2.4 非臨床試験の概括評価

小野薬品工業株式会社

目次

用語及び略号一覧 3
2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 6
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.2 副次的薬理試験 9
2.4.2.3 安全性薬理試験 9
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.3.1 吸収 9
2.4.3.2 分布 10
2.4.3.3 代謝 10
2.4.3.4 排泄 12
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 13
2.4.3.6 Binimetinib と encorafenib の併用 13
2.4.4 毒性試験 14
2.4.4.1 単回投与毒性試験 14
2.4.4.2 反復投与毒性試験 14
2.4.4.3 遺伝毒性試験 15
2.4.4.4 がん原性試験 15
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 15
2.4.4.6 局所刺激性試験 16
2.4.4.7 その他の毒性試験 16
2.4.5 総括及び結論 17
2.4.6 参考文献一覧 20

用語及び略号一覧

用語及び略号	内容又は日本語名称
^{14}C-binimetinib	^{14}C 標識 binimetinib
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
ALP	アルカリフォスファターゼ
ARAF	A-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATP	アデノシン三リン酸
AUC	血漿中濃度–時間曲線下面積
AUC*h	投与後*時間までの AUC
BA	生物学的利用率
BCRP	Breast cancer resistance protein
Binimetinib	ビニメチニブ
BMF	Bcl-2 Modifying Factor
BRAF	B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase
CL	クリアランス
Cmax	最高血漿中濃度
CRAF	Raf-1 proto-oncogene, serine/threonine kinase
CYP	シトクロム P450
DUSP6	Dual specificity phosphatase 6
EC_{50}	50%有効濃度
Emax	最大効果
Encorafenib	エンコラフェニブ
ERK	細胞外シグナル制御キナーゼ
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GPCR	G タンパク質共役型受容体
HEK	ヒト胎児由来腎臓細胞
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HSA	ヒト血清アルブミン
IC_{50}	50%阻害濃度
ICH	医薬品規制調和国際会議
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー／タンデムマススペクトロメトリー
LSC	液体シンチレーションカウンター
MEK	分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ
mRNA	メッセンジャーリボ核酸
NRAS	NRAS proto-oncogene, GTPase
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
P-gp	P-糖蛋白質
PIF	光毒性係数
PTH	副甲状腺ホルモン
QWBA	定量的全身オートラジオグラフィー
radio-HPLC	放射能検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー
Rb	血液／血漿中濃度比
T1/2	消失半減期
Tmax	最高血漿中濃度到達時間又は最高組織中濃度到達時間
UGT	ウリジン-5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素

用語及び略号	内容又は日本語名称
UVA	紫外線 A 波
Vss	定常状態での分布容積

2.4 非臨床試験の概括評価

RAS/RAF/MEK/ERK（MAP キナーゼ）経路は，分化，増殖，生存など様々な細胞機能を制御するシグナル伝達機構である．受容体型チロシンキナーゼなどを介した細胞外からの刺激により活性化した RAS が RAF を活性化し，その RAF が下流の MEK をリン酸化し，リン酸化された MEK が更に下流の ERK をリン酸化することでシグナルが伝達される[1) 2) 3)]．MAP キナーゼ経路のシグナル伝達は，正常細胞では厳密に制御されている．一方，RAS や RAF などに遺伝子変異を有するがん細胞では，MAP キナーゼ経路が恒常的に活性化するために細胞の異常増殖や長期生存が引き起こされる[1) 2) 3)]．

RAF には 3 種類のサブタイプ（ARAF，BRAF 及び CRAF）が知られており，このうち BRAF は，悪性黒色腫の約 60%，甲状腺がんの 30～50%，結腸直腸がんの 5～20%，卵巣がんの約 30%の患者で遺伝子変異が認められる[2) 4) 5)]．特に頻度が高い変異は，BRAF のキナーゼドメイン内に存在する 600 番目のバリン（V600）のグルタミン酸，アスパラギン酸又はリジンへの置換（V600E，V600D 又は V600K）である[2) 5)]．これらの変異型 BRAF は野生型と比較して極めて高いキナーゼ活性を持ち，RAS の活性化の有無にかかわらず MEK 及び ERK を活性化させることで細胞の異常増殖を誘発する[2) 5) 6)]．したがって，MEK 阻害剤は，BRAF V600 変異を有するがん細胞の増殖シグナルである MAP キナーゼ経路の活性化を抑制することで，抗腫瘍効果を発揮することが期待できる．

既に，MAP キナーゼ経路のシグナル伝達を抑制する薬剤として，MEK 阻害剤のトラメチニブ及び RAF 阻害剤のベムラフェニブ並びにダブラフェニブが，BRAF 遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫を対象に上市されている．RAF 阻害剤は悪性黒色腫に対して高い臨床効果を発揮するものの，獲得耐性の出現による病勢の再燃が長期の治療継続を困難にしている[2) 3) 7)]．RAF 阻害剤に耐性を獲得した患者の 70%以上で MAP キナーゼ経路の再活性化が認められ，その機序として，受容体型チロシンキナーゼの活性化，NRAS の変異，変異型 BRAF の過剰発現，CRAF の過剰発現，MEK1 及び MEK2 の変異などが報告されている[2) 3) 7)]．したがって，MEK 阻害剤は RAF 阻害剤と併用することで MAP キナーゼ経路のシグナル伝達を効果的に遮断し，悪性黒色腫細胞の増殖を強力に抑制するとともに，同経路の再活性化に基づく獲得耐性の出現を遅延させることが期待できる．また，RAF 阻害剤の副作用である増殖性皮膚病変の発現頻度は MEK 阻害剤の併用により低下するとの臨床報告もある[8) 9) 10)]．RAF 阻害剤によるパラドキシカルな MAP キナーゼ経路の活性化が皮膚の過形成性変化を誘発する[11) 12) 13)]ことから，RAF の下流に位置する MEK に対する阻害剤の併用により増殖性皮膚病変を軽減できると考えられる．

Binimetinib はヒト MEK（MEK1 及び MEK2）の活性化並びにキナーゼ活性を阻害し，BRAF V600 変異を有するヒト悪性黒色腫細胞において ERK のリン酸化を阻害することで増

殖抑制作用を示した．また，BRAF V600 変異を有するヒト悪性黒色腫細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて抗腫瘍効果を示した．更に，RAF 阻害剤である encorafenib との併用により，単剤よりも強力で持続的な抗腫瘍効果を示した．

以上より，MEK 阻害剤である binimetinib と RAF 阻害剤である encorafenib の併用は，副作用の軽減が期待されるとともに，BRAF 遺伝子変異を有する悪性黒色腫に対して高い治療効果を示す新たな薬物療法になると考えた．

2.4.1 非臨床試験計画概略

Binimetinib の非臨床試験は「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて」（薬食審査発 0604 第 1 号，平成 22 年 6 月 4 日）（以下，ICH S9 ガイドライン）に基づいて実施した．

薬理試験

薬理試験では，*in vitro* 試験及び *in vivo* 試験で binimetinib の作用を検討した．また，binimetinib と RAF 阻害剤である encorafenib の併用効果も検討した．

Binimetinib の効力を裏付ける試験として，*in vitro* 試験では，ヒト MEK（MEK1 及び MEK2）に対する阻害活性，BRAF 変異ヒト悪性黒色腫細胞に対する ERK リン酸化阻害作用及び増殖抑制作用を検討した．*In vivo* 試験では，BRAF 変異ヒト悪性黒色腫細胞を用いたマウス異種移植モデルにおける抗腫瘍効果を検討した．

Binimetinib と encorafenib の併用の効力を裏付ける試験として，*in vitro* 試験では，BRAF 変異ヒト悪性黒色腫細胞に対する増殖抑制作用を検討した．*In vivo* 試験では，BRAF 変異ヒト悪性黒色腫細胞を用いたマウス異種移植モデルにおける抗腫瘍効果を検討した．

副次的薬理試験として，binimetinib の各種 GPCR，トランスポーター，イオンチャネル，核内受容体及び酵素に対する作用を検討した．

安全性薬理試験として，*in vitro* で hERG チャネル電流に対する作用，ラット又はサルを用いて中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対する作用を評価した．また，補足的安全性薬理試験として，ラットを用いて胃腸管系及び腎／泌尿器系に対する作用を評価した．これらの試験は，いずれも GLP に準拠して実施した．その他，*in vitro* で binimetinib の代謝物である AR00426032 の hERG チャネル電流に対する作用を評価した．

薬物動態試験

薬物動態試験では，*in vitro* 試験及び *in vivo* 試験で binimetinib 又は ^{14}C-binimetinib の薬物動態を評価した．*In vivo* 試験では，有効性薬理試験及び毒性試験と同種のマウス（Athymic

NCr-nu/nu），ラット（Sprague Dawley 系及び Wistar Hannover 系）及びサル（カニクイザル）を用いて，静脈内投与で評価した一部の試験を除き，臨床投与経路である経口投与で評価した．

生体試料中放射能濃度の分析には LSC，試料中放射能の組成分析には radio-HPLC，組織分布試験の分析には QWBA，血漿中 binimetinib 濃度の分析には LC/MS/MS を用いた．

毒性試験

毒性試験では，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験，局所刺激性試験及びその他の毒性試験で binimetinib の安全性を評価した．主な毒性試験の投与経路は，局所刺激性試験での経皮投与を除き，臨床投与経路である経口投与とした．単回及び反復投与毒性試験では，げっ歯類はラット，非げっ歯類は *in vivo* 代謝物プロファイルがヒトと類似しているサルを用いた．生殖発生毒性試験の一部を除き，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験，局所刺激性試験及びその他の毒性試験は，GLP に準拠して実施した．

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 *In vitro* 試験

Binimetinib は不活性型 MEK1 及び MEK2 の活性化を阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 16 及び 46 nmol/L であった［2.6.2.2.1.1］．また，binimetinib は活性型 MEK1 による ERK のリン酸化を阻害し，IC_{50} 値は 12.1 nmol/L であった［2.6.2.2.1.2］．活性型 MEK1 に対する阻害様式の検討より，binimetinib は ATP との不競合的なアロステリック阻害剤であることが示された［2.6.2.2.1.3］．Binimetinib は 10 μ mol/L で，MEK1 及び MEK2 以外の 218 種類のタンパク質キナーゼを阻害しなかった［2.6.2.2.1.4］．Binimetinib は，BRAF V600E，V600D 又は V600K 変異を有する種々のヒト悪性黒色腫細胞株において，細胞内 ERK のリン酸化を IC_{50} 値 7.6～125.8 nmol/L で阻害し［2.6.2.2.1.5］，細胞増殖を IC_{50} 値 34.1～9272.0 nmol/L で抑制した［2.6.2.2.1.6］．以上より，binimetinib は MEK の活性化と基質タンパク質である ERK のリン酸化をいずれも阻害することにより MAP キナーゼ経路の活性化を抑制し，BRAF V600E，V600D 又は V600K 変異を有する悪性黒色腫細胞の増殖を抑制することが示された．

AR00426032 は活性型 MEK1 による ERK のリン酸化を阻害し，IC_{50} 値が binimetinib と同程度の 7.1 nmol/L であったが［2.6.2.2.1.7］，ヒトでの曝露量（AUC）が未変化体の約 8 分の 1 であることから［2.7.2.2.2.2］，binimetinib の抗腫瘍効果の発現にはほとんど寄与しないと考えられた．

2.4.2.1.2 *In vivo* 試験

Binimetinib は，BRAF V600E 変異を有するヒト悪性黒色腫細胞株 A375 を用いたマウス異種移植モデルにおいて，30 mg/kg で腫瘍中 ERK リン酸化を単回経口投与 1～12 時間後に 80%以上阻害した［2.6.2.2.2.1］．また，MAP キナーゼ経路の活性化により誘導される DUSP6 の遺伝子発現を抑制し，アポトーシス関連分子 BMF の遺伝子発現を誘導した［2.6.2.2.2.1］．Binimetinib は，A375 を用いたマウス異種移植モデルにおいて，10 mg/kg の 1 日 2 回反復経口投与により，一般状態及び体重推移に明らかな影響を及ぼすことなく抗腫瘍効果を示した［2.6.2.2.2.3］．同モデルにおいて，binimetinib は 30 mg/kg の連日投与で抗腫瘍効果を示したのに対して，300 mg/kg の間歇的投与では抗腫瘍効果を示さなかった［2.6.2.2.2.4］．以上より，binimetinib は BRAF V600E 変異を有するヒト悪性黒色腫細胞の MAP キナーゼ経路を持続的に抑制することで抗腫瘍効果を発現することが示された．

2.4.2.1.3 *In vitro* 試験（併用）

Binimetinib 及び encorafenib は，BRAF V600E 又は V600K 変異を有する種々のヒト悪性黒色腫細胞株を用いた検討において，併用により顕著な増殖抑制作用を示した［2.6.2.2.3.1］．したがって，binimetinib と encorafenib の併用は，MAP キナーゼ経路上の MEK と RAF を同時に阻害することにより，BRAF V600E 又は V600K 変異を有するヒト悪性黒色腫細胞の増殖を強力に抑制することが示された．

2.4.2.1.4 *In vivo* 試験（併用）

Binimetinib 及び encorafenib は，BRAF V600E 変異を有するヒト悪性黒色腫細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて，併用により単剤よりも強い抗腫瘍効果を示した［2.6.2.2.4.1, 2.6.2.2.4.2，2.6.2.2.4.3］．特に，長期的な抗腫瘍効果を評価したモデルにおいて，binimetinib 及び encorafenib の単剤投与は短期的な効果を示したが，獲得耐性の出現により腫瘍は再増殖した［2.6.2.2.4.1］．これに対して両剤の併用投与は，一般状態及び体重推移に明らかな影響を及ぼすことなく強力に腫瘍を縮小させるとともに，獲得耐性の出現による腫瘍の再増殖を抑制し，生存を改善させた［2.6.2.2.4.1］．なお，併用時にそれぞれの単剤では認められない肝臓への影響（小葉辺縁部への炎症細胞浸潤）が認められたが，本変化は肝細胞壊死等の傷害性変化や血液学的検査値の変動を伴わないことから重篤な毒性を示唆するものではないと判断した［2.6.2.2.4.1，2.6.6.8.5］．以上より，binimetinib と encorafenib の併用は MAP キナーゼ経路の再活性化に基づく獲得耐性の出現を抑制することが示された．

2.4.2.2 副次的薬理試験

60 種類の GPCR，トランスポーター，イオンチャネル，核内受容体及び酵素を用いた検討において，binimetinib が 10 μmol/L で 50%以上阻害又は活性化した分子標的はなかった［2.6.2.3.1］．したがって，binimetinib は MEK 以外の分子標的に作用を示さないと考えられた．

2.4.2.3 安全性薬理試験

安全性薬理試験として，ラット又はサルを用いて中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対する作用を評価した．また，*in vitro* で hERG チャネル電流に対する作用を評価した．更に，補足的安全性薬理試験として，ラットを用いて胃腸管系及び腎／泌尿器系に対する作用を評価した．その他，*in vitro* で AR00426032 の hERG チャネル電流に対する作用を評価した．

Binimetinib は，ラット又はサルにおいて中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対する影響を示さず，ラットにおける中枢神経系及び呼吸系に対する無影響量は 100 mg/kg，サルにおける体温及び心血管系に対する無影響量は 10 mg/kg であった［2.6.2.4.1.1，2.6.2.4.1.2，2.6.2.4.2.3，2.6.2.4.3］．Binimetinib は 10 μmol/L 以上で hERG チャネル電流を阻害したが，その IC_{50} 値は 30 μmol/L（13.2 μg/mL）を超える濃度であり［2.6.2.4.2.1］，サルの心電図においても最高投与量の 10 mg/kg まで QTc を延長させなかった［2.6.2.4.2.3］．また，AR00426032 は 30 μmol/L（12.8 μg/mL）まで hERG チャネル電流に対する明らかな阻害作用を示さなかった［2.6.2.4.2.2］．補足的安全性薬理試験において，binimetinib は最高投与量の 100 mg/kg までラットの胃腸管系及び腎／泌尿器系に対する影響を示さなかった［2.6.2.4.4.1, 2.6.2.4.4.2］．

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 吸収

マウス，ラット及びサルに binimetinib 又は ^{14}C-binimetinib を単回経口投与したとき，binimetinib は速やかに吸収され BA はいずれも約 50%であった．放射能から算出したラット及びサルでの吸収率はそれぞれ 49.2 及び 39.0%であったことから，初回通過効果をほとんど受けないと考えられた．T1/2 はラット及びサルでそれぞれ 4.7 及び 9.04 時間であった．マウス，ラット及びサルに binimetinib 又は ^{14}C-binimetinib を単回静脈内投与したとき，CL はそれぞれ 5.72，2.88 及び 5.00 mL/min/kg，Vss はそれぞれ 0.29，0.618 及び 1.06 L/kg であった［2.6.4.3.1］．

マウスに binimetinib を 3～300 mg/kg で単回経口投与したとき，Cmax 及び AUC は 3～100 mg/kg では概ね投与量に比例して増加したが，300 mg/kg では投与量比未満の増加を示した

［2.6.4.3.1.1］．ラットに binimetinib を 10～100 mg/kg で単回経口投与したとき，Cmax 及び AUC は投与量比未満の増加を示した［2.6.4.3.1.2］．サルに binimetinib を 1～10 mg/kg で単回経口投与したとき，Cmax 及び AUC は概ね投与量に比例して増加した［2.6.4.3.1.3］．

サルに binimetinib を 1～10 mg/kg で 1 日 1 回 5 日間反復経口投与したとき，Cmax 及び AUC は 1 及び 3 mg/kg では投与 1 日目と 5 日目で同程度であったが，10 mg/kg では投与 1 日目と比較して 5 日目で低値傾向を示した［2.6.4.3.2］．

Binimetinib は P-gp 及び BCRP の基質であったものの，Caco-2 細胞における binimetinib の頂端膜側から基底膜側への透過係数は P-gp 阻害剤存在下で 11.3×10^{-6} cm/s であり，膜透過性の高いプロプラノロールを含む複数の対照物質と比較して，受動的膜透過性が高いことが示された［2.6.4.7.1］．

2.4.3.2　　分布

白色及び有色ラットに ^{14}C-binimetinib を単回経口投与したとき，放射能は組織に広く分布し，放射能濃度の Tmax はほとんどの組織で 1～2 時間であった．脳及び脊髄への移行性は低かった．有色ラットの皮膚中放射能濃度は，白色皮膚と比較してメラニンを含有する有色皮膚で高値を示し，放射能の消失が緩やかであった．一方，メラニンを含有するぶどう膜の放射能濃度推移は白色ラットと有色ラットで類似しており，いずれのラットでも投与後 168 時間の放射能濃度は定量下限未満であった［2.6.4.4.1］．また，^{14}C-binimetinib の合成メラニンに対する結合親和性を *in vitro* で検討した結果，メラニン親和性は低いと考えられた［2.6.4.4.2］．

Binimetinib の血漿蛋白結合率はマウス，ラット，サル及びヒトでそれぞれ 96.5，98.5，96.4 及び 97.2～97.4%であった［2.6.4.4.3.1，2.6.4.4.3.2］．Binimetinib のヒト血漿中における主結合蛋白は HSA であると考えられた［2.6.4.4.3.1］．また，Rb はマウス，ラット，サル及びヒトでそれぞれ 0.719，0.652，0.787 及び 0.718 であった［2.6.4.4.4］．

AR00426032 の血漿蛋白結合率はヒトで 95.26%であった［2.6.4.4.3.2］．

2.4.3.3　　代謝

Binimetinib の推定代謝経路を図 2.4.3.3-1 に示した．Binimetinib はグルクロン酸抱合，*N*-脱メチル化及びアミド体への変換を含む複数の代謝経路で代謝され，推定代謝経路は動物種間で類似していた．

マウス，ラット，サル及びヒトの肝細胞と binimetinib 又は ^{14}C-binimetinib をインキュベーションしたとき，いずれの動物種でも *N*-脱メチル化体（AR00426032），未変化体のグルクロン酸抱合体が検出された［2.6.4.5.1.1］．ヒト肝細胞における主な代謝物は未変化体のグ

ルクロン酸抱合体（M10.2 及び M10.9）であり，M10.2 と比較して M10.9 が多く存在した［2.6.4.5.1.1］.

ラットに ^{14}C-binimetinib を経口投与したとき，血漿中には主に未変化体が存在し，血漿中総放射能の 75.4%であった．ラット血漿中の主な代謝物はアミド体（M4），カルボン酸体（M11.1），M4 の *N*-脱メチル化体（M17.0）であり，いずれも血漿中総放射能の 8.52%以下であった．ラット血漿中には M10.9 及び AR00426032 も検出された［2.6.4.5.2.1］．サルに ^{14}C-binimetinib を経口投与したとき，血漿中には主に未変化体が存在し，血漿中総放射能の 49.7%であった．サル血漿中の主な代謝物は M10.2 であり，血漿中総放射能の 20.5%であった．サル血漿中には AR00426032 及び M4 も検出された［2.6.4.5.2.2］.

^{14}C-binimetinib を経口投与したとき，AR00426032 はヒト血漿中総放射能の 7.3%を占め［2.7.2.2.2.2］，ラット及びサルではそれぞれ 1.14 及び 0.07%であった.

Binimetinib の主な代謝経路は UGT1A1 によるグルクロン酸抱合と考えられ，ヒト肝ミクロソームにおいて binimetinib から M10.9 への代謝における UGT1A1 の寄与率は 90%と推定された．Binimetinib のグルクロン酸抱合には UGT1A3，UGT1A9 及び UGT2B7 も一部関与することが示された［2.6.4.5.3.2］．また，binimetinib は一部酸化代謝も受け，binimetinib から AR00426032 への代謝には主に CYP1A2 及び CYP2C19 が関与することが示された［2.6.4.5.3.1］.

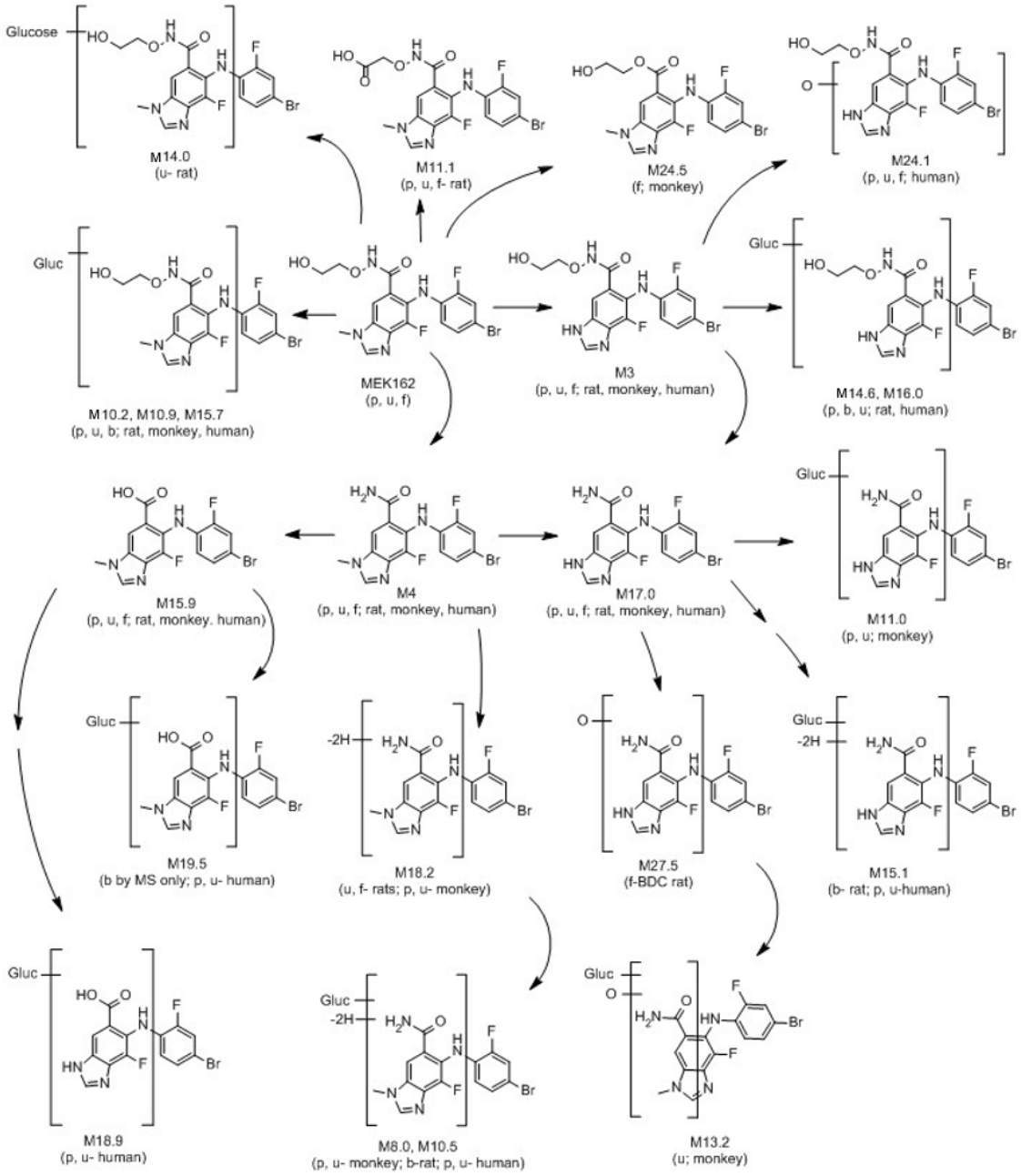


図 2.4.3.3-1　Binimetinib の主な推定代謝経路
MEK162：binimetinib，M3：AR00426032
p：plasma，u：urine，f：feces，b：bile

2.4.3.4　　排泄

ラットに ^{14}C-binimetinib を経口投与したとき，尿及び糞中に投与放射能量の 23.1 及び 69.4%が排泄され，未変化体排泄率はそれぞれ 5.02 及び 21.8%であった．ラットに ^{14}C-binimetinib を静脈内投与したとき，尿及び糞中に投与放射能量の 45.6 及び 44.7%が排泄され，未変化体排泄率はそれぞれ 15.0 及び 15.6%であった．いずれの投与経路でも尿中の主な代謝物は M10.9 であり，糞中の主な代謝物は M4 であった．尿及び糞中の M10.9 と M4 の総和が

投与放射能量に占める割合は経口投与時が 47.7%，静脈内投与時が 40.6%であった［2.6.4.6.1.1］．胆管カニューレ処置したラットに ^{14}C-binimetinib を経口及び静脈内投与したとき，胆汁中に投与放射能量の 39.4 及び 49.9%が排泄され，未変化体排泄率はそれぞれ 1.0 及び 1.8%であった［2.6.4.6.2］．胆汁中へ排泄された放射能量の約 90%が M10.9 であった［2.6.4.5.2.1］．

サルに ^{14}C-binimetinib を経口投与したとき，尿及び糞中に投与放射能量の 42.6 及び 50.5%が排泄され，未変化体排泄率はそれぞれ 5.33 及び 16.0%であった．サルに ^{14}C-binimetinib を静脈内投与したとき，尿及び糞中に投与放射能量の 40.3 及び 39.4%が排泄され，未変化体排泄率はそれぞれ 2.04 及び 8.72%であった．いずれの投与経路でも尿中の主な代謝物は M10.2, M10.9 並びに M4 が *N*-脱メチル化及びグルクロン酸抱合を受けた代謝物（M11.0），糞中の主な代謝物は M4 であった．尿及び糞中の 4 種の主な代謝物（M10.2，M10.9，M11.0 及び M4）の総和が投与放射能量に占める割合は経口投与時が 52.0%，静脈内投与時が 28.7%であった［2.6.4.6.1.2］．

2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用

ヒト肝ミクロソームにおいて，binimetinib は CYP1A2，CYP2B6 及び CYP2C9 を可逆的に阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 50，6 及び 52 μmol/L であった［2.6.4.5.5］．ヒト肝細胞において，binimetinib は CYP3A4 の mRNA 及び酵素活性を誘導し，mRNA の発現誘導に対する EC_{50} 値は 3.56～15.4 μmol/L，Emax 値は 7.39～11.9 倍であった［2.6.4.5.7］．Binimetinib は OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 及び OAT3 を阻害し，IC_{50} 値はそれぞれ 23.6，29，18.1，27 及び 1.87 μmol/L であった［2.6.4.7.2］．

2.4.3.6 Binimetinib と encorafenib の併用

Binimetinib は *in vitro* で encorafenib の主代謝酵素である CYP3A4 を誘導した［2.6.4.5.7］．しかし，臨床試験において binimetinib との併用は encorafenib の血漿中曝露量に大きな影響を及ぼさなかった［2.7.2.2.3.2］．

Encorafenib は *in vitro* で binimetinib の主代謝酵素である UGT1A1 を阻害した．また，encorafenib は *in vitro* で binimetinib の輸送に関与する BCRP を阻害した．しかし，臨床試験において encorafenib との併用は binimetinib の血漿中曝露量に大きな影響を及ぼさなかった［2.7.2.2.3.2］．

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

げっ歯類の単回投与毒性試験として，マウスの単回経口投与による小核試験及びラットの単回経口投与毒性試験を実施した．非げっ歯類については単回投与毒性試験を実施しなかったため，サルの 1 カ月間反復経口投与毒性試験における投与初期の変化に基づき急性毒性を評価した．

マウスの小核試験では，最高投与量である 2000 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められず，一般状態にも変化はなかった［2.6.6.2.1］．

ラットの単回投与毒性試験では，投与日以降に 30 mg/kg 以上で脱毛がみられ，投与翌日には 30 mg/kg 以上で血中リンの高値や AST 及び ALT の高値が認められた．また，投与後 7 日に 100 mg/kg 以上で摂餌量が低値を示し，投与後 14 日には 100 mg/kg 以上で体重増加抑制が認められた．投与後 15 日の病理組織学的検査では，30 mg/kg 以上で腺胃や卵巣の鉱質沈着が認められた．投与翌日及び投与後 7 日にそれぞれ認められた臨床検査値の変動及び摂餌量の低値は投与後 14 日には回復し，最高投与量である 300 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められなかった［2.6.6.2.2］．サルの 1 カ月間反復投与毒性試験では，投与 6 日までの投与初期において最高投与量である 10 mg/kg まで一般状態及び体重推移に異常はみられず，死亡例及び状態悪化例も認められなかった．なお，投与 7 日以降に最高投与量である 10 mg/kg で水様便が認められ，雌 1 例が継続的な水様便による体重減少を伴って状態が悪化し，投与 14 日に切迫剖検に至った．これらの影響は反復投与により生じた大腸粘膜の傷害に起因したものと考えられた［2.6.6.2.3］．

以上より，単回経口投与による概略の致死量は，マウスで 2000 mg/kg を超える量，ラットで 300 mg/kg を超える量，サルで 10 mg/kg を超える量と判断した．

2.4.4.2 反復投与毒性試験

ラット及びサルを用いて，それぞれ 6 カ月間及び 9 カ月間までの反復投与毒性試験を経口投与により実施した．

ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験では，30 mg/kg 以上で心臓，大動脈，肺及び腎臓などの主要な器官に鉱質沈着がみられ，死亡に至る例もあった．最高投与量である 100 mg/kg では大腿骨骨髄の巣状壊死，成長板肥厚，骨減少症及び線維骨の増生なども認められた．最低投与量である 10 mg/kg 以上で血中リンの高値並びに腺胃，下垂体及び卵巣の鉱質沈着や皮膚の傷害性変化が認められたことから，無毒性量は 10 mg/kg 未満と判断した［2.6.6.3.1］．ラットの 6 カ月間反復投与毒性試験では，最低投与量である 1 mg/kg 以上で皮膚の脱毛，3 mg/kg 以上で PTH の低値及び皮膚の傷害性変化，10 mg/kg で血中リンの高値が認められたこ

とから，無毒性量は 1 mg/kg 未満と判断した．最高投与量である 10 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例，並びに臓器の鉱質沈着は認められなかった．また，回復性に乏しい重篤な毒性変化も認められなかった［2.6.6.3.2］．

サルの 1 カ月間反復投与毒性試験では，最高投与量である 10 mg/kg で大腸粘膜の変性，出血及び炎症細胞浸潤がみられ，これに伴って水様便や好中球数の高値及び赤血球パラメータの低値などの臨床検査値の変動が認められた．重度の大腸粘膜の傷害により継続して水様便が認められた例では，状態悪化により切迫剖検に至った．以上より，無毒性量は 3 mg/kg と判断した［2.6.6.3.3］．サルの 9 カ月間反復投与毒性試験では，最高投与量である 5 mg/kg で大腸粘膜の変性及び炎症細胞浸潤がみられ，これに伴って水様便や好中球数の高値及び赤血球パラメータの低値などの臨床検査値の変動も認められた．重度の大腸粘膜の傷害により継続して水様便が認められた例では，状態悪化により切迫剖検に至った．2 mg/kg でも大腸粘膜の炎症及び再生性過形成が認められたことから，無毒性量は 0.2 mg/kg と判断した．2 mg/kg まで死亡例及び状態悪化例は認められず，回復性に乏しい重篤な毒性変化も認められなかった［2.6.6.3.4］．

2.4.4.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験［2.6.6.4.1.1］，マウスリンフォーマ TK 試験［2.6.6.4.2.1］及びマウスを用いた小核試験［2.6.6.4.3.1］を実施した結果，いずれも陰性であり，binimetinib は遺伝毒性を有さないと判断した．

2.4.4.4 がん原性試験

Binimetinib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，がん原性試験は実施しなかった．

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ラット及びウサギを用いて，胚・胎児発生に関する試験を経口投与により実施した．また，幼若ラットを用いて，1 カ月間の反復投与毒性試験を経口投与により実施した．

妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，母動物において 30 mg/kg 以上で体重増加抑制，胚・胎児では同投与量で体重の低値及び胸骨分節の未骨化が認められたが，催奇形性を示唆する変化は認められなかった［2.6.6.6.2.1］．

妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，母動物において 10 mg/kg 以上で軟便，自発運動減少，摂餌量及び体重の減少並びに流産，20 mg/kg では水様便や継続的な摂餌の廃絶を伴った死亡例及び切迫剖検例が認められた．胚・胎児では 10 mg/kg 以上で死亡率の

高値や体重の低値など，20 mg/kg では催奇形性を示唆する心室中隔欠損や肺動脈幹狭窄の内臓異常が認められた［2.6.6.6.2.3］．以上より，ラットの胚・胎児に対する無毒性量は 10 mg/kg，ウサギの胚・胎児発生に対する無毒性量は 2 mg/kg と判断した．

幼若ラット（10 日齢）の 1 カ月間反復投与毒性試験において，最高投与量である 10 mg/kg で振戦，腹臥位及び自発運動減少などの一般状態の悪化や体重増加抑制を伴った死亡例が認められた．3 mg/kg 以上で血中リンの高値を伴った心臓及び腺胃の鉱質沈着がみられ，体重増加抑制，リンパ球数の低値や肝機能パラメータの高値も認められたことから，幼若ラットにおける無毒性量は 1 mg/kg と判断した［2.6.6.6.4.1］．

Binimetinib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験は実施せず，一般毒性試験で生殖器に対する影響を評価した．その結果，ラット及びサルの反復投与毒性試験において，binimetinib の雌雄生殖器に対する影響は認められなかった．

2.4.4.6　局所刺激性試験

ラットの胃刺激性試験において，binimetinib を単回経口投与した結果，20 mg/mL で胃刺激性がみられたが，6 mg/mL 以下では胃刺激性は認められなかった［2.6.6.7.1］．

ウサギの皮膚刺激性試験において，ウサギの胴体背部の皮膚に binimetinib を塗布した結果，0.5 g（0.4 mL の水に混和）で皮膚刺激性は認められなかった［2.6.6.7.2］．

2.4.4.7　その他の毒性試験

2.4.4.7.1　光毒性試験

Balb/c 3T3 細胞を用いた光毒性試験の結果，PIF は 18.8 と算出され，光毒性陽性の判断基準（PIF＞5）を上回ったことから，binimetinib は光毒性陽性と判断した［2.6.6.8.1］．

2.4.4.7.2　光皮膚感作性試験

マウスを用いた光皮膚感作性試験において，binimetinib を 3 日間反復経口投与した結果，30 mg/kg 以上で UVA 照射による耳介及び尾の一過性の紅斑，耳介リンパ節重量及び耳介リンパ節細胞数の増加が認められたことから，binimetinib は光感作性を有すると判断した［2.6.6.8.2］．

2.4.4.7.3 代謝物の安全性評価

Binimetinib は進行がん患者の治療を目的として開発した医薬品であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，個別の代謝物の毒性試験は実施しなかった.

2.4.4.7.4 不純物の安全性評価

原薬及び製剤中において，ICH Q3A(R2)「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドライン」（医薬審発第 1216001 号，平成 14 年 12 月 16 日）及び ICH Q3B(R2)「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドライン」（医薬審発第 0624001 号，平成 15 年 6 月 24 日）における安全性確認の必要な閾値を超える不純物は認められないことから，不純物の安全性評価は実施しなかった.

2.4.5 総括及び結論

Binimetinib は不活性型 MEK の活性化及び活性型 MEK による基質タンパク質 ERK のリン酸化をいずれも阻害した．Binimetinib は活性型 MEK に対しては ATP との不競合的なアロステリック阻害剤であり，MEK 以外の 200 種類以上のタンパク質キナーゼを阻害しなかった．また，binimetinib は BRAF V600 変異を有するヒト悪性黒色腫細胞において ERK のリン酸化を阻害することで増殖抑制作用を示した．更に，BRAF V600 変異を有するヒト悪性黒色腫細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて反復経口投与により抗腫瘍効果を示した.

安全性薬理試験では，binimetinib はラット又はサルにおいて中枢神経系，心血管系及び呼吸系に対する影響を示さず，また胃腸管系及び腎／泌尿器系に対する影響も示さなかった．Binimetinib の hERG チャネル電流に対する IC_{50} 値は 30 μ mol/L を超える濃度であり，臨床用量（45 mg/person b.i.d.）における binimetinib の血漿中濃度に対して 500 倍以上の乖離があったことから，臨床において binimetinib が催不整脈作用を示す可能性は低いと考えられた.

In vitro 試験の結果から，binimetinib の主代謝酵素は UGT1A1 と考えられた．したがって，UGT1A1 阻害剤及び誘導剤との併用は binimetinib の血漿中曝露量に影響を及ぼす可能性が考えられた．なお，臨床試験において UGT1A1 阻害作用を有する encorafenib との併用は binimetinib の血漿中曝露量に大きな影響を及ぼさなかった［2.7.2.2.3.2］.

Binimetinib は CYP1A2 及び CYP2C19 により代謝される．しかし，binimetinib の代謝における CYP の寄与が小さいことから CYP1A2 及び CYP2C19 の阻害剤との併用により薬物相互作用が引き起こされる可能性は低いと考えられた.

Binimetinib は *in vitro* で CYP1A2，CYP2B6 及び CYP2C9 を阻害したが，薬物相互作用ガイドライン[14) 15) 16)]に従い検討した結果，臨床において binimetinib が各 CYP を介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた.

Binimetinib は *in vitro* で CYP3A4 を誘導したが，臨床薬物相互作用試験において CYP3A 基質であるミダゾラムの血漿中曝露量に影響を及ぼさなかった［2.7.2.2.2.2］.

Binimetinib は P-gp 及び BCRP の基質であるが，受動的膜透過性が高く，ヒトにおける吸収率が 50%以上である［2.7.2.2.2.2］ことから，P-gp 阻害剤及び BCRP 阻害剤との併用により binimetinib の血漿中曝露量が大きな影響を受ける可能性は低いと考えられた.

Binimetinib は *in vitro* で OATP1B1，OATP1B3，OCT2，OAT1 及び OAT3 を阻害した．薬物相互作用ガイドライン [14) 15) 16)] に従い検討した結果，臨床において binimetinib が各トランスポーターを介した薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた.

ラット及びサルを用いた毒性試験では，主に binimetinib の薬理作用に関連した毒性変化が認められた．主要な毒性標的器官は，消化管，皮膚，骨及び骨髄であり，これらに加えて軟部組織の鉱質沈着も認められた．消化管に対する毒性として，サルで大腸（盲腸，結腸及び直腸）の粘膜上皮の変性，出血，炎症細胞浸潤及び再生性過形成などがみられ，これらの変化に関連して，水様便，炎症や出血に関連する臨床検査値の変動が認められた．水様便が継続してみられた例は状態悪化に至った．皮膚に対する毒性として，ラットにおいて脱毛，痂皮，びらん／潰瘍及び炎症がみられ，これらに伴って表皮の滲出物や再生性の変化である表皮過形成が認められた．投与期間の延長により皮膚の傷害性変化の発現頻度及び程度が上昇したことから，投与継続により増悪する変化と考えられた．この他，ラットでは血中リンの高値を伴った種々の臓器の軟部組織における鉱質沈着が認められた．類薬の MEK 阻害剤の毒性試験においてもラットのみで血中リンの高値を伴った軟部組織の鉱質沈着が生じている [17) 18) 19)] が，これらの MEK 阻害剤の臨床試験では血中リンの高値は認められず [17) 18)]，MEK 阻害剤による軟部組織の鉱質沈着はラット特異的に生じる変化の可能性が考えられている [19)]．したがって，binimetinib による軟部組織の鉱質沈着についてもラット特異的な変化の可能性が考えられた．骨に対する毒性として，ラットの死亡用量で大腿骨の成長板肥厚，骨減少症及び線維骨の増生が認められた．骨髄に対する毒性として，ラットの死亡用量で大腿骨骨髄の巣状壊死が認められた．Binimetinib による毒性変化についてはいずれも回復性が確認されたが，ラット及びサルの無毒性量における血漿中 binimetinib 曝露量（AUC24h）は，臨床用量（45 mg/person b.i.d.）と比較してラットで 0.84～1.5 倍未満，サルで 1 倍未満であったことから，臨床では消化管の粘膜傷害及びそれに起因した消化器症状（下痢や血便など），皮膚傷害に留意する必要があると考えられた.

Binimetinib は，細菌を用いた復帰突然変異試験，マウスリンフォーマ TK 試験及びマウスを用いた *in vivo* 小核試験でいずれも陰性であったことから，遺伝毒性を有さないと判断した.

Binimetinib は，ウサギにおいて母動物に毒性を示す投与量で催奇形性（心室中隔欠損及び肺動脈幹狭窄）を示した．ラットでは，母動物に対する毒性の二次的変化と考えられる胎児

体重の低値及び胸骨分節の未骨化が認められた．胚・胎児に対する無毒性量における血漿中 binimetinib 曝露量（AUC）は，臨床用量（45 mg/person, b.i.d.）における曝露量と比較してラットで 7.7 倍，ウサギで 1 倍未満であった．ウサギにおいて催奇形性が認められていることから，臨床では妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には投与しないことが望ましいと考えられた．

Binimetinib は，*in vitro* 光毒性試験で陽性を示し，*in vivo* でマウスの皮膚に光感作性を示したが，臨床試験における光線過敏症の発現頻度は低かった［2.7.4.2.1.5］ことから，臨床使用により重篤な光毒性が発現するリスクは低いと考えられた．

臨床において binimetinib は RAF 阻害剤である encorafenib と併用投与される．効力を裏付ける試験において binimetinib と encorafenib の併用は，MAP キナーゼ経路上の MEK と RAF を同時に阻害することで BRAF V600 変異を有するヒト悪性黒色腫細胞に対して強力な増殖抑制作用を示した．また，マウス異種移植モデルにおいて単剤よりも強力に腫瘍を縮小させるとともに，獲得耐性の出現による腫瘍の再増殖を抑制した．一方，*in vivo* での両剤の併用は一般状態及び体重推移に明らかな影響を及ぼすことはなかったが，それぞれの単剤投与ではみられない肝臓への影響（小葉辺縁部への炎症細胞浸潤）が認められた．本変化は肝細胞壊死等の傷害性変化や血液学的検査値の変動を伴わないことから重篤な毒性を示唆するものではないと判断した．

Binimetinib と encorafenib の単剤投与時の毒性標的臓器やそれぞれの毒性発現機序を踏まえると，併用投与時に毒性が重複する可能性のある臓器は皮膚，消化管及び網膜と考えられる．Binimetinib 及び encorafenib のラット反復投与毒性試験において，いずれも単剤投与で皮膚の病理組織学的変化がみられたが，encorafenib では扁平上皮の過形成性変化に伴う皮膚傷害であった[20) 21)]のに対し，binimetinib では扁平上皮に対する直接的な細胞増殖亢進作用を示唆する変化は認められなかった．RAF 阻害剤による扁平上皮の過形成性変化には，RAF 阻害作用によるパラドキシカルな MAP キナーゼ経路の活性化が関与しており[11) 12) 13)]，MEK 阻害剤を併用することで RAF 阻害剤による皮膚の過形成性変化が軽減することが報告されている[8) 9) 10)]．したがって，encorafenib による皮膚の過形成性変化は，binimetinib との併用により軽減する可能性があると考えられた．Binimetinib のサル反復投与毒性試験において，大腸粘膜の傷害性を示唆する変化が認められ，MEK 阻害作用に基づく変化の可能性が考えられる．また，encorafenib のサル反復投与毒性試験において，軟便，下痢，血便及び嘔吐が認められ，RAF 阻害作用に基づく変化である可能性が考えられる．したがって，RAF 及び MEK が同じ MAP キナーゼ経路にあることを併せて考察すると，併用投与時に消化管に対する影響が増強する可能性が考えられた．しかし，臨床試験では，併用群とそれぞれの単剤群における消化管障害の発現率及び重篤度に明らかな差は認められない［2.7.4.2］ことから，

臨床使用において encorafenib と binimetinib の併用により消化管障害が増悪する可能性は低いと考えられた．Encorafenib のサル反復投与毒性試験において，黄斑部における滲出性の網膜剥離を示唆する変化が認められ [22)]，MAP キナーゼ経路の阻害に関連して発現した可能性が考えられた．Binimetinib の毒性試験において網膜に対する影響はみられていないが，臨床試験において滲出性の網膜剥離が認められており，MEK 阻害作用に関連した変化と考えられている［2.7.4.2.1.5］．RAF 及び MEK が同じ MAP キナーゼ経路にあることも併せて考察すると，併用投与時に網膜に対する影響が増強する可能性があり，臨床において網膜毒性に留意する必要があると考えられた．

これまでに得られている非臨床試験成績から，binimetinib は BRAF 遺伝子変異を有する悪性黒色腫に対する新たな治療薬になり得ると考えられた．また，binimetinib と encorafenib の併用は網膜毒性の増強に留意する必要があるものの，強力かつ持続的な抗腫瘍効果を示す新たな治療選択肢になると考えられた．

2.4.6 参考文献一覧

1） Samatar AA, Poulikakos PI. Targeting RAS-ERK signalling in cancer: promises and challenges. Nat Rev Drug Discov. 2014;13:928-42.

2） Lito P, Rosen N, Solit DB. Tumor adaptation and resistance to RAF inhibitors. Nat Med. 2013;19:1401-9.

3） Alcalá AM, Flaherty KT. BRAF inhibitors for the treatment of metastatic melanoma: clinical trials and mechanisms of resistance. Clin Cancer Res. 2012;18:33-9.

4） Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. Nature. 2002;417:949-54.

5） Karoulia Z, Gavathiotis E, Poulikakos PI. New perspectives for targeting RAF kinase in human cancer. Nat Rev Cancer. 2017;17:676-91

6） Wan PT, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. Cell. 2004;116:855-67.

7） Shi H, Hugo W, Kong X, Hong A, Koya RC, Moriceau G, et al. Acquired resistance and clonal evolution in melanoma during BRAF inhibitor therapy. Cancer Discov. 2014;4:80-93.

8） Anforth R, Fernandez-Peñas P, Long GV. Cutaneous toxicities of RAF inhibitors. Lancet Oncol. 2013;14:e11-8.

9） Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H, Levchenko E, de Braud F, Larkin J, et al. Combined BRAF and MEK inhibition versus BRAF inhibition alone in melanoma. N Engl J Med. 2014;371:1877-88.

10） Livingstone E, Zimmer L, Vaubel J, Schadendorf D. BRAF, MEK and KIT inhibitors for melanoma: adverse events and their management. Chin Clin Oncol. 2014;3:29.

11） Carnahan J, Beltran PJ, Babij C, Le Q, Rose MJ, Vonderfecht S, et al. Selective and potent Raf inhibitors paradoxically stimulate normal cell proliferation and tumor growth. Mol Cancer Ther. 2010;9:2399-410.

12） Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, Brandhuber BJ, Anderson DJ, Alvarado R, et al. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MAPK pathway and enhance growth. Nature. 2010;464:431-5.

13） Gibney GT, Messina JL, Fedorenko IV, Sondak VK, Smalley KS. Paradoxical oncogenesis--the long-term effects of BRAF inhibition in melanoma. Nat Rev Clin Oncol. 2013;10:390-9.

14） Guideline on the Investigation of Drug Interactions (Final). European Medicines Agency, 2012

15） Guidance for Industry (DRAFT GUIDANCE): Drug Interaction Studies-Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Clinical Pharmacology, February 2012

16） 医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン（最終案），厚生労働省, 2014 年 7 月

17） Brown AP. Development of serum calcium and phosphorous as clinical biomarkers for drug-induced systemic mineralization: Case study with a MEK inhibitor. In Pharmaceutical Sciences Encyclopedia: Drug Discovery, Development, and Manufacturing. Shayne C. Gad, Eds., 15:1–22, 2010;John Wiley & Sons, Hoboken, NJ.

18） メキニスト錠 0.5 mg，同錠 2 mg 申請資料概要 2.6. 非臨床試験の概要文及び概要表.

19） Diaz D, Allamneni K, Tarrant JM, Lewin-Koh SC, Pai R, Dhawan P, et al. Phosphorous dysregulation induced by MEK small molecule inhibitors in the rat involves blockade of FGF-23 signaling in the kidney. Toxicol Sci. 2012;125(1):187-95.

20） 社内資料：4-week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period. 最終報告書，[redacted]70180

21） 社内資料：A 13-week oral (gavage) toxicity study with a 4-week recovery period in rat. 最終報告書，8000058

22） 社内資料：13-week oral (gavage) toxicity study in monkeys with a 10-week recovery period. 最終報告書, [redacted]70471