上の群で認められ，所見がみられた雌 1/5 例および雄 1/2 例

でアミラーゼ（1.74 倍および 1.50 倍）の増加が認められた。胸骨骨髄では，炎症性の白血球像と符合して，骨髄では軽微から軽度の顆粒球系細胞充実性の上昇が 2 mg/kg/日以上の群で認められ，25 mg/kg/日群では軽微な細胞充実性の減少が観察された。胸腺では，25 mg/kg/日群の雄で軽微から中等度のリンパ球の細胞充実性低下が認められ，胸腺重量の減少を伴う例もみられた。この胸腺のリンパ球の減少および好酸球または好塩基球の軽微な減少は，コルチコステロイドにより誘発されたストレス応答に対する二次的変化である可能性が示唆された。血液学的検査では，その他に赤血球パラメータ（赤血球数[0. 91～0.81 倍]，ヘモグロビン濃度[0.91～0.80 倍]，ヘマトクリット値[0.92～0.83 倍]）の減少が雌の 7 mg/kg/日以上の群および雄の 25 mg/kg/日群で認められ，25 mg/kg/日群でみられた網状赤血球数（1.83～1.99 倍），RDW（1.04～1.06 倍）または血小板数（1.25～1.43 倍）の増加も含め，ロルラチニブに関連した変化と考えられた。血液塗抹標本観察では，2 mg/kg/日以上の群で有棘赤血球が，25 mg/kg/日で有核赤血球が観察され，2 mg/kg/日以上の群でみられた再生性の赤血球造血反応を示す脾臓または肝臓における髄外造血の亢進との関連が示唆された。その他の臨床病理変化または病理組織学的所見としては，雄の 2 mg/kg/日以上の群でみられた精巣上体の軽微から軽度の空胞化，7 mg/kg/日以上の群で認められたナトリウム（1.00～1.02 倍）および塩素（1.01～1.03 倍）の増加，カルシウム（1.00～0.97 倍）の減少，2 mg/kg/日以上の群で認められたコレステロール（1.18～1.53 倍）の増加があった。7 mg/kg/日以上の群では肝臓実重量の増加（1.08～1.10 倍）が認められ，2 mg/kg/日以上の群で認められた ALP（1.14～4.75 倍）の増加との関連が認められたが，病理組織学的変化はみられなかった。

休薬期間中，25 mg/kg/日群の雄 1 例で投与期間中にみられた体重減少は持続したままであった。休薬期間週終了時，肺の炎症，骨髄の細胞充実性の上昇，フィブリノーゲンの変化には回復が認められ，白血球数およびグロブリンの変化には回復傾向がみられた。休薬期間週終了時，25 mg/kg/日の雌 1/2 例の膵臓腺房細胞の萎縮は軽微であり回復（雄は回復傾向）が認められた。雄では精巣上体の空胞化および胸腺リンパ球の減少に回復傾向がみられた。雌雄の肝臓重量，胸骨骨髄の病理組織学的所見、脾臓の髄外造血、雄の赤血球パラメータは回復し，雌の赤血球パラメータの変化には回復傾向が認められた。その他の臨床病理パラメータも回復または回復傾向を示した。

ロルラチニブの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，試験 1 および 28 日（雄）または 29 日（雌）に，投与量の増加に伴い増加したが，蓄積性はほとんどみられなかった。また，いずれの用量においても曝露量に性差に差はみられなかった。

25 mg/kg/日投与により毒性変化として肺の炎症が認められたことから，本試験における NOAEL は 7 mg/kg/日と考えられた。ロルラチニブの 7 mg/kg/日での試験 4 週における非結合型 C_{max} および AUC_{24}（雌雄合算）はそれぞれ 278 ng/mL および 3130 ng·h/mL であった。

3.2.4. イヌ 13 週間経口投与毒性試験

報告書番号 8001589（Sponsor Reference Number [redacted]LJ023），概要表 2.6.7.7D

ビーグル犬（3 匹/性/群）にロルラチニブを 13 週間経口投与し，その毒性および曝露量を評価した。ロルラチニブを 0 mg/kg/日（溶媒対照），2 mg/kg/日（1 mg/kg BID），7 mg/kg/日（3.5 mg/kg BID）または 25 mg/kg/日（12.5 mg/kg BID）の用量で雌雄イヌに投与した。用量はロルラチニブのイヌ 14 日間投与毒性試験（[redacted]LJ056）および 1 ヵ月間投与毒性試験（[redacted]GR342）の成績に基づいて設定した。すなわち，50 mg/kg/日を投与した雄で重篤な毒性がみられ瀕死期安楽殺を行ったが，25 mg/kg/日の 1 ヵ月間投与では死亡例はみられなかったことから，本試験では高用量を 25

mg/kg/日とし，以下 7 mg/kg/日，2 mg/kg/日および溶媒対照群を設けた。一般状態観察，体重および摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，臨床病理検査（血液学的検査，血液生化学検査：投与前，試験 6 および 13 週；凝固系検査，尿検査：投与前および試験 13 週；アミラーゼおよびリパーゼ測定：投与前，試験 4，6，8 および 13 週），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。ロルラチニブについて試験 1，6 および 13 週に，ヒトの主要代謝物（PF-06895751）について試験 4 週に曝露量を測定した。

一般状態の悪化（活動性低下，振戦，腹部膨満，散発的な体温上昇，呼吸困難または皮膚病変）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，2 例でみられた肺の炎症および 1 例でみられた下顎骨の炎症によるものであった。肺の炎症性変化は，異物の存在が認められたことから，異物の誤嚥が発端となった可能性が示唆された。下顎骨の炎症は，限局性で細菌が認められたことから，物理的外傷または歯垢によって引き起こされた歯肉の炎症が発端となった可能性が示唆された。異物の誤嚥や歯肉の損傷はイヌにおける日常的な事象であるが，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。

体重，体重増加量および摂餌量にはロルラチニブに関連した影響はほとんど認められず，眼科学的検査および心電図パラメータにもロルラチニブによる影響はみられなかった。7 mg/kg/日以上の群では，振戦の有無にかかわらない活動性の低下または異常/失調性歩行，体温上昇または皮膚所見（皮膚病変や痂皮形成の有無にかかわらない皮膚の発赤および腫脹）の発現頻度の増加が認められ，25 mg/kg/日群では腹部膨満も認められた。25 mg/kg/日群でみられたこれらの症状については，所見の発現頻度および重症度から毒性変化と考えた。加えて，2 mg/kg/日以上の群では，嘔吐の頻度の増加および間歇的な水様便が散見された。

ロルラチニブ投与により，肺，気管，皮膚，口腔，肝胆道系（肝臓，胆管および胆嚢），リンパ組織（脾臓、腸管関連リンパ組織[GALT]，胸腺およびリンパ節），消化管（胃，十二指腸，空腸および回腸）および雄生殖器（精巣，精巣上体および前立腺）に炎症性変化を含む臨床病理および器官重量の変化ならびに剖検/病理組織学的所見が認められた。25 mg/kg/日群でみられた肺，下顎骨および口腔（歯肉）における炎症および肝臓における胆管過形成（ALP の増加と関連）は毒性変化と考えた。他のすべての病理組織学的所見は，その重症度またはその本態（他の変化に対する適応反応，炎症性病変の二次的変化，コルチコステロイド誘発ストレスまたは生理学的反応）から，いずれも毒性変化とする必要はないと考えた。

安楽殺したイヌでみられたのと同様の炎症が，2 mg/kg/日以上の群でリンパ節に，7 mg/kg/日以上の群で肺および皮膚にみられ，25 mg/kg/日群の雄 2 例では気管，雌 1 例では口腔にも認められた。病理組織学的検査で細菌が観察され，肺，皮膚，口腔またはリンパ節の試料の細菌学的検査で確認された。臨床病理パラメータの変化として，白血球数（雄の 2 mg/kg/日以上の群で投与前値の 1.37～2.76 倍，雌の 25 mg/kg/日群で 2.54～2.63 倍），白血球分画およびフィブリノーゲン（雄の 2 mg/kg/日以上の群で 1.36～2.49 倍，雌の 7 mg/kg/日以上の群で 1.74～2.58 倍），グロブリン（1.09～1.40 倍）の増加，アルブミン（0.94～0.79 倍）および A/G 比（0.89～0.67 倍）の減少が雌雄の 7 mg/kg/日以上の群で認められ，炎症と符合する変化と考えられた。病理組織学的検査では，7 mg/kg/日以上の群で肺の軽微から中等度の亜急性炎症および軽微な亜急性胸膜炎が，雄の 25 mg/kg/日群で

気管に軽微な亜急性炎症がみられた。これらの肺の病理組織学的所見は，肺の実重量増加（雌雄の 25 mg/kg/日群で 1.29～1.31 倍）および剖検でみられた肺の異常な色調および堅さの異常との関連が示唆された。7 mg/kg/日以上の群では，皮膚の病理組織学的所見（表皮の潰瘍，炎症または痂皮）が認められ，剖検でみられた暗色調の擦過傷および痂皮形成との関連が示唆された。リンパ節では軽微から軽度の髄質の形質細胞増加および炎症，軽度から重度の洞赤血球の増加が 2 mg/kg/日以上の群でみられ，剖検でみられたリンパ節の変色および腫大との関連が示唆された。25 mg/kg/日群の雌 1 例では，重度の口腔内の炎症は剖検でみられた口腔内の限局性の圧迫および暗色調の変色との関連性が示唆された。

肝臓では，雌雄の 2 mg/kg/日以上の群で軽微から中等度の胆管過形成および軽微から軽度のクッパー細胞へのヘモジデリン沈着がみられ，雄の 25 mg/kg/日群の胆嚢では軽度の粘膜出血が認められた。胆管過形成は，雄の 2 mg/kg/日以上の群（投与前値の 1.37～2.54 倍）および雌の 7 mg/kg/日以上の群（1.50～3.01 倍）でみられた ALP の増加との関連が示唆された。雄の 25 mg/kg/日群および雌の 2 mg/kg/日以上の群で肝臓実重量の増加（1.19～1.39 倍）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。

2 mg/kg/日以上の群では、脾臓の色素沈着の重症化または軽微から中等度の髄外造血がみられ、25 mg/kg/日群でみられた脾臓実重量の増加との関連が示唆された。これに関連して軽度の赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値）の減少ならびに MCV および RDW の増加が 25 mg/kg/日群で，網状赤血球数（投与前値の 1.59～7.77 倍）および血小板数（1.16～2.11 倍）の増加がそれぞれ 2 mg/kg/日以上および 7 mg/kg/日の群でみとめられ，赤血球系の再生反応と符合するものであった。リンパ球の細胞充実性の低下が，脾臓（軽微）および GALT（軽微から軽度）では 25 mg/kg/日群で，胸腺（軽微から重度）では 2 mg/kg/日以上の群で，腸間膜リンパ節（軽微から軽度）では 7 mg/kg/日以上の群で認められた。胸腺の病理組織学的所見は，2 mg/kg/日以上の群でみられた胸腺の小型化，胸腺実重量の減少（0.80～0.20 倍）との関連が示唆された。リンパ球の細胞充実性の低下は，ロルラチニブ投与の直接的影響も除外することはできないが，動物の一般状態悪化に伴うコルチコステロイド誘発性ストレスに続発した可能性が考えられた。

消化器系では，軽微から軽度の胃粘膜萎縮，小腸（十二指腸，空腸または回腸）における軽微から中等度の絨毛萎縮，軽微から軽度の陰窩過形成，軽微な上皮変性または軽微な亜急性炎症が 25 mg/kg/日群で認められた。25 mg/kg/日群でみられた小腸の変化は，水様便との関連が考えられた。

雄では，精巣で軽微または中等度の精細管の変性/萎縮が，精巣上体で軽微から軽度の管腔内の細胞片または軽度の精子減少/無精子が 7 mg/kg/日以上の群でみられ，精巣（0.82～0.85 倍）および精巣上体（0.82 倍）の実重量減少との関連が示唆された。前立腺では 25 mg/kg/日群で軽微から軽度の腺萎縮が認められ，剖検でみられた前立腺の小型化との関連が示唆され，前立腺実重量の減少（0.35 倍）と符合した。

その他に臨床病理パラメータの変化として，コレステロール（雌雄の投与前値の 1.20 から 1.53 倍）およびトリグリセリド（雄で 1.69 から 2.04 倍）の増加が 7 mg/kg/日以上の群で認められた。これらの変化は脂質代謝への影響を示すもの考えられるが，関連する病理組織学的所見は認められなかった。25 mg/kg/日群で軽微から軽度のアミラーゼ（雄で 1.29～1.34 倍，雌で 1.66～1.87 倍）の増加がみられたが，これに関連する膵臓の病理組織学的所見は認められなかった。尿検査ではロルラチニブに関連した変化は認められなかった。

本試験では回復性試験群は設けなかったが，計画解剖時に認められた臨床病理パラメータの変化および剖検/病理組織学的所見は，所見の特性から，また，先に実施した試験で回復性が確認されたものであることから，いずれも可逆性であると考えられた。25 mg/kg/日群でみられた肺または口腔の中等度または重度の炎症性変化は，病理組織学的には瘢痕として残るものと考えられた。

ロルラチニブの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，試験 1，40 および 90 日に用量の増加に伴いほぼ用量相関的に増加したが，蓄積性はほとんど認められず，いずれの用量においても曝露量に性差は認められなかった。PF-06895751（ロルラチニブの代謝物）の曝露量は，用量の増加に伴い増加したが，いずれの用量においてもロルラチニブの曝露量より低く，曝露量に一貫した性差はみられなかった。25 mg/kg/日群における PF-06895751 の試験 4 週の AUC_{24} は，試験 13 週のロルラチニブの AUC_{24} の 0.56%であった。

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，本試験における NOAEL は 7 mg/kg/日と考えられた。ロルラチニブ 7 mg/kg/日投与の試験 13 週における非結合型 C_{max} および AUC_{24}（雌雄合算）はそれぞれ 330 ng/mL および 2980 ng·h/mL であった。

4. 遺伝毒性試験

ロルラチニブの遺伝毒性を in vitro および in vivo の試験により評価した（Table 1）。In vitro 遺伝毒性試験における代謝活性化には Aroclor 1254 処理雄ラット肝臓 S9 画分を用いた。これらの試験にはロルラチニブの酢酸溶媒和物を使用した。さらに，ロルラチニブの不純物（2.6.6.8.2 項）については，細菌を用いる復帰突然変異試験（in vitro）を，ロルラチニブの主要なヒト代謝物である PF-06895751 については細菌を用いる復帰突然変異試験（in vitro）および小核試験（in vitro）を実施した（2.6.6.8.3 項）。

4.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]-655113（Sponsor Reference Number [redacted]GR303），概要表 2.6.7.8A

ロルラチニブの変異原性について，*Salmonella typhimurium*（TA98, TA100, TA1535 または TA1537 株）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* pKM101 株）を用いた復帰突然変異試験で評価した。予備試験では，ロルラチニブを，0（DMSO），25，50，100，250，500，1500，2500 および 5000 µg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。本試験では，ロルラチニブを，0（DMSO），100，250，1000，2500 および 5000 µg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。突然変異誘発陽性の基準は，プレートあたりの平均復帰突然変異体が用量と共に増加し，溶媒対照群の 2 倍（TA98，TA100 および WP2 *uvrA* pKM101）または 3 倍（TA1535 および TA1537）を超えることを要件とした。陽性対照として ICR-191 アクリジン，アジ化ナトリウム，2-アミノアントラセン，2-ニトロフルオレン，および 4 ニトロキノリン N-オキシドを用いた。分析の結果，50 mg/mL ロルラチニブ調製液の濃度は調製濃度の 102%であり，許容基準である 90%以上を満たしていることが確認された。

予備試験および本試験とも，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての試験菌株について陰性反応の基準が満たされた。溶媒対照群の平均復帰突然変異コロニー数は，背景データの範囲内であり，陽性対照化合物は，以下の例外を除いて，代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について適切に陽性反応を示した。すなわち，予備試験で WP2 *uvrA* pKM101 の陽性対照群の復

帰突然変異体コロニーの平均数が代謝活性化の有無にかかわらず，背景データより高かった。しかしながら，陽性反応の基準を満たしていたことから，許容範囲内の変動と考えられ，試験の質または完全性に影響はなかった。予備試験，本試験とも，代謝活性化の有無にかかわらず，析出物および細胞毒性は観察されなかった。本試験では，代謝活性化の有無にかかわらず TA100 の 5000 µg/プレートで背景細菌叢の軽度な減少が観察された。

以上のように，ロルラチニブは，本試験条件下では代謝活性化の有無にかかわらず，*Salmonella typhimurium* TA1537，TA98，TA100 および TA1535 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* pKM101 株の平均復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって，本試験においてはロルラチニブの突然変異誘発性は陰性と考えられた。

4.2. In vitro 小核試験

報告書番号 [redacted]-655112（Sponsor Reference Number [redacted]GR304），概要表 2.6.7.8B

ロルラチニブの小核誘導能を，代謝活性化の存在下または非存在下で短時間（4 時間）または長時間（27 時間）TK6 細胞に曝露させて評価した。予備試験では，0（1% DMSO，溶媒対照），130～406 µg/mL の濃度で代謝活性化の存在下または非存在下で細胞を 4 時間処理し，0 および 18.5～249 µg/mL の濃度で代謝活性化の非存在下で 27 時間処理した。本試験では，0，293，345 および 406 µg/ mL の濃度で代謝活性化の存在下または非存在下で細胞を 4 時間処理し，0，18.5，25.6 および 57.8 µg/ mL で代謝活性化の非存在下で 27 時間処理した。陽性対照として，代謝活性化非存在下での 4 時間処理にはマイトマイシン C, 代謝活性化非存在下での 27 時間処理には硫酸ビンブラスチン，代謝活性化存在下での 4 時間処理にはシクロホスファミド一水和物を用いた。陽性対照，溶媒対照，ロルラチニブ処理のいずれについても，2000 細胞/濃度で小核を評価した。

代謝活性化の存在下または非存在下での 4 時間の処理では，細胞毒性または析出物は観察されなかった。代謝活性化非存在下での 27 時間処理後の小核評価は，18.5，25.6 および 57.8 µg/mL でそれぞれ 14%，22%および 52%の細胞毒性がみられた状況で行った。4 時間処理では 293，345，および 406 µg/mL で，小核を有する細胞の統計学的に有意な増加（p≤0.01；代謝活性化の存在下でそれぞれ 2.5%，2.5%および 2.6%，非存在下でそれぞれ 1.25%，1.4%および 2.35%）が観察され，Cochran-Armitage Test の傾向検定でも有意（p ≤0.01）であった。27 時間処理では，小核を有する細胞の統計学的に有意な増加（0.75%，p≤0.05）は 25.6 µg/mL の代謝活性化非存在下でのみ観察されたものの，Cochran-Armitage Test の傾向検定でも有意差は認められず（p =0.05114），溶媒対照の背景データの 95%信頼区間内であった。したがって，この増加は生物学的に意義のあるものとは考えなかった。溶媒対照および陽性対照群の小核を有する細胞の頻度は，代謝活性化非存在下での 27 時間処理を除いて，背景データの範囲内であった。陽性対照群の値は，溶媒対照群に比し統計学的に有意に高く，陽性対照の基準を満たしていたことから，本試験における結果は許容可能であると考えられる。

以上のように，ロルラチニブは，代謝活性化の存在下および非存在下で 4 時間処理により小核形成を誘導したが，代謝活性化非存在下では 27 時間処理によっても小核形成を誘導しなかった。

4.3. 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

報告書番号 [redacted]GR094，概要表 2.6.7.8C，2.6.7.8D

本試験では，ロルラチニブを，代謝物の存在下または非存在下での 4 時間処理後薬物を除去して 40 時間インキュベート，または代謝物非存在下での 27 時間連続処理の後に，TK6 細胞における染色体異常誘発性（セントロメア陰性）小核または異数性（セントロメア陽性）小核のいずれかを引き起こす可能性について評価した（概要表 2.6.7.8C）。8.06～1000 µmol/L の濃度のロルラチニブに曝露したところ，析出物はみられなかった。最小 1000 個の単核球細胞を小核形成の評価に供した。代謝活性化の非存在下での 4 時間処理では，軽微な細胞毒性（<25%）がすべての濃度において認められた。代謝活性化存在下での 4 時間の処理では，1000 µmol/L の濃度で細胞毒性（41%）が認められた。これらのことから，代謝活性化の存在下または非存在下での 4 時間処理では，陽性対照（マイトマイシン C またはシクロホスファミド），陰性溶媒対照（1% DMSO）およびロルラチニブ（416，645 および 1000 µmol/L）について小核誘導能を調べた。代謝活性化の非存在下での 27 時間の処理では，416 µmol/L 以上の濃度で顕著な細胞毒性（> 65%）が認められたことから，陽性対照（ノスカピン），陰性溶媒対照（1% DMSO）およびロルラチニブ（112，173 および 269 µmol/L）について小核誘導能を調べた。112，173 および 269 µmol/L のロルラチニブ濃度では，それぞれ 25.6%，38.1%および 56.9%の細胞毒性が認められた。小核を有する細胞の数は，試験したすべての濃度（代謝活性化の非存在下での 4 時間処理の 416 µmol/L および 27 時間処理の 112 µmol/L を除く）で，陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められ，試験した濃度範囲にわたる統計学的に有意な線形傾向が認められた。全ての陽性対照物質は，代謝活性化存在下での 4 時間処理を除いて，小核を有する細胞を有意に誘導した。ロルラチニブで処理した細胞で統計学的に有意な小核誘発が認められたことから，本試験の妥当性が示唆された。

さらに，代謝活性化の存在下または非存在下での 4 時間処理により得られた細胞および代謝活性化非存在下での 27 時間連続処理により得られた細胞について，蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション（FISH）法によってヒトα-サテライト汎セントロメア DNA プローブを検出することにより，小核における動原体の存在の有無について評価した（概要表 2.6.7.8D）。代謝活性化非存在下での 27 時間連続処理では，陰性対照群の合計 40 個の小核について評価した結果，50%がセントロメアシグナル陽性，50%が陰性であり，ロルラチニブ 269 µmol/L で合計 100 個の小核を評価した結果，71%がセントロメアシグナル陽性，29%が陰性であった。代謝活性化非存在下での 4 時間処理後 40 時間回復では，陰性対照群の合計 42 個の小核について評価した結果，57.1%がセントロメアシグナルの陽性，42.9%が陰性であり，ロルラチニブ 1000 µmol/L で合計 100 個の小核について評価した結果，75%がセントロメアシグナル陽性，25%が陰性であった。代謝活性化存在下での 4 時間処理後 40 時間回復では，陰性対照群の合計 40 個の小核について評価した結果，40%がセントロメアシグナル陽性，60%が陰性であり，ロルラチニブ 1000 µmol/L で合計 100 個の小核について評価した結果，86%がセントロメアシグナル陽性，14%が陰性であった。以上のように，代謝活性化の存在下または非存在下でのロルラチニブ処理により得られた細胞では，セントロメア陽性小核が多く，異数性誘発が小核形成誘導の機序であると考えられた。陰性（溶媒）対照群におけるセントロメア陽性小核およびセントロメア陰性小核の出現頻度は，本試験の妥当性を示すものであった。

以上のように，代謝活性化の存在下または非存在下で 4 時間処理，あるいは代謝活性化の非存在下での 27 時間連続処理した TK6 細胞において，ロルラチニブはセントロメアシグナル陰性の小核よりもセントロメアシグナル陽性の小核をより多数誘発した。したがって，ロルラチニブは異数性誘発機序を介して小核を誘導するものと考えられた。

4.4. In vivo 小核試験

報告書番号 AD99WW.125021ICH.BTL（Sponsor Reference Number [redacted]LJ084），概要表 2.6.7.9

ロルラチニブが，ラット骨髄において小核を有する多染性赤血球産生を誘発する可能性について試験した。ロルラチニブを 0（溶媒），10，30 または 100 mg/kg/日の用量で Wistar Han ラット（6 匹/性/群）に 2 日間経口投与した。陽性対照群（雌雄 6 匹）にはシクロホスファミド（40 mg/kg）を試験 2 日に 1 回経口投与した。骨髄の一部を採取，処理し，多染性赤血球（PCE：4000 PCE/動物）と小核を有する多染性赤血球（MNPCE）の割合をフローサイトメトリーで評価した。サテライト動物（3 匹/性/群/時点）を加え，ロルラチニブの曝露量を評価した。

溶媒対照群と比較して，ロルラチニブ投与群では総赤血球に対する PCE の割合の著しい減少は認められず，本試験においてロルラチニブが細胞毒性を誘発しないことが示された。ロルラチニブ 100 mg/kg/日を投与したラットにおいて，溶媒対照群と比較して%MNPCE の統計学的に有意な増加が認められたことから，小核誘導能が陽性であることが確認された。ロルラチニブの曝露量は用量の増加とともに増加したが，10～30 mg/kg/日では%MNPCE は雌雄とも曝露量の増加とともに増加はしなかった。雄では，これらの用量における%MNPCE は背景データの範囲内であった。雌では%MNPCE は背景データの範囲からわずかに外れたが，個々の動物の値はほぼ背景データの範囲内であった。したがって，30 mg/kg/日以下の用量で観察された統計学的に有意な%MNPCE 数の増加は生物学的に意義のある変化とは考えず，100 mg/kg/日の雌雄でみられた%MNPCE の増加を意義のある変化と考えた。溶媒対照群の%MNPCE 数は背景データの範囲内であり，陽性対照群の%MNPCE も統計学的に有意な増加を示したことから，試験の妥当性を裏付ける基準はいずれも満たされた。

以上のように，ロルラチニブは 100 mg/kg/日で MNPCE 出現率の増加を示し，小核誘発能が陽性であると考えられた。ロルラチニブへの曝露量は用量の増加に伴い増加したが，30 mg/kg/日以下の用量では MNPCE 数は曝露の増加とともには増加しなかった。

5. がん原性試験

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。

6. 生殖発生毒性試験

6.1. In vitro および in vivo 探索的試験

6.1.1. マウス胚性幹細胞を用いた試験

報告書番号 [redacted]GR240，概要表 2.6.7.11

本 in vitro 試験の目的は，マウス胚性幹細胞試験（mEST）によってロルラチニブが発生毒性を生じるか否かを評価することであった。本 mEST では，次の 2 種類のマウス不死化細胞株を用いた。すなわち，マウス胚性幹（mES）細胞（胚組織）および 3T3 細胞（線維芽細胞，成体組織）である。本試験は，白血病阻害因子の存在下では mES 細胞が未分化段階で維持され得ることが明らかになった後に開発されたものである。未分化状態から脱すると，懸滴中の mES 細胞は胚様体を形成し，適切な条件（分化培地の使用）下で主要な胚葉に分化する[1]。mEST においては分化の定義は，拍動性心筋細胞の形成によってなされた。発生毒性と一般的な細胞毒性を区別するため，

mES 細胞分化の阻害に加えて，（3T3 細胞と mES 細胞の両方の）一般的な細胞生存率を評価した。その他の分化の指標として，試験の最後に分化した mES 細胞を用いて遺伝子発現を評価した。mES 細胞分化，mES 細胞増殖および 3T3 細胞増殖の阻害は，mEST における遺伝子発現とともに，化合物の発生毒性誘発能を予測するための指標として選択した[2]。

3T3 細胞または分化した mES 細胞を 0.04～10 µg/mL の濃度範囲のロルラチニブで処理して，細胞毒性，細胞分化および遺伝子発現について検討した。500 細胞/50 µL 培地（各細胞の細胞毒性アッセイ培地）の濃度の細胞を，未処理，または溶媒対照および 8 濃度のロルラチニブで処理（triplicate）し，細胞毒性を試験 7 日に測定した。濃度反応曲線から，3T3 細胞および mES 細胞の両方について，比色信号が 50%失われる阻害濃度（細胞毒性の IC_{50} 値）を得た。細胞分化を評価するために，胚様体を，未処理，溶媒対照（DMSO）または 8 濃度のロルラチニブに曝露させた。試験 5 日に，胚様体を 24 ウェル組織培養プレートに移して，プレートの底に付着させ，さらに 5 日間分化させた。試験 10 日に，各ウェル内の心筋細胞の拍動を顕微鏡下で観察した。半数のウェルで心筋細胞の収縮が阻害された濃度（ID_{50} 値）を，濃度反応曲線から得た。試験 10 日に心筋細胞収縮の記録後，mES 細胞のサンプルからトータル RNA を抽出し，トータル RNA から cDNA を調製後，リアルタイム RT-PCR を用いて検査した。正常な分化の様子をモデル化するために，外胚葉，内胚葉および中胚葉の胚葉を表す遺伝子発現バイオマーカー，多能性または早期分化のマーカーおよび遺伝子発現データの適切な標準化のための内部基準遺伝子を評価した。選択した遺伝子は，マハラノビス距離モデルに対するユニークかつ有意義な応答を示した。mEST を評価するための最良の単一モデルはないので，mEST を用いて発生毒性の可能性を予測するにあたっての信頼性を向上させるために，線形判別分析，マハロノビス距離，ランダムフォレスト統計モデルを含む 3 つの統計モデルを使用した。

その結果，ロルラチニブは，細胞毒性を誘導する濃度よりも低い濃度で mES 細胞の拍動性心筋細胞への分化を阻害し，このことは母体毒性を引き起こす濃度よりも低い曝露量で発生毒性を引き起こす可能性があること（すなわち，選択的発生毒性の証拠）を示した。mES 細胞における分化阻害の推定最小濃度（ID_{10}）は 1.11 µg/mL であった。3 種類の統計モデルは全て，ロルラチニブが発生毒性のリスクが高いと予測している。これらの 3 種類のモデルにはそれぞれ長所と短所があり，モデルにおける解析結果は証拠の重み付けアプローチによって評価されるが，ロルラチニブの場合は解析結果が極めてよく一致している。

6.1.2. ゼブラフィッシュを用いた試験

報告書番号 [redacted]GR239，概要表 2.6.7.11

本試験の目的は，ロルラチニブがゼブラフィッシュに発生毒性を生じるか否かを調べることであった。ロルラチニブ酢酸溶媒和物を DMSO で可溶化して保存溶液を作製し，これを希釈して 0.25～1000 µmol/L の被験薬液を調製した。いずれの濃度の被験薬液も pH は許容範囲内（pH 7～8）であった。ゼブラフィッシュが曝露された DMSO の最終濃度は 0.5%であった。受精後 6 時間に，ゼブラフィッシュの卵を，Embryo medium が 500 µL 入った 24 穴プレートに 5 個/ウェルで播種した。卵（10 個/濃度）を，培地対照，溶媒対照（DMSO）またはロルラチニブに duplicate で曝露させた。実験は 3 回行い，それぞれ異なるゼブラフィッシュから得られた卵を用いて異なる日に実験した。受精後 120 時間に，ゼブラフィッシュをトリカイン溶液で麻酔し，対照群との表現型の違いを解剖顕微鏡を用いて評価した。主要な臓器（体節，脊索，尾，ひれ，心臓，顔，

神経管，および弓顎/顎）について 1～5 の 5 段階で評価した（1：重度の影響，5：正常または影響なし）。顔には，嗅覚領域，耳小胞および眼が含まれる。肝臓，卵黄球，体型，循環，浮腫，運動性および心拍数の分化についても，影響あり（1）か，影響なし（0）で評価した。形態学的評価終了後直ちに，3.91，7.82 および 15.63 µmol/L 群のゼブラフィッシュを麻酔し，組織生物分析に供した。ホモジネートしたゼブラフィッシュにおける組織中ロルラチニブ濃度は，液体クロマトグラフィー質量分析法によって測定した。

ロルラチニブに曝露されたゼブラフィッシュは，対照と比較して，すべてのロルラチニブ濃度（≥0.25 µmol/L）において，形態的差異，特に眼の虹色素胞（色素）の減少を示した。ゼブラフィッシュの *shady* 遺伝子は，白血球チロシンキナーゼをコードし，神経堤細胞から虹色素胞への分化に必要と考えられている[3]。白血球チロシンキナーゼは，ALK[4]と高度に関連しているので，ロルラチニブによる ALK 阻害は，虹色素胞の減少をもたらす可能性が生物学的にも示唆される。

組織曝露量を測定した最低用量（3.91 µmol/L）におけるゼブラフィッシュ平均組織中濃度は 9.2 ng/mL で，他の毒性（死亡または形態変化）がないものの眼の色素に形態的な異常を生じた。上から 2 番目の用量（7.82 µmol/L）におけるゼブラフィッシュ平均組織濃度は 18.5 ng/mL で，死亡例がみられ（胚の 3.33%が死亡），虹色素胞の減少ならびに弓顎/顎，顔，体節，尾，体型および心臓の形態発生の異常が認められた。

以上のように，ロルラチニブで処理したゼブラフィッシュでは，評価したすべての用量（≥0.25 µmol/L）で発生毒性が認められた。また，3.91 µmol/L（平均組織中濃度 9.2 ng/mL）までの用量では死亡はみられなかった。7.82 µmol/L（平均組織中濃度 18.5 ng/mL）では，死亡例がみられ，眼以外の器官に発生毒性が観察された。

6.2. 受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験

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は実施しなかった。

6.3. 胚・胎児発生に関する試験

予備的な胚･胎児発生毒性試験（GLP 適用）をラットおよびウサギを用いて実施した。予備試験で胎･胎児毒性および発生異常が認められた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）に基づいて本試験は実施しなかった。

6.3.1. ラット

報告書番号 20090724（Sponsor Reference Number [redacted]GR479），概要表 2.6.7.13A

本試験の目的は，ロルラチニブの妊娠および胚･胎児発生に及ぼす影響について妊娠 Wistar Han ラットを用いて予備検討を行うことであった。0 mg/kg/日（溶媒対照），1 mg/kg/日（0.5 mg/kg BID），4 mg/kg/日（2 mg/kg BID），15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）または 30 mg/kg/日（15 mg/kg BID）の用量で妊娠 6～17 日の 12 日間，雌ラット（6 匹/群）にロルラチニブを強制経口投与した。溶媒には酸性化脱イオン水（0.001N 塩酸）を用いた。用量は，ラットの反復投与毒性試験（[redacted]GR341）における忍容性に基づいて設定した。すなわち，雌の 4 mg/kg/日以上で体重および摂餌量の増加が，15 mg/kg/日では一般状態の変化が主に試験 3 週以降にみられたことから，本試験では高用量

を 30 mg/kg/日とし，以下 15 mg/kg/日，4 mg/kg/日，1 mg/kg/日および溶媒対照群を設けた。妊娠 21 日に全例を帝王切開した。母動物の死亡，一般状態，体重および体重増加量，摂餌量，剖検所見，卵巣および子宮内容物，妊娠子宮重量，胎児の生存，性別，体重ならびに外表および内臓異常を評価した。妊娠 17 日の 1 回目の投与後 1，4，7，8 および 24 時間に採血し，血中ロルラチニブ濃度を測定した。

30 mg/kg/日群の 3/6 例では，一般状態の悪化，著しい体重減少および摂餌量減少が認められたことから，妊娠 18 または 19 日に安楽殺した。ロルラチニブに関連する症状として，15 および 30 mg/kg/日で反応過敏および脱水様症状（皮膚弾力に基づく）が，30 mg/kg/日で歩行異常，活動性低下，円背位，被毛の異常（立毛，黄色被毛，身づくろいの減少または被毛の湿潤），部分的な閉眼，膣分泌液，舌の黄色化，後肢開脚，右後肢の硬直および腫脹が観察された。

30 mg/kg/日群の安楽殺した動物では，体重減少（個々の体重減少は，最高体重の日から安楽殺の日の間に 20～41g の範囲であった）および摂餌量減少がみられ，30 mg/kg/日群では妊娠 6～9 日に軽度な体重増加量の減少（対照群の 0.40 倍）が認められた。その他の母動物の体重および体重増加量の減少は，子宮重量で補正した母動物の体重および体重増加量に差異がみられなかったことから，胎児体重の減少（1 mg/kg/日）ならびに着床後胚損失の増加（1，4，15 および 30 mg/kg/日）に伴う二次的な変化と考えられた。母動物の剖検では，15 mg/kg/日群の 1 例における胸腺の腫大ならびに 15 および 30 mg/kg/日群（それぞれ 2 および 3 例）における脾臓の腫大がみられた。しかしながら，いずれの保存器官も病理組織学的検査に供されなかったことから，これらの剖検所見の意義は不明である。

発生毒性として，胚･胎児生存率の低下，胎児体重の減少ならびに胎児の外表および内臓異常の低頻度の発生がみられた。4，15 および 30 mg/kg/日群のすべての母動物で，全胚損失が認められた。1 mg/kg/日群では，早期吸収胚数の増加（1 腹当たりの早期吸収胚数が 2.4；対照群では 0.2）および後期吸収胚数の増加（1 腹当たりの後期吸収胚数が 0.6；対照群では 0.0）がみられた結果，着床後胚損失の増加（30.63%；対照群では 1.28%）および生存胎児数の減少（7.2 匹/腹；対照群では 10.5 匹/腹）が認められた。1 mg/kg/日群の平均胎児体重（雌雄を合算した値）は対照群の平均値よりも低く，対照群の 0.83 倍であった。4 mg/kg/日以上の群では胎児検査に供する胎児は得られなかった。1 mg/kg/日群では外表奇形として，後肢の異常回転，左前肢の多指（6 本）および腹膜破裂からなる複合奇形が 1 例認められた。内臓異常として，腎臓の小型化および大動脈弓離断が各 1 例にみられた。

母動物については，15 mg/kg/日以上の群で早期安楽殺，一般状態の変化および体重減少が認められたことから NOAEL は 4 mg/kg/日と考えられた。また，1 mg/kg/日群で平均胎児体重の減少，外表および内臓異常の低頻度の発生が，すべての用量で胚･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 NOAEL は得られず，最小毒性量（LOAEL）は 1 mg/kg/日と考えられた。妊娠 17 日における平均 C_{max} および AUC_{24}（いずれも非結合型）は，4 mg/kg/日群でそれぞれ 321 ng/mL および 8240 ng·h/mL, 1 mg/kg/日でそれぞれ 82.4 ng/mL および 2060 ng·h/mL であった。

6.3.2. ウサギ

報告書番号 20090725（Sponsor Reference Number [redacted]GR478），概要表 2.6.7.13B

本試験の目的は，ロルラチニブの妊娠および胚・胎児発生に及ぼす影響について妊娠した New Zealand White ウサギを用いて予備検討を行うことであった。0 mg/kg/日（溶媒対照），1 mg/kg/日（0.5 mg/kg BID），4 mg/kg/日（2 mg/kg BID），15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）または 30 mg/kg/日（15 mg/kg BID）の用量で妊娠 7～19 日の 13 日間，雌ウサギ（8 匹/群）にロルラチニブを 1 日 2 回（約 7 時間間隔）強制経口投与した。溶媒として酸性化脱イオン水（0.001N 塩酸）を用いた。用量は，ラット胚・胎児発生試験と同様，ラットの反復投与毒性試験（[redacted]GR341）における忍容性に基づいて設定した。妊娠 29 日に全例を帝王切開した。母動物の死亡，一般状態，体重および体重増加量，摂餌量，剖検所見，卵巣および子宮内容物，妊娠子宮重量，胎児の生存，性別，体重ならびに外表および内臓異常を評価した。各群 3 例について妊娠 19 日の 1 回目の投与後 1，4，7，8 および 24 時間に採血し，血中ロルラチニブ濃度を測定した。

流産が 15 および 30 mg/kg/日群で妊娠 19～22 日（4 例/群）に認められ，その後これらの動物を安楽殺した。これらの動物では，身づくろいの減少および脱毛，軟便，液状便，糞量減少または糞中の赤色液状物質ならびに流産遺残組織が認められたが，剖検では異常所見はみられなかった。流産前には，両群とも母動物の体重または摂餌量の減少が認められた。これらいずれのウサギも妊娠していたが，すべて吸収胚（全胚損失）または着床痕のみであった。1 mg/kg/日群の 1 例は左右後肢の機能障害がみられたことから，妊娠 10 日に安楽殺した。後肢麻痺の原因は不明であったが，より高用量で同様の症状がみられなかったことから，ロルラチニブ投与との関連は低いものと考えた。1 mg/kg/日以上の群では，妊娠 15～28 日に液状便，身づくろいの減少または軟便が認められた。母動物の体重増加量の増加が，1 mg/kg/日以上の群で妊娠 7～10 日（対照群の 3.0～4.3 倍）および妊娠 10～13 日（対照群の 1.2～3.2 倍），30 mg/kg/日群で妊娠 7～20 日（対照群の 2.1 倍）に認められた。母動物の体重増加量が高かったことから，15 mg/kg/日以下のロルラチニブ投与群では妊娠 8～19 日の間，30 mg/kg/日群では妊娠 7～25 日の間，母動物の平均体重の高値が認められた。母動物の摂餌量に対するロルラチニブの影響は 1 mg/kg/日以上の群で軽度ながら認められた。

胎児生存率に対するロルラチニブの影響が 4 mg/kg/日以上の用量で認められた。15 および 30 mg/kg/日群では，すべての母動物における全胚損失のために評価可能な生存胎児は存在しなかった。4 mg/kg/日群では，早期吸収胚数の増加（1 腹当たりの早期吸収胚数が 1.0；対照群では 0.3）および後期吸収胚数の増加（1 腹当たりの後期吸収胚数が 0.8；対照群では 0.4）がみられた結果，着床後胚損失の増加（18.56%；対照群では 6.17%）および生存胎児数の減少（7.9 匹/腹；対照群では 10.3 匹/腹）が認められた。4 mg/kg/日群では胎児体重に対する影響はみられず，1 mg/kg/日群では卵巣または子宮のパラメータに対する影響は認められなかった。対照群，1 および 4 mg/kg/日群では奇形児がそれぞれ 2，1 および 3 例にみられ，4 mg/kg/日群における奇形発生率の上昇はロルラチニブによるものと考えられた。4 mg/kg/日群の 1 例は複合外奇形（ドーム状頭部，前肢の内転，前肢の過伸展）および変異（高口蓋）を有していた。この胎児のドーム状頭部は，内臓検査で側脳室および第 3 脳室の重度の拡張が確認された。4 mg/kg/日群の 2 例では，内臓異常として腎臓の位置異常および形態異常が認められ，うち 1 例には食道背方鎖骨下動脈もみられた。腎臓の奇形が認められた 2 例では，尿管の短縮（変異）も観察された。1 mg/kg/日群でも食道背方鎖骨下動脈が 1 例に認められたが，この群の総奇形児数は対照群（2 例）よりも少なかったことから，ロルラチニブとの関連は低いものと考えられた。また，1 mg/kg/日群および 4 mg/kg/日群の各 1 例に，腕頭動脈の欠損および右鎖骨下動脈の起始異常が認められたが，これら

の血管変異はウサギではよく発生がみられることから，これらの変異の単発はロルラチニブとの関連は低いものと考えられた。

母動物の NOAEL は，15 mg/kg/日以上の投与により流産が認められたことから 4 mg/kg/日と考えられた。次世代の発生に関する NOAEL 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，1 mg/kg/日と考えられた。妊娠 19 日における平均 C_{max} および AUC_{24}（いずれも非結合型）は，4 mg/kg/日群でそれぞれ 84.1 ng/mL および 1130 ng·h/mL, 1 mg/kg/日群でそれぞれ 13.5 ng/mL および 195 ng·h/mL であった。

6.4. 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

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，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。

7. 局所刺激性試験

報告書番号 [redacted]GR018，概要表 2.6.7.16

ロルラチニブの非経口製剤が局所刺激性を引き起こす可能性について，New Zealand White ウサギを用いて評価した。本試験では，0.9%生理食塩液，溶媒（10 mmol/L コハク酸緩衝液および 0.9%生理食塩液，pH4.4），ロルラチニブ注射用製剤の 0.2 mg または 0.01 mg を，ウサギの耳介の静脈内または血管周囲にそれぞれ投与し，局所刺激性を誘発する可能性について評価した。生理食塩液，溶媒または 0.2 mg/ mL のロルラチニブ製剤（静脈内投与：1 mL，血管周囲投与：0.05 mL）を雌（雌 4 匹/群）の耳介に単回，静脈内および血管周囲投与した。注射部位および局所組織の炎症症状について評価し，動物を試験 4 日に安楽殺するまで症状観察を毎日行った。

ロルラチニブおよびその注射用製剤は，静脈内または血管周囲への単回投与（それぞれ 0.2 または 0.01 mg）において，良好な忍容性を示した。ロルラチニブに関連した症状または病理組織学的所見はみられなかった。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。

8. その他の毒性試験

8.1. ロルラチニブを用いた試験

8.1.1. 血液適合性試験

8.1.1.1. ウサギ

報告書番号 [redacted]LJ007，概要表 2.6.7.17

本試験では，0（溶媒対照：10 mmol/L コハク酸緩衝液および 0.9%食塩液）または 0.2 mg/mL のロルラチニブ注射用製剤の溶血性を New Zealand White ウサギの血液を用いて Dacie[5]の変法により評価した。0.2mg/mL のロルラチニブ製剤を溶媒で希釈して 10%，25%，50%および 100%の製剤溶液を調製した。平均 3%以下の軽度な溶血がすべてのロルラチニブ濃度および溶媒で認められたが，生物学的に問題となる溶血は，溶媒単独またはロルラチニブ製剤の 100%溶液によってもみられなかった。以上のように，ロルラチニブの非経口製剤は，ウサギへの静脈内投与によっては溶血性を誘発しないものと考えられた。

8.1.1.2. ヒト

報告書番号 [redacted]LJ013，概要表 2.6.7.17

本試験では，0（溶媒対照：10mmol/L コハク酸緩衝液および 0.9%食塩液）または 0.2 mg/mL のロルラチニブ注射用製剤の溶血性を，3 人のドナーから得たヒト全血を用いて Reed and Yalkowsky 法[6]により評価した。0.2 mg/mL のロルラチニブ製剤を溶媒で希釈して製剤対血液比が 1:20，1：10，1：6 および 1：4 となるよう調製した。1：20 および 1：4 の混合製剤で軽度な溶血が認められたが，生物学的に問題となる溶血とは考えられなかった。ロルラチニブによる影響を示唆する用量依存性もみられなかった。以上のように，ロルラチニブの非経口製剤は，ヒトへの静脈内投与によっても溶血性を誘発しないものと考えられた。

8.1.2. 光毒性試験

報告書番号 20097796（Sponsor Reference Number [redacted]LJ049），概要表 2.6.7.17

ロルラチニブは紫外線を吸収し(290, 317 および 320 nm の波長でのモル吸光係数はそれぞれ 6254, 10945 および 10776 L/(mol·cm)，有色組織に親和性を有する（2.6.4.4.2 項）ことから，有色ラットを用いて眼および皮膚への光毒性を評価した。Long-Evans ラット（雌 5 匹/群）にロルラチニブを 0（溶媒対照），1 mg/kg/日（0.5 mg/kg BID），4 mg/kg/日（2 mg/kg BID）または 15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）の用量で 3 日間連日強制経口投与した。溶媒として酸性化脱イオン水（0.001N 塩酸）を用いた。用量は，ラットの反復投与毒性試験（[redacted]GR341 試験）における忍容性に基づいて設定した。すなわち，雌の 4 mg/kg/日以上で体重および摂餌量の増加が，15 mg/kg/日では一般状態の変化が主に試験 3 週以降にみられ, 雄の 30 mg/kg/日では忍容性がみられなかったことから，本試験では高用量を 15 mg/kg/日とし，以下，4 mg/kg/日，1 mg/kg/日および溶媒対照群を設けた。陽性対照として, 8-メトキシソラレン (8-MOP) 15 mg/kg/日を雌ラット 3 匹に 1 日 1 回投与した。試験 3 日の 2 回目の投与後約 1 時間（おおよそのピーク血漿濃度時）に 42～44 分間，キセノンランプを用いて紫外線 A，紫外線 B および可視光をラットの皮膚および眼に照射した。試験 3 日に全ての用量について各群 3 例の曝露量を測定した。全ての動物を，紫外線照射 3 日後の試験 6 日に安楽殺した。一般状態, 皮膚状態のスコアリング（紫外線照射後 1 および 4 時間ならびに 1, 2 および 3 日），体重，眼科的検査（紫外線照射後 3 日）および眼の病理組織学的検査について評価した。

15 mg/kg/日群のトキシコキネティクス用動物 1 例が試験 3 日に死亡した。これは採血に関連した死亡であり，ロルラチニブ投与との関連はないものと考えられた。他のラットはいずれも，解剖予定日まで生存した。ロルラチニブに関連した一般状態，体重変化，有色または非有色部位おける皮膚反応はみられなかった。眼（角膜，水晶体，網膜）の眼科学的検査項目および病理組織学的検査所見に異常はみられなかった。曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，用量の増加に伴い用量依存的に増加した。陽性対照とした 8-MOP では光毒性と符合する眼および皮膚反応が生じ，病理組織学的検査によって眼の異常所見が認められた。

以上のように，ロルラチニブは反復投与後の紫外線照射によっても眼または皮膚に光毒性を誘発することはなく，NOAEL は 15 mg/kg/日（非結合型の C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 2090 ng/mL および 32700 ng·h/mL）と考えられた。

8.1.3. 7 日間投与脂質プロファイル検討試験

報告書番号 [redacted]LJ096，概要表 2.6.7.17

本試験の目的は，ロルラチニブを最長 7 日間反復投与したときの脂質および急性期タンパク質の変化の時間経過および可逆性をラットを用いて評価することであった。ロルラチニブを 0（溶媒対照）または 15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）の用量で 2 日間（コホート 1）または 7 日間（コホート 2 および 3），Wistar Han ラット（各コホート雌 5 匹/群）に強制経口投与した。コホート 3 の動物は，最終投与後 7 日間の休薬後にロルラチニブによる変化の可逆性を評価（試験 15 日に安楽殺）し，コホート 1 および 2 の動物は，それぞれ最終投与の翌日（試験 3 および 8 日）に安楽殺した。一般状態，体重，血液学的検査（コホート 1 については試験 -1（ベースライン），2 および 3 日；コホート 2 については試験-1，6 および 8 日；コホート 3 については試験 8 および 15 日），血液凝固検査（フィブリノーゲン：コホート 1，2，3 とも解剖時）および血液生化学検査（総コレステロールおよびその分画，トリグリセリド，アルブミン，ハプトグロビンおよび急性期タンパク質のα糖タンパク質（AGP）およびα_2マクログロブリン（A2M）：コホート 1 については試験 -1，2 および 3 日；コホート 2 については試験 -1，6 および 8 日；コホート 3 については試験 -1，8，10 および 15 日）について評価した。

ロルラチニブ 15 mg/kg/日を投与した動物で死亡/瀕死および一般状態の異常は認められなかった。試験 3 および 8 日に体重増加量の増加（それぞれ対照群の 1.7 倍および 2.6 倍）が認められた。白血球数の増加（白血球数[ベースラインの 1.39～2.00 倍]，好中球数[2.45～2.93 倍]，単球数[2.14～3.74 倍]および大型非染色細胞数[3.66～4.11 倍]）が炎症応答と一致して，試験 2～8 日の間のほとんどの測定時点で認められた。総コレステロール（ベースラインの 1.60～1.74 倍），高密度リポタンパク質（HDL，1.49～1.59 倍），低密度リポタンパク質（LDL，1.19～1.74 倍）および AGP（1.49～1.68 倍）の増加が試験 6，8 および 10 日に認められた。ハプトグロビンの増加（1.37～2.63 倍）も試験 2～10 日に認められた。概して試験 8 日にすべての項目の増加が最大に達した。アルブミン，トリグリセリド，A2M，およびフィブリノーゲンの変動は，変化の程度が小さいこと，変化の方向が一定でないことおよび個々の測定値が対照群の値と重複することから，ロルラチニブとの関連は低いと考えた。

7 日間の休薬により，15 mg/kg/日群で認められた変化（体重，血液学的検査および血液生化学検査を含む）はいずれも対照群と同等に回復した。

以上のように，ロルラチニブの 15 mg/kg/日を投与したラットでは，試験 3 および 8 日に体重増加量の増加が認められた。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が試験 2 日以降，総コレステロール，コレステロール分画および AGP の増加が試験 6～10 日に認められた。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。

8.1.4. 網膜電図検討試験

報告書番号 [redacted]GR284，概要表 2.6.7.17

ALK および c-Met 阻害剤のクリゾチニブ（PF-02341066）の連日投与により，ヒトでは軽度な視覚障害が認められ，Long-Evans ラットでは，網膜電図（ERG）検査で網膜の暗順応速度の有意な低下が認められた[7,8]。

本試験の目的は，雄ラットにロルラチニブを 10～12 日間投与し，ERG に及ぼす影響を評価し，影響が出る閾値ならびに関連する全身および硝子体曝露を明らかにすることであった。
Long-Evans ラット（雄 8 匹/群）にロルラチニブ塩酸塩を 0（溶媒対照：精製水），2 または 10 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。サテライト動物（雄 3 匹/群）を設け，試験 1，11 および 12 日にロルラチニブの全身曝露を，試験 12 日に硝子体曝露（右眼）を測定した。一般状態観察，体重測定（試験 1，7 および 14 日），摂餌量測定，眼科学的検査（投与開始前および ERG 評価の 1 日前）および ERG 検査（試験 10～12 日の投与後 2～4 時間または 6～8 時間）を実施した。なお，ERG 測定では暗所および明所視輝度応答，明順応および暗順応測定ならびに明視野フリッカー応答を測定した。

10 mg/kg/日群の 1 例を，腹部皮膚病変（腹部および後肢の局所潰瘍）のために計画屠殺前に安楽殺した。この病変部位の病理組織学的検査では潰瘍形成，壊死ならびに表皮，真皮および毛包上皮の炎症が認められた。試験期間中，この他には死亡発生はなく，一般状態，体重および摂餌量に変化はみられなかった。また，2 および 10 mg/kg/日群では，眼の変化はみられず，ERG パラメータに統計学的な有意差は認められなかった。

試験 1 および 11 日のロルラチニブの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加に伴い増加し，投与後約 1 時間に T_{max} に達した。10 mg/kg/日群では，試験 11 日の非結合型 C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 758 ng/mL および 8000 ng·h/mL であった。試験 12 日の投与後 4～5 時間における硝子体／血漿の曝露量比は，2 および 10 mg/kg/日群でそれぞれ 0.11 および 0.10 倍であった。

以上のように，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 ERG パラメータにロルラチニブに関連した変化は認められなかった。

8.1.5. 14 日間投与摂餌制限検討試験

報告書番号 [redacted]LJ102，概要表 2.6.7.17

本試験の目的は，ロルラチニブの反復投与がラットの摂餌量，体重増加量およびコレステロールに及ぼす影響を調べることであった。Wistar Han ラット（雌 10 匹/群）に，ロルラチニブの 0 mg/kg/日（溶媒対照，自由摂食），15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID，自由摂食），15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID，ペアフィード）を 14 日間強制経口投与した。ペアフィード群のラットには，対照群の前日の平均摂餌量と同量の飼料を給餌した。用量は，ラットの 13 週間反復投与毒性試験（[redacted]LJ022 試験）において，雌の 15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID，自由摂食）群で摂餌量および体重増加量の有意な増加が認められたことに基づいて設定した。一般状態，体重（投与開始前，試験 1～15 日），摂餌量（投与開始前および試験 1～14 日），臨床病理検査（血液学的検査および血液生化学検査；試験 1，6，10 日および試験 15 日の剖検前）について評価した。

試験期間中，死亡/瀕死例および一般状態の異常はみられなかった。ロルラチニブ投与自由摂食群では摂餌量の増加が試験 2 日から認められ，試験期間中続いた。14 日間の投与期間中の摂餌量を累積すると，ロルラチニブ投与自由摂食群の摂餌量は溶媒対照群の 1.33 倍であった。これに対し，ロルラチニブ投与ペアフィード群の摂餌量は，溶媒対照群と同等（1.01 倍）であった。ロルラチニブ投与自由摂食群の体重の増加は，摂餌量の増加を伴って試験 3 日に始まり，試験期間中続い

た。ロルラチニブ投与自由摂食群の試験 14 日の体重は，溶媒対照群の 1.11 倍であった。これに対し，ロルラチニブ投与ペアフィード群の体重は溶媒対照群と同等（1.02 倍）であった。

血液学的検査および血液生化学検査パラメータの変化は，ロルラチニブを投与したペアフィード群と自由摂食群とで同等であった。赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値）の減少（0.90～0.93 倍），網状赤血球数（1.34～1.54 倍），血小板数（1.23～1.31 倍），白血球数（2.31～2.32 倍），好中球数（5.62～6.02 倍），リンパ球数（1.59～1.66 倍），単球数（4.13～4.45 倍）および好酸球数（1.64～1.66 倍）の増加が 15 mg/kg/日群（ペアフィード群および自由摂食群）で認められた。コレステロール（1.26～1.55 倍）およびハプトグロビン（3.29～6.04 倍）の増加が 15 mg/kg/日群で試験 6，10 および 15 日に認められ，増加の程度はペアフィード群と自由摂食群で同等であった。15 mg/kg/日ペアフィード群の 1 例では，ALT（10.3 倍），AST（4.8 倍），ALP（2.93 倍），GGT（5.3 倍），GLDH（23.1 倍）および総ビリルビン（34.0 倍）の増加が試験 15 日に認められた。これらの変化は単一動物でのみ認められたことから，ロルラチニブとの関連は低いものと考えられた。15 mg/kg/日群（ペアフィードおよび自由摂食）の群平均肝重量は実重量，比重量とも溶媒対照群より高かった（1.41～1.56 倍）。

以上のように，ロルラチニブの 15 mg/kg/日を 14 日間投与し自由摂食させたとき，体重と摂餌量の増加がみられた。一方，ロルラチニブの 15 mg/kg/日を同様に投与したもののペアフィードを行ったラットでは，溶媒対照群と同等の体重推移が認められた。したがって，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は，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。

8.1.6. 4 週間投与脂質プロファイル検討試験

報告書番号 [redacted]LJ064，概要表 2.6.7.17

本試験の目的は，ラットへロルラチニブを反復投与したときの脂質プロファイルおよび曝露量を評価することであった。ロルラチニブ酢酸塩を 0 mg/kg/日（溶媒対照）または 15 mg/kg/日（7.5 mg/kg BID）の用量で Wistar Han ラットに 14 日間（雌 5 匹/群）または 28 日間（5 匹/群）強制経口投与した。ラットの 4 週間反復投与毒性試験（[redacted]GR341）で雌に 15 mg/kg/日を 28 日間投与したところ忍容性がみられたことから，これらの用量を設定した。ロルラチニブの曝露量は試験 28 日に測定した。一般状態，体重，血液学的検査および血液生化学検査（試験 15 または 29 日），コレステロールおよびトリグリセリド（試験 1，2，5，8，12，15，22 および 29 日）ならびに脂肪，肝臓および骨格筋組織中のリポタンパク質リパーゼ（LPL）について評価した。投与終了時に剖検は行わなかった。

試験期間中に死亡/瀕死および体重への影響はみられなかった。ロルラチニブによる脱毛および痂皮形成が試験 15 日前後から 7～15 日間持続して認められたが，これらの所見が原因となる一般状態への影響はみられなかった。

血液学的検査では，ロルラチニブに関連した変化として，赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値）の減少（対照群の 0.79～0.91 倍）およびこれに対する反応

性の赤血球パラメータ（MCV，RDW および網状赤血球数）の増加（1.04～1.70 倍）が認められた。血小板数の増加は認めないものの MPV の増加が認められ，血小板造血または血小板再生の活性化が示唆された。白血球数（白血球数，好中球数，リンパ球数，単球数，および好酸球数）の増加（1.79～9.66 倍）は，造血系（例えば，骨髄，脾臓）における炎症細胞あるいは炎症作用に対する需要を示唆するもので，赤血球および白血球の生産亢進をもたらした。ロルラチニブ投与により，他の脂質（超低密度リポタンパク質［VLDL］，トリグリセリド）の変動を伴うことなく，コレステロール，LDL，および HDL の増加（1.13～2.90 倍）が認められた。コレステロール，LDL および HDL の増加は，脂肪代謝への影響と符合するものであった。アルブミンの減少（0.90～0.92 倍）は，組織損傷（例えば炎症，壊死）に伴う急性期反応（陰性）を示唆するものと考えられた。BUN（1.17～1.39 倍）および無機リン（1.25～1.30 倍）の増加は，脱水による糸球体濾過率の低下による可能性が示唆された。ナトリウム（1.02～1.04 倍）および塩素（1.02～1.04 倍）の軽度な増加は，電解質の不均衡を示唆するものであった。溶媒およびロルラチニブを投与した動物から採取したすべての組織において，LPL は，定量限界（2.47mU/mL）以下であった。

以上のように，ロルラチニブ 15 mg/kg/日の 28 日間投与によっても，限られた一般状態変化が認められたのみで，忍容性が確認された。総コレステロール，HDL および LDL の変化が試験 2 日という早期に認められたが，トリグリセリドまたは VLDL には変化はみられなかった。15 mg/kg/日投与時の試験 28 日におけるロルラチニブの非結合型 C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 2170 ng/mL および 38500 ng·h/mL であった。

8.2. 不純物を用いた試験

不純物の変異原性および毒性について評価した。細菌を用いる復帰突然変異試験における代謝活性化には，Aroclor 1254 で誘導をかけた雄ラットの肝臓 S9 画分を用いた。

8.2.1.類縁物質A* の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]GR179，概要表 2.6.7.17

類縁物質A* の変異原性について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535 または TA1537 株）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* pKM101 株）を用いた復帰突然変異試験で評価した。1 回目の本試験では，類縁物質A* を，0（DMSO），15，50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。2 回目の本試験では，1 回目の本試験で疑陽性反応がみられた TA100 について，代謝活性化の存在下で 0（DMSO），313，625，1250，2500 および 5000 µg/プレートで 3 プレート/用量で評価した。突然変異誘発陽性の基準は，プレートあたりの平均復帰突然変異体が用量と共に増加し，溶媒対照群の 2 倍（TA98，TA100 および WP2 *uvrA* pKM101）または 3 倍（TA1535 および TA1537）を超えることを要件とした。陽性対照として 2-ニトロフルオレン，9 アミノアクリジン，N-エチル-N'-ニトロ-ニトロソグアニジン，ニトロフラントインおよび亜硝酸ナトリウムを用いた。溶媒中の類縁物質A* の安定性は試験の前には評価せず，ストック溶液は用時調製した。

両本試験とも，代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について陰性反応の基準が満たされた。溶媒対照群の平均復帰突然変異コロニー数は，背景データの範囲内であり，陽性対照化

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

合物は代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について適切に陽性反応を示した。どちらの本試験においても，代謝活性化の有無にかかわらず，析出物および細胞毒性は観察されなかった。

以上のように，類縁物質A* は，本試験条件下では代謝活性化の有無にかかわらず，*Salmonella typhimurium* TA1537，TA98，TA100 および TA1535 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* pKM101 株の平均復帰突然変異コロニー数を増加しなかった。したがって，本試験においては類縁物質A* の突然変異誘発性は陰性と考えられた。

8.2.2.類縁物質B* の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]GR045，概要表 2.6.7.17

類縁物質B* の変異原性について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535 または TA1537 株）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* pKM101 株）を用いた復帰突然変異試験で評価した。本試験では，類縁物質B* を，0（DMSO），15，50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。突然変異誘発陽性の基準は，プレートあたりの平均復帰突然変異体が用量と共に増加し，溶媒対照群の 2 倍（TA98，TA100 および WP2 *uvrA* pKM101）または 3 倍（TA1535 および TA1537）を超えることを要件とした。陽性対照として 2-ニトロフルオレン, 9-アミノアクリジン, N-エチル-N'-ニトロ-ニトロソグアニジン, ニトロフラントインおよび亜硝酸ナトリウムを用いた。溶媒中の類縁物質B* の安定性は試験の前には評価せず，ストック溶液は用時調製した。

本試験では，代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について陰性反応の基準が満たされた。溶媒対照群の平均復帰突然変異コロニー数は，以下の例外を除いて背景データの範囲内であり，陽性対照化合物は，代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について適切に陽性反応を示した。すなわち，TA100 の陰性対照群は S9 の非存在下で 98.0 と，許容範囲（101-178）よりわずかに低く，TA1535 の陰性対照群は S9 の存在下で 21.0 と，許容範囲（12-20）よりわずかに高かったものの，両値とも許容範囲からの逸脱はわずかで，陽性対照および遺伝子マーカーは適切であったことから，本試験の結果は評価可能と考えた。本試験では，代謝活性化の有無にかかわらず，析出物および細胞毒性は観察されなかった。

以上のように，類縁物質B* は，本試験条件下では代謝活性化の有無にかかわらず，*Salmonella typhimurium* TA1537，TA98，TA100 および TA1535 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* pKM101 株の平均復帰突然変異コロニー数を増加しなかった。したがって，本試験においては類縁物質B* の突然変異誘発性は陰性と考えられた。

8.2.3.類縁物質C* の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]GR133，概要表 2.6.7.17

類縁物質C* の変異原性について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535 または TA1537 株）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* pKM101 株）を用いた復帰突然変異試験で評価した。本試験では，類縁物質C* を，0（DMSO），15，50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。突然変異誘発陽性の基準は，プレートあたりの平均復帰突然変異体が用量と共に増加し，溶媒対照群の 2 倍（TA98，TA100 お

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

よび WP2 *uvrA* pKM101）または 3 倍（TA1535 および TA1537）を超えることを要件とした。陽性対照として 2-ニトロフルオレン, 9-アミノアクリジン, N-エチル-N'-ニトロ-ニトロソグアニジン, ニトロフラントインおよび亜硝酸ナトリウムを用いた。溶媒中の類縁物質C* の安定性は試験の前には評価せず，ストック溶液は用時調製した。

本試験では，代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について陰性反応の基準が満たされた。溶媒対照中の平均復帰突然変異コロニー数は，背景データの範囲内であり，陽性対照化合物は代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について適切に陽性反応を示した。析出物が, *Escherichia coli* では 500 µg/プレート以上の濃度で, *Salmonella typhimurium* では 1500 µg/プレート以上の濃度で寒天培地上に観察された。代謝活性化の有無に関わらず，*Escherichia coli* の 5000 µg/プレートでは析出物のために細胞毒性についての用量依存性は評価することができなかった。しかしながら，代謝活性化の非存在下で試験した *Escherichia coli* の 1500 µg/プレートおよび代謝活性化存在下で試験した *Escherichia coli* の 500 µg/プレート以上の濃度では細胞毒性が認められたことから, 最高用量の 5000 µg/プレートは両条件下において細胞毒性を示すものと考えられた。代謝活性化の非存在下では，*Salmonella typhimurium* の各菌株の 1500 µg/プレート以上の濃度で細胞毒性が観察された。代謝活性化の存在下では，*Salmonella typhimurium* の各菌株において試験した最高濃度（5000 µg/プレート）で細胞毒性が観察された。

以上のように，類縁物質C* は，本試験条件下では代謝活性化の有無にかかわらず，細胞毒性または析出が認められる濃度まで，*Salmonella typhimurium* TA1537，TA98，TA100 および TA1535 および *Escherichia coli*WP2 *uvrA* pKM101 株の平均復帰突然変異コロニー数を増加しなかった。したがって，本試験においては類縁物質C* の突然変異誘発性は陰性と考えられた。

8.2.4.類縁物質D* の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]GR134，概要表 2.6.7.17

類縁物質D* の変異原性について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535 または TA1537 株）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* pKM101 株）を用いた復帰突然変異試験で評価した。本試験では，類縁物質D* を，0（DMSO），15，50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。突然変異誘発陽性の基準は，プレートあたりの平均復帰突然変異体が用量と共に増加し，溶媒対照群の 2 倍（TA98，TA100 および WP2 *uvrA* pKM101）または 3 倍（TA1535 および TA1537）を超えることを要件とした。陽性対照として 2-ニトロフルオレン, 9-アミノアクリジン, N-エチル-N'-ニトロ-ニトロソグアニジン, ニトロフラントインおよび亜硝酸ナトリウムを用いた。溶媒中の類縁物質D* の安定性は試験の前には評価せず，ストック溶液は用時調製した。

本試験では，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての試験菌株について陰性反応の基準が満たされた。溶媒対照群の平均復帰突然変異コロニー数は，予想された背景データの範囲内かわずかに外れていた。溶媒対照群の平均復帰突然変異コロニー数は，背景データと同等であり，陽性対照化合物は代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について適切に陽性反応を示した。本試験では，最高濃度（5000 µg/プレート）で寒天培地上に析出物が観察されたが，細胞毒性は代謝活性化の有無にかかわらずどの菌株でも観察されなかった。

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

以上のように，類縁物質D* は，本試験条件下では代謝活性化の有無にかかわらず，*Salmonella typhimurium* TA1537，TA98，TA100 および TA1535 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* pKM101 株の平均復帰突然変異コロニー数を増加しなかった。したがって，本試験においては類縁物質D* の突然変異誘発性は陰性と考えられた。

8.2.5.類縁物質E* の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]GR366，概要表 2.6.7.17

類縁物質E* の変異原性について，*Escherichia coli*（WP2 *uvrA* pKM101 株）を用いた復帰突然変異試験で評価した。本試験では，類縁物質E* を，0（DMSO），15，50，150，500，1500 および 5000 μg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。突然変異誘発陽性の基準は，プレートあたりの平均復帰突然変異体が用量と共に増加し，溶媒対照群の 2 倍を超えることを要件とした。陽性対照として 2-アントラミンおよび N-エチル-N'-ニトロ-ニトロソグアニジンを用いた。溶媒中の類縁物質E* の安定性は試験の前には評価せず，ストック溶液は用時調製した。

mini Ames アッセイでは，類縁物質E* は，*Salmonella typhimurium* TA98，TA100，TA1535 または TA1537 において，最高 5000 μg/プレートの濃度まで代謝活性化の存在下で突然変異誘発性を示さなかった。

本試験では，代謝活性化の有無にかかわらず，*Escherichia coli* について陰性反応の基準が満たされた。溶媒対照群の平均復帰突然変異コロニー数は，背景データの範囲内であり，陽性対照化合物は代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について適切に陽性反応を示した。本試験では，代謝活性化の有無にかかわらず，全ての菌株で析出物および細胞毒性は観察されなかった。

以上のように，類縁物質E* は，本試験条件下では代謝活性化の有無にかかわらず，*Salmonella typhimurium* TA1537，TA98，TA100 および TA1535 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* pKM101 株の平均復帰突然変異コロニー数を増加しなかった。したがって，本試験においては類縁物質E* の突然変異誘発性は陰性と考えられた。

8.2.6.類縁物質F* の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]-510529，概要表 2.6.7.17

類縁物質F* の変異原性について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535 または TA1537 株）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* 株）を用いた復帰突然変異試験で評価した。予備試験では，類縁物質F* を，TA100 および WP2 *uvrA* については 0（DMSO），1.7，5.4，17，52，164，512，1600 および 5000 μg/プレートで，TA98，TA1535 および TA1537 については 0（DMSO），52，164，512，1600 および 5000 μg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。本試験では，類縁物質F* を，0（DMSO），492，878，1568，2800 および 5000 μg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。突然変異誘発陽性の基準は，プレートあたりの平均復帰突然変異体が用量と共に増加し，生物学的に妥当と考えられる溶媒対照群の 2 倍（TA100 および WP2 *uvrA*）または 3 倍（TA98，TA1535 および TA1537）を超えることを要件とした。陽性対照としてアジ化ナトリウム，ICR-191，2-ニトロフルオレン，

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

メチルメタンスルホネート, 4-ニトロキノリン N-オキシドおよび 2-アミノアントラセンを用いた。溶媒中の類縁物質F* の安定性は試験の前には評価せず，ストック溶液は用時調製した。

予備試験および本試験とも，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての試験菌株について陰性反応の基準が満たされた。溶媒対照群の平均復帰突然変異コロニー数は，背景データの範囲内であり，陽性対照化合物は代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について適切に陽性反応を示した。予備試験および本試験とも，代謝活性化の有無にかかわらず，析出物および細胞毒性は観察されなかった。

以上のことから，類縁物質F* は，本試験条件下では代謝活性化の有無にかかわらず，*Salmonella typhimurium* TA1537，TA98，TA100 および TA1535 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株の平均復帰突然変異コロニー数を増加しなかった。したがって，本試験においては類縁物質F* の突然変異誘発性は陰性と考えられた。

8.2.7.類縁物質G* の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]-510570 概要表 2.6.7.17

類縁物質G* （t-amyl alcohol solvate）の変異原性について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535 または TA1537 株）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* 株）を用いた復帰突然変異試験で評価した。予備試験では，類縁物質G* を，TA100 および WP2 *uvrA* については 0（DMSO），1.7，5.4，17，52，164，512，1600 および 5000 μg/プレートで，TA98，TA1535 および TA1537 については 0（DMSO），17，52，164，512，1600 および 5000 μg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。本試験では，類縁物質G* を，0（DMSO），154，275，492，1180 および 2800 μg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。突然変異誘発陽性の基準は，プレートあたりの平均復帰突然変異体が用量と共に増加し，生物学的に妥当と考えられる溶媒対照群の 2 倍（TA100 および WP2 *uvrA*）または 3 倍（TA98，TA1535 および TA1537）を超えることを要件とした。陽性対照としてアジ化ナトリウム, ICR-191，2-ニトロフルオレン，メチルメタンスルホネート，4-ニトロキノリン N-オキシドおよび 2-アミノアントラセンを用いた。溶媒中の類縁物質G* の安定性は試験の前には評価せず，ストック溶液は用時調製した。

予備試験および本試験とも，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての試験菌株について陰性反応の基準が満たされた。溶媒対照群の平均復帰突然変異コロニー数は，背景データの範囲内であり，陽性対照化合物は代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について適切に陽性反応を示した。予備試験では，1600 および 5000 μg/プレートで析出物が観察されたが，細胞毒性は認められなかった。予備試験では 5000 μg/プレートでプレート上に著しい析出物が認められたので，この用量で復帰突然変異体の数を計測することはできなかった。本試験では，1180 および 2800 μg/プレートで析出物が観察されたが，細胞毒性は観察されなかった。2800 μg/プレートでプレート上に著しい析出物が認められたので，この用量で復帰突然変異体の数を計測することはできなかった。

以上のことから，類縁物質G* は，本試験条件下では代謝活性化の有無にかかわらず，*Salmonella typhimurium* TA1537，TA98，TA100 および TA1535 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株の平均復

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

帰突然変異コロニー数を増加しなかった。したがって，本試験においては類縁物質G* の突然変異誘発性は陰性と考えられた。

8.2.8.類縁物質H* の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]-494256，概要表 2.6.7.17

類縁物質H* の変異原性について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535 または TA1537 株）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* 株）を用いた復帰突然変異試験で評価した。予備試験では，類縁物質H* を，0（DMSO），3，10，33，100，333，1000，3330 および 5000 µg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。本試験では，類縁物質H* を，0（DMSO），100，333，1000，3330 および 5000 µg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。突然変異誘発陽性の基準は，プレートあたりの平均復帰突然変異体が用量と共に増加し，生物学的に妥当と考えられる溶媒対照群の 2 倍（TA100）または 3 倍（TA98，TA1535，TA1537 および WP2 *uvrA*）を超えることを要件とした。陽性対照としてアジ化ナトリウム，9-アミノアクリジン，2-ニトロフルオレン，メチルメタンスルホネート，4-ニトロキノリン N-オキシドおよび 2-アミノアントラセンを用いた。溶媒中の類縁物質H* の安定性は試験の前には評価せず，ストック溶液は用時調製した。

予備試験および本試験とも，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての試験菌株について陰性反応の基準が満たされた。溶媒対照群の平均復帰突然変異コロニー数は，背景データの範囲内であり，陽性対照化合物は代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について適切に陽性反応を示した。予備試験および本試験とも，代謝活性化の有無にかかわらず，析出物および細胞毒性は観察されなかった。

以上のように，類縁物質H* は，本試験条件下では代謝活性化の有無にかかわらず，*Salmonella typhimurium* TA1537，TA98，TA100 および TA1535 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株の平均復帰突然変異コロニー数を増加しなかった。したがって，本試験においては類縁物質H* の突然変異誘発性は陰性と考えられた。

8.2.9. ロルラチニブ, 類縁物質I*, 類縁物質J*, 類縁物質B* および類縁物質K* を用いたラットの 4 週間投与毒性試験

報告書番号 8001432（Sponsor Reference Number [redacted]LJ092），概要表 2.6.7.17

ロルラチニブの 4 種類の不純物について，ロルラチニブに下記に示す割合（w/w%）で添加してラットに 28 日間投与して不純物の毒性試験を実施した。ロルラチニブを 0 mg/kg/日（溶媒；超純水）または 2 mg/kg/日（1 mg/kg BID）の用量で，Wistar Han ラット（10 匹/性/群）に強制経口投与した。群構成はロルラチニブ単独，ロルラチニブ+類縁物質I*（[redacted]%）+類縁物質J*（[redacted]%），ロルラチニブ+類縁物質B*（[redacted]%）およびロルラチニブ+類縁物質K*（[redacted]%）とした。各群に 3 匹/性/群を加え，試験 1 および 28 日に曝露量を測定した。一般状態，体重，摂餌量，臨床病理検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査，尿検査：試験 29 日），器官重量，剖検および病理組織学的検査について評価した。

試験期間中にロルラチニブ（単独または各不純物を伴う）による死亡または一般状態の変化はみられず，体重，摂餌量および尿検査に変化は認められなかった。

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

各不純物の添加の有無にかかわらず，ロルラチニブ投与により，臨床病理検査値の変動，肝臓重量の増加ならびに脾臓および肝臓の病理組織学的所見が認められた。これらの変化は，変化の程度が限定的であるか，または適応性の変化であることから，毒性変化とする必要はないと考えられた。不純物添加の有無にかかわらずロルラチニブを投与した雌では白血球数（対照群の 1.82～2.29 倍），好中球数（1.82～2.28 倍），リンパ球数（1.78～2.29 倍）および単球数（1.63～2.25 倍）の増加が認められた。類縁物質I*+類縁物質J* を添加した群では血小板数の増加が雄（1.18 倍）および雌（1.25 倍）で認められた。これらの血液学的変化は，雌雄の脾臓（軽微から軽度）および雌の肝臓（軽微）での造血性の変化の発現頻度および程度とともに増強した。不純物の添加および非添加にかかわらず，ロルラチニブ投与により，肝臓の実および比重量の増加が雄（1.08～1.13 倍）および雌（1.15～1.28 倍）で認められたが，剖検所見および病理組織学的所見に異常はみられなかった。すべてのロルラチニブ投与群において，フィブリノーゲンの増加（1.06～1.14 倍）が雌雄で，コレステロールの増加（1.41～1.54 倍）が雌で，無機リンの増加（1.09～1.19 倍）が雄で認められた。ロルラチニブ単独および類縁物質K* を添加したロルラチニブを投与した雌でも無機リン（1.23～1.30 倍）の軽微な増加が認められた。

ロルラチニブの曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，各用量（ロルラチニブ単独または不純物添加）間でほぼ同等であった。ロルラチニブの曝露量は雄より雌が高かった。試験 1 日の値と比較して，試験 28 日の曝露量は雄では同等かより低値で，雌ではより高かった。

以上のように，ロルラチニブ（単独または 4 種の不純物添加）2 mg/kg/日の 28 日間投与により，不純物の存在にかかわらず，同様の所見が得られた。したがって，4 種の不純物は，一定の濃度範囲ではロルラチニブ単独と比較して，新規な毒性を生じないと考えられた。

8.3. 代謝物を用いた試験

ロルラチニブの主要なヒトでの代謝物（PF-06895751）について，in vitro 復帰突然変異試験および小核試験を実施した。

8.3.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]-655184（Sponsor Reference Number [redacted]GR098），概要表 2.6.7.8E

PF-06895751 の変異原性について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535 または TA1537 株）および *Escherichia coli*（WP2 *uvrA* pKM101 株）を用いた復帰突然変異試験で評価した。予備試験では，PF-06895751 を，0（DMSO），25，50，100，250，500，1000，2500 および 5000 µg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。本試験では，PF-06895751 を，0（DMSO），100，250，500，1000，2500 および 5000 µg/プレートで代謝活性化の存在下または非存在下で 3 プレート/用量で評価した。突然変異誘発陽性の基準は，プレートあたりの平均復帰突然変異体が用量と共に増加し，生物学的に妥当と考えられる溶媒対照群の 2 倍（TA98，TA100，および WP2 *uvrA* pKM101）または 3 倍（TA1535 および TA1537）を超えることを要件とした。陽性対照として ICR-191 アクリジン，2-ニトロフルオレン，アジ化ナトリウム，4-ニトロキノリン-N-オキシドおよび 2-アミノアントラセンを用いた。分析の結果，50 mg/mL PF-06895751 調製液の濃度は調製濃度の 107%であり，許容基準である 90%以上を満たしていることが確認された。

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

予備試験および本試験とも，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての試験菌株について陰性反応の基準が満たされた。溶媒対照群の平均復帰突然変異コロニー数は，背景データの範囲内であり，陽性対照化合物は代謝活性化の有無にかかわらず，全ての試験菌株について適切に陽性反応を示した。予備試験または本試験では，代謝活性化の非存在下で，TA98，TA1537 および TA1535 の 5000 μg/プレートで背景細菌叢の軽度な減少が観察されたことを除き，代謝活性化の有無に関わらず，いずれの株においても析出物および細胞毒性は観察されなかった。

以上のように，PF-06895751 は，本試験条件下では代謝活性化の有無にかかわらず，*Salmonella typhimurium* TA1537，TA98，TA100 および TA1535 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* pKM101 株の平均復帰突然変異コロニー数を増加しなかった。したがって，本試験においては PF-06895751 の突然変異誘発性は陰性と考えられた。

8.3.2. 小核試験

報告書番号 [redacted]-655183（Sponsor Reference Number [redacted]GR096），概要表 2.6.7.8F

PF-06895751 の小核誘導能を，代謝活性化の存在下または非存在下で短時間（4 時間）または長時間（27 時間）TK6 細胞に曝露させて評価した。PF-06895751 の濃度は 48.3，60.4，75.4，94.3，118，147，184 μg/ mL とし，最高濃度は現行ガイドライン[9]で推奨されている 1 mmol/L 相当であった。いずれの濃度においても析出物および細胞毒性は観察されなかったことから，高い方から 3 濃度について小核の評価を行った。陽性対照としてマイトマイシン C（代謝活性化の非存在下で 4 時間処理），ビンブラスチン硫酸塩（代謝活性化の非存在下で 27 時間処理）およびシクロホスファミド一水和物（代謝活性化の存在下で 4 時間処理）を用いた。陽性対照群，溶媒対照群および PF-06895751 処理群について，2000 細胞/濃度で小核を評価した。
分析の結果，50 mg/mL PF-06895751調製液の濃度は調製濃度の107%であり，許容基準である90%以上を満たしていることが確認された。代謝活性化非存在下での4時間処理には118 μg/mL（細胞毒性：10%），147 μg/mL（3%）および184 μg/mL（1%）の各濃度を，27時間処理には118 μg/mL（細胞毒性：3%），147 μg/mL（2%）および184 μg/mL（2%）の各濃度を設けた。代謝活性化存在下での4時間処理には118 μg/mL（細胞毒性：4%），147 μg/mL（4%）および184 μg/mL（3%）の各濃度を設けた。代謝活性化の存在下，非存在下にかかわらず，PF-06895751処理により小核の有意な増加は認められなかった。溶媒対照群および陽性対照群の小核発現頻度は，以下の場合を除き，背景データの範囲内であった。すなわち，溶媒対照群および陽性対照群における代謝活性化存在下での4時間処理および陽性対照群における代謝活性化非存在下での27時間処理での小核発現頻度が背景データより高かった。しかしながら，溶媒対照群の値は文献公表値と同等で，陽性対照群の値は溶媒対照群に比し有意に高く，陽性対照としての要件を満たしていることから，本成績は許容可能であると考えられる。

以上のように，PF-06895751は184 μg/ mL（1mmol/L相当）までの濃度で，代謝活性化の存在下および非存在下での4時間処理および代謝活性化非存在下での27時間処理において，TK6細胞における小核誘発性は陰性であった。

9. 考察および結論

9.1. 標的臓器毒性

ロルラチニブの非臨床安全性試験の結果に基づき，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，認知および神経機能ならびに腎臓で認められた。主な所見以外の所見は，ラットおよびイヌのリンパ造血系（炎症と関連なし）の所見および脂質プロファイルの変化ならびにラットの体重および摂餌量の変化であった。また，ロルラチニブは胚・胎児発生毒性を有する可能性があり，異数性誘発性を有することが確認された。

9.1.1. 炎症

4 週間以上の反復投与毒性試験で，ラットの皮膚および子宮頸部ならびにイヌの肺，気管，皮膚，リンパ節および下顎骨を含む口腔に炎症が認められ，これは 13 週間反復投与毒性試験でイヌに認められた瀕死状態と関連していた。また，炎症は炎症性白血球像，急性期タンパク質の増加，骨髄の顆粒球系細胞充実性およびリンパ節のリンパ球系の細胞充実性の上昇と関連していた。再生性赤血球生成反応に関連した髄外造血，細胞充実性低下などの，リンパ造血系（脾臓，リンパ節および胸腺）での所見は，複数の組織でみられた炎症所見とは関連しないと考えられた。

ラットの皮膚の病理組織学的所見として，4 mg/kg/日以上のロルラチニブを 13 週間投与したところ軽微から軽度の表皮の炎症および軽微から中等度の皮膚の線維化が認められ，15 mg/kg/日のロルラチニブを 13 週間投与したところ軽微から中等度の潰瘍が認められた。これらの所見は創傷および痂皮形成などの所見と関連していた。15 mg/kg/日で認められたこれらの皮膚所見は，皮膚潰瘍の重症度から毒性と判断された。15 mg/kg/日のロルラチニブを 13 週間投与したところ，雌ラット 2 例に軽微から軽度の子宮頸部の炎症が認められた。13 週間投与毒性試験で 25 mg/kg/日のロルラチニブをイヌに投与したところ，肺内の異物による肺の炎症および下顎骨の炎症・感染に起因する一般状態の悪化がみられ，瀕死状態となった。病理組織学的検査では，7 mg/kg/日以上の用量で肺の軽微から中等度の亜急性炎症および軽微な亜急性胸膜炎が認められ，25 mg/kg/日の用量で気管に軽微な亜急性炎症が認められた。肺に認められた病理組織学的所見は，肺の実重量増加ならびに剖検でみられた異常な色調および堅さの異常と関連していた。7 mg/kg/日以上の用量で皮膚に認められた病理組織学的所見（軽微から中等度の表皮の潰瘍，炎症または痂皮形成）は，暗色調の擦過傷および痂皮形成の剖検所見と関連していた。リンパ節では，2 mg/kg/日以上の用量で軽微から軽度の髄質の形質細胞増加および炎症ならびに軽度から重度の洞赤血球の増加が認められ，これらはリンパ節の変色および腫大の剖検所見と関連していた。また，イヌ 4 週間投与試験で 2 mg/kg/日または 25 mg/kg/日を投与した動物に，散発性の肺の炎症および気管支リンパ節の洞赤血球増加が認められた。イヌ 13 週間投与試験では，上述の 25 mg/kg/日を投与した雌 1 例の下顎骨および口腔に重度の炎症が認められ，これは剖検でみられた圧迫および暗色調の変色と関連していた。肺の炎症は，異物がみられたことから異物の誤嚥により生じたものと考えられ，下顎骨の炎症は，炎症が限局的であり細菌が認められることから，物理的外傷または歯垢を原因とする歯肉の炎症により生じたものと考えられた。異物の誤嚥および歯肉損傷はイヌにおける日常的な事象であり，25 mg/kg/日のロルラチニブをイヌに投与したことでこれらの傷害が悪化したと考えられる。25 mg/kg/日の用量で認められた肺および骨の炎症所見は，その重症度および早期の安楽殺を要する一般状態の悪化との関連から毒性と判断された。

ラットに 8 mg/kg/日以上（雄）または 4 mg/kg/日以上（雌）のロルラチニブを 13 週間投与したところ，皮膚の所見および子宮頸部の炎症に関連すると考えられる臨床病理パラメータの変化として，白血球数，フィブリノーゲンまたはグロブリンの増加ならびにアルブミンおよび A/G 比の減少が認められた。また，イヌに 2 mg/kg/日以上の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

を含む炎症所見に関連した臨床病理パラメータの変化が認められた。また，ロルラチニブを 2 週間以内の期間で投与したところ，ラットおよびイヌに炎症反応を示唆する白血球数（白血球数，リンパ球数, 好中球数および単球数）の用量依存的な増加が認められたが, 炎症を伴っていなかった（剖検所見・病理組織学的所見もみられなかった）。

ロルラチニブを 4 週間または 13 週間反復投与したところ，ラットおよびイヌに炎症に関連したその他の所見として骨髄の顆粒球系細胞充実性の上昇が認められた。さらに，ラットに 8 mg/kg/日以上（雄）または 4 mg/kg/日（雌）を 13 週間投与したところ，リンパ節にリンパ球の細胞充実性の上昇，造血亢進ならびに形質細胞増加および赤血球増加が認められ，これらは剖検でみられたリンパ節の暗色部位および腫大と関連していた。これらの所見は白血球数の増加および炎症性白血球像による二次的変化と考えられ，毒性とは考えなかった。

組織での炎症反応および関連する臨床病理パラメータの変化は，ラットおよびイヌで 4 週間の休薬後に回復傾向を示すか回復した。

ロルラチニブの 13 週間投与毒性試験での炎症所見に関する NOAEL は, ラットで 8/4 mg/kg/日（雄/雌　以下同，非結合型 AUC_{24} はそれぞれ 6240 ng•h/mL および 7820 ng•h/mL），イヌで 7 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} : 2980 ng•h/mL）と考えられ，この時の曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）[a]のそれぞれ 3.5，4.4 および 1.7 倍であった。

9.1.2. 膵臓

ラット単回投与毒性試験ならびにラットおよびイヌを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験で膵島細胞の変性または膵臓腺房細胞萎縮ならびにアミラーゼおよびリパーゼの増加が認められた。

ラット単回投与試験では，100 mg/kg で膵島細胞に軽微な変性が認められた。ラット 14 日間投与試験では，60 mg/kg/日で中等度から重度の腺房細胞萎縮，軽微なチモーゲン顆粒の減少および軽微から軽度の膵島の血管拡張が認められ，剖検では堅さの異常および異常な色調を示していた。ラットに 8 mg/kg/日以上のロルラチニブを 4 週間以上投与したところ，膵臓に軽度から重度の腺房萎縮が認められた。膵臓の所見は，部分的な単細胞壊死，チモーゲン顆粒の減少ならびにより重度の場合にみられる線維化および炎症を伴う腺房細胞の萎縮を特徴としていた。膵臓の所見の発現頻度および重症度は用量依存的であり，しばしばアミラーゼおよびリパーゼの増加と関連していた。イヌ 14 日間投与試験では，5 mg/kg/日以上でみられた軽微な膵臓の腺房細胞の萎縮は顆粒の消失，細胞質の空胞化および時に中等度の単細胞壊死を伴う腺房細胞の萎縮を特徴とし，アミラーゼおよびリパーゼの増加に関連するさらなる腺房細胞の消失と小葉内線維組織の増加と関連していた。イヌ 4 週間投与試験では，2 mg/kg/日以上で膵臓に軽微から軽度の腺房萎縮が認められ，一部のイヌではアミラーゼの増加を伴っていた。イヌ 13 週間投与試験では，25 mg/kg/日で膵臓の病理組織学的所見を伴わない軽微から軽度のアミラーゼの増加が認められた。

[a] CTD 2.7.2.2.2.2.1.3 項 Table 28, AUCtau: 5233　ng•h/mL に非結合型分率 0.340 を乗じて算出

15 mg/kg/日以上を投与したラットおよび 50 mg/kg/日を投与したイヌに認められた中等度から重度の膵臓の所見は，毒性と判断された。

ラットおよびイヌを用いた 4 週間または 13 週間反復投与毒性試験で，4 週間の休薬後に膵臓の病理組織学的所見ならびにアミラーゼおよびリパーゼの変化は回復傾向を示すか回復した。

セリチニブなどの承認されているその他の ALK 阻害薬の一部で膵臓の所見が認められている[10]。ラットではセリチニブの 4 週間以上の投与により膵臓の萎縮および炎症，胆膵管炎ならびにびらん/壊死が認められ，サルでは 4 週間の投与によりチモーゲン顆粒の減少が認められた。クリゾチニブおよびアレクチニブを含むその他の ALK 阻害薬の非臨床試験では膵臓の所見は全く認められていないため，膵臓の所見が ALK 阻害と関連しているかは不明である。

ロルラチニブの 13 週間投与毒性試験での膵臓に関する NOAEL は，ラットで 8/4 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} はそれぞれ 6240 ng•h/mL および 7820 ng•h/mL），イヌで 25 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：8900 ng•h/mL）と考えられ，この時の曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 3.5，4.4 および 5.0 倍であった。

9.1.3. 肝胆道系

ラットで 2 週間以上またはイヌで 4 週間以上の反復投与毒性試験で，肝胆道系（肝臓，胆管および胆嚢）に対する影響が認められた。

ラットに 60 mg/kg/日を 2 週間または 15 mg/kg/日以上を 4 週間もしくは 13 週間投与したところ，単細胞壊死および有糸分裂が散見される肝門部胆管の増加を特徴とする軽微から軽度の胆管過形成ならびに胆管拡張または黄疸の剖検所見が認められた。イヌでは 13 週間投与試験で軽微から中等度の胆管過形成の発現頻度および重症度の上昇が認められたが，4 週間投与試験では当該所見は認められなかった。イヌ 13 週間投与試験の 25 mg/kg/日では，類洞クッパー細胞への軽度の色素沈着（ヘモジデリンと一致）の増加および胆嚢粘膜での軽度の出血も認められた。胆管過形成は，ラットではビリルビンの増加または黄疸の発現と関連がある場合に，イヌでは重症度が中等度である場合に毒性と判断された。

ラットに 2 週間以上投与したところ，いずれの用量でも肝臓の実重量および比重量の増加が認められ，これらは 15 mg/kg/日以上でみられた剖検での肝臓の腫大または暗色調変化ならびに病理組織学的所見での軽微な肝細胞肥大または類洞細胞充実性上昇のと関連していた。イヌでは，7 mg/kg/日以上のロルラチニブを 4 週間または 2 mg/kg/日以上を 13 週間投与したところ肝重量の増加が認められたが，剖検所見または病理組織学的所見を伴っていなかった。肝重量の増加および関連する肝細胞肥大は代謝の活性化に対する適応反応であり，毒性ではないと判断された[11]。

ラットへの 2 週間以上の投与およびイヌで 4 週間以上の投与で認められた肝胆道系の所見は，肝酵素（ALT，AST，ALP，GLDH または GGT）および総ビリルビンの増加と関連していた。

ロルラチニブの 13 週間投与後にラットで認められた肝臓の胆管過形成を除いて，ラットおよびイヌを用いた 4 週間または 13 週間投与試験では 4 週間の休薬後に肝酵素の増加，肝重量の変化および胆道系の病理組織学的所見は回復傾向を示すか回復した。

ロルラチニブの 13 週間投与毒性試験での肝胆道系に関する NOAEL は，ラットで 8/4 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} はそれぞれ 6240 ng•h/mL および 7820 ng•h/mL），イヌで 7 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：2980 ng•h/mL）と考えられ，この時の曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 3.5，4.4 および 1.7 倍であった。

9.1.4. 心血管系

ロルラチニブが心血管系に対して影響を及ぼす可能性を評価するため，in vitro，ex vivo および in vivo 安全性薬理試験を実施した（2.6.2.4 項）ところ，ロルラチニブが hERG カリウムチャネルおよび L 型カルシウムチャネルの弱い阻害薬であることが明らかとなり，遅延ナトリウム電流も増加させた。ex vivo または in vivo 試験では PR 間隔および QRS 間隔の延長が認められ，in vivo 試験では血圧および心拍数が変化した。ロルラチニブをラットに 4 週間以上投与により，心臓で軽微な病理組織学的所見および心臓重量の増加が認められたが，明らかな毒性変化ではなかった。

hERG カリウムチャネル，L 型カルシウムおよびナトリウムチャネル，血管収縮ならびに心機能に対するロルラチニブの影響を評価するため，モルモットの単離心臓（ランゲンドルフ灌流心モデル）を用いた ex vivo 試験を実施した。ロルラチニブは hERG カリウムチャネルおよび L 型カルシウムチャネルを阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 203.1 µmol/L および 44.0 µmol/L であった。100 µmol/L では遅延ナトリウム電流を増加させた（310.5%）。30 µmol/L 以下のロルラチニブでは，ラット摘出大動脈リング標本で血管収縮は認められなかった。モルモットの単離心臓モデルにて，ロルラチニブは 1 µmol/L から 30 µmol/L で濃度依存的に PR 間隔を延長し，30 µmol/L の濃度で最も延長した（46.9%）。

単回投与試験および反復投与試験で，テレメトリーを装着したラットおよびイヌに心血管系に対するロルラチニブの影響（血圧および心拍数の変化ならびに心臓パラメータに対する関連する二次的な影響）が認められた。ラットでは，10 mg/kg または 30 mg/kg のロルラチニブ単回投与後に用量依存的な血圧（収縮期，拡張期および平均血圧）の上昇が認められ，投与 2～3 時間後に最も上昇した（+37 mmHg）。10 mg/kg/日以上を投与したラットでは心拍数が変化し，特徴的な二相性の反応がみられ，投与 1～2 時間後に最も減少した（-36 bpm）後，投与 12～21 時間後に増加した（+32 bpm）。ラット 14 日間投与毒性試験の心エコー検査では，20 mg/kg/日以上で心室拡張末期容量，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。これら変化は左心室腔の拡大，左心室壁厚増大および心容積の増大を示唆していた。ラット 4 週間投与毒性試験では，雄の 8 mg/kg/日以上および雌の 4 mg/kg/日以上で，病理組織学的所見を伴わない心臓実重量の増加が認められ，ラット 13 週間投与毒性試験では，15 mg/kg/日でアニチコフ細胞の軽微な増加を伴う心臓実重量の増加が認められた。心臓の大きさの増大および重量の増加は，心臓組織への直接的な影響ではなく血行動態の変化に対する代償性反応を示すものであると考えられる。前負荷および後負荷の増加に対して左室が順応する（心室拡張および壁厚増大）ことが報告されている[12]。

イヌを用いた安全性薬理試験（2 mg/kg/日のロルラチニブを 5 日間および 15 mg/kg/日のロルラチニブを 12 日間投与）または 14 日間投与毒性試験では，収縮期血圧の低下（最大で-37 mmHg），心拍数の増加（最大で+17 bpm），PR 間隔の延長（最大で+9 msec），QRS 間隔の延長（最大で+3 msec），左室内径短縮率の上昇（+4%）および QT 間隔の短縮（-16 msec）が認められた。モ

ルモットの単離心臓モデルで観察された所見から，PR 間隔の延長はロルラチニブによる直接的な影響と考えられたが，QT 間隔の短縮および左室内径短縮率の上昇は心拍数の増加による二次的なものと考えられた。イヌ 13 週間投与試験では，25 mg/kg/日まで心電図パラメータに対する影響は認められなかった。血圧および心拍数パラメータにおいてラットとイヌで認められた心血管系プロファイルの差異は，種特異的なロルラチニブへの反応によると考えられた。

イヌを用いた安全性薬理試験（15 mg/kg/日のロルラチニブを 12 日間投与）で認められた血圧，心拍数および心電図パラメータに対する影響は 5 日間の休薬後に回復した。ラットの 4 週間投与毒性試験または 13 週間投与毒性試験で認められた心臓重量の増加またはアニチコフ細胞の増加は 4 週間の休薬後に回復した。テレメトリーを装着したラットでの血圧および心拍数に対する回復性およびラットでの心エコーの変化に対する回復性は評価しなかった。

心血管系への影響（血圧および心拍数）に関する NOAEL はラットでは求めることができず，LOAEL は 10 mg/kg（非結合型 C_{max}：524 ng/mL）と考えられた。LOAEL における曝露量はヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 C_{max}（201 ng/mL）[a]の 2.6 倍であった。イヌを用いた 12 日間投与安全性薬理試験での心血管系への影響（血圧，心拍数および心電図の変化）に関する NOAEL は 2 mg/kg/日（非結合型 C_{max}：67.7 ng/mL）と考えられ，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 C_{max} の 0.3 倍であった。ラット 13 週間投与毒性試験での心臓への影響に関する NOAEL は，ラットで 8/4 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} はそれぞれ 6240 ng•h/mL および 7820 ng•h/mL）と考えられ，この時の曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 3.5 倍および 4.4 倍であった。

9.1.5. 雄性生殖器

ラットおよびイヌを用いた 2 週間以上の反復投与毒性試験で，雄性生殖器（精巣，精巣上体および前立腺）に影響が認められた。

ラット 14 日間投与毒性試験では，20 mg/kg/日以上で用量依存的な精巣精細管の変性（軽微から中等度）および精巣上体管腔の組織片の増加（軽微から軽度），60 mg/kg/日で精巣上体の炎症が認められた。ラット 4 週間投与毒性試験およびラット 13 週間投与毒性試験では，30 mg/kg/日までの用量で精巣および精巣上体に異常所見は認められなかった。イヌ 4 週間投与毒性試験では，2 mg/kg/日以上で軽微から軽度の精巣上体の空胞化が認められた。また，イヌ 13 週間投与毒性試験では，7 mg/kg/日以上で軽微から中等度の精巣精細管の変性・萎縮が認められ，精細管内腔に部分的な多核または変性生殖細胞がみられた。これは精巣上体での軽微から軽度の管腔内の細胞片または軽度の精子減少症/無精子を伴っていた。前立腺では，25 mg/kg/日を投与したイヌに軽微から軽度の腺萎縮が認められた。これらの所見は，雄イヌの精巣，精巣上体および前立腺の重量減少と関連していた。雄性生殖器の所見は，重症度が低く精子形成活性は持続していたことから毒性ではないと判断された。

イヌ 4 週間投与毒性試験でみられた精巣上体の空胞化は 4 週間の休薬後に回復傾向を示した。

---

[a] 2.7.2.2.2.2.1.3 項 Table 28，日本人患者での C_{max}: 591 ng/mL に非結合型分率 0.340 を乗じて算出

ロルラチニブの 13 週間投与毒性試験での雄性生殖器に関する NOAEL は，ラットで 15 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：13600 ng•h/mL），イヌで 25 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：8900 ng•h/mL）と考えられ，この時の曝露量はヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 7.6 倍および 5.0 倍であった。

なお，雄性生殖器への影響がラットおよびイヌでみられており，その安全域も大きくないことから，これらの雄性生殖器の所見については，添付文書で注意喚起している。

9.1.6. 消化管

ラットおよびイヌを用いたロルラチニブの単回投与毒性試験および反復投与毒性試験で，消化管に対する影響（一般症状および剖検所見・病理組織学的所見）が認められた。

単回投与毒性試験および反復投与毒性試験で，イヌで嘔吐が，ラットおよびイヌで糞便異常（軟便，水様便および粘液便）が認められた。ラット 14 日間投与試験では，60 mg/kg/日で瀕死状態に関連した腺胃の中等度から重度のびらん/潰瘍および前胃粘膜の軽度から中等度の浮腫が認められた。イヌ 14 日間投与試験では，50 mg/kg/日の 1 例で胃に中等度の局所的潰瘍が認められ，剖検では胃表面の異常がみられた。このほかにラット 14 日間投与試験または 4 週間投与試験では，軽微から軽度の胃腺の単細胞壊死ならびに小腸および大腸のびらん/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 14 日間投与試験または 13 週間投与試験では，2 mg/kg/日以上で胃粘膜萎縮ならびに小腸の絨毛萎縮，陰窩過形成，上皮の変性および亜急性炎症が認められたが軽微から中等度の変化であったことから，毒性学的意義の低い変化と考えられた。

ラットまたはイヌ 4 週間投与毒性試験で投与期間中に認められた消化管の症状は休薬期間中に概ね消失した。

ロルラチニブの 13 週間投与毒性試験での消化管に関する NOAEL は，ラットで 15 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} は雄および雌でそれぞれ 13600 ng•h/mL および 39700 ng•h/mL），イヌで 25 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} : 8900 ng•h/mL）と考えられ，この時の曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 7.6, 22 および 5.0 倍であった。

9.1.7. 末梢神経

ロルラチニブ 30 mg/kg/日を雄ラットに 4 週間，15 mg/kg/日を雌ラットに 4 週間または 13 週間反復投与したところ，末梢神経に軽微な軸索変性が認められた。この変性は，膨脹したエオジン強陽性の軸索が，明るい空胞や場所によっては digestion chamber 形成を伴ってみられ，所見の特徴から毒性と判断した。ロルラチニブは，TrkB-PAE 細胞における脳由来神経栄養因子（BDNF）刺激による TrkB リン酸化を阻害し，その IC_{50} 値は 93 ng/mL である（2.6.2.2.1.2 項）。これは軸索変性が認められた曝露量の 2000 ng/mL（15 mg/kg/日のロルラチニブを雌ラットに 13 週間投与したときの非結合型曝露量）を大きく下回っていた。BDNF およびその受容体である TrkB は，全身の神経細胞機能の生存維持を調節することで，正常な神経細胞の発生および分化において重要な役割を果たしている[13]。したがって，TrkB 阻害による BDNF-TrkB シグナルの調節異常が，毒性試験で観察された軸索変性を引き起こした機序である可能性が考えられる。

ラットを用いた 4 週間投与試験および 13 週間投与試験では 4 週間の休薬後に軸索変性は認められなかった。

ラットを用いた 13 週間投与毒性試験での軸索変性に関する NOAEL は, ラットで 8/4 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} はそれぞれ 6240 ng•h/m および 7820 ng•h/mL）と考えられ，この時の曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 3.5 倍および 4.4 倍であった。

9.1.8. 認知機能および神経機能

海馬脳スライスモデルを用いた ex vivo 試験，ラット文脈更新モデルを用いた試験（2.6.2.4 項）および FOB の結果から，ロルラチニブが中枢神経系に影響を及ぼし，認知障害を引き起こす可能性が示唆された。さらに，ラット，イヌおよびヒトの脳および CSF 中では測定可能な濃度のロルラチニブが検出されたことから，ロルラチニブは血液脳関門を通過することが示された。

ロルラチニブが認知機能に影響を及ぼす可能性を，ラット海馬大脳切片モデルを用いた ex vivo 試験およびラット文脈更新モデルを用いた in vivo の探索的認知機能試験で評価した。海馬脳スライスを用いた試験では，ロルラチニブは長期増強を有意に減弱させたが，この長期増強は学習および記憶形成の根本的な細胞機構の 1 つであることが広く認識されている[14]。この影響は 1 µmol/L（406 ng/mL）で認められ，細胞を用いて測定した TrkB のリン酸化に対する IC_{50} 値の 93 ng/mL を上回っていた。一方，0.1 µmol/L（41 ng/mL）ではこの影響は認められなかった。

文脈更新モデルを用いた試験では，3，10 および 30 mg/kg のロルラチニブを単回投与したときに記憶想起スコアが低下した。ロルラチニブ 10 および 30 mg/kg を投与したときの非結合型の薬物脳内濃度（それぞれ 137 ng/g および 511 ng/g[a]）は，いずれも細胞を用いて測定した野生型 ALK のリン酸化に対する IC_{50} 値の 0.6 ng/mL（2.6.2.2.1.3.1 項）を上回っており，また細胞を用いて測定した TrkB のリン酸化に対する IC_{50} 値の 93 ng/mL と同程度以上であった。3 mg/kg の用量では，試験間で感受性にばらつきがみられ，ロルラチニブの非結合型の脳内濃度は 24.6～31.4 ng/g であり，細胞を用いて測定した TrkB のリン酸化に対する IC_{50} 値をわずかに下回っていた。手掛かり誘導更新応答，nose poke の総数，その他の認知機能測定または間接的な運動の測定に対する影響は認められなかった。文脈更新モデルを用いた試験での認知機能の変化は，重症度が低いことから毒性ではないと判断した。TrkB 受容体はラットでのシナプスの可塑性，長期増強および記憶プロセスに関与するため[15], 試験でみられた認知機能の変化は TrkB 受容体の阻害によるものと考えられる。しかしながら，マウスの脳内には ALK が発現していることが示されており，脳の発達に ALK は重要な役割を果たすと考えられることから[16,17]，ロルラチニブの薬理作用により上述の影響が生じた可能性も否定することはできない。

ラットを用いた 14 日間反復投与毒性試験で試験 3 日および試験 13 日に機能観察総合評価（FOB）を実施した結果，60 mg/kg/日の用量で中枢神経系への影響が認められ，異常行動（歯打ち音），不随意運動（後方突進および震え），歩行異常，反射反応の低下（協調性のない空中正向反射および伸筋突伸反応の低下）などが認められた。ロルラチニブの曝露量が大きい動物では，同一用量群の曝露量が小さい動物に比べて中枢神経系への影響が認められる頻度が高かった。試験 13

[a] 脳重量 1 g が 1 mL に相当すると仮定した。ロルラチニブの Wistar Han ラットにおける脳内非結合型分率は 0.12 であった。

日にみられた所見の一部は，中枢神経系に対する直接的な影響または瀕死状態に伴う二次的なものであった可能性が考えられる。一方，FOB で中枢神経系に対する影響が一部認められた試験 3 日以前に，瀕死状態は認められなかった。ロルラチニブに関連した FOB の所見は，20 mg/kg/日以下の用量では認められなかった。ロルラチニブを最高 30 mg/kg/日までの用量で投与したラットの 4 週間投与試験または 13 週間投与試験では，14 日間反復投与毒性試験で 60 mg/kg/日を投与したときと同程度の曝露量に達していたにもかかわらず，FOB で異常は認められなかった。ラット 13 週間投与試験では，4 mg/kg/日以上の雌で脳の実重量の減少が認められたが，ラットまたはイヌを用いたいずれの試験でも中枢神経系に病理組織学的所見は認められなかった。

ラット 13 週間投与毒性試験での中枢神経系の所見に関する NOAEL は 15 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} は雄および雌でそれぞれ 13600 ng•h/mL，および 39700 ng•h/mL）であり，この時のの曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 7.6 倍および 22 倍であった。

9.1.9. 腎臓

4 週間以上の反復投与毒性試験で，ラットに腎臓の所見が認められた。

腎臓の病理組織学的所見はラット 13 週間投与試験の 15 mg/kg/日の雌に主に認められ，軽微から軽度の糸球体腎症，硝子円柱および動脈の変性・壊死ならびに尿細管の好塩基化および色素沈着の発現頻度または重症度の増加が認められた。糸球体腎症はいくつかの糸球体に対して部分的に影響を及ぼし，好酸性硝子様物質によるメサンギウムおよび糸球体毛細血管壁の肥厚を特徴としていた。動脈壁の変性・壊死は，腎皮質血管壁の硝子化を特徴としており，フィブリノイド壊死または出血を伴う場合もみられた。腎尿細管に沈着した色素は黄金色であり，剖検でみられた褐色変色と関連していた。腎臓の所見は尿検査の結果と関連しており，ビリルビン上昇を伴う尿の暗色化, 尿量増加ならびに尿比重および pH の低下と関連していた。ラット 4 週間投与試験では，雄の 2 mg/kg/日以上，雌の 15 mg/kg/日で血中尿素窒素，クレアチニンの増加または尿 pH の低下が認められたが，これらは腎臓の病理組織学的所見を伴っていなかった。イヌでは，13 週間までの反復投与毒性試験では，50 mg/kg/日までの用量で腎臓の所見は認められなかった。

15 mg/kg/日のロルラチニブを投与したラットでみられた腎臓の所見は毒性と判断され，4 週間投与試験または 13 週間投与試験での 4 週間の休薬後に腎臓に関する所見は回復傾向を示すか回復した。

ラットを用いた 13 週間投与毒性試験での腎臓の所見に関する NOAEL は， ラットで 8/4 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} でそれぞれ 6240 ng•h/mL および 7820 ng•h/mL）と考えられ， この時の曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 3.5 倍および 4.4 倍であった。

9.1.10. リンパ造血系

ロルラチニブを 2 週間以上投与したラットおよびイヌでは，脾臓での髄外造血などの再生性の赤血球生成反応および脾臓，リンパ節および胸腺でのリンパ球の細胞充実性低下など，リンパ造血組織（脾臓，リンパ節および胸腺）の所見がみられたが，ラットおよびイヌの複数の組織でみられた炎症所見とは関連しないと考えられた。

ロルラチニブを 2 週間以上反復投与したところ，ラットでは雄の 2 mg/kg/日以上または雌の 4 mg/kg/日以上，イヌでは 2 mg/kg/日以上の用量で脾臓での軽微から重度の髄外造血が認められ，これは脾臓実重量の増加および脾臓の腫大と関連していた。軽微な赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値）の低下がラットでは 2/1 mg/kg/日（雄雌，以下同）以上，イヌでは雄の 25 mg/kg/日，雌の 7 mg/kg/日以上の用量で認められ，それに伴い，用量依存的な網状赤血球数，血小板数または血小板容積の増加がラットでは雄の 2 mg/kg/日以上または雌の 4 mg/kg/日以上，イヌでは 2 mg/kg/日以上の用量で認められ，これは再生性の赤血球生成反応と一致していた。

ラットでは，8/4 mg/kg/日以上のロルラチニブを 2 週間以上反復投与したところ軽微から重度の脾臓辺縁帯の細胞充実性低下が認められ，腸間膜リンパ節では軽微から重度の赤血球増加または組織球増加が認められた。イヌでは，7 mg/kg/日以上のロルラチニブを 13 週間投与したところ脾臓，腸間膜リンパ節および GALT に軽微から軽度のリンパ球の細胞充実性低下が認められた。ラット 13 週間投与試験では，15 mg/kg/日で軽微から軽度の胸腺の細胞充実性低下が認められた。イヌの胸腺では，50 mg/kg/日の 2 週間投与でごく少数の可染性マクロファージが認められ，25 mg/kg/日を 4 週間および 2 mg/kg/日以上を 13 週間投与したところ軽微から重度の細胞充実性低下が認められた。ラットおよびイヌでみられた胸腺の細胞充実性の低下は，胸腺の小型化および実重量の減少と関連していた。これらの器官でのリンパ球の細胞充実性低下は，忍容性を示さない用量における動物の健康状態の悪化により引き起こされた，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た。しかしながら，瀕死状態に関連しない用量ではロルラチニブによる直接的な影響である可能性が考えられる。リンパ造血系の所見は，重症度が低い，あるいは適応性の反応と考えられることから毒性ではないと判断された。

リンパ造血系に対する影響は，4 週間投与試験または 13 週間投与試験でての 4 週間の休薬後に回復傾向を示すか回復した。

13 週間投与毒性試験でのリンパ造血系の所見に関する NOAEL は，ラットで 15 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：雄ラット 13600 ng•h/mL，雌ラット 39700 ng•h/mL），イヌで 25 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：8900 ng•h/mL）と考えられ，この時の曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 7.6，22 および 5.0 倍であった。

9.1.11. 脂質および体重変化

ラットにロルラチニブを最長 13 週間投与したところ，摂餌量の増加に関連した用量依存的な体重および体重増加量の増加が認められたが，毒性学的意義は低いものと考えた。イヌでは同様の影響は認められなかった。

ラット 4 週間投与試験では，4 mg/kg/日以上の雌で投与期間および休薬期間中に体重増加が認められた。一方，摂餌量の変化（投与期間中は増加，休薬期間中は減少）が 8 mg/kg/日以上の雄および 4 mg/kg/日以上の雌で認められた。ラット 13 週間投与試験では，15 mg/kg/日の雌では投与期間中に体重および体重増加量の増加が認められ，これらは摂餌量の増加と関連していた。15 mg/kg/日の雌では，4 週間の休薬期間にかけて体重減少が認められ，休薬後は対照群と同様の体重となった。ロルラチニブを 2 週間以上投与したところ，ラットおよびイヌの脂質プロファイルに変化が認められた。ラットでは，60 mg/kg/日のロルラチニブを 2 週間投与したところコレステロールの増加が認められ，13 週間投与試験では 2/1 mg/kg/日以上の用量でコレステロールの増

加，8/4 mg/kg/日以上の用量でトリグリセリドの増加が認められた。イヌでは，50 mg/kg/日のロルラチニブを 2 週間投与したときおよび 2 mg/kg/日以上を 4 週間投与したときにコレステロールの増加が認められ，7 mg/kg/日以上を 13 週間投与したときにコレステロールおよびトリグリセリドの増加が認められた。ラットおよびイヌに認められた脂質プロファイルの変化は病理組織学的所見を伴っておらず，また， 4 週間投与試験または 13 週間投与試験での 4 週間の休薬後に回復傾向を示すか回復した。摂餌量，体重増加量および脂質の増加は，重症度が低く病理組織学的所見を伴っていないため毒性ではないと判断された。

脂質画分プロファイルに対するロルラチニブの影響およびその推移を，ラットを用いた 7 日間投与試験および 4 週間投与試験でさらに評価した。7 日間投与試験では，試験 6～10 日に総コレステロールおよび脂質画分コレステロールの増加が認められた。4 週間投与試験では，試験 2 日目からの全時点またはほとんどの時点で総コレステロール，HDL および LDL の増加が認められ，LDL は対照値よりも何倍も高く，同様の時点での HDL よりも高かった。4 週間の投与では VLDL またはトリグリセリドに変化は認められなかった。脂肪，肝臓および骨格筋にリポタンパクリパーゼ（LPL）は検出されなかった。

摂餌量，体重増加量および脂質プロファイルに対するロルラチニブの影響を，雌ラットに 14 日間投与してさらに検討した。15 mg/kg/日のロルラチニブを投与するラットには，自由に摂餌させる（自由摂食群）か摂餌量を揃えて摂餌させた（溶媒対照群の前日の摂餌量を給餌，ペアフィード群）。ロルラチニブ投与自由摂食群の摂餌量は溶媒対照群よりも多く，これは試験 2 日から試験期間中続いた。ロルラチニブ投与自由摂食群では，摂餌量の増加に伴い試験 3 日から試験期間中にかけて体重増加が認められた。ロルラチニブ投与ペアフィード群の体重は溶媒対照群と同様であり，このことから体重の増加は摂餌量の増加によることが示された。試験 6，10 および 15 日に総コレステロールの増加が認められ，変化の程度はロルラチニブ投与ペアフィード群とロルラチニブ投与自由摂食群で同様であり，このことからロルラチニブに関連したコレステロールの増加は摂餌量の増加によるものではないことが示された。本試験では血漿中または脳内のロルラチニブ曝露量は評価していないが，ラットを用いた 4 週間投与毒性試験（12GR341）で 15 mg/kg/日のロルラチニブを投与したところ，剖検時の血漿中ロルラチニブ曝露量（AUC_{24}）および CSF 中曝露量はそれぞれ 68500 ng•h/mL および 262.3 ng/mL であった。したがって，摂餌制限検討試験におけるロルラチニブの中枢神経系への曝露量は，TrkB キナーゼを阻害する十分に高い量であったと考えられる（細胞を用いて測定した TrkB リン酸化に対する IC_{50} 値は 93 ng/mL）。TrkB およびそのリガンドである BDNF は中枢神経系の食欲調節中枢に発現している[18]。マウスでは BDNF または TrkB 遺伝子座に機能喪失型突然変異が生じることで，過食症および肥満につながることが示されている[19,20]。さらに，様々な TrkB アゴニストを中枢投与または末梢投与することで，一部のげっ歯類の肥満モデルでは摂餌量および体重増加量が抑制されたあるいは，TrkB および BDNF は，摂餌量に関係なくエネルギー消費の調節に関与しているとの報告がある[21, 22]。これらの文献から，TrkB および BDNF は食欲調節およびエネルギー恒常性において重要な役割を果たしている可能性が考えられる。ロルラチニブ投与によりみられた摂餌量，体重増加量およびコレステロールの増加の所見は，脂質代謝に関するその他の機序である可能性を否定することはできないが，TrkB キナーゼの阻害に関連したものと考えられる。

13 週間投与毒性試験での脂質，体重および摂餌量に関する NOAEL は，ラットで 15 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：雄ラット 13600 ng•h/mL，雌ラット 39700 ng•h/mL）と考えられ，この時の曝露

量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 7.6 倍および 22 倍であった。

9.1.12. 胚・胎児発生

ラットおよびウサギの胚・胎児発生に関する試験では，発生毒性として胚・胎児生存率低下，胎児体重減少および奇形が認められた。また，ゼブラフィッシュおよび胚性幹細胞モデルを用いた試験の結果から，ロルラチニブは発生毒性を有する可能性が示されている。

ラットの胚・胎児発生に関する試験では，15 mg/kg/日以上のロルラチニブ投与により，母体毒性として一般状態の変化または体重減少が認められた。4 mg/kg/日以上を投与したラットおよび 15 mg/kg/日以上を投与したウサギの全例で，全胚死亡または流産が認められた。さらに，1 mg/kg/日を投与したラットおよび 4 mg/kg/日を投与したウサギに，早期および後期吸収胚数の増加，着床後胚損失の上昇ならびに生存胎児数の減少による胚・胎児生存率低下が認められた。ラット試験の 1 mg/kg/日群では，胎児体重減少がみられ，低い発現率の外表奇形および内臓異常が認められた（後肢の異常回転，左前肢の多指（6 本）および腹膜破裂からなる複合奇形が 1 例にみられ，腎臓の小型化および大動脈弓離断が各 1 例にみられた）。ウサギ試験では，4 mg/kg/日以下の用量で胎児体重に対する影響は認められなかった。しかしながら，4 mg/kg/日の投与で認められた胎児奇形発生率の上昇はロルラチニブに関連したものと考えた（胎児 1 匹に複数の奇形として側脳室および第 3 脳室の重度の拡張を示すドーム状頭部，前肢の内転ならびに前肢の過伸展からなる複合奇形が 1 例にみられ，別の胎児 2 例に内臓異常として腎臓の位置異常および形態異常がみられ，うち 1 例には食道背方鎖骨下動脈もみられた）。

さらに，ゼブラフィッシュおよびマウスの胚性幹細胞を用いた試験の結果から，ロルラチニブは発生毒性を有する可能性が示された。0.25 µmol/L 以上のロルラチニブをゼブラフィッシュに投与したところ，3.91 µmol/L までの濃度では致死性を伴わず眼の虹色素胞（色素）の減少が認められた。7.82 µmol/L の濃度では，致死性を伴う弓顎/顎，顔，体節，尾部，体形および心臓の形態発生の異常が認められた。ロルラチニブの組織中曝露量を測定した最低用量（3.91 µmol/L）では，組織中濃度は 9.2 ng/mL であった。ロルラチニブは拍動性心筋細胞へのマウスの胚性幹細胞の分化を阻害し，その濃度は細胞毒性を示す濃度よりも低かった。マウスの胚性幹細胞における分化阻害の推定最低濃度（ID_{10}）は 1.11 µg/mL であった。

発生毒性は ALK 阻害薬のクラスエフェクトであると考えられる。承認されている ALK 阻害薬では，胚・胎児発生毒性として全胚死亡，着床後胚損失の上昇，胎児体重の減少などが報告されている[7,10,23]。さらに，ALK mRNA の発現がマウスでは胚形成期に神経系全体に認められ，またラットの発生では後根神経節ニューロンサブタイプに認められる[24]ことから，哺乳類の ALK は神経系の正常な発達および機能において役割を果たしていると考えられる。

ラットの胚・胎児発生毒性試験では，発生に関する NOAEL はラットでは設定できず，LOAEL は 1 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：2060 ng•h/mL）であった。一方，ウサギの胚・胎児発生毒性試験では，1 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24}：195 ng•h/mL）の用量では発生に対する毒性は認められなかった。ラット胚・胎児発生毒性試験の LOAEL およびウサギ胚・胎児発生毒性試験の NOAEL での曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 1.2 倍および 0.1 倍であった。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。

9.1.13. 異数性誘発性

遺伝毒性試験の結果から，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。TK6 細胞を用いた in vitro 試験で，代謝活性化系の存在下および非存在下において 293 µg/mL 以上のロルラチニブで 4 時間処理したところ，TK6 細胞の小核形成が顕著に増加した。ラットを用いた in vivo 小核試験で 100 mg/kg/日のロルラチニブを 2 日間投与したところ，小核形成の顕著な増加が誘導されたが，30 mg/kg/日以下の用量では誘導されなかった。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[25,26,27]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（非結合型 AUC_{24}：雄ラット 17700 ng•h/mL，雌ラット 45500 ng•h/mL）と考えられ，この時の曝露量は，ヒト推奨用量（100 mg QD）での定常状態における非結合型 AUC_{24}（1780 ng•h/mL）のそれぞれ 9.92 倍および 26 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。

9.1.14. その他の所見

4 週間以上の反復投与毒性試験では，ラットおよびイヌに副腎の所見，クレアチンキナーゼの変化および電解質の変動が認められ，ラットでは乳腺，子宮および唾液腺の病理組織学的所見ならびに肺機能の変化も認められた。

ロルラチニブを 13 週間投与したところ，ラットおよびイヌに副腎の所見が認められた。副腎重量は，15 mg/kg/日を投与したラットでは減少し，25 mg/kg/日を投与したイヌでは増加した。これは軽微の副腎皮質の肥大が認められ早期に安楽殺した 25 mg/kg/日の雄イヌ 1 例を除き，病理組織学所見を伴っていなかった。各試験の最高用量において発現した副腎重量の変化は，一般症状または瀕死状態と関連しており，また全般的なストレス反応を反映していた可能性がある。副腎の所見は毒性ではないと判断し，また，4 週間の休薬後に回復傾向を示した。

ロルラチニブを 4 週間以上投与したところ，雄ラットに乳腺の所見が認められた。4 週間投与毒性試験で 30 mg/kg/日および 13 週間投与毒性試験で 15 mg/kg/日を投与したところ，雄ラットに軽微から中等度の乳腺萎縮が認められた。さらに，13 週間の投与後には，すべての用量で雄ラットの乳腺上皮に軽微から軽度の色素沈着の増加が認められた。ラットの乳腺には，ヒトにはみられない性的二型性が確認されている[28]。したがって，本所見はヒトへの外挿性の低い変化と考えられた。乳腺の所見は 4 週間の休薬後に回復した。

15 mg/kg/日のロルラチニブを 13 週間投与した雌ラットでは，軽微な子宮萎縮が認められたが，毒性学的意義は低いと考えた。また，休薬により回復した。

ラット 13 週間投与試験では，雄の 8 mg/kg/日以上，雌の 4 mg/kg/日以上の用量で唾液腺に軽微な分泌減少（顆粒管での分泌顆粒の減少）が認められた。唾液腺の所見の毒性学的意義は低いと考えた。また，休薬により回復した。

ロルラチニブの単回投与により，雄ラットに肺機能に対する影響が認められた（CTD 2.6.2.4.1.3.1）。1 回換気量の低下が 30 mg/kg/日では投与約 60 分後に一時的に認められ，100 mg/kg/日では投与 200～240 分後に認められたが，毒性学的意義は低いと考えた。本試験で評価したいずれの用量でも，呼吸数または分時換気量に顕著な変化は認められなかった。

ラット 13 週間投与試験では，雄の 2 mg/kg/日以上または雌の 1 mg/kg/日以上で軽度から中等度のクレアチンキナーゼの減少が認められ，25 mg/kg/日を投与した瀕死状態のイヌでは増加が認められたが，病理組織学的所見を伴っていなかった。

反復投与毒性試験でラットおよびイヌに電解質の変動が認められた。ラット 13 週間投与毒性試験では 4 mg/kg/日以上で，イヌ 4 週間投与毒性試験では 2 mg/kg/日以上の雄および 7 mg/kg/日の雌で，軽微な無機リン，ナトリウム，カルシウムまたは塩素の増加または減少が認められた。

ロルラチニブは，UVA 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。また，血液適合性試験（in vitro）およびウサギにおける静脈内および血管周囲投与による局所刺激性試験（in vivo）において，評価された用量または濃度ではロルラチニブによる血管障害性または溶血性は示唆されなかった。

10. 総括

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。

11. 参考文献

[1] Genschow E, Spielmann H, Scholz G, et al. Validation of the embryonic stem cell test in the international ECVAM validation study on three in vitro embryotoxicity tests. Alternatives to Laboratory Animals 2004;32(3):209-44.

[2] Paquette JA, Kumpf SW, Streck RD, et al. Assessment of the embryonic stem cell test and application and use in the pharmaceutical industry. Birth Defects Research (Part B): Developmental and Reproductive Toxicology 2008;83(2):104-11.

[3] Lopes SS, Yang X, Muller J, et al. Leukocyte tyrosine kinase functions in pigment cell development. PLoS Genetics 2008;4(3):e1000026.

[4] Morris SW, Naeve C, Mathew P, et al. ALK, the chromosome 2 gene locus altered by the t(2;5) in non-Hodgkin's lymphoma, encodes a novel neural receptor tyrosine kinase that is highly related to leukocyte tyrosine kinase (LTK). Oncogene 1997;14(18):2175-88.

[5] Dacie JV. The congenital haemolytic anaemias. In: The Hemolytic Anaemias. 2nd ed. New York: Grunne and Stratton; 1962: p. 96-100.

[6] Reed KW, Yalkowsky SH. Lysis of human red blood cells in the presence of various cosolvents. PDA Journal of Parenteral Science and Technology 1985;39(2):64-9.

[7] クリゾチニブ コモン・テクニカル・ドキュメント（CTD） モジュール 2.6.6 毒性試験の概要文およびモジュール 2.6.7 毒性試験概要表 (2012 年 3 月承認時)

[8] クリゾチニブ コモン・テクニカル・ドキュメント（CTD） モジュール 2.7.4 臨床的安全性（2017 年 5 月承認時）

[9] 医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンスについて 薬食審査発 0920 第 2 号 平成 24 年 9 月 20 日

[10] セリチニブ コモン・テクニカル・ドキュメント（CTD） モジュール 2.6.6 毒性試験の概要文およびモジュール 2.6.7 毒性試験概要表

[11] Hall AP, Elcombe CR, Foster JR, et al. Liver hypertrophy: a review of adaptive (adverse and non-adverse) changes – conclusions from the 3rd international ESTP expert workshop. Tox Path 2012;40(7):971-94.

[12] Ross J. Afterload mismatch and preload reserve: a conceptual framework for the analysis of ventricular function. Prog Cardiovasc Dis. 1976;18(4):255-64.

[13] Allen SJ, Dawbarn D. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. Clin Sci. 2006;110(2):175-91.

[14] Lynch MA. Long-term potentiation and memory. Physiol Rev. 2004;84(1):87-136.

[15] Yamada K, Nabeshima T. Brain-derived neurotrophic factor/TrkB signaling in memory process. J Pharmacol Sci. 2003;91(4):267-70.

[16] Bilsland JG, Wheeldon A, Mead A, et al. Behavioral and neurochemical alterations in mice deficient in anaplastic lymphoma kinase suggest therapeutic potential for psychiatric indications. Neuropsychopharmacology. 2008;33(3):685-700.

[17] Iwahara T, Fujimoto J, Wen D, et al. Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. Oncogene. 1997;14(4):439-49.

[18] Nakagomi A, Okada S, Yokoyama M, et al. Role of the central nervous system and adipose tissue BDNF/TrkB axes in metabolic regulation. NPJ Aging Mech Dis. 2015;1:15009-19.

[19] Kernie SG, Liebl DJ, Parada LF. BDNF regulates eating behavior and locomotor activity in mice. EMBO J. 2000;19(6):1290-1300.

[20] Lyons WE, Mamounas LA, Ricaurte GA, et al. Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities. Proc Natl Acad Sci USA. 1999;98(26):15239-44.

[21] Lin JC, Tsao D, Barras P, et al. Appetite enhancement and weight gain by peripheral administration of TrkB agonists in non-human primates. PLoS ONE. 2008;3(4):e1900.

[22] Tsuchida A, Nonomura T, Nakagawa T, et al. Brain-derived neurotrophic factor ameliorates lipid metabolism in diabetic mice. Diabetes Obes Metab. 2002;4(4):262-9.

[23] アレクチニブ　コモン・テクニカル・ドキュメント（CTD）　モジュール 2.6.6 毒性試験の概要文およびモジュール 2.6.7　毒性試験概要表

[24] Palmer RH, Vernersson E, Grabbe C, et al. Anaplastic lymphoma kinase: signaling in development and disease. Biochem J. 2009;420(Pt 3):345-61.

[25] 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.

[26] Parry JM, Fielder RJ, McDonald A. Thresholds for aneuploidy-inducing chemicals. Advisory Committee on Mutagenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment of the UK Department of Health. Mutagenesis. 1994;9(6):503-4.

[27] 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. Mutat Res. 2000;464(1):41-51.

[28] Lucas JN, Rudmann DG, Credille KM, et al. The rat mammary gland: morphologic changes as an indicator of systemic hormonal perturbations induced by xenobiotics. Toxicol Pathol. 2007;35(2):199-207.

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW 2
2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES 8
2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA 10
2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE 12
2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY 14
2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 16
2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY 23
2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY 29
2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY 41
2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY 46
2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO 56
2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO 60
2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO 62
2.6.7.8D GENOTOXICITY: IN VITRO 64
2.6.7.8E GENOTOXICITY: IN VITRO 66
2.6.7.8F GENOTOXICITY: IN VITRO 69
2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO 71
2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 73
2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 75
2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 78
2.6.7.16 LOCAL TOLERANCE 81
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES 82

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06463922

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/Wistar Han	Oral Gavage	Single	0, 10, 30, 100	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ011	NA
Escalating-Dose	Dog/Beagle	Oral Gavage	Single	25, 50, 100 (12.5, 25, 50 BID)	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ032	NA
Repeat-Dose Toxicity[b]								
Nonpivotal	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	2 Days	100/50, 300/150[c]	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ077	NA
	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	7 Days[d]	2, 8, 15 (1, 4, 7.5 BID)	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ025	NA
	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	14 Days	0, 6, 20, 60 (0, 3, 10, 30 BID)	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ022	NA
	Dog/Beagle	Oral Gavage	14 Days	0, 5, 15, 50 (0, 2.5, 7.5, 25 BID)	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ056	NA
Pivotal	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	4 Weeks (with 4-Week Recovery)	0/0, 2/1, 8/4, 30/15 (0/0, 1/0.5, 4/2, 15/7.5 BID)[c]	Yes	Pfizer WRD	[redacted]GR341	NA
	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	13 Weeks (with 4-Week Recovery)	0/0, 2/1, 8/4, 15/15 (0/0, 1/0.5, 4/2, 7.5/7.5 BID)[c]	Yes	[redacted][e]	8001588	[redacted]LJ022
	Dog/Beagle	Oral Gavage	4 Weeks (with 4-Week Recovery)	0, 2, 7, 25 (0, 1, 3.5, 12.5 BID)	Yes	Pfizer WRD	[redacted]GR342	NA
	Dog/Beagle	Oral Gavage	13 Weeks	0, 2, 7, 25 (0, 1, 3.5, 12.5 BID)	Yes	[redacted][e]	8001589	[redacted]LJ023

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06463922 (continued)

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* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	In Vitro	NA	25 to 5000 µg/plate[f]	Yes	[redacted][g]	[redacted]-655113	[redacted]GR303
Micronucleus, FISH	TK6 cells	In Vitro	NA	MN: 112 to 1000 µM FISH: 269, 1000 µM	No	Pfizer WRD	[redacted]GR094	NA
Micronucleus	TK6 cells	In Vitro	NA	293 to 406 µg/mL[h] 18.5 to 57.8 µg/mL[i]	Yes	[redacted][g]	[redacted]-655112	[redacted]GR304
Micronucleus	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	2 Days	0, 10, 30, 100	Yes	[redacted][j]	AD99WW.125021ICH.BTL	[redacted]LJ084
Carcinogenicity								
Not conducted								
Reproductive and Developmental Toxicity								
Developmental	Mouse embryonic stem cells and 3T3 fibroblasts	In Vitro	NA	0.04 to 10 µg/mL	No	Pfizer WRD	[redacted]GR240	NA
Developmental	Zebrafish	In Vitro	NA	0.25 to 1000 µM	No	Pfizer WRD	[redacted]GR239	NA
Embryo-Fetal Development	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	Gestation Days 6-17	0, 1, 4, 15, 30 (0, 0.5, 2, 7.5, 15 BID)	Yes	[redacted][k]	20090724	[redacted]GR479
Embryo-Fetal Development	Rabbit/New Zealand White	Oral Gavage	Gestation Days 7-19	0, 1, 4, 15, 30 (0, 0.5, 2, 7.5, 15 BID)	Yes	[redacted][k]	20090725	[redacted]GR478

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06463922 (continued)

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	0, 0.2 mg (IV) 0, 0.01 mg (PV)	No	Pfizer WRD	[redacted]GR018	NA
Other Toxicity Studies								
Studies with Lorlatinib								
In Vitro Blood Compatibility	Rabbit/New Zealand White	In Vitro	NA	0.2 mg/mL	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ007	NA
In Vitro Blood Compatibility	Human	In Vitro	NA	0.2 mg/mL	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ013	NA
Phototoxicity	Rat/Long-Evans	Oral Gavage	3 Days	0, 1, 4, 15 (0, 0.5, 2, 7.5 BID)	Yes	[redacted][k]	20097796	[redacted]LJ049
Effect on Lipid Profile	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	7 Days[l]	0, 15 (0, 7.5 BID)	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ096	NA
Electroretinogram	Rat/Long-Evans	Oral Gavage	10-12 Days	0, 2, 10	No	Pfizer WRD	[redacted]GR284	NA
Effect on Food Consumption, Body Weight Gain, and Cholesterol	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	14 Days	0, 15, 15 (0, 7.5, 7.5 BID)[m]	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ102	NA
Effect on Lipid Profile	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	28 Days[n]	0, 15 (0, 7.5 BID)	No	Pfizer WRD	[redacted]LJ064	NA
Studies with Impurities								
Bacterial Mutation of 類縁物質A* [o]	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	In Vitro	NA	15 to 5000 µg/plate	No	Pfizer WRD	[redacted]GR179	NA

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06463922 (continued)

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
Bacterial Mutation of 類縁物質B*	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	In Vitro	NA	15 to 5000 µg/plate	No	Pfizer WRD	[redacted]GR045	NA
Bacterial Mutation of 類縁物質C*	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	In Vitro	NA	15 to 5000 µg/plate	No	Pfizer WRD	[redacted]GR133	NA
Bacterial Mutation of 類縁物質D*	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	In Vitro	NA	15 to 5000 µg/plate	No	Pfizer WRD	[redacted]GR134	NA
Bacterial Mutation of 類縁物質E*	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	In Vitro	NA	15 to 5000 µg/plate	No	Pfizer WRD	[redacted]GR366	NA
Bacterial Mutation of 類縁物質F*	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	In Vitro	NA	52 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	[redacted]-510529	NA
Bacterial Mutation of 類縁物質G*	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	In Vitro	NA	17 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	[redacted]-510570	NA

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06463922 (continued)

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
Bacterial Mutation of 類縁物質II* [o]	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	In Vitro	NA	100 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted][p]	[redacted]-494256	NA
Repeat-Dose of PF-06463922 with Impurities[q]	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	4 Weeks	0, 2[r] (0, 1 BID)	Yes	[redacted][s]	8001432	[redacted]LJ092
Studies with Metabolites								
Bacterial Mutation with PF-06895751[t]	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	In Vitro	NA	25 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted][g]	[redacted]-655184	[redacted]GR098
Micronucleus Assay with PF-06895751[t]	TK6 cells	In Vitro	NA	118, 147, 184 µg/mL	Yes	[redacted][g]	[redacted]-655183	[redacted]GR096

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06463922 (continued)

BID = Twice daily (approximately 6 to 7 hour interval); FISH = Fluorescent in situ hybridization; GLP = Good Laboratory Practice; IV = Intravenous; MN = Micronucleus; NA = Not applicable; NOAEL = No observed adverse effect level; PV = Perivascular; S9 = Postmitochondrial supernatant; WRD = 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. For pivotal repeat-dose toxicity studies, the NOAEL is underlined.
c. Doses are for males/females.
d. Doses were administered BID for 1 day to the 2 and 8 mg/kg/day groups and BID for 7 days to the 15 mg/kg/day group.
e. [redacted], Canada.
f. ±S9
g. [redacted].
h. 4 hours, ±S9.
i. 27 hours, -S9.
j. [redacted].
k. [redacted].
l. Each dose group (0 or 15 mg/kg/day) were divided into 3 cohorts. Cohort 1 was dosed BID for 2 days whereas cohorts 2 and 3 were dosed BID for 7 days; after the final dose administration, cohort 3 underwent a 7-day recovery phase.
m. 0 mg/kg/day (fed ad libitum), 15 mg/kg/day (fed ad libitum), 15 mg/kg/day (fed an amount of food paired to the 0 mg/kg/day group's mean food consumption from the previous day).
n. Five (5) of 10 animals/group were dosed BID for 14 days and the other 5 animals/group were dosed BID for 28 days.
o. Impurity of lorlatinib.
p. [redacted], The Netherlands
q. 類縁物質I* ,類縁物質J* ,類縁物質B* ,類縁物質K* (impurities of lorlatinib).
r. In addition to vehicle control (0 mg/kg/day), 4 other dose groups each received 2 mg/kg/day as follows: lorlatinib alone, lorlatinib plus類縁物質I* and 類縁物質J* , lorlatinib plus類縁物質B* , and lorlatinib plus類縁物質K* .
s. [redacted], Canada.
t. Major human circulating metabolite of lorlatinib.

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES

Test Article: PF-06463922

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)
1-Day Toxicity	Rat	Oral Gavage	10, 30, 100	No	[redacted]LJ011
2-Day Toxicity	Rat	Oral Gavage	50, 100, 150, 300	No	[redacted]LJ077
2-Day Micronucleus	Rat	Oral Gavage	10, 30, 100	Yes	AD99WW.125021ICH.BTL ([redacted]LJ084)
3-Day Phototoxicity	Rat	Oral Gavage	1, 4, 15 (0.5, 2, 7.5 BID)	Yes	20097796 ([redacted]LJ049)
7-Day Toxicokinetic	Rat	Oral Gavage	2, 8, 15 (1, 4, 7.5 BID)	No	[redacted]LJ025
14-Day Toxicity	Rat	Oral Gavage	6, 20, 60 (3, 10, 30 BID)	No	[redacted]LJ022
4-Week Toxicity with 4-Week Recovery	Rat	Oral Gavage	2/1, 8/4, 30/15 (1/0.5, 4/2, 15/7.5 BID)[b]	Yes	[redacted]GR341
13-Week Toxicity with 4-Week Recovery	Rat	Oral Gavage	2/1, 8/4, 15/15 (1/0.5, 4/2, 7.5/7.5 BID)[b]	Yes	8001588 ([redacted]LJ022)
Embryo-Fetal Development	Rat	Oral Gavage	1, 4, 15, 30 (0.5, 2, 7.5, 15 BID)	Yes	20090724 ([redacted]GR479)
4-Week Investigative – Effect on Lipid Profile	Rat	Oral Gavage	15 (7.5 BID)	No	[redacted]LJ064
12-Day Investigative - Electroretinography	Rat	Oral Gavage	2, 10	No	[redacted]GR284
4-Week Impurity Qualification	Rat	Oral Gavage	2[c] (1 BID)	Yes	8001432 ([redacted]LJ092)
Embryo-Fetal Development	Rabbit	Oral Gavage	1, 4, 15, 30 (0.5, 2, 7.5, 15 BID)	Yes	20090725 ([redacted]GR478)
1-Day Escalating Dose Toxicity	Dog	Oral Gavage	25, 50, 100 (12.5, 25, 50 BID)	No	[redacted]LJ032
14-Day Toxicity	Dog	Oral Gavage	5, 15, 50 (2.5, 7.5, 25 BID)	No	[redacted]LJ056

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)
4-Week Toxicity with 4-Week Recovery	Dog	Oral Gavage	2, 7, 25 (1, 3.5, 12.5 BID)	Yes	[redacted]GR342
13-Week Toxicity	Dog	Oral Gavage	2, 7, 25 (1, 3.5, 12.5 BID)	Yes	8001589 ([redacted]LJ023)

BID = Twice daily; GLP = Good Laboratory Practice.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Doses are for males/females.
c. Four (4) dose groups each received 2 mg/kg/day as follows: lorlatinib alone, lorlatinib plus類縁物質I* and類縁物質J* , lorlatinib plus類縁物質B* , and lorlatinib plus類縁物質K* .

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: PF-06463922

Dose[a,b] (mg/kg/day)	Study Type[c]	Study Number	Steady State Total AUC_{24} (ng•h/mL)[d] (Mean)					
			Rat		Rabbit	Dog		Human[e]
			M	F	F	M	F	M/F
1	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week	[redacted]GR341	-	5740	-	-	-	-
1	Repeat-Dose Toxicity, 13-Week	8001588	-	5770	-	-	-	-
1	Embryo-Fetal Development, GD6-17	20090724	-	6810	-	-	-	-
1	Embryo-Fetal Development, GD7-19	20090725	-	-	546	-	-	-
1.4[f]	Once-Daily (Cycle 1, Day 15)	B7461001	-	-	-	-	-	5650
2	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week	[redacted]GR341	3680	-	-	-	-	-
2	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week	[redacted]GR342	-	-	-	3600	4460	-
2	Repeat-Dose Toxicity, 13-Week	8001588	3920	-	-	-	-	-
2	Repeat-Dose Toxicity, 13-Week	8001589	-	-	-	2960	2680	-
4	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week	[redacted]GR341	-	18800	-	-	-	-
4	Repeat-Dose Toxicity, 13-Week	8001588	-	25800	-	-	-	-
4	Embryo-Fetal Development, GD6-17	20090724	-	27200	-	-	-	-
4	Embryo-Fetal Development, GD7-19	20090725	-	-	3160	-	-	-
7	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week	[redacted]GR342	-	-	-	10500	11200	-
7	Repeat-Dose Toxicity, 13-Week	8001589	-	-	-	12000	8800	-

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: PF-06463922 (continued)

Dose[a,b] (mg/kg/day)	Study Type[c]	Study Number	Steady State AUC_{24} (ng•h/mL)[d] (Mean)					
			Rat		Rabbit	Dog		Human[e]
			M	F	F	M	F	M/F
8	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week	[redacted]GR341	16000	-	-	-	-	-
8	Repeat-Dose Toxicity, 13-Week	8001588	20600	-	-	-	-	-
15	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week	[redacted]GR341	-	68500	-	-	-	-
15	Repeat-Dose Toxicity, 13-Week	8001588	44800	131000	-	-	-	-
15	Embryo-Fetal Development, GD6-17	20090724	-	107000	-	-	-	-
15	Embryo-Fetal Development, GD7-19	20090725	-	-	17000	-	-	-
25	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week	[redacted]GR342	-	-	-	48600	31400	-
25	Repeat-Dose Toxicity, 13-Week	8001589	-	-	-	35600	22000	-
30	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week	[redacted]GR341	83200	-	-	-	-	-
30	Embryo-Fetal Development, GD6-17	20090724	-	339000	-	-	-	-
30	Embryo-Fetal Development, GD7-19	20090725	-	-	40200	-	-	-

- = No data; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BID = Twice daily; F = Female; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. Doses were administered BID; the total daily dose is presented.

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

d. AUC_{24} data from final day of study, unless otherwise indicated.

e. Data presented for both sexes combined.

f. Approximately 1.4 mg/kg based on a human dose of 100 mg and an average human body weight of 70 kg (100 mg/70 kg).

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: PF-06463922

Lot/Batch Number[a,b]	Purity	Total Impurities	Unspecified Impurities	Specified Impurities 類縁物質I*	Specified Impurities 類縁物質J*	Study Number[c]	Type of Study
Proposed Specification:	[redacted] to [redacted]%[d]	NMT [redacted]%	NMT [redacted]% each	NMT [redacted]%	NMT [redacted]%		
GR06626[e]	84.6	0.59	0.27	NAV	NAV	[redacted]GR341	4-Week Toxicity in Rats with 4-Week Recovery
						[redacted]GR342	4-Week Toxicity in Dogs with 4-Week Recovery
						[redacted]GR094	In Vitro Micronucleus and FISH in TK6 Cells
GR07970[f]	99.7	0.16	NMT 0.06	0.10	NAV	[redacted]LJ077	2-Day Toxicity in Rats
						[redacted]LJ096	7-Day Exploratory Toxicity in Rats
						[redacted]LJ064	4-Week Exploratory Toxicity in Rats
						[redacted]-655113 ([redacted]GR303)	In Vitro Bacterial Mutagenicity
						[redacted]-655112 ([redacted]GR304)	In Vitro Micronucleus in TK6 Cells
						AD99WW. 125021ICH. BTL ([redacted]LJ084)	In Vivo Micronucleus in Rats
E010016161[g]	100.6	0.11	NMT 0.05	0.11	NAV	[redacted]GR018	Tissue Irritation in Rabbits
						8001432 ([redacted]LJ092)	4-Week Oral Toxicity in Rats with Lorlatinib alone or with Impurities[h]
E010016714[i]	99.1	0.35	NMT 0.05	0.35	NMT 0.05	[redacted]LJ025	7-Day Exploratory Toxicity in Rats
						20090724 ([redacted]GR479)	Embryo-Fetal Development in Rats
						20090725 ([redacted]GR478)	Embryo-Fetal Development in Rabbits
						20097796 ([redacted]LJ049)	In Vivo Phototoxicity in Rats

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: PF-06463922 (continued)

Lot/Batch Number[a,b]	Purity	Total Impurities	Unspecified Impurities	Specified Impurities 類縁物質I*	Specified Impurities 類縁物質J*	Study Number[c]	Type of Study
Proposed Specification:	[redacted] to [redacted]%[d]	NMT [redacted]%	NMT [redacted]% each	NMT [redacted]%	NMT [redacted]%		
E010016728[j]	98.2	0.64	0.27	0.37	NMT 0.05	8001588 ([redacted]LJ022) 8001589 ([redacted]LJ023)	13-Week Toxicity in Rats with 4-Week Recovery 13-Week Toxicity in Dogs
E010016887[k]	99.8	0.06	NMT 0.05	0.06	NMT 0.05	[redacted]LJ102	14-Day Investigative in Rats

FISH = Fluorescent in situ hybridization; NMT = Not more than; NAV = Not available.
a. Chronological by batch manufacture date.
b. Lots/batches of lorlatinib are the free base anhydrous form except for GR07970 and GR06626 which are the acetic acid solvate form.
c. Where applicable, the sponsor reference number is provided in parenthesis.
d. [redacted].
e. Manufactured [redacted]-20[redacted] at Pfizer, Groton, CT.
f. Manufactured [redacted]-20[redacted] at Pfizer, Groton, CT.
g. Manufactured [redacted]-20[redacted] at Pfizer, Sandwich, UK.
h. 類縁物質I* ,類縁物質J* ,類縁物質B* ,類縁物質K* (impurities of lorlatinib).
i. Manufactured [redacted]-20[redacted] at Pfizer, Sandwich, UK.
j. Manufactured [redacted]-20[redacted] at Pfizer, Sandwich, UK.
k. Manufactured [redacted]-20[redacted] at Pfizer, Sandwich, UK.

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY

Test Article: PF-06463922

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/Wistar Han	Oral gavage, 10 mL/kg (HCl acidified water, pH 2.75/ Solution) Lot PF-06463922-00-0002	1 Day	0, 10, 30, 100	3M	Not reported	**100 mg/kg**: ↓ Activity, pancreas (minimal degeneration of islet cells, ↑ vacuolation, single cell necrosis)	[redacted]LJ011/ No

Toxicokinetic Parameters:

Dose (mg/kg)	0	10	30	100
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	1730	5400	7500
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	15500	53400	117000
PF-06463922 Concentration				
Brain (ng/g)	NA[b]	5.81	63.4	1700
Cerebral Spinal Fluid (ng/mL)	NA[b]	NA[c]	10.9	460

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; NOAEL = No observed adverse effect level.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight.

b. A toxicokinetic control group was not included in the study design.

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

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY

Test Article: PF-06463922 (continued)

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Dog/Beagle	Oral gavage, 5 mL/kg/dose (HCl acidified water, pH 2.75/ Solution) Lot PF-06463922-00-0007	1 Day	25, 50, 100 (12.5, 25, 50 BID)[b]	1M, 1F	Not reported	**≥25 mg/kg**: ↓ body weight, emesis, watery feces, ↑ WBC, ↑ neutrophil, ↑ monocyte	[redacted]LJ032/ No

Toxicokinetic Parameters (combined sexes):

Dose (mg/kg)	25 (12.5 BID)	50 (25 BID)	100 (50 BID)
C_{max} (ng/mL)	4150	5680	4830
AUC_{24} (ng•h/mL)	38500	69400	58100

AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); BID = Twice daily; C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NOAEL = No observed adverse effect level; WBC = White blood cell.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per dose.

b. The interval between BID doses was approximately 7 hours.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06463922

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/Wistar Han	Oral gavage, 20 mL/kg (HCl acidified water, pH ~3/ Solution) Lot GR07970	2 Days	50, 100, 150, 300	3M[b], 3F[c]	Not reported	**≥150 mg/kg/day:** ↓ activity, ↓ skin turgor (dehydration), splayed limbs, rough hair **300 mg/kg/day:** Mortality[d], ↓ body tone, labored breathing, flat body posture, salivation	[redacted]LJ077/ No

Toxicokinetic Parameters (M, F):

Dose (mg/kg/day)	50	100	150[c]	300
C_{max} (ng/mL)	28500 (F)	20100 (M)	46500 (F)	NA[e] (M)
AUC_{24} (ng•h/mL)	431000 (F)	332000 (M)	790000 (F)	NA[e] (M)

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; NOAEL = No observed adverse effect level.

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

b. Males administered doses of 100 or 300 mg/kg/day.

c. Females administered doses of 50 or 150 mg/kg/day.

d. One male was electively euthanized in moribund condition after the first dose and the remaining 2 males were similarly euthanized after the second dose.

e. Toxicokinetic parameters not calculated as animals were euthanized approximately 6 hours after dosing on Day 2 resulting in an incomplete exposure profile.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

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/Wistar Han	Oral gavage, 5 mL/kg/dose (HCl acidified water/Solution) Lot E010016714,	7 Days[b]	2, 8, 15 (1, 4, 7.5 BID)[c]	3M	Not reported	None	[redacted]LJ025/ No
Toxicokinetic Parameters:							
Dose (mg/kg/day)			2 (1 BID)		8 (4 BID)	15 (7.5 BID)	
Day 1							
C_{max} (ng/mL)			228		1370	2860	
AUC_{24} (ng•h/mL)			2860		15700	32300	
T_{max} (h)			1		1	1	

AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours (1 day); BID = Twice daily; C_{max} = Maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NOAEL = No observed adverse effect level; T_{max} = Time to first occurrence of C_{max}.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. Doses were administered 2 times daily for 1 day to the 2 and 8 mg/kg/day groups and 2 times daily for 7 days to the 15 mg/kg/day group.

c. The interval between BID doses was approximately 6 hours.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

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/Wistar Han	Oral gavage, 5 mL/kg/dose (HCl acidified water, pH 2.75/Solution) Lot PF-06463922-00-0002	14 Days	0, 6, 20, 60 (0, 3, 10, 30 BID)[b]	5M	20	**≥6 mg/kg/day:** ↑ Body weight gain, ↓ RBC, ↓ HGB, ↓ HCT, ↑ WBC, ↑ LYM, ↑ LUC, liver (↑ weight), colon (single cell necrosis), mesenteric lymph node (histiocytosis) **≥20 mg/kg/day:** ↑ end diastolic volume, ↑ diastolic area, ↑ wall thickness, ↑ stroke volume, ↑ E and A velocity on Day 2 and with ↑ magnitude on Day 10, ↑ NEUT, ↑ GLDH, spleen (↓ cellularity-marginal zone, ↑ hematopoiesis), testes (seminiferous tubule degeneration), epididymides (↑ luminal debris) **60 mg/kg/day:** Mortality[c], dehydration, ↓ activity, diminished reflexes, flat body posture, jerky movements, rough hair, circling, head bobbing, thin appearance, tremors, splayed limbs, ptosis, soft feces, abnormal behavior (teeth chattering), involuntary movements (retropulsion, trembling), abnormal gait, uncoordinated air righting reflex, reduced extensor thrust response, ↓ food consumption, discolored urine (dark/bright yellow), ↑ urine volume, ↑ RDW, ↑ RETIC, ↑ PLT, ↑ MPV, ↑ MONO, ↑ ALT, ↑ AST, ↑ CHOL,	[redacted]LJ022/ No

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

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
						↑ TBIL, ↓ potassium, liver (enlarged, hepatocellular hypertrophy, bile duct hyperplasia, single cell necrosis, extramedullary hematopoiesis, ↑ sinusoidal cells), pancreas (abnormal consistency-gelatinous, abnormal color-dark diffuse, acinar atrophy, ↓ zymogen granules, islet angiectasis), stomach (non-glandular mucosa-erosion/ulcer-glandular mucosa, edema), thymus (small, discoloration-dark abnormal color, ↓ lymphoid cellularity), epididymides (discoloration-dark, inflammation), duodenum, jejunum, ileum, and cecum (single cell necrosis, erosion, and/or ulcer), mesenteric lymph nodes (sinus erythrocytosis)	

Toxicokinetic Parameters (12LJ022):				
Dose (mg/kg/day)	0 (0 BID)	6 (3 BID)	20 (10 BID)	60 (30 BID)
Day 1				
C_{max} (ng/mL)	NA[d]	618	2090	4550
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[d]	7000	23900	70100
Day 14				
C_{max} (ng/mL)	NA[d]	521	1980	5350
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[d]	6610	24700	86600
PF-06463922 Concentration (Day 14, 24 HPD)				
Brain (ng/g)	NA[d]	30.8	113	6830
Cerebral Spinal Fluid (ng/mL)	NA[d]	2.57	15.2	1210

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

ALT = Alanine aminotransferase; AST = Aspartate aminotransferase; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours (1 day); BID = Twice daily; C_{max} = Maximum observed concentration; CHOL = Cholesterol; GLDH = Glutamate dehydrogenase; GLP = Good Laboratory Practice; HCT = Hematocrit; HGB = Hemoglobin; HPD = Hours postdose; LUC = Large unstained cell; LYM = Lymphocyte; M =Male; MONO = Monocyte; MPV = Mean platelet volume; NA = Not applicable; NEUT = Neutrophil; NOAEL = No observed adverse effect level; PLT = Platelet; RBC = Red blood cell; RDW = Red cell distribution width; RETIC = Reticulocyte; TBILI = Total bilirubin; WBC = White blood cell.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. The interval between BID doses was approximately 7 hours.

c. Two (2) of the 5 males at 60 mg/kg/day were electively euthanized in moribund condition on Day 13.

d. Samples not collected.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

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
Dog/Beagle	Oral gavage, 5 mL/kg/dose (HCl acidified water, pH 2.75/Solution) Lot PF-06463922-01-0001	14 Days	0, 5, 15, 50 (0, 2.5, 7.5, 25 BID)[b]	1M, 1F	15	**5 mg/kg/day:** Soft/watery feces **≥15 mg/kg/day:** Skin lesions (nose), ↑ HR (+9 to +27 bpm; 1-22 hpd), ↓ SBP (-22 to -37 mmHg; 12-22 hpd), ↓ DBP (-11 to -24 mmHg; 12-22 hpd), ↓ MBP (-15 to -28 mmHg; 12-22 hpd), ↑ PR-I (+10 to +16 msec; 1-3 hpd), ↑ QT-I (+15 to +22 msec; 1-3 hpd), ↑ QTc-I (+12 to +18 msec; 1-3 hpd), jejunum, cecum, and/or colon (atrophy) **50 mg/kg/day:** Mortality[c], ↓ activity, emesis, soft/watery feces, ↓ body weight, ↑ CHOL, ↑ amylase, ↑ lipase, pancreas (acinar atrophy), stomach (abnormal surface, ulcer), thymus (tingible body macrophages)	[redacted]LJ056/ No

Toxicokinetic Parameters (12LJ056; Combined sexes):

Dose (mg/kg/day)	0 (0 BID)	5 (2.5 BID)	15 (7.5 BID)	50 (25 BID)
Day 1				
C_{max} (ng/mL)	NA[d]	486	1430	4440
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[d]	4970	12400	46300
Day 14				
C_{max} (ng/mL)	NA[d]	351	821	3760[e]
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[d]	4120	10400	40400[e]
PF-06463922 Concentration (Day 14)				
Brain (ng/g)	NA[d]	39.7	60.4	3430[f]/73.4[e]
Cerebral Spinal Fluid (ng/mL)	NA[d]	5.04	11.3	1150[f]/13.5[e]

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours (1 day); BID = Twice daily; C_{max} = Maximum observed concentration; CHOL = Cholesterol; DBP = Diastolic blood pressure; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; hpd = Hours postdose; HR = Heart rate; M = Male; MBP = Mean blood pressure; msec = Millisecond; NA = Not applicable; NOAEL = No observed adverse effect level; PR-I = P-R interval; QT-I = Q-T interval; QTc-I = Corrected QT interval; SBP = Systolic blood pressure.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. The interval between BID doses was approximately 7 hours.
c. The 1 male at 50 mg/kg/day was electively euthanized in moribund condition on Day 3.
d. Samples not collected.
e. Female value only.
f. Male (euthanized) value at Day 3, 9-hour time point.

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: **1-Month Oral Gavage Toxicity Study of PF-06463922 in Rats With a 1-Month Recovery**

Test Article: **PF-06463922**

Species/Strain: Rat/Wistar Han

Duration of Dosing: 1 Month (M: 28 days; F: 29 days)

Study Number: [redacted]GR341

GLP Compliance: Yes

Initial Age: 7 weeks

Duration of Postdose: 1 Month

Lot Number: GR06626

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

Method of Administration: Oral Gavage, BID, 5 mL/kg/dose

Vehicle/Formulation: 0.001N HCl acidified water, pH 3.03

Special Features: Analysis of serum amylase and lipase, functional observational battery assessment, and test-article concentration in brain and cerebrospinal fluid.

No Observed Adverse Effect Level: 8 mg/kg/day (males)/4 mg/kg/day (females)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**30 (15 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	15	15	15	15	15	15	15	14
Toxicokinetics[b]	3	3	4	4	4	4	4	4
Toxicokinetics:								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[c]	NA[c]	321	256	1280	802	4110	3260
Day 21	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	5710	4480
Day 30	NA[c]	NA[c]	306	362	1260	963	6390	4750
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[c]	NA[c]	3630	3860	16000	13200	58600	56700
Day 21	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	96200	83000
Day 30	NA[c]	NA[c]	3680	5740	16000	18800	83200	68500
Brain (ng/mL)[e]								
Day 31	NA[c]	NA[c]	NA[c]	49.2-120	28.7-86.4	218-315	426-567	1060-1220
Cerebral Spinal Fluid (ng/mL)[e]								
Day 31	NA[c]	NA[c]	0-1.29	11.5	3.62-18.4	43.3-57.6	82.7-132	227-319
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	0	2[f]	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	1[f]	1[f]

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR341 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**30 (15 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Body Weight(g)[g]								
Day 14	-	186.87	-	0.99	-	1.03	-	1.07*
Day 21	-	192.26	-	0.98	-	1.04*	-	1.09§
Day 28	-	202.29	-	0.99	-	1.06†	-	1.13§
Food Consumption (g)[g]								
Days 1-7	123.57	77.15	0.97	1.03	1.02	1.14*	1.19§	1.50§
Days 7-14	147.31	88.25	0.95	1.02	0.99	1.11*	1.16§	1.20†
Days 14-21	143.39	92.47	0.96	0.97	1.00	1.05*	1.13‡	1.17§
Days 21-28	147.75	92.95	0.95	1.00	1.01	1.07*	1.09†	1.35§
Clinical Observations (Days 1-29)								
Distended Abdomen	0	0	0	0	0	0	13	12
Head tilt	0	0	0	0	0	0	1	0
Hair coat stained (brown; perianal)	0	0	0	0	0	0	2	0
Soft feces	0	0	0	0	0	0	2	0
Decreased skin turgor	0	0	0	0	0	0	7	0
Ataxia	0	0	0	0	0	0	3	0
Decreased activity	0	0	0	0	0	0	2	0
Hair coat stained (abdomen; yellow)	0	0	0	0	0	0	1	0
Urogenital staining	0	0	0	0	0	0	1	1
Discoloration (ear; bilateral; yellow)	0	0	0	0	0	0	0	2
Discoloration (tail; yellow)	0	0	0	0	0	0	0	1
Tremors	0	0	0	0	0	0	0	1
Abrasion	0	0	0	0	0	1	4	9
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Functional Observational Battery	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation – Days 29 (M)/30 (F)								
Red Blood Cell Count (10^6/μL)	8.179	7.586	7.841*	7.491	7.577‡	7.207‡	7.032§	6.646§
Hemoglobin (g/dL)	14.84	14.07	14.25§	14.09	13.98§	13.55†	13.43§	12.35§
Hematocrit (%)	46.47	43.27	45.41	43.55	44.88	42.47	42.85‡	40.02§
Mean cell Volume (fL)	56.89	57.09	57.92	58.18	59.23†	58.92*	61.04§	60.21§
Red Cell Distribution Width (%)	11.35	10.88	11.55	11.79‡	12.51§	12.42§	15.30§	15.08§
Mean Platelet Volume (fL)	7.87	7.78	8.24*	7.89	8.77§	8.37§	10.30§	9.22§
Reticulocytes (10^3/μL)	219.0	222.0	232.9	229.0	254.6*	297.4§	340.4‡	346.7§

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR341 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**30 (15 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
White Blood Cells (10^3/µL)	6.24	2.22	6.21	4.18§	8.03*	5.48§	9.65*	4.83§
Neutrophils (10^3/µL)	0.709	0.360	0.825	0.650‡	1.167‡	0.910§	3.166§	1.510§
Monocytes (10^3/µL)	0.139	0.047	0.166	0.097‡	0.224†	0.173§	0.535§	0.336§
Lymphocytes (10^3/µL)	-	1.763	-	3.369§	-	4.325§	-	2.881§
Large Unstained Cells (10^3/µL)	0.033	0.007	0.036	0.023‡	0.053	0.029§	0.040	0.038§
Fibrinogen (mg/dL)	297.3	233.1	345.8‡	273.9‡	376.6§	296.4§	395.5§	434.2§
Clinical Chemistry								
Day 16								
Amylase (U/L)	2103.8	991.5	2341.8*	1220.4§	2509.0‡	1309.7§	2512.7§	1743.1§
Lipase (U/L)	13.8	12.6	13.7	14.3	14.2	13.1	16.1*	15.9§
Days 29 (M)/30 (F)								
Alanine Aminotransferase (U/L)	22.4	16.5	22.7	14.8	22.1	14.9	111.0‡	24.5†
Total Bilirubin (mg/dL)	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	<1.22	<0.17
Cholesterol (mg/dL)	48.8	42.8	53.9	56.8†	62.3†	61.8‡	98.8§	94.0§
Glucose (mg/dL)	130.0	117.6	137.4	138.1*	170.4‡	145.5*	171.4‡	161.3‡
Amylase (U/L)	1538.1	843.2	1852.0*	983.7	2081.8§	1193.1‡	2304.2§	1499.7§
Lipase (U/L)	9.2	8.9	9.4	9.1	9.3	9.5*	10.2§	10.2§
Globulin (g/dL)	2.07	-	2.13*	-	2.17*	-	2.22*	-
Blood Urea Nitrogen (mg/dL)	14.8	19.5	17.2‡	21.8	17.8‡	22.4	24.4§	26.6§
Creatinine (mg/dL)	0.25	0.34	0.27	0.33	0.30	0.37	0.36§	0.40*
Urinalysis								
pH	6.95	6.40	7.10	6.30	6.80*	6.70	6.35§	5.95*
Organ Weights[f,g] – Days 29 (M)/30 (F)								
Liver								
Absolute (g)	8.76	5.03	1.04	1.08*	1.19‡	1.21‡	1.52§	1.60§
Relative (g/100 g body weight)	2.76	2.70	1.08	1.11‡	1.20§	1.19§	1.54§	1.44§
Relative (g/g brain weight)	4.51	2.83	1.07	1.09*	1.19†	1.20‡	1.61§	1.64§
Spleen								
Absolute (g)	0.645	0.439	0.90	0.89	1.01	1.11*	1.52§	1.63§
Relative (g/100 g body weight)	0.203	0.236	0.95	0.91	1.02	1.09*	1.53§	1.46§
Relative (g/g brain weight)	0.333	0.246	0.92	0.91	1.01	1.11*	1.59§	1.67§
Heart								
Absolute (g)	1.08	0.72	0.91	1.03	1.06‡	1.14*	1.14‡	1.36§

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR341 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**30 (15 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Relative (g/100 g body weight)	0.34	0.39	0.94	1.03	1.06*	1.10*	1.15§	1.23§
Relative (g/g brain weight)	0.55	0.41	0.95	1.02	1.07*	1.12*	1.22§	1.37§
Gross Pathology (Scheduled, Unscheduled deaths)								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	12	10
Skin and Adnexa								
Wound/scar/crust	0	0	0	0	0	0	2	4
Spleen								
Enlarged	0	0	0	0	0	0	1	0
Histopathology (Scheduled, Unscheduled deaths)								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	12	10
Skin and Adnexa								
Erosion/ulcer								
Mild	0	0	0	0	0	0	1	1
Fibrosis: dermal								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Pancreas; acinar atrophy								
Minimal	0	0	1	0	0	0	1	2
Mild	0	0	0	0	1	0	3	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0
Severe	0	0	0	0	0	0	2	0
Liver; bile duct hyperplasia								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	4	2
Liver; centrilobular hepatocyte hypertrophy								
Minimal	0	0	0	0	0	0	10	5
Peripheral Nerve; axon degeneration								
Minimal	0	0	0	0	0	0	9	5
Spleen; decreased cellularity, marginal zone								
Minimal	0	0	0	0	3	6	0	1
Mild	0	0	0	0	2	1	7	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	3	3
Marked	0	0	0	0	0	0	2	0

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR341 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**30 (15 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spleen; extramedullary hematopoiesis								
Minimal	0	0	0	0	6	5	1	2
Mild	0	0	0	0	1	0	7	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	3	4
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Stomach; gastric glands, single cell necrosis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	7	5
Mild	0	0	0	0	0	0	0	3
Mammary Gland; atrophy								
Minimal	0	0	1	0	0	0	4	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Postdose Evaluation (Days 30-58)								
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	3	5
Body Weight(g)[f,g]								
Day 31	-	198.90	-	0.99	-	1.07*	-	1.14§
Day 38	-	202.56	-	0.98	-	1.07*	-	1.12‡
Day 45	-	206.74	-	0.96	-	1.06*	-	1.06*
Food Consumption (g)[f,g]								
Days 31-38	143.28	91.06	0.98	1.0	0.94*	1.0	0.80†	0.86*
Days 38-45	141.14	91.48	0.99	0.99	0.94	1.02	0.79*	0.90
Days 45-52	124.74	84.34	1.04	1.0	0.96	1.0	0.97	0.91
Days 52-57	101.94	65.90	0.98	1.0	0.91	0.96	0.96	0.96
Clinical Chemistry (Day 58)								
Globulin (g/dL)	2.20	-	2.22	-	2.28	-	2.30	-
Organ Weights[f,g] (Day 58)								
Liver								
Absolute (g)	-	4.79	-	1.05	-	1.13*	-	1.17*
Relative (g/100 g body weight)	-	2.48	-	1.08*	-	1.06*	-	1.12*
Relative (g/g brain weight)	-	2.52	-	1.10	-	1.19*	-	1.21*
Histopathology (Day 58)								
Spleen; extramedullary hematopoiesis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR341 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)	1 (0.5 BID)	8 (4 BID)	4 (2 BID)	30 (15 BID)	15 (7.5 BID)
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F

* p ≤0.05, † p ≤0.01, ‡ p ≤0.005, § p ≤0.001, 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 concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; BID = Twice daily; C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; HCl = Hydrochloride; M = Male; NA = Not applicable.
a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day. Doses were administered BID approximately 6 hours apart.
b. Toxicokinetic males and females were dosed BID for 30 consecutive days.
c. Blood, brain, and cerebrospinal fluid were collected and analyzed; all samples were below the level of quantitation (<0.500 ng/mL).
d. Protocol specified to collect blood in the high dose group only.
e. Due to the high variability of the data, ranges (lowest and highest) of individual values are reported per group and sex. Data results below limit of quantitation are given a value of "0".
f. Two toxicity, and one toxicokinetic, 30 mg/kg/day males were euthanized moribund on Days 18, 19, and 24, respectively; deaths were considered test-article related. One toxicokinetic 15 mg/kg/day female died following blood collection; the death was not considered test article related.
g. Group means are shown for controls. Differences compared with controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: **A 13-Week Study of PF-06463922 by Oral Gavage in Rats**

Test Article: PF-06463922

Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: ≥9 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 13 Weeks
Duration of Postdose: 4 Weeks
Method of Administration: Oral Gavage, BID, 5 mL/kg/dose
Study Number: 8001588
Sponsor Reference Number: [redacted]LJ022
Lot Number: E010016728
Vehicle/Formulation: HCl acidified ultra-pure water, pH 2.75 ± 0.5
GLP Compliance: Yes
Special Features: Functional observational battery assessment, toxicokinetics of PF-06895751 (major human circulating metabolite of lorlatinib).
No Observed Adverse Effect Level: 8 mg/kg/day (males)/4 mg/kg/day (females)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	15	15	10	10	15	15	15	15
Toxicokinetics	3	3	3	3	3	3	3	3
Toxicokinetics (parent; PF-06463922):								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	329	249	1610	1020	2640	3940
Day 91	NA[b]	NA[b]	322	388	1460	1490	3020	6600
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	3750	3660	18600	15200	31700	62400
Day 91	NA[b]	NA[b]	3920	5770	20600	25800	44800	131000
Toxicokinetics (metabolite; PF-06895751):								
C_{max} (ng/mL)								
Week 4	NA[c]	NA[c]	NA[c]	NA[c]	3.57	3.08[d]	8.75	4.01
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Week 4	NA[c]	NA[c]	NA[c]	NA[c]	47.0	NA[e]	153	44.4[d]
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Body Weight (g)[f]								
Day 7	-	193.47	-	1.03	-	1.04	-	1.05*
Day 14	-	200.00	-	1.03	-	1.04	-	1.07†
Day 21	-	205.57	-	1.02	-	1.04	-	1.10§
Day 28	-	210.64	-	1.02	-	1.04	-	1.13§
Day 91	-	233.79	-	1.01	-	1.03	-	1.18†
Body Weight Gain (g)								
Days -1 to 7	-	12	-	17*	-	19§	-	22§
Days 7 to 14	-	7	-	7	-	6	-	11
Days 14 to 21	-	4	-	5	-	7	-	11†
Days 21 to 28	-	5	-	4	-	5	-	12†
Days 84 to 91	-	-1	-	2	-	-1	-	0
Food Consumption (g/day)[f]								
Days 1 to 8	23.2	15.9	1.01	1.08	1.12	1.17	1.10	1.43
Days 8 to 15	24.0	15.7	0.98	1.09	1.10	1.11	1.11	1.45
Days 15 to 22	23.8	15.7	1.00	1.06	1.08	1.07	1.09	1.39
Days 22 to 29	21.7	15.1	0.99	1.07	1.09	1.08	1.07	1.39
Days 85 to 91	19.4	13.3	1.08	1.11	1.14	1.11	1.14	2.08
Clinical Observations								
Skin scab	6	2	0	1	5	13	10	15
Skin, red	1	0	0	0	1	3	0	7
Skin, lesion	1	0	0	0	1	0	0	2
Skin, lesion with discharge	1	0	0	0	0	0	0	2
Fur, thin cover	7	6	2	6	4	13	10	15
Fur, staining, red	8	0	5	2	1	4	5	1
Fur, erected	0	1	0	0	0	0	0	3
Abdominal distention	0	0	0	0	0	7	1	15
Dehydration	0	0	0	0	0	0	0	5
Functional Observational Battery								
Rearing Counts (Week 12)	10.3	11.9	11.8	17.8*	8.7	10.3	3.7†	6.5*
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation – Day 92								

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Red Blood Cell Count (10^6/µL)	9.37	8.33	8.64	7.79*	8.33†	7.71†	8.00§	6.64§
Hemoglobin (g/dL)	16.32	15.34	14.96†	14.60	15.13†	14.82	14.76§	12.42§
Hematocrit (%)	48.01	43.86	43.91	42.17	44.30*	42.79	43.79†	37.26§
Mean Cell Volume (fL)	51.26	52.68	50.86	54.12	53.17*	55.54†	54.75§	56.15†
Mean Cell Hemoglobin (pg)	17.44	18.42	17.29	18.76	18.19*	19.24	18.46†	18.71
Red Cell Distribution Width (%)	12.19	10.76	12.42	10.75	13.13†	11.03	13.25§	13.50§
Mean Platelet Volume (fL)	6.49	6.90	6.51	6.62	6.97	7.03	7.58§	9.18§
Reticulocytes (10^9/L)	189.85	190.84	212.11	185.03	233.95§	199.69	258.01§	209.48
White Blood Cells (10^3/µL)	4.73	2.96	4.25	2.91	6.76*	4.99†	7.81§	7.36§
Neutrophils (10^3/µL)	0.72	0.52	0.88	0.51	1.27†	1.17†	1.85§	3.06§
Lymphocytes (10^3/µL)	3.80	2.29	3.16	2.21	5.15	3.51*	5.51*	3.88
Monocytes (10^3/µL)	0.09	0.08	0.10	0.10	0.18†	0.18†	0.25§	0.32§
Eosinophils (10^3/µL)	0.08	0.05	0.07	0.06	0.10	0.08*	0.13*	0.08
Basophils (10^3/µL)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01*	0.00	0.01*	0.00
Large Unstained Cells (10^3/µL)	0.03	0.02	0.03	0.03	0.05	0.04	0.06†	0.03
Prothrombin time (sec)	16.34	17.85	15.57*	16.71*	15.30§	13.20§	14.95§	12.91§
Fibrinogen (mg/dL)	293.33	183.08	325.20	208.30	350.53§	254.77†	366.29§	472.00§
Clinical Chemistry								
Week 4								
Amylase (U/L)	3133.93	1215.43	3261.10	1488.30	3714.07§	1588.33†	3674.33§	2003.33§
Lipase (U/L)	18.07	10.29	11.40	10.50	11.53	10.53	11.60	10.73
Week 8								
Amylase (U/L)	2983.73	1293.36	3222.40	1585.10	3527.53§	1716.60†	3754.07§	2288.40§
Lipase (U/L)	10.87	9.21	11.00	9.40	11.27	9.53	11.53	9.87
Day 92								
Aspartate Aminotransferase (U/L)	85.73	72.71	58.80†	63.40	72.00	76.00	127.80	271.67†
Alanine Aminotransferase (U/L)	50.93	32.29	40.30	26.00	50.47	30.20	108.47	75.73
Alkaline Phosphatase (U/L)	62.53	30.29	75.30	33.70	73.07	29.47	68.80	170.80§
Gamma Glutamyl Transferase (U/L)	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.53
Creatine Kinase (U/L)	625.80	504.57	199.70§	277.80	298.80†	196.20§	207.07§	321.67
Total Bilirubin (mg/dL)	0.07	0.05	0.06	0.05	0.05†	0.06	0.06	0.91§
Direct Bilirubin (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.87
Indirect Bilirubin (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.49

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Cholesterol (mg/dL)	70.20	52.21	88.00	64.80	105.67§	85.20†	119.13§	157.40§
Triglycerides (mg/dL)	117.33	72.36	109.30	70.20	157.67	86.00	179.13	114.67*
Albumin (g/dL)	4.32	4.59	4.11	4.38	4.02†	4.17*	3.97†	3.39§
Globulin (g/dL)	2.11	1.90	2.19	1.96	2.51*	2.19*	2.63§	3.11§
Albumin/Globulin	2.09	2.43	1.87	2.25	1.65§	1.91§	1.54§	1.17§
Calcium (mg/dL)	10.57	10.56	10.50	10.34	10.71	10.66	10.95*	11.09†
Phosphorous (mg/dL)	5.89	5.34	6.37	5.95	6.45	6.01	6.08	6.86†
Sodium (mmol/L)	144.67	141.07	144.00	141.60	144.00	143.73*	144.07	149.13§
Chloride (mmol/L)	103.53	101.86	103.40	102.20	102.73	104.00†	103.27	106.73§
Amylase (U/L)	2364.13	1487.71	2465.80	1812.20	2977.13†	1925.20*	3049.07§	2577.13§
Lipase (U/L)	10.60	9.71	8.90	10.10	9.27	13.27	9.60	16.27†
Urinalysis – Week 13								
Urine Volume (mL)	4.29	2.21	3.08	2.05	3.65	2.85	5.03	4.27§
Specific Gravity	1.042	1.047	1.048	1.051	1.046	1.042	1.037	1.032*
pH	-	-	-	-	↓	↓	↓	↓
Color	-	-	-	-	-	-	-	Brown
Bilirubin	Neg to 1+	Neg to 1+	Neg to 1+	Neg to 1+	Neg to 1+	Neg to 1+	Neg to 1+	Neg to 3+
Ketones	1+ to 2+	Neg to 1+	1+ to 2+	Neg to 1+	1+ to 2+	Neg to 1+	Neg to 1+	Neg to 1+
Triple Phosphate Crystals	Neg to 1+	Neg to 1+	Neg to 1+	-	-	-	-	Neg to 2+
Organ Weights[f] – Day 92								
Brain								
Absolute (g)	2.052	1.874	0.98	0.97	0.95	0.96*	0.95	0.95†
Relative (g/100 g body weight)	0.519	0.840	0.98	0.97	0.93*	0.94	0.91*	0.83§
Liver								
Absolute (g)	9.128	5.300	1.15†	1.17	1.33§	1.31†	1.47§	2.08§
Relative (g/100 g body weight)	2.310	2.367	1.14§	1.16	1.29§	1.28§	1.39§	1.81§
Relative (g/g brain weight)	4.452	2.830	1.16†	1.20	1.40§	1.36†	1.54§	2.19§
Spleen								
Absolute (g)	0.636	0.496	1.11	0.96	1.21*	1.12	1.28§	1.79§
Relative (g/100 g body weight)	0.161	0.222	1.10	0.95	1.16†	1.10	1.22§	1.55§
Relative (g/g brain weight)	0.310	0.265	1.12	0.99	1.26§	1.17	1.34§	1.88§
Heart								
Absolute (g)	1.140	0.738	1.01	1.15*	1.09	1.24§	1.15*	1.41§

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Relative (g/100 g body weight)	0.289	0.330	1.00	1.14*	1.06	1.22†	1.09	1.23†
Relative (g/g brain weight)	0.556	0.394	1.02	1.18	1.14*	1.29†	1.21†	1.49§
Thymus								
Absolute (g)	0.330	0.271	0.92	1.01	0.96	0.96	0.84	0.49§
Relative (g/100 g body weight)	0.083	0.120	0.90	1.02	0.94	0.96	0.81	0.43§
Relative (g/g brain weight)	0.160	0.145	0.93	1.04	1.01	1.00	0.88	0.52§
Adrenal								
Absolute (g)	0.0519	0.0594	0.98	1.04	0.92	0.98	0.82*	0.70†
Relative (g/100 g body weight)	0.0131	0.0265	0.98	1.03	0.89	0.96	0.79†	0.62§
Relative (g/g brain weight)	0.0252	0.0317	1.00	1.07	0.97	1.02	0.86	0.74†
Gross Pathology – Day 92								
Number Examined[g]	10	10	10	10	10	10	10	10
Skin								
Scab, dark	0	1	0	0	0	2	0	8
Scab, pale	0	0	0	0	0	0	0	1
Focus, dark	0	0	0	0	0	0	0	1
Discoloration, pale (yellow)	0	0	0	0	0	0	0	1
Liver								
Discoloration, dark	0	0	0	0	0	1	5	8
Enlargement	0	0	0	0	0	0	0	3
Irregular surface	0	0	0	0	0	0	0	2
Bile Duct								
Dilatation	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
Thick	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)
Kidney								
Discoloration, dark	0	0	0	0	0	0	0	5
Spleen								
Enlargement	0	0	0	0	0	0	0	3
Thymus								
Small	0	0	0	0	0	1	0	8
Lymph Node (mesenteric)								
Focus, dark	3	0	2	1	1	1	4	3

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Lymph Node (mandibular, mediastinal, pancreatic, iliac)								
Focus, dark	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	4 (4)	4 (5)	5 (5)	3 (5)
Enlargement	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (4)	1 (5)	1 (5)	3 (5)
Adrenal								
Small	0	0	0	0	0	0	0	5
Discoloration, dark	0	0	0	0	0	0	0	1
Subcutis								
Discoloration, pale (yellow)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
Uterus								
Discoloration, pale (yellow)	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Urinary Bladder								
Discoloration, pale (yellow)	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology – Day 92								
Number Examined[h]	10	10	10	10	10	10	10	10
Skin								
Ulceration								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	6
Inflammation; epidermal								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	1	0	6
Fibrosis; dermal								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Pancreas								
Atrophy; acinar								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	6
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Fibrosis/inflammation								

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)	1 (0.5 BID)	8 (4 BID)	4 (2 BID)	15 (7.5 BID)	15 (7.5 BID)
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver								
Hypertrophy; centrilobular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	5
Hyperplasia, bile duct								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	6
Single cell necrosis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Increased cellularity; sinusoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	3
Increased hematopoiesis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	8
Bile Duct								
Dilatation								
Mild	0	0	0	0	0	0	0	3
Sciatic Nerve								
Degeneration, axonal								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	6
Kidney								
Basophilia; tubular								
Minimal	3	2	2	0	4	4	6	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	7
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Glomerulopathy								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	8
Degeneration/necrosis; mural, artery								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	7
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Cast; hyaline								
Minimal	0	0	0	1	1	0	0	6
Pigment; tubular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	5

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)	1 (0.5 BID)	8 (4 BID)	4 (2 BID)	15 (7.5 BID)	15 (7.5 BID)
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
Heart								
Increased cellularity; Anichkov cells								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Bone Marrow								
Increased cellularity; myeloid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	4
Increased cellularity; hematopoietic								
Minimal	0	0	9	0	6	4	3	0
Mild	0	0	1	0	4	3	6	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Spleen								
Decreased cellularity; lymphoid, marginal zone								
Minimal	0	0	7	9	4	2	2	0
Mild	0	0	0	1	5	8	8	10
Increased hematopoiesis								
Minimal	0	0	3	0	10	6	6	0
Mild	0	0	0	0	0	1	3	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	5
Marked	0	0	0	0	0	0	0	2
Thymus								
Decreased cellularity; lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	5
Lymph Node (mesenteric)								
Erythrocytosis								
Minimal	4	2	3	2	5	5	9	8
Mild	0	0	0	1	0	0	0	0
Increased cellularity; lymphoid								

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)	1 (0.5 BID)	8 (4 BID)	4 (2 BID)	15 (7.5 BID)	15 (7.5 BID)
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	4
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Lymph Node (iliofemoral)								
Increased cellularity; lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Plasmacytosis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Increased hematopoiesis								
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph Node (mandibular, mediastinal, pancreatic, iliac)								
Increased cellularity; lymphoid								
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Plasmacytosis								
Minimal	0	0	0	0	1	1	0	0
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	4
Erythrocytosis								
Minimal	0	0	0	1	2	1	3	1
Mild	0	0	0	0	1	3	2	2
Increased hematopoiesis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mammary Gland								
Pigment; increased								
Minimal	0	0	1	0	6	0	4	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Atrophy								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Salivary Gland (mandibular)								
Depletion; secretory granular duct								
Minimal	0	0	0	0	2	2	2	5
Uterus								
Atrophy								

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Minimal	NA	0	NA	0	NA	0	NA	6
Cervix								
Inflammation								
Minimal	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Mild	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Postdose Evaluation (Days 92 to 120)								
Number Evaluated	5	5	0	0	5	5	5	5
Body Weight (g)[f]								
Day 98	433.80	236.25	NA	NA	0.98	1.02	0.92	1.12
Day 105	437.80	237.00	NA	NA	0.97	1.03	0.91	1.10
Day 112	445.00	240.75	NA	NA	0.97	1.02	0.90	1.06
Day 119	444.40	236.75	NA	NA	0.96	1.01	0.90	1.06
Food Consumption (g)[f]								
Days 92-99	25.6	16.1	NA	NA	0.82	0.89	0.67	0.65
Days 99-106	22.4	15.3	NA	NA	1.42	1.11	0.79	0.74
Clinical Observations								
Skin scab	0	0	NA	NA	5	0	10	15
Skin, dry	0	0	NA	NA	0	0	0	7
Fur, thin cover	0	0	NA	NA	0	13	10	15
Functional Observational Battery								
Rearing Counts	9.4	12.3	NA	NA	10.8	9.4	4.0	6.6
Hematology/Coagulation – Day 120								
Fibrinogen (mg/dL)	268.00	200.25	NA	NA	300.00	199.00	328.50*	248.60§
Clinical Chemistry – Day 120								
Alkaline Phosphatase (U/L)	46.20	33.50	NA	NA	57.20	22.40	47.40	51.60
Creatine Kinase (U/L)	637.80	384.25	NA	NA	313.80	233.60	447.00	205.20
Cholesterol (mg/dL)	61.00	64.75	NA	NA	72.40	58.80	76.40	75.80
Albumin (g/dL)	4.02	4.63	NA	NA	3.92	4.46	3.96	4.08*
Globulin (g/dL)	1.94	1.83	NA	NA	2.24	1.90	2.30*	2.22
Albumin/Globulin	2.10	2.58	NA	NA	1.76	2.36	1.76	1.84†
Amylase (U/L)	2057.60	1365.50	NA	NA	2376.40	1234.00	2342.00	1924.20
Gross Pathology – Day 120								
Number Examined[g]	5	4	0	0	5	5	5	5

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**	**1 (0.5 BID)**	**8 (4 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**15 (7.5 BID)**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Kidney								
Discoloration, dark	0	0	NA	NA	0	0	0	1
Organ Weights[f] – Day 120								
Brain								
Absolute (g)	2.052	1.920	NA	NA	0.95	1.00	0.97	0.94
Relative (g/100 g body weight)	0.475	0.841	NA	NA	0.99	0.99	1.09	0.88
Liver								
Absolute (g)	9.714	5.522	NA	NA	1.06	1.04	1.06	1.33*
Relative (g/100 g body weight)	2.248	2.405	NA	NA	1.09	1.03	1.17*	1.25*
Relative (g/g brain weight)	4.745	2.873	NA	NA	1.11	1.04	1.09	1.42§
Spleen								
Absolute (g)	0.716	0.550	NA	NA	1.05	0.86	1.00	1.21
Relative (g/100 g body weight)	0.166	0.240	NA	NA	1.07	0.86	1.11	1.14
Relative (g/g brain weight)	0.350	0.284	NA	NA	1.10	0.87	1.03	1.30*
Adrenal								
Absolute (g)	0.0536	0.0618	NA	NA	0.89	0.99	0.85	0.78*
Relative (g/100 g body weight)	0.0124	0.0271	NA	NA	0.92	0.98	0.94	0.72†
Relative (g/g brain weight)	0.0263	0.0322	NA	NA	0.93	1.00	0.87	0.83
Histopathology – Day 120								
Number Examined[h]	5	4	0	0	5	5	5	5
Pancreas								
Atrophy; acinar								
Minimal	0	0	NA	NA	0	0	2	2
Mild	0	0	NA	NA	0	0	0	2
Liver								
Hyperplasia, bile duct								
Minimal	0	0	NA	NA	0	0	0	2
Mild	0	0	NA	NA	0	0	0	1
Moderate	0	0	NA	NA	0	0	0	1
Kidney								
Basophilia; tubular								
Minimal	0	0	NA	NA	2	2	3	4
Mild	0	0	NA	NA	0	0	0	1

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001588 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)	1 (0.5 BID)	8 (4 BID)	4 (2 BID)	15 (7.5 BID)	15 (7.5 BID)
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Glomerulopathy								
Minimal	0	0	NA	NA	0	0	0	2
Cast; hyaline								
Minimal	0	0	NA	NA	0	0	0	1
Pigment; tubular								
Minimal	0	0	NA	NA	0	0	0	3
Mild	0	0	NA	NA	0	0	0	1
Bone Marrow								
Increased cellularity; hematopoietic								
Minimal	0	0	NA	NA	1	0	1	2
Mild	0	0	NA	NA	1	0	2	0
Spleen								
Decreased cellularity; lymphoid, marginal zone								
Minimal	0	0	NA	NA	3	3	3	3
Increased hematopoiesis								
Minimal	0	0	NA	NA	1	0	1	2

* $p \leq 0.05$, † $p \leq 0.01$, § $p \leq 0.001$, 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 concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; BID = Twice daily; C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; HCl = Hydrochloride; M = Male; NA = Not applicable; Neg = Negative.
a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day. Doses were administered BID approximately 6 hours apart.
b. All samples were below the level of quantitation (<0.500 ng/mL).
c. All samples were below the level of quantitation (<2.50 ng/mL).
d. n = 1.
e. Less than 3 timepoints with quantifiable concentrations.
f. Group means are shown for controls. Differences compared with controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
g. Number in ( ) indicates number of animals examined macroscopically for the organ/tissue.
h. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically.

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 1-Month Oral Gavage Toxicity Study of PF-06463922 in Dogs With a 1-Month Recovery

Test Article: PF-06463922

Species/Strain: Dog/Beagle

Duration of Dosing: 1 Month (M: 28 days; F: 29 days)

Study Number: [redacted]GR342

GLP Compliance: Yes

Initial Age: >8 months

Duration of Postdose: 1 Month

Lot Number: GR06626

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

Method of Administration: Oral Gavage, BID, 5 mL/kg/dose

Vehicle/Formulation: 0.001N HCl acidified water, pH 3.03-3.08

Special Features: Analysis of serum amylase and lipase parameters, measurement of test article in brain tissue and cerebrospinal fluid.

No Observed Adverse Effect Level: 7 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**		**7 (3.5 BID)**		**25 (12.5 BID)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	6	6	6	6	6	6	6	6
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]		308		1060		3530	
Day 28M/29F	NA[b]		351		970		3880	
AUC_{24} ng•h/mL								
Day 1	NA[b]		3370		11500		39700	
Day 28M/29F	NA[b]		4030		10900		40000	
Brain (ng/mL)[c]								
Day 29M/30F	NA[b]	NA[b]	0.743-1.33	0-0.734	0.893-1.50	0.720-1.57	1.59-6.68	1.82-8.98
Cerebrospinal Fluid (ng/mL)[c]								
Day 29M/30F	NA[b]	NA[b]	1.97-3.69	0.697-6.21	2.06-5.36	2.44-5.29	2.08-95.3	3.18-45.1
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight Change (kg)								
Days 7-14	0.07	-	0.08	-	0.00	-	-0.08*	-
Days 21-28	0.07	0.03	0.10	0.25*	0.10	0.30*	-0.12*	0.07*
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR342 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)		7 (3.5 BID)		25 (12.5 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations (Days 1-29)								
Emesis; food-like	0	0	1	1	0	0	3	2
Emesis; yellow	0	0	0	0	0	0	3	0
Emesis; white foamy	0	0	0	0	0	0	2	3
Anogenital staining	0	0	0	0	0	0	2	0
Haircoat stained, tail/hindpaw; yellow	0	0	0	0	0	0	1	0
Soft feces	2	2	2	3	6	6	6	5
Mucoid feces	1	0	1	2	2	1	6	5
Watery feces	2	1	2	1	6	2	6	6
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation – Days 29 (M)/30 (F)								
Red Blood Cells ($10^6/\mu L$)	7.083	7.017	6.873	6.432	6.810	6.678	6.037‡	5.972‡
Hemoglobin (g/dL)	16.95	16.53	16.35	15.42	16.02	15.92	14.45‡	13.90‡
Hematocrit (%)	51.77	50.65	49.77	46.92	48.82	48.27	44.43†	42.70‡
Red Cell Distribution Width (%)	13.68	13.50	13.82	14.13*	14.03	14.20*	14.38	14.32*
Reticulocytes ($10^3/\mu L$)	45.0	37.0	54.8	33.0	38.5	34.3	81.7	78.7*
Platelets ($10^3/\mu L$)	231.7	312.7	266.7	287.0	265.2	329.8	287.3	438.5*
White Blood Cells ($10^3/\mu L$)	7.65	7.37	10.98†	8.87*	10.82‡	11.32‡	20.08§	18.15§
Neutrophils ($10^3/\mu L$)	4.617	4.213	7.020†	5.203*	7.008‡	6.783†	13.907§	12.887§
Monocytes ($10^3/\mu L$)	0.378	0.277	0.723*	0.520†	0.598†	0.530†	1.657§	1.258§
Lymphocytes ($10^3/\mu L$)	2.355	2.532	2.830*	2.598	2.865*	3.603†	4.112§	3.717‡
Eosinophils ($10^3/\mu L$)	0.180	0.172	0.272	0.348	0.218	0.202	0.318†	0.085*
Basophils ($10^3/\mu L$)	0.053	0.075	0.045	0.065	0.052	0.070	0.023	0.030
Large Unstained Cells ($10^3/\mu L$)	0.072	0.085	0.093	0.117*	0.092	0.115*	0.195	0.337‡
Fibrinogen (mg/dL)	188.2	177.0	260.5†	278.3†	325.3§	256.8‡	583.7§	650.3§
Clinical Chemistry – Days 29 (M)/30 (F)								
Amylase (U/L)	646.5	504.3	725.2	578.3	758.7*	540.0	824.5*	752.0‡
Albumin (g/dL)	3.32	3.20	3.10*	3.02*	2.95‡	2.98‡	2.63§	2.75§
Globulin (g/dL)	2.60	2.52	2.77	2.83	2.95*	2.48	3.12*	3.10*
Albumin/Globulin	1.27	1.27	1.13	1.08	1.00†	1.20	0.85§	0.90‡
Calcium (mg/dL)	10.28	10.15	10.17	10.08	9.95*	10.03	9.73‡	9.77*
Alkaline Phosphatase (U/L)	50.2	62.7	77.0	98.7	80.3*	79.7	281.3§	201.5‡
Cholesterol (mg/dL)	200.5	216.5	219.0	276.0	225.5	259.2	263.5	319.2†

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR342 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**		**7 (3.5 BID)**		**25 (12.5 BID)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Sodium (mmol/L)	148.0	148.2	148.3	147.2	149.5*	148.3	152.5§	150.8‡
Chloride (mmol/L)	113.3	113.8	114.0	113.2	115.5*	113.8	117.0‡	117.0*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[d]– Days 29 (M)/30 (F)								
Liver								
Absolute (g)	294.55	224.33	1.02	1.13	1.08	1.29†	1.10	1.35‡
Relative (g/100 g body weight)	3.16	3.19	0.99	1.04	1.15*	1.14*	1.15*	1.25‡
Relative (g/g brain weight)	4.01	3.28	1.05	1.16*	1.14	1.32‡	1.14	1.38§
Thymus								
Absolute (g)	6.9523	4.9130	1.00	1.41	0.93	1.24	0.82	0.82
Relative (g/100 g body weight)	0.0742	0.0713	0.99	1.27	0.97	1.05	0.86	0.76
Relative (g/g brain weight)	0.0961	0.0731	1.02	1.44	0.96	1.22	0.85	0.83
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology – Days 29 (M)/30 (F)								
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Lung; inflammation								
Mild	0	0	0	1	0	0	1	0
Severe	0	0	0	0	0	0	0	1
Pancreas; acinar atrophy								
Minimal	0	0	0	1	0	1	1	2
Mild	0	0	0	0	0	0	1	1
Epididymis; vacuolation								
Minimal	0	NA	4	NA	4	NA	3	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Bone Marrow (sternum); increased myeloid cellularity								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Mild	0	0	0	1	0	0	2	1
Bone Marrow (sternum); decreased cellularity								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Spleen; extramedullary hematopoiesis								
Minimal	1	2	4	3	2	2	0	2
Mild	0	0	0	1	1	2	2	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR342 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)		7 (3.5 BID)		25 (12.5 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Liver; extramedullary hematopoiesis								
Minimal	4	4	3	3	3	3	3	4
Mild	0	0	0	1	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Thymus; decreased lymphoid cellularity								
Minimal	0	0	1	0	1	0	2	0
Mild	0	1	0	0	0	0	1	0
Moderate	1	0	0	0	0	0	1	1
Postdose Evaluation (Day 57)								
Number Evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2
Body Weight (kg)[d]								
Day 31	10.10	-	0.97	-	1.00	-	0.79	-
Day 52	10.15	-	1.03	-	0.99	-	0.81	-
Hematology/Coagulation								
Red Blood Cells (10^6/µL)	-	7.135	-	6.580	-	6.625	-	6.135
Hemoglobin (g/dL)	-	17.20	-	16.05	-	15.80	-	14.55
Hematocrit (%)	-	50.75	-	47.10	-	46.85	-	43.85
Platelets (10^3/µL)	-	258.0	-	300.0	-	403.0	-	399.0
White Blood Cells (10^3/µL)	-	7.40	-	7.55	-	10.10	-	8.00
Neutrophils (10^3/µL)	-	4.370	-	4.315	-	6.820	-	5.180
Monocytes (10^3/µL)	-	0.245	-	0.375	-	0.400	-	0.340
Clinical Chemistry								
Globulin (g/dL)	2.55	-	2.80	-	2.80	-	3.05	-
Albumin/Globulin	1.25	-	1.10	-	1.10	-	1.05	-
Cholesterol (mg/dL)	-	219.0	-	285.0	-	319.5	-	221.0
Histopathology								
Pancreas; acinar atrophy								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Epididymis; vacuolation								
Minimal	0	NA	1	NA	1	NA	2	NA
Mild	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Thymus; decreased lymphoid cellularity								
Minimal	1	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR342 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)		7 (3.5 BID)		25 (12.5 BID)	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F

* p ≤0.05, † p ≤0.01, ‡ p ≤0.005, § p ≤0.001, 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 concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; BID = Twice daily; C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; HCl = Hydrochloride; M = Male; NA = Not applicable.
a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day. Doses were administered BID approximately 6 hours apart.
b. Blood, brain, and cerebrospinal fluid were collected and analyzed; all samples were below the level of quantitation (<0.500 ng/mL) with the exception of 1 control female on Day 1 at the 3 hours postdose time point (lorlatinib concentration of 0.842 ng/mL).
c. Due to the high variability of the data, ranges (lowest and highest) of individual values are reported per group and sex. Data results below limit of quantitation are given a value of "0".
d. Group means are shown for controls. Differences compared with controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: **A 13-Week Study of PF-06463922 by Oral Gavage in Beagle Dogs**

Test Article: **PF-06463922**

Species/Strain: Dog/Beagle
Age at First Dose: 10 to 11 Months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 13 Weeks
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Oral Gavage, BID, 5 mL/kg/dose
Study Number: 8001589
Sponsor Reference Number: [redacted]LJ023
Lot Number: E010016728
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: HCl acidified ultra-pure water, pH 2.75 ± 0.5
Special Features: Toxicokinetics of PF-06895751 (major human circulating metabolite of lorlatinib)
No Observed Adverse Effect Level: 7 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**		**7 (3.5 BID)**		**25 (12.5 BID)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	3	3	3	3	3	3	3	3
Toxicokinetics (parent; PF-06463922):	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]		280		924		2760	
Day 40	NA[b]		300		1050		4620	
Day 90	NA[b]		318		1150		3590	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]		2520		10000		30800	
Day 40	NA[b]		2530		9270		34700	
Day 90	NA[b]		2820		10400		31000	
Toxicokinetics (metabolite; PF-06895751):	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Week 4	NA[c]		NA[c]		4.31		10.9	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Week 4	NA[c]		NA[c]		63.7		175	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	1[d]	2[d]

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001589 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**		**7 (3.5 BID)**		**25 (12.5 BID)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Body Weight (kg)	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight Gain (kg)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g/day)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations								
Abnormal gait	0	0	0	0	0	1	2	1
Activity, decreased	0	0	0	0	0	1	3	3
Tremors	0	0	0	0	0	0	1	2
Uncoordinated	0	0	0	0	0	0	3	1
Abdominal distention	0	0	0	0	0	0	2	1
Muscle tone, decreased	0	0	0	0	1	0	2	1
Swollen skin, soft	0	1	0	1	0	1	2	3
Swollen skin, firm	0	0	0	1	1	3	0	2
Warm to touch	0	0	0	0	0	1	2	3
Skin, red	2	2	3	0	3	3	3	3
Skin, dry	1	1	0	0	0	2	3	2
Skin, lesion	0	0	0	0	0	2	1	2
Skin scab	1	2	1	2	2	3	3	2
Fur, thin cover	2	0	2	0	2	3	2	3
Feces, liquid	3	2	3	2	3	3	3	3
Vomitus	0	0	0	0	0	0	0	1
Material, foamy (brown, clear, white, yellow, and/or particle/brown	3	2	3	3	3	3	3	3
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation[e,f]								
Red Blood Cell Count ($10^6/\mu L$)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.28	5.42
Week 13	6.95	7.29	7.23	7.02	7.00	6.12*	6.12	6.05
Hemoglobin (g/dL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12.17	12.17
Week 13	15.87	17.03	16.67	16.40	16.00	14.23*	14.20	13.45

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001589 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)		7 (3.5 BID)		25 (12.5 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Hematocrit (%)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	36.10	35.83
Week 13	46.50	50.03	48.53	48.03	47.27	42.27*	43.25	41.80
Mean Cell Volume (fL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	68.33	66.10
Week 13	66.97	68.60	67.20	68.50	67.50	69.17	70.70	69.30
Red Cell Distribution Width (%)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	14.47	13.50
Week 13	12.37	12.63	13.27	12.40	12.50	13.30	13.25	13.40
Reticulocytes (10^9/μL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	68.17	63.87
Week 13	38.73	33.00	56.37	41.07	43.00	72.30	99.40	136.50
Platelet Count (10^3/L)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	296.00	306.33
Week 13	267.00	254.00	264.33	294.00	288.33	429.67*	368.00	504.00
White Blood Cells (10^3/μL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	18.90	20.62
Week 13	7.54	9.08	9.31	8.42	15.55	12.03	16.36	18.45
Neutrophils (10^3/μL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	11.78	14.60
Week 13	4.20	5.40	5.56	4.86	10.60	7.66	12.05	11.77
Lymphocytes (10^3/μL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.20	3.99
Week 13	2.74	3.05	2.85	2.91	3.54	3.22	3.23	5.72
Monocytes (10^3/μL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.52	1.65
Week 13	0.38	0.38	0.61	0.40	1.02	0.81	0.83	0.70
Large Unstained Cells (10^3/μL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.11	0.27
Week 13	0.05	0.03	0.06	0.05	0.17	0.06	0.06	0.13
Fibrinogen (mg/dL)								
Week 13	205.67	139.33	267.67	199.67*	442.33	340.67§	498.00	443.50

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001589 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)		7 (3.5 BID)		25 (12.5 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Chemistry[e,f]								
Alkaline Phosphatase (U/L)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	131.33	137.67
Week 13	69.33	60.00	78.33	49.33	92.67	66.00	71.00	88.50
Cholesterol (mg/dL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	226.67	203.00
Week 13	164.67	142.00	202.67	184.00	244.67	183.67	224.00	160.00
Triglycerides (mg/dL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	57.67	43.67
Week 13	33.67	36.67	33.67	45.00	53.33	33.00	48.00	47.00
Albumin (g/dL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.70	2.77
Week 13	3.50	3.60	3.40	3.50	3.20	3.07§	2.85	3.00
Globulin (g/dL)								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.53	2.40
Week 13	2.10	1.90	2.13	2.03	2.47	2.43*	3.00	2.90
Albumin/Globulin								
Week 6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.13	1.17
Week 13	1.67	1.87	1.60	1.70	1.37	1.23§	1.05	1.10
Amylase (U/L)								
Week 8	824.00	608.67	714.33	697.67	889.00	778.33*	899.50	954.50
Week 13	832.33	535.33	755.67	693.00	857.33	819.67*	931.00	1012.50
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[g]								
Lung								
Absolute (g)	78.659	56.506	0.98	1.14	1.17	1.12	1.29	1.31
Relative (g/100 g body weight)	0.768	0.770	1.02	1.13	1.11	1.10	1.36	1.42
Relative (g/g brain weight)	1.104	0.827	0.89	1.19*	1.08	1.12	1.32	1.24
Liver								
Absolute (g)	304.996	193.573	0.92	1.19	1.14	1.39*	1.28	1.38
Relative (g/100 g body weight)	3.066	2.616	0.92	1.19	1.05	1.38*	1.33	1.50
Relative (g/g brain weight)	4.255	2.815	0.84	1.25†	1.07	1.41§	1.32	1.32

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001589 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)		7 (3.5 BID)		25 (12.5 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spleen								
Absolute (g)	45.082	25.424	0.67	1.49	1.13	1.09	1.46	1.51
Relative (g/100 g body weight)	0.458	0.346	0.66	1.44	1.03	1.06	1.50	1.63
Relative (g/g brain weight)	0.627	0.373	0.61	1.52	1.07	1.09	1.51	1.43
Thymus								
Absolute (g)	8.358	7.119	0.64	0.80	0.32	0.36	0.34	0.20
Relative (g/100 g body weight)	0.084	0.097	0.63	0.76	0.30	0.36	0.36	0.22
Relative (g/g brain weight)	0.116	0.105	0.59	0.80	0.30	0.37	0.35	0.19
Adrenal Gland								
Absolute (g)	1.143	1.090	0.98	1.16	1.05	1.06	1.33	1.43
Relative (g/100 g body weight)	0.012	0.015	0.92	1.13	0.92	1.00	1.33	1.53
Relative (g/g brain weight)	0.0159	0.0160	0.89	1.21	0.97	1.06	1.37	1.35
Testis								
Absolute (g)	14.169	NA	1.00	NA	0.82	NA	0.85	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.143	NA	1.00	NA	0.75	NA	0.88	NA
Relative (g/g brain weight)	0.197	NA	0.91	NA	0.77	NA	0.87	NA
Epididymis								
Absolute (g)	3.063	NA	1.09	NA	1.00	NA	0.82	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.031	NA	1.10	NA	0.90	NA	0.84	NA
Relative (g/g brain weight)	0.0427	NA	1.00	NA	0.94	NA	0.84	NA
Prostate								
Absolute (g)	7.845	NA	1.07	NA	1.10	NA	0.35	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.080	NA	1.08	NA	1.01	NA	0.35	NA
Relative (g/g brain weight)	0.109	NA	0.98	NA	1.05	NA	0.36	NA
Gross Pathology								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	2	1
Lung								
Focus, dark	0	0	1	0	0	0	2	0
Focus, depressed	1	0	0	0	1	0	1	1
Focus, pale	0	0	0	0	0	0	1	0
Focus, raised	0	0	0	0	2	2	2	1
Discoloration, mottled	0	0	0	0	0	0	0	1
Discoloration, pale	0	0	0	0	0	1	1	0

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001589 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**2 (1 BID)**		**7 (3.5 BID)**		**25 (12.5 BID)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Nodule	0	0	0	0	2	1	1	0
Abnormal consistency, firm	0	0	0	0	0	0	0	1
Skin								
Abrasion, dark	0	0	0	0	0	1	1	0
Focus, raised	0	0	0	0	0	2	0	0
Scab, dark	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymph node, popliteal								
Enlargement	0	0	2	1	2	3	2	1
Focus, pale	0	0	0	0	0	1	2	0
Lymph node, tracheobronchial and mediastinal								
Enlargement	0	0	0	0	0	0	2	0
Discoloration, dark	0	0	1	2	2	1	1	0
Focus, dark	0	0	0	0	1	1	1	1
Thymus								
Small	0	0	1	1	3	2	2	1
Prostate								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Body cavity, Oral[h]								
Focus, depressed	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Discoloration, dark	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Histopathology								
Number Examined[i]	3	3	3	3	3	3	2	1
Lung								
Inflammation, subacute								
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
Mild	0	0	0	0	2	3	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0
Inflammation, pleural, subacute								
Minimal	0	0	0	0	2	1	1	0
Trachea								
Inflammation, subacute								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001589 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)		7 (3.5 BID)		25 (12.5 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Liver								
Hyperplasia, bile duct								
Minimal	0	0	1	1	2	2	2	0
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Pigment, Kupffer cell								
Minimal	1	1	1	0	1	2	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	2	1
Gallbladder								
Hemorrhage								
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Skin								
Ulceration								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0
Inflammation								
Moderate	0	0	0	0	0	2	1	0
Crust								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph node, popliteal								
Plasmacytosis, medullary								
Minimal	0	0	0	1	2	1	0	1
Mild	0	0	1	0	0	2	2	0
Inflammation								
Minimal	0	0	2	0	2	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	2	0	0
Lymph node, tracheobronchial and mediastinal								
Plasmacytosis, medullary								
Minimal	NA (0)	NA (0)	0 (1)	0 (2)	0	0 (2)	2	0
Inflammation								
Minimal	NA (0)	NA (0)	0 (1)	0 (2)	0	1 (2)	0	0

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001589 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)		7 (3.5 BID)		25 (12.5 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Erythrocytosis, sinus								
Mild	NA (0)	NA (0)	0 (1)	0 (2)	2	0 (2)	0	1
Moderate	NA (0)	NA (0)	0 (1)	2 (2)	1	2 (2)	2	0
Marked	NA (0)	NA (0)	1 (1)	0 (2)	0	0 (2)	0	0
Spleen								
Extramedullary hematopoiesis								
Minimal	0	0	0	0	2	3	1	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	1
Pigment								
Minimal	3	2	1	2	2	0	0	0
Mild	0	1	2	1	0	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	1	2	2	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Gut-associated lymphoid tissue								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Thymus								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	1	0	1	1	0
Mild	0	0	1	0	2	2	0	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	1	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Lymph node, mesenteric								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	2	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Body cavity, oral[h]								
Inflammation, chronic active								
Marked	NA (0)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	1 (1)

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001589 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)		7 (3.5 BID)		25 (12.5 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Stomach								
Atrophy, mucosal glandular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Duodenum								
Atrophy, villous								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Hyperplasia, crypt								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Jejunum								
Atrophy, villous								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Hyperplasia, crypt								
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Degeneration, epithelium								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation, subacute								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Ileum								
Atrophy, villous								
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Hyperplasia, crypt								
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Inflammation, subacute								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	1
Testis								
Degeneration/atrophy, tubular								
Minimal	0	NA	0	NA	2	NA	2	NA
Moderate	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8001589 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		2 (1 BID)		7 (3.5 BID)		25 (12.5 BID)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Epididymis								
Cellular debris								
Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Oligo/aspermia								
Mild	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Prostate								
Atrophy, glandular								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA

* $p \leq 0.05$, † $p \leq 0.01$, § $p \leq 0.001$, 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 concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose; BID = Twice daily; C_{max} = Maximum (peak) observed drug concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; HCl = Hydrochloride; M = Male; NA = Not applicable.
a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day. Doses were administered BID approximately 6 hours apart.
b. All samples were below the level of quantitation (<0.500 ng/mL).
c. All samples were below the level of quantitation (<2.50 ng/mL).
d. One male was electively euthanized on Day 46 and two females were electively euthanized on Days 48 or 88 due to poor and/or deteriorating condition attributed to clinical signs associated with lung and/or bone inflammation.
e. Week 6 samples were only collected for the high dose group whereas Week 13 samples were collected for all dose groups.
f. Statistical analysis not performed on high dose group as N<3.
g. Group means are shown for controls. Differences compared with controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
h. Only the 1 surviving female at 25 mg/kg/day was examined.
i. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically.

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: PF-06463922: *Salmonella-E. coli*/Mammalian Microsome Reverse Mutation Assay

Test Article: PF-06463922

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium* strains TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, and *Escherichia coli* strain WP2 *uvr*A
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 mixture (7.5% v/v)
Vehicles: **For Test Article:** DMSO **For Positive Controls:** DMSO
Treatment: Plate incorporation for 48 hours at 37°C with and without metabolic activation
Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None

Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3

Study Number: [redacted]-655113
Sponsor Reference Number: [redacted]GR303
Lot Number: GR07970
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: 3241
Dates of Treatment: [redacted] 20[redacted], [redacted] 20[redacted]

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	13 ± 5	54 ± 12	5 ± 3	4 ± 2	179 ± 7
PF-06463922	25	12 ± 1	66 ± 9	4 ± 2	3 ± 3	167 ± 4
	50	11 ± 6	79 ± 11	7 ± 3	3 ± 3	170 ± 15
	100	19 ± 7	74 ± 10	9 ± 3	5 ± 3	160 ± 13
	250	21 ± 8	68 ± 4	9 ± 2	4 ± 2	173 ± 7
	500	16 ± 7	66 ± 6	8 ± 2	2 ± 1	173 ± 10
	1000	18 ± 5	65 ± 11	6 ± 5	7 ± 4	154 ± 8
	2500	18 ± 4	64 ± 5	6 ± 0	4 ± 2	164 ± 9
	5000	12 ± 3	65 ± 11	7 ± 5	3 ± 4	144 ± 7

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted]-655113 (continued)

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Positive controls						
2-Nitrofluorene	2.5	738 ± 48	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	559 ± 37	357 ± 15	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	290 ± 66	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	3647 ± 493
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	22 ± 1	96 ± 17	6 ± 2	7 ± 1	170 ± 19
PF-06463922	25	15 ± 2	83 ± 8	10 ± 4	3 ± 3	174 ± 23
	50	16 ± 8	63 ± 8	12 ± 3	3 ± 3	205 ± 27
	100	17 ± 2	81 ± 12	9 ± 0	7 ± 5	196 ± 19
	250	28 ± 5	84 ± 4	9 ± 2	5 ± 2	172 ± 4
	500	23 ± 2	83 ± 13	10 ± 2	4 ± 3	177 ± 18
	1000	18 ± 5	68 ± 11	9 ± 2	5 ± 6	184 ± 10
	2500	14 ± 5	71 ± 8	8 ± 1	3 ± 2	179 ± 49
	5000	19 ± 2	66 ± 10	8 ± 5	7 ± 1	160 ± 22
Positive controls						
2-Aminoanthracene	2.5	1555±68	541 ± 111	101 ± 25	72 ± 34	NT
	10	NT	NT	NT	NT	2645 ± 360

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted]-655113 (continued)

Test Article	Dose (µg/plate)	Confirmatory Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	13 ± 5	62 ± 7	9 ± 2	3 ± 3	247 ± 23
PF-06463922	100	11 ± 5	62 ± 6	6 ± 3	3 ± 1	217 ± 17
	250	17 ± 6	64 ± 9	12 ± 2	4 ± 2	183 ± 4
	500	15 ± 5	60 ± 6	11 ± 6	4 ± 1	219 ± 7
	1000	14 ± 2	67 ± 3	9 ± 3	4 ± 3	212 ± 42
	2500	13 ± 4	67 ± 12	12 ± 1	4 ± 3	207 ± 10
	5000	14 ± 2	41[a] ± 6	7 ± 5	2 ± 1	148 ± 6
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	2.5	734±95	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	449 ± 62	345 ± 44	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	270 ± 18	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	3438 ± 659
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	11 ± 4	70 ± 20	8 ± 1	8 ± 3	225 ± 8
PF-06463922	100	20 ± 7	70 ± 22	11 ± 6	3 ± 1	238 ± 13
	250	18 ± 3	74 ± 15	12 ± 5	9 ± 4	244 ± 17
	500	19 ± 3	76 ± 6	6 ± 2	3 ± 1	218 ± 16
	1000	21 ± 7	74 ± 2	8 ± 5	8 ± 3	206 ± 20
	2500	22 ± 3	66 ± 3	11 ± 6	6 ± 2	213 ± 30
	5000	14 ± 2	58[a] ± 10	7 ± 6	5 ± 2	191 ± 13
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	2.5	1329 ± 18	509 ± 129	133 ± 7	51 ± 5	NT
	10	NT	NT	NT	NT	1953 ± 118

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted]-655113 (continued)

Criteria for significance: 2x (TA 98, TA 100, and WP2 *uvr*A pKM101) and 3x (TA 1535 and TA 1537) over controls.
DMSO = Dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NT = Not tested; S9 = Postmitochondrial supernatant.
a. Slightly reduced background lawn.

2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: PF-06463922: In Vitro Micronucleus Assay in TK6 Cells

Test Article: PF-06463922

Test for Induction of: Micronuclei
Test Cells: TK6 human lymphoblastoid cells
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** DMSO
Treatment: 4-hour treatment with and without metabolic activation, and 27-hour treatment without metabolic activation

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 2
Number of Cells Analyzed/Culture: 1000

Study Number: [redacted]-655112
Sponsor Reference Number: [redacted]GR304
Lot Number: GR07970
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: 3241
Date(s) of Treatment: [redacted]20[redacted]

Cytotoxic Effects: 52% reduction in RPD at 57.8 µg/mL in the 27-hour treatment without metabolic activation. No cytotoxicity >50% in the 4-hour treatments with and without metabolic activation.

Genotoxic Effects: Statistically significant increase in the percent of micronucleated mononucleate cells at 293, 345, and 406 µg/mL in the 4-hour treatments with and without metabolic activation.

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]
4-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.30	NA	NA
PF-06463922	293	2000	19.59	1.25	<0.01†	<0.01
	345	2000	20.11	1.40	<0.01†	
	406	2000	23.97	2.35	<0.01†	
Mitomycin C	0.125	2000	36.51	2.30	<0.01†	NA
4-Hour Treatment With Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.15	NA	NA
PF-06463922	293	2000	24.80	2.50	<0.01†	<0.01
	345	2000	42.98	2.50	<0.01†	
	406	2000	40.86	2.60	<0.01†	
Cyclophosphamide	11.9	2000	23.04	2.05	<0.01†	NA
27-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.20	NA	NA
PF-06463922	18.5	2000	13.92	0.25	1	0.05114
	25.6	2000	22.02	0.75	0.01893*	
	57.8	2000	51.88	0.45	0.2661	
Vinblastine Sulfate	0.0020	2000	97.50	1.45	<0.01†	NA

2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO **Study Number: [redacted]-655112 (continued)**

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on Fishers Exact Test. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
DMSO = Dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MN = Micronucleated mononucleates; NA = Not applicable; 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 = (the total number of micronucleated mononucleates/the total number of mononucleates 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 was performed. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.

2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO Report Title: Exploratory In Vitro Micronucleus Assay of PF-06463922 in TK6 Cells

Test Article: PF-06463922

Test for Induction of: Micronuclei
Test Cells: TK6 human lymphoblastoid cells
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** DMSO
Treatment: 4-hour treatment with and without metabolic activation, and 27-hour treatment without metabolic activation
Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 1
Number of Cells Analyzed/Culture: 1000
Study Number: [redacted]GR094
Lot Number: GR06626
GLP Compliance: No
S9 Batch Number: Not reported
Date(s) of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic Effects: 25.6% - 56.9% reduction in RPD at ≥112 µM in the 27-hour treatment without metabolic activation and 22.6 % - 41.0% at ≥416 µM in the 4-hour treatment with metabolic activation.
Genotoxic Effects: Positive for the induction of micronuclei to significant levels above background.

Test Article	Dose (µM)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]
4-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1%	≥1000	0	0.9	NA	NA
PF-06463922	416	≥1000	14.8	1.8	0.119	<0.01
	645	≥1000	12.4	4.4	<0.01†	
	1000	≥1000	22.8	5.9	<0.01†	
Mitomycin C	0.3	≥1000	25.9	4.0	<0.01†	NA
4-Hour Treatment With Metabolic Activation						
DMSO	1%	≥1000	0	0.7	NA	NA
PF-06463922	416	≥1000	22.6	2.2	<0.01†	<0.01
	645	≥1000	28.3	3.5	<0.01†	
	1000	≥1000	41.0	6.2	<0.01†	
Cyclophosphamide	8.95	≥1000	13.0	1.0	0.627	NA
27-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1%	≥1000	0	0.9	NA	NA
PF-06463922	112	≥1000	25.6	1.5	0.304	<0.01
	173	≥1000	38.1	2.7	<0.01†	
	269	≥1000	56.9	3.0	<0.01†	
Noscapine	11.1	≥1000	15.9	2.8	<0.01†	NA

2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO **Study Number: [redacted]GR094 (continued)**

† p ≤0.01, significantly different from control based on Fishers Exact Test. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MN = Micronucleated mononucleates; NA = Not applicable; 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 = (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.

2.6.7.8D GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: Exploratory FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) Analysis of PF-06463922 in TK6 Cells

Test Article: PF-06463922

Test for Induction of: Centromere Positive Micronuclei
Test Cells: TK6 human lymphoblastoid cells
Treatment: 27-hour direct without activation and 4-hour treatment with 40-hour recovery with and without metabolic activation
Number of Independent Assays: 2 separate hybridization dates
Number of Slides: 2-3 for each treatment type
Study Number: [redacted]GR094
Lot Number: GR06626
GLP Compliance: No
Date of hybridization: [redacted] 20[redacted] and [redacted] 20[redacted]
Vehicles: DMSO **Positive Controls:** Noscapine
Cytotoxic Effects: NA
Genotoxic Effects: This level of centromere positive signal is indicative of an aneugenic mechanism leading to the elevated micronucleus response.

Test Article	Concentration (μM)	Total # Micronuclei per 1000 cells[a]	Micronucleated Cells[b] (%)	Total # Micronuclei evaluated	Total # C+ Micronuclei[c]	Total # C- Micronuclei[d]	%C+[e]	%C-[f]
27-Hour Direct Test (Without Activation)								
Solvent Control: DMSO	1%	9	0.9	40	20	20	50.0	50.0
PF-06463922	269	30	3.0	100	71	29	71.0	29.0
Noscapine	11.1	28	2.8	100	66	34	66.0	34.0
4-Hour Treatment with 40-Hour Recovery (Without Metabolic Activation)								
Solvent Control: DMSO	1%	9	0.9	42	24	18	57.1	42.9
PF-06463922	1000	59	5.9	100	75	25	75.0	25.0
4-Hour Treatment with 40-Hour Recovery (With Metabolic Activation)								
Solvent Control: DMSO	1%	7	0.7	40	16	24	40.0	60.0
PF-06463922	1000	62	6.2	100	86	14	86.0	14.0

2.6.7.8D GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted]GR094 (continued)

C+ = Centromere positive; C- = Centromere negative; DMSO = Dimethylsulfoxide; FISH = Fluorescent In Situ Hybridization; 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 [redacted]GR094 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-)} x100.
f. %C- = (Total C-)/{(Total C+) + (Total C-)} x100.

2.6.7.8E GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: PF-06895751: *Salmonella-E. coli*/Mammalian Microsome Reverse Mutation Assay

Test Article: PF-06895751

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium* strains TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, and *Escherichia coli* strain WP2 *uvr*A
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3
Study Number: [redacted]-655184
Sponsor Reference Number: [redacted]GR098
Lot Number: 710463-326-06
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: 3711
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted], [redacted] 20[redacted]
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 mixture (7.5% v/v)
Vehicles: **For Test Article:** DMSO **For Positive Controls:** DMSO
Treatment: Plate incorporation for 48 hours with and without metabolic activation
Cytotoxic Effects: None.
Genotoxic Effects: None.

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	19 ± 4	128 ± 19	13 ± 2	7 ± 2	164 ± 25
PF-06895751	25	12 ± 1	131 ± 10	13 ± 3	8 ± 3	206 ± 6
	50	15 ± 6	129 ± 6	16 ± 4	8 ± 2	208 ± 20
	100	15 ± 4	129 ± 11	19 ± 5	9 ± 6	217 ± 14
	250	19± 4	139 ± 27	14 ± 4	11 ± 3	209 ± 4
	500	19 ± 5	133 ± 5	14 ± 1	4 ± 3	174 ± 29
	1000	12± 4	144 ± 15	11 ± 3	9 ± 2	181 ± 14
	2500	15 ± 2	149 ± 13	12 ± 4	9 ± 3	152 ± 11
	5000	10[a] ± 7	113 ± 18	12 ± 3	10 ± 3	144 ± 18
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	2.5	1162 ± 190	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	576 ± 17	437 ± 122	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	438 ± 75	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	3838 ± 156

2.6.7.8E GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted]-655184 (continued)

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	24 ± 11	134 ± 23	15 ± 7	5 ± 2	207 ± 12
PF-06895751	25	23 ± 3	143 ± 14	11 ± 4	6 ± 1	224 ± 1
	50	23 ± 10	135 ± 19	12 ± 7	8 ± 3	226 ± 11
	100	23 ± 1	125 ± 14	13 ± 3	8 ± 1	235 ± 21
	250	25 ± 6	121 ± 16	15 ± 2	8 ± 2	214 ± 16
	500	27 ± 1	143 ± 12	18 ± 4	7 ± 1	226 ± 13
	1000	15 ± 3	135 ± 24	12 ± 3	8 ± 1	209 ± 18
	2500	23 ± 5	118 ± 5	15 ± 2	3 ± 2	214 ± 22
	5000	20 ± 6	147 ± 19	11 ± 4	8 ± 1	165 ± 12
Positive Control						
2-Aminoanthracene	2.5	4313 ± 379	1842 ± 166	229 ± 21	99 ± 9	NT
	10	NT	NT	NT	NT	3488 ± 268
Test Article	**Dose (µg/plate)**	**Confirmatory Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)**				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	17 ± 4	96 ± 8	26 ± 3	5 ± 4	168 ± 14
PF-06895751	100	17 ± 4	104 ± 14	50 ± 30	7 ± 5	145 ± 19
	250	14 ± 5	85 ± 4	31 ± 4	9 ± 3	162 ± 3
	500	16 ± 8	97 ± 7	26 ± 9	7 ± 2	175 ± 23
	1000	13 ± 3	95 ± 1	27 ± 4	8 ± 2	153 ± 15
	2500	11 ± 1	100 ± 12	32 ± 7	7 ± 3	141 ± 24
	5000	18 ± 3	89 ± 18	22[a] ± 1	8[a] ± 2	124 ± 3

2.6.7.8E GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted]-655184 (continued)

Test Article	Dose (µg/plate)	Confirmatory Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 *uvrA* pKM101
Without Metabolic Activation						
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	2.5	1023 ± 71	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	466 ± 40	582 ± 84	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	730 ± 64	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	3414 ± 258
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	16 ± 4	92 ± 12	20 ± 4	4 ± 4	193 ± 19
PF-06895751	100	19 ± 7	85 ± 5	32 ± 8	5 ± 3	191 ± 14
	250	19 ± 9	90 ± 12	22 ± 4	5 ± 2	182 ± 6
	500	22 ± 3	97 ± 16	18 ± 6	8 ± 1	176 ± 17
	1000	20 ± 3	97 ± 6	18 ± 3	6 ± 1	159 ± 20
	2500	22 ± 3	112 ± 10	17 ± 5	7 ± 4	167 ± 18
	5000	23 ± 11	121 ± 12	17 ± 4	5 ± 2	133 ± 33
Positive Control						
2-Aminoanthracene	2.5	2587 ± 143	804 ± 189	228 ± 41	47 ± 11	NT
	10	NT	NT	NT	NT	4870 ± 180

Criteria for significance: 2x (TA 98, TA 100, and WP2 *uvrA* pKM101) and 3x (TA 1535 and TA 1537) over controls.
DMSO = Dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NT = Not tested; S9 = Postmitochondrial supernatant.
a. Slightly reduced background lawn.

2.6.7.8F GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: PF-06895751: In Vitro Micronucleus Assay in TK6 Cells

Test Article: PF-06895751

Test for Induction of: Micronuclei
Test Cells: TK6 human lymphoblastoid cells
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** DMSO
Treatment: 4-hour treatment with and without metabolic activation, and 27-hour treatment without metabolic activation
Cytotoxic Effects: None.
Genotoxic Effects: None.

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 2
Number of Cells Analyzed/Culture: 1000

Study Number: [redacted]-655183
Sponsor Reference Number: [redacted]GR096
Lot Number: 710463-326-06
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: 3711
Date(s) of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]
4-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	1.20	NA	NA
PF-06895751	118	2000	9.92	1.45	0.2903	0.1881
	147	2000	3.01	1.70	0.1168	
	184	2000	0.89	1.65	0.1429	
Mitomycin C	0.125	2000	34.67	8.75	<0.01†	NA
4-Hour Treatment With Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.80	NA	NA
PF-06895751	118	2000	4.26	0.90	0.4318	0.05718
	147	2000	3.66	1.20	0.1329	
	184	2000	2.95	1.35	0.06213	
Cyclophosphamide	11.9	2000	34.29	7.70	<0.01†	NA
27-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.80	NA	NA
PF-06895751	118	2000	2.74	0.85	0.5	0.9562
	147	2000	2.27	0.95	0.3674	
	184	2000	2.68	0.75	0.5	
Vinblastine Sulfate	0.003	2000	43.34	11.95	<0.01†	NA

2.6.7.8F GENOTOXICITY: IN VITRO **Study Number: [redacted]-655183 (continued)**

† p ≤0.01, significantly different from control based on Fishers Exact Test. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
DMSO = Dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MN = Micronucleated mononucleates; NA = Not applicable; 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 = 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 was performed. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.

2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO

Report Title: In Vivo Micronucleus Assay in Rats

Test Article: PF-06463922

Test for Induction of: Bone marrow micronuclei
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: 7 Weeks

Cells Evaluated: PCE and Total erythrocytes

Treatment Schedule: 2 consecutive days, QD[a]
Sample Time: ~ 24 hours after the last dose
Method of Administration: Oral gavage, QD, 12 mL/kg; (10 mL/kg for cyclophosphamide)
Vehicle/Formulation: Acidified deionized water (pH 3.00 ± 0.25)

Study Number: AD99WW.125021ICH.BTL
Sponsor Reference Number: [redacted]LJ084
Lot Number: GR07970
GLP Compliance: Yes
Dates of Treatment: [redacted] 20[redacted], [redacted] 20[redacted]

Number of Cells Analyzed/Animal: 4,000 PCE for micronuclei; 1000 erythrocytes for PCE:total erythrocyte ratio
Special Features: None
Toxic/Cytotoxic Effects: No mortality occurred at any dose during the course of the definitive assay. Clinical signs included piloerection and lethargy, which were observed at 100 mg/kg/day in female rats. Piloerection was also observed in male rats at 100 mg/kg/day. All other rats appeared normal throughout the observation period. Bone marrow toxicity was not observed, as there were no appreciable reductions in the PCEs/total erythrocytes ratio in the test article groups compared with the vehicle control group.
Genotoxic Effects: Positive for micronucleus induction at 100 mg/kg/day. Statistically significant increases in the incidence of MNPCEs at ≤100 mg/kg/day; however, increases observed at ≤30 mg/kg/day were not considered to be biologically relevant.
Evidence of Exposure: Measurable concentrations of PF-06463922 were detected in plasma samples of test article-dosed groups in the initial and repeat analyses. Plasma samples from the vehicle control group showed no quantifiable concentrations of PF-06463922.

Test Article	Dose[b] (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	PCE/Total Erythrocytes Mean ± SD		MNPCE Scored (per 24000 PCE)	
			Male	Female	Male	Female
Vehicle Control (acidified deionized water, pH 3.00 ± 0.25)	0	6	0.518 ± 0.00	0.525 ± 0.00	1	6
PF-06463922	10	6	0.525 ± 0.01	0.529 ± 0.01	19*	17*
	30	6	0.527 ± 0.01	0.524 ± 0.01	18*	18*
	100	6	0.528 ± 0.01	0.531 ± 0.01	32*	41*
Positive Control (Cyclophosphamide)	40	6	0.551 ± 0.01	0.554 ± 0.01	439*	509*

Toxicokinetic Parameters (M/F)[c]:			
Dose (mg/kg/day)	10	30	100
Day 2			
C_{max} (ng/mL)	1750/3540	6030/8360	13100/16000
AUC_{24} (ng•h/mL)	15400/47300	58300/150000	241000/345000

2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO — Study Number: AD99WW.125021ICH.BTL (continued)

∗ p ≤0.05, significantly different from concurrent vehicle control based on Kastenbaum-Bowman tables. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
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; MNPCE = Micronucleated PCEs; NA = Not applicable; PCE = Polychromatic erythrocytes; QD = Once daily; SD = Standard deviation.
a. Positive-control (cyclophosphamide) animals were dosed once on Day 2, approximately 24 hours prior to bone marrow collection.
b. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
c. Satellite animals; 3/sex/group.

2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06463922

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Dosing Period	Concentrations	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Zebrafish	In vitro (DMSO [5%], pH 7-8) Lot PF-06463922-14-0001	6 hpf to 120 hpf	0.25 to 1000 µM	NA	Evidence of developmental toxicity (fewer eye iridophores [pigment]) at all doses evaluated (≥0.25 µM) in the absence of lethality up to 3.91 µM (mean tissue concentration of 9.2 ng/mL). At 7.82 µM (mean tissue concentration of 18.5 ng/mL), developmental toxicity was observed in other structures (dysmorphogenesis of the arches/jaws, face, somites, tail, body shape, and heart) in the presence of lethality. The developmental LOEC was 0.25 µM whereas the developmental NOEC was undetermined (due to fewer eye iridophores [pigment] at all lorlatinib concentrations.	[redacted]GR239/ No
Balb/c 3T3 cells, DBA/1lacJ murine embryonic stem cells	In vitro (DMSO [~ 0.3%]) Lot PF-06463922-00-0015	NA	0.04 to 10 µg/mL	NA	Lorlatinib inhibited differentiation of mES cells into beating cardiomyocytes at concentrations lower than the respective concentrations inducing cytotoxicity, indicating that lorlatinib has the potential to cause developmental toxicity at an exposure lower than that which causes maternal toxicity (ie, evidence of selective developmental toxicity).	[redacted]GR240/ No

2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES — Test Article: PF-06463922 (continued)

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Dosing Period	Concentrations	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
					The estimated lowest concentration of inhibition of mES cell differentiation (ID_{10}) was 1.11 μg/mL. Statistical modeling predicted lorlatinib to have a high risk for developmental toxicity.	

DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; hpf = Hours postfertilization; LOEC = Lowest observed effect concentration; mES cells = Murine embryonic stem cells; NA = Not applicable; NOEC = No observed effect concentration.

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

Report Title: A Preliminary Embryo-Fetal Development Study of PF-06463922 by Oral Gavage in Rats

Test Article: PF-06463922

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: ~60-70 days
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None

Dosing Period: GD 6-17
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 21
Method of Administration: Oral gavage, BID, 5 mL/kg/dose
Vehicle/Formulation: 0.001N HCl acidified deionized water, pH 3 ± 0.25

Study Number: 20090724
Sponsor Reference Number: [redacted]GR479
Lot Number: E010016714
GLP Compliance: Yes

No Observed Adverse Effect Level:
Maternal: 4 mg/kg/day
Developmental: Not determined - based on lower mean fetal body weights and a low incidence of external and visceral malformations at 1 mg/kg/day and lower embryo-fetal viability at all doses.

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1 (0.5 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**30 (15 BID)**
Maternal Females					
Number of Animals	6	6	6	6	6
Toxicokinetics – GD 17:					
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	272	1060	3820	20300
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	6810	27200	107000	339000
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	3[c]
Number Pregnant	6	5	6	6	6
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0	0
Clinical Observations					
Vocalization, increased	0	0	1	2	5
Hyperreactivity	0	0	0	2	5
Dehydration	0	0	0	2	6
Abnormal gait	0	0	0	0	6
Decreased activity	0	0	0	0	1
Hunched posture	0	0	0	0	1
Fur, erected	0	0	0	0	1
Fur, yellow staining, abdominal	0	0	0	0	5
Fur, ungroomed	0	0	0	0	6

Study Number: 20090724 (continued)

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

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	1 (0.5 BID)	4 (2 BID)	15 (7.5 BID)	30 (15 BID)
Fur, wet, abdominal	0	0	0	0	5
Eyes, partially closed	0	0	0	0	1
Liquid vaginal discharge	0	1	0	1	5
Tongue, yellow	0	0	0	0	2
Splayed limb, hindlimbs	0	0	0	0	3
Hindpaw, firm, swollen, right	0	0	0	0	1
Body Weight (g)[d]					
GD 6	206.0	1.00	098	0.99	1.01
GD 15	243.2	1.02	0.99	1.00	0.94
GD 17	257.5	1.03	0.95	0.95	0.86
GD 21	297.0	0.97	0.77	0.76	0.77
Body Weight Gain (g)[d]					
GD 6-9	12.5	1.4	1.3	1.1	0.4
GD 6-21	91.0	0.91	0.28	0.26	0.20
Corrected Body Weight Gain, (g), GD 6-21[d]	19.55	1.74	1.23	1.13	0.85
Food Consumption (g/animal/day), GD 6-21[d]	15.9	1.05	0.80	0.68	0.70
Gravid Uterine Weight (g)[d]	71.45	0.68	0.03	0.02	0.02
Necropsy Observations					
Number Evaluated	6	6	6	6	6
Spleen, enlargement	0	0	0	2	3
Thymus, enlargement	0	0	0	1	0
Thymus, discolored, red	1	0	0	0	0
Cesarean Section Observations					
Number Evaluated	6	5	6	6	3
Mean Number Corpora Lutea	10.8	11.4	10.8	11.8	11.5
Mean Number Implantations	10.7	10.2	9.0	9.8	9.7
Mean % Preimplantation Loss	1.39	10.16	15.94	15.48	12.88
Mean % Postimplantation Loss	1.28	30.63	100	100	100
Mean Number Viable Conceptuses	10.5	7.2	0	0	0
Mean Number Early Resorptions	0.2	2.4	9.0	9.8	9.7
Mean Number Late Resorptions	0	0.6	0	0	0

Study Number: 20090724 (continued)

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

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	1 (0.5 BID)	4 (2 BID)	15 (7.5 BID)	30 (15 BID)
Fetuses					
Number Fetuses (Litters) Evaluated	63 (6)	36 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Mean Number Live Fetuses	10.5	7.2	NA	NA	NA
Mean Number Dead Fetuses	0	0	NA	NA	NA
Mean Fetal Body Weight (g)[d]	5.179	0.83	NA	NA	NA
Sex Ratios (% males)	43	50	NA	NA	NA
Fetal Observations[e]					
External Malformation					
Number Fetuses (Litters) Evaluated	63 (6)	36 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Hindlimb, malrotated	0/0	2.8/20	NA	NA	NA
Forepaw, supernumerary	0/0	2.8/20	NA	NA	NA
Trunk, gastroschisis	0/0	2.8/20	NA	NA	NA
Visceral Malformations					
Number Fetuses (Litters) Evaluated	32 (6)	20 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Intestine, malpositioned	0/0	5/20	NA	NA	NA
Liver, malpositioned	0/0	5/20	NA	NA	NA
Pancreas, malpositioned	0/0	5/20	NA	NA	NA
Spleen, malpositioned	0/0	5/20	NA	NA	NA
Stomach, malpositioned	0/0	5/20	NA	NA	NA
Kidney, small	0/0	5/20	NA	NA	NA
Number Fetuses (Litters) Evaluated	31 (6)	16 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Aortic arch, interrupted	0/0	6.3/20	NA	NA	NA

AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BID = Twice daily; C_{max} = Maximum observed concentration; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; HCl = Hydrochloride; ICH = International Conference on Harmonization; NA = Not applicable.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day. Doses were administered BID approximately 7 hours apart.

b. All samples below assay limit of quantitation (1.00 ng/mL).

c. Three females were electively euthanized (2 on GD 18 and 1 on GD 19) because of adverse clinical signs, maternal body weight loss, and lower maternal food consumption.

d. Group means are 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.

e. Values shown are fetuses affected (mean %/litter) followed by litter incidence (%). Skeletal examinations were not performed.

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

Report Title: A Preliminary Embryo-Fetal Development Study of PF-06463922 by Oral Gavage in Rabbits

Test Article: PF-06463922

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White
Age at First Dose: 4-6 months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal: 4 mg/kg/day
Developmental: 1 mg/kg/day

Dosing Period: GD 7-19
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 29
Method of Administration: Oral gavage, BID, 5 mL/kg/dose
Vehicle/Formulation: 0.001N HCl acidified deionized water, pH 3 ± 0.25

Study Number: 20090725
Sponsor Reference Number: [redacted]GR478
Lot Number: E010016714
GLP Compliance: Yes

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1 (0.5 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**30 (15 BID)**
Maternal Females					
Number of Animals	8	8	8	8	8
Toxicokinetics – GD 19:					
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	37.8	235	909	2860
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	546	3160	17000	40200
Number Died or Euthanized Moribund	0	1[c]	0	4[d]	4[d]
Number Pregnant	8	8	8	8	8
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	8	8
Clinical Observations					
Feces, liquid	0	2	3	5	6
Feces, soft	0	0	1	4	7
Fur, ungroomed	0	0	1	4	7
Material, aborted tissue, red	0	0	0	1	1
Material, liquid, red	1	0	0	3	8
Body Weight (g)[e]					
Day 7	3519.75	1.05	1.03	1.05	1.08
Day 10	3561.08	1.07	1.05	1.09	1.11
Day 13	3591.76	1.08	1.06	1.09	1.13
Day 20	3642.28	1.09	1.07	1.03	1.11

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

Study Number: 20090725 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1 (0.5 BID)**	**4 (2 BID)**	**15 (7.5 BID)**	**30 (15 BID)**
Body Weight Gain (g)[e]					
GD 7-10	41.33	3.27	3.04	4.29	4.29
GD 10-13	30.69	1.24	2.09	1.62	3.16
GD 7-20	122.53	2.12	2.28	0.69	2.09
Corrected Body Weight, (g), GD 29[e]	3292.61	1.06	1.05	1.11	1.22
Food Consumption (g/animal/day), GD 7-20[e]	112.6	1.22	1.28	1.14	1.22
Uterine Weight (g)[e]	567.16	1.08	0.81	0.04	0.04
Necropsy Observations	-	-	-	-	-
Number Evaluated	8	8	8	8	8
Cesarean Section Observations					
Number Evaluated	8	7	8	4	4
Mean Number Corpora Lutea	11.0	12.1	11.5	9.0	10.3
Mean Number Implantations	10.9	11.6	9.6	8.0	9.3
Mean % Preimplantation Loss	1.25	4.52	14.55	12.50	11.50
Mean % Postimplantation Loss	6.17	10.12	18.56	100	100
Mean Number Viable Conceptuses	10.3	10.4	7.9	0	0
Mean Number Early Resorptions	0.3	0.7	1.0	8.0	9.3
Mean Number Late Resorptions	0.4	0.3	0.8	0	0
Fetuses					
Number Fetuses (Litters) Evaluated	82 (8)	73 (7)	63 (8)	NA	NA
Mean Number Live Fetuses	10.3	10.4	7.9	NA	NA
Mean Number Dead Fetuses	0	0.1	0	NA	NA
Mean Fetal Body Weight (g)[e]	38.687	1.06	1.04	NA	NA
Sex Ratios (% males)	38	48	42	NA	NA
Fetal Observations[f]					
Number Fetuses/Litters Evaluated	82 (8)	73 (7)	63 (8)	NA	NA
External Malformations					
Head, domed	0/0	0/0	1.6/12.5	NA	NA
Forelimb, malrotated	0/0	0/0	1.6/12.5	NA	NA
Forepaw, hyperextension	0/0	0/0	1.6/12.5	NA	NA

Study Number: 20090725 (continued)

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

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	1 (0.5 BID)	4 (2 BID)	15 (7.5 BID)	30 (15 BID)
External Variations					
Palate, high arched	0/0	0/0	1.6/12.5	NA	NA
Visceral Malformations					
Brain, lateral ventricle, dilated	0/0	0/0	1.6/12.5	NA	NA
Brain, third ventricle, dilated	0/0	0/0	1.6/12.5	NA	NA
Kidney, malpositioned	0/0	0/0	3.2/25	NA	NA
Kidney, misshapen	0/0	0/0	3.2/25	NA	NA
Subclavian artery, retroesophageal	0/0	1.4/14.3	1.6/12.5	NA	NA
Visceral Variations					
Ureter, short	0/0	0/0	3.2/25	NA	NA

- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BID = Twice daily; C_{max} = Maximum observed concentration; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; HCl = Hydrochloride; ICH = International Conference on Harmonization; NA = Not applicable.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day. Doses were administered BID approximately 7 hours apart.

b. All samples below assay limit of quantitation (0.500 ng/mL).

c. One female was electively euthanized on GD 10 because of limited usage of the hindlimbs. The etiology of the hindlimb paresis was unknown, but was considered unrelated to lorlatinib in the absence of related observations in other animals at this and higher doses.

d. Four rabbits in each of the 15 and 30 mg/kg/day dose groups were electively euthanized (GD 19-21 and GD 19-22, respectively) because of lorlatinib-related abortion.

e. Group means are 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.

f. Values shown are fetuses affected (mean %/litter) followed by litter incidence (%). Skeletal examinations were not performed.

2.6.7.16 LOCAL TOLERANCE

Test Article: PF-06463922

Species/Strain	Method of Administration Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/animal)	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Acute Dermal Irritation						
Rabbit/New Zealand White	Intravenous, left ear vein, 1 mL/dose; Perivascular, adjacent to right ear, 0.05 mL/dose[b] Saline control: 0.9% w/v NaCl Vehicle: 10 mM succinate buffer, 0.9% w/v NaCl, pH 4.4 PF-06463922: 0.2 mg/mL Lot E010016161	Single[c]	Intravenous: 0 (saline), 0 (vehicle), 0.2 (PF-06463922) Perivascular: 0 (saline), 0 (vehicle), 0.01 (PF-06463922)	4F	Lorlatinib, saline, and vehicle were tolerated after a single intravenous or perivascular administration. There were no lorlatinib-, saline-, or vehicle-related local irritation, macroscopic, or microscopic findings.[d]	[redacted]GR018/ No

F = Female; GLP = Good Laboratory Practice.
a. All dose levels are expressed as mg of active moiety per injection.
b. Each animal received both intravenous and perivascular doses.
c. Animals were observed for 3 days following dose administration.
d. Injection site scoring (dermal assessment) occurred on Day 1 predose, immediately following dosing, and at 1 and 3-4 hours postdose; Days 2-3 twice daily (AM and PM); and Day 4 prior to necropsy.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06463922

In Vitro

Type of Test	Test Cells/ Tissues	Test Article Lot Number	Test Concentrations	Number of Donors/ Tissue	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Studies with Lorlatinib (PF-06463922)						
In Vitro Blood Compatibility	Rabbit Whole Blood	eLN 00707436-0144-02	0.2 mg/mL (at 100%, 50%, 25%, 10% concentration)	NA	No toxicologically significant hemolysis observed at tested formulation ratios. No precipitation observed.	[redacted]LJ007/ No
In Vitro Blood Compatibility	Human Whole Blood	eLN 00707436-0144-02	0.2 mg/mL (at 1:20, 1:10, 1:6, 1:4 ratios)	NA	No toxicologically significant hemolysis observed at tested formulation ratios. No precipitation observed.	[redacted]LJ013/ No
Bacterial Mutation of 類縁物質A* [a]	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	GXY-304-150002	15 to 5000 µg/plate	NA	類縁物質A* was negative for the induction of reverse mutations in all strains and therefore was not considered to be a bacterial mutagen.	[redacted]GR179/ No
Bacterial Mutation of 類縁物質B* [a]	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	705852-445-10	15 to 5000 µg/plate	NA	類縁物質B* was negative for the induction of reverse mutations in all strains and therefore was not considered to be a bacterial mutagen.	[redacted]GR045/ No
Bacterial Mutation of 類縁物質C* [a]	*Salmonella typhimurium (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) Escherichia Coli WP2 uvrA pKM101*	705852-455-4	15 to 5000 µg/plate	NA	類縁物質C* was negative for the induction of reverse mutations in all strains and therefore was not considered to be a bacterial mutagen.	[redacted]GR133/ No

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

In Vitro

Type of Test	Test Cells/ Tissues	Test Article Lot Number	Test Concentrations	Number of Donors/ Tissue	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Studies with Impurities						
Bacterial Mutation of 類縁物質D* [a]	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	GRO8830	15 to 5000 µg/plate	NA	類縁物質D* was negative for the induction of reverse mutations in all strains and therefore was not considered to be a bacterial mutagen.	[redacted]GR134/ No
Bacterial Mutation of 類縁物質E* [a]	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	706467-33-1	15 to 5000 µg/plate	NA	類縁物質E* was negative for the induction of reverse mutations in all strains and therefore was not considered to be a bacterial mutagen.	[redacted]GR366/ No
Bacterial Mutation of 類縁物質F* [a]	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	E010016697	52 to 5000 µg/plate	NA	類縁物質F* was negative for the induction of reverse mutations in all strains and therefore was not considered to be a bacterial mutagen.	[redacted]-510529/ Yes
Bacterial Mutation of 類縁物質G* [a]	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	E010016713	17 to 5000 µg/plate	NA	類縁物質G* was negative for the induction of reverse mutations in all strains and therefore was not considered to be a bacterial mutagen.	[redacted]-510570/ Yes
Bacterial Mutation of 類縁物質H* [a]	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, and TA1537) *Escherichia Coli* WP2 *uvrA* pKM101	CCS-952/STG-02/00109	100 to 5000 µg/plate	NA	類縁物質H* was negative for the induction of reverse mutations in all strains and therefore was not considered to be a bacterial mutagen.	[redacted]-494256/ Yes

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

In Vivo

Species/Strain	Method of Administration (Test Article Lot Number)	Duration of Dosing	Doses[b] (mg/kg)	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Studies with Lorlatinib						
Phototoxicity: Rat, Long-Evans Pigmented	Oral gavage, 5 mL/kg/dose (E010016714)	3 Days	0, 1, 4, 15 (0, 0.5, 2, 7.5 BID)	5F	No test article-related clinical signs or skin reactions indicative of phototoxicity in the pigmented or non-pigmented skin sites. No changes in ophthalmology parameters or microscopic findings in the eye (cornea, lens, or retina).	20097796/ Yes
Lipid Profile: Rat/Wistar Han	Oral gavage, 5 mL/kg/dose (GR07970)	7 Days with 7-Day Recovery[c]	0, 15 (0, 7.5 BID)[d]	15F	**15 mg/kg/day:** ↑ Body weight gain, ↑ WBC, ↑ NEUT, ↑ MONO, ↑ LUC, ↑ CHOL, ↑ HDL, ↑ LDL, ↑ HAPTO, ↑ AGP All effects were reversible by Day 15 (7 days after administration of the last dose)	[redacted]LJ096/ No
Electroretinography: Rat/Long-Evans	Oral gavage, 10 mL/kg (PF-06463922-01-0003)	10-12 Days[e]	0, 2, 10	8M	No significant effect observed in any of the electroretinography endpoints examined.	[redacted]GR284/ No

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

In Vivo

Species/Strain	Method of Administration (Test Article Lot Number)	Duration of Dosing	Doses[b] (mg/kg)	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Effect on Food Consumption, Body Weight Gain, and Cholesterol: Rat/Wistar Han	Oral gavage, 10 mL/kg/dose (E010016887)	14 Days	0 (fed ad lib), 15 (fed ad lib), 15 (pair-fed[f]) (0, 7.5, 7.5 BID)	10F	**15 mg/kg/day:** Lorlatinib administration resulted in higher food consumption and body weights in rats fed ad libitum whereas rats administered the same dose of lorlatinib but with pair-fed food consumption had body weights comparable to control animals. Lorlatinib-related higher food consumption was primarily responsible for higher body weights in rats fed ad libitum. Differences in food consumption and body weights did not impact lorlatinib-related hematology, clinical chemistry, or liver weight findings that were similarly present in both groups (ad libitum or pair-fed) administered 15 mg/kg/day.	[redacted]LJ102/ No
Lipid Profile: Rat/Wistar Han	Oral gavage, 5 mL/kg/dose (GR07970)	28 Days[g]	0, 15 (0, 7.5 BID)	10F	**15 mg/kg/day:** Hair loss, skin crust, ↓ RBC, ↓ HGB, ↓ HCT, ↑ MCV, ↑ RDW, ↑ RETIC, ↑ MPV, ↑ PLT, ↑ WBC, ↑ NEUT, ↑ LYM, ↑ MONO, ↑ EOS, ↑ LUC, ↑ CHOL, ↑ HDL, ↑ LDL, ↓ TP, ↓ ALB, ↑ BUN, ↑ PHOS, ↑ Na, ↑ CL	[redacted]LJ064/ No

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

In Vivo

Species/Strain	Method of Administration (Test Article Lot Number)	Duration of Dosing	Doses[b] (mg/kg)	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Studies with Impurities						
Repeat-Dose Toxicity of Lorlatinib with Impurities[h]: Rat/Wistar Han	Oral gavage, 5 mL/kg/dose (E010016161)	28 Days	0, 2[i] (0, 1 BID)	10M, 10F	**2 mg/kg/day:** No adverse effects. Nonadverse findings included: ↑ CHOL, ↑ PHOS, ↑ WBC, ↑ NEUT, ↑ LYM, ↑ MONO, ↑ FIB, ↑ PLT, liver (↑ hematopoiesis-minimal, ↑ weight), spleen (↑ hematopoiesis-minimal to mild) Administration of lorlatinib alone or lorlatinib with impurities resulted in similar, nonadverse findings regardless of the presence of the impurities.	8001432/ Yes

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

Toxicokinetic Parameters (F; 3/group) - Study 20097796:				
Dose (mg/kg/day)	0	1 (0.5 BID)	4 (2 BID)	15 (7.5 BID)
Day 3				
C_{max} (ng/mL)	NA[j]	402	1240	6910
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[j]	6430	23500	108000

Toxicokinetic Parameters (M; 3/group) - Study [redacted]GR284:			
Dose (mg/kg/day)	0	2	10
Day 1			
C_{max} (ng/mL)	NA[k]	488	2480
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[k]	4700	31200
Day 11			
C_{max} (ng/mL)	NA[k]	367	2500
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[k]	3250	26400

Toxicokinetic Parameters (F; 10/group) - Study [redacted]LJ064:		
Dose (mg/kg/day)	0	15 (7.5 BID)
Day 28		
C_{max} (ng/mL)	NA[k]	7160
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[k]	127000

Toxicokinetic Parameters (M/F; 3/sex/group) - Study 8001432:					
Dose (mg/kg/day)	0	2 (Lorlatinib)	2 (Lorlatinib、類縁物質I*、類縁物質J*)	2 (Lorlatinib、類縁物質B*)	2 (Lorlatinib、類縁物質K*)
Day 1					
C_{max} (ng/mL)	NA[k]	188/349	162/343	214/362	215/445
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[k]	2780/7470	3040/5450	3270/6060	3430/7430
Day 28					
C_{max} (ng/mL)	NA[k]	160/475	143/409	179/461	175/630
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[k]	2730/10500	2490/9190	2510/9390	3520/11900

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06463922 (continued)

AGP = Alpha glycoprotein; ALB = Albumin; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours (1 day); BID = Twice daily (approximately 6 to 7 hours apart); BUN = Blood urea nitrogen; CHOL = Cholesterol; CL = Chloride; C_{max} = Maximum observed concentration; EOS = Eosinophil; F = Female; FIB = Fibrinogen; GLP = Good Laboratory Practice; GLUC = Glucose; HAPTO = Haptoglobin; HCT = Hematocrit; HDL = High density lipoprotein; HGB = Hemoglobin; LDL = Low density lipoprotein; LUC = Large unstained cells; LYM = Lymphocyte; M = Male; MCV = Mean cell volume; MONO = Monocyte; MPV = Mean platelet volume; Na = Sodium; NA = Not applicable; NEUT = Neutrophil; PHOS = Phosphorous; PLT = Platelet; RBC = Red blood cell; RDW = Red blood cell distribution width; RETIC = Reticulocyte; TP = Total protein; WBC = White blood cell.

a. Impurity of lorlatinib.

b. All doses expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.

c. Each dose group (0 or 15 mg/kg/day) were divided into 3 cohorts (5 females/cohort). Cohort 1 was dosed BID for 2 days whereas cohorts 2 and 3 were dosed BID for 7 days.

d. Each dose group (0 or 15 mg/kg/day) were divided into 3 cohorts. Cohort 1 was dosed BID for 2 days whereas cohorts 2 and 3 were dosed BID for 7 days. After the final dose administration, cohort 3 underwent a 7-day recovery phase.

e. Dose groups were divided into two cohorts, one cohort was dosed for 10 days and the other cohort was dosed for 12 days.

f. The pair-fed group was fed an amount of food paired to the control group's mean food consumption from the previous day.

g. Five (5) of 10 animals/group were dosed BID for 14 days and the other 5 animals/group were dosed BID for 28 days.

h.類縁物質I* ,類縁物質J* ,類縁物質B* ,類縁物質K* (impurities of lorlatinib).

i. In addition to vehicle control (0 mg/kg/day), 4 other dose groups each received 2 mg/kg/day as follows: lorlatinib alone, lorlatinib plus類縁物質I* and 類縁物質J* , lorlatinib plus類縁物質B* , and lorlatinib plus類縁物質K* .

j. All samples were below the limit of quantitation (<0.500 ng/mL).

k. Blood was not collected.

*；新薬承認情報提供時に置き換えた。