目次

1. 非臨床試験計画概略 8
2. 薬理試験 11
2.1 効力を裏付ける試験 11
2.1.1 生化学的作用の強さ及び選択性 11
2.1.2 In vitro での有効性 11
2.1.2.1 細胞内 FLT3 活性に対するキザルチニブの阻害作用 11
2.1.2.2 白血病細胞に対するキザルチニブの増殖阻害作用 12
2.1.3 In vivo での有効性 12
2.1.3.1 キザルチニブの薬力学解析 12
2.1.3.2 腫瘍異種移植モデル 12
2.1.3.3 播種性腫瘍移植モデル 13
2.2 副次的薬理試験 14
2.3 安全性薬理試験 14
3. 薬物動態試験 17
3.1 吸収 17
3.2 分布 17
3.2.1 組織分布 17
3.2.2 タンパク結合 18
3.2.3 その他の分布試験 18
3.3 代謝 18
3.3.1 In vitro 代謝試験 19
3.3.2 In vivo 代謝試験 19
3.3.2.1 マウス 19
3.3.2.2 ラット 19
3.3.2.3 イヌ 21
3.3.2.4 サル 21
3.4 排泄 22
3.5 薬物動態学的薬物相互作用試験 23
4. 毒性試験 25
4.1 単回投与毒性試験 25
4.2 反復投与毒性試験及びトキシコキネティクス 25
4.2.1 ラット 25
4.2.2 イヌ 27
4.2.3 サル 29
4.3 遺伝毒性試験 32

4.4　がん原性試験 33
4.5　生殖発生毒性試験 33
4.5.1　胚・胎児発生毒性試験 33
4.5.2　幼若動物を用いる毒性試験 35
4.6　局所刺激性試験 35
4.7　その他の毒性試験 35
4.7.1　抗原性試験 35
4.7.2　不純物の毒性試験 35
4.7.3　光毒性試験 36
4.7.4　眼及び皮膚刺激性試験 36
5.　総括及び結論 37
5.1　薬理試験 37
5.2　薬物動態試験 38
5.3　毒性試験 41
5.4　曝露マージン 44
6.　参考文献一覧 47

表一覧

表 2.4-1　キナーゼに対する結合アッセイにおけるキザルチニブ及び AC886 の選択性 11
表 2.4-2　キナーゼ以外に対するキザルチニブの阻害活性 14
表 2.4-3　SD ラットに投与した放射能の平均回収率 22
表 2.4-4　イヌに投与した放射能の平均回収率 23
表 2.4-5　ラットにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のキザルチニブのトキシコキネティクスパラメータ 27
表 2.4-6　イヌにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ 29
表 2.4-7　サルにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ 32
表 2.4-8　妊娠ラットにおけるキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ 34
表 2.4-9　臨床用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）／日と、QT 延長に対する無作用量又は毒性用量での全身曝露量（Cmax）の比較に基づくキザルチニブ及び AC886 の曝露マージン 38
表 2.4-10　臨床用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）／日と、標的臓器毒性に対する無毒性量又は毒性用量での全身曝露量（AUC）の比較に基づくキザルチニブ及び AC886 の曝露マージン 45

図一覧

図 2.4-1　腫瘍異種移植マウスモデル.....13
図 2.4-2　MV4-11 細胞を用いた播種性腫瘍移植モデルにおける 31 日間投与群と継続投与群の比較.....13
図 2.4-3　ラット胆汁中代謝物から推定される代謝経路.....21

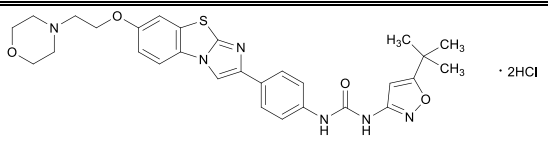
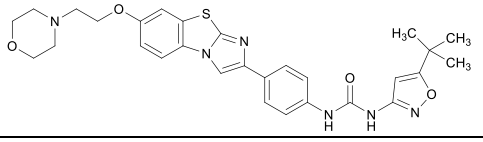
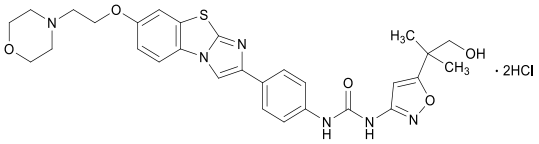
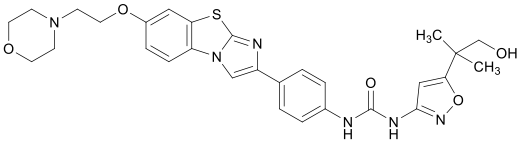
略語一覧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
AAGP	alpha 1-acid glycoprotein	α1-酸性糖タンパク質
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収・分布・代謝・排泄
ALP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AML	acute myeloid leukemia	急性骨髄性白血病
APD	action potential duration	活動電位持続期間
APD_n	action potential duration at n% repolarization	n%再分極時活動電位持続期間
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCinf	area under the plasma concentration-time curve up to infinity	無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-24}	area under the plasma concentration-time curve up to 24 h	投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time	定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
BSEP	bile salt export pump	胆汁酸塩輸送ポンプ
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
Cmax	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
dLVP/dtmax	rate of contraction	収縮速度
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DPBS	Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+}	Ca^{2+}及び Mg^{2+}含有ダルベッコリン酸緩衝食塩水
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FLT3	FMS-like tyrosine kinase 3	FMS 様チロシンキナーゼ 3
GD	gestation day	妊娠日齢
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
HCT	hematocrit	ヘマトクリット
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓由来
hERG	human ether-à-go-go-related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HGB	hemoglobin	ヘモグロビン
HNSTD	highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
HPβCD	2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin	2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
I_{Ca-L}	L-type calcium currents	L 型カルシウム電流
I_{Kr}	rapidly activating component of delayed rectifier potassium currents	急速活性型遅延整流カリウム電流
I_{Ks}	slowly activating component of delayed rectifier potassium currents	緩徐活性型遅延整流カリウム電流
I_{Na}	sodium currents	ナトリウム電流
$I_{Na,L}$	late sodium currents	遅延ナトリウム電流
ITD	internal tandem duplication	遺伝子内縦列重複
LC-MS/MS	liquid chromatography/tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
LVP	left ventricular pressure	左室圧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
MAP	monophasic action potential	単相性活動電位
MATE	multidrug and toxin extrusion	－
MDR1	multidrug resistance 1	－
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no observed effect level	無作用量
NRU	neutral red uptake	ニュートラルレッド取り込み
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
p-FLT3	phosphorylated FLT3	リン酸化 FLT3
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク
PIF	photo irritation factor	－
RS	respiratory system	呼吸器系
RTK	receptor tyrosine kinase	受容体型チロシンキナーゼ
SD	Sprague-Dawley	－
S9	9000 *g* supernatant	9000 *g* 遠心上清
TBIL	total bilirubin	総ビリルビン
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
Tmax	time to reach maximum plasma concentration/radioactivity	最高血漿中濃度／放射能濃度到達時間
$T_{1/2}$	terminal elimination half-life	終末相の消失半減期

－: 該当する表記なし

化合物一覧

一般名	化学名	構造式
キザルチニブ塩酸塩	1-(5-*tert*-Butyl-1,2-oxazol-3-yl)-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea dihydrochloride	
キザルチニブ	1-(5-*tert*-Butyl-1,2-oxazol-3-yl)-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea	
AC886 塩酸塩	1-[5-(1-Hydroxy-2-methylpropan-2-yl)-1,2-oxazol-3-yl]-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea dihydrochloride	
AC886	1-[5-(1-Hydroxy-2-methylpropan-2-yl)-1,2-oxazol-3-yl]-3-(4-{7-[2-(morpholin-4-yl)ethoxy]imidazo[2,1-*b*][1,3]benzothiazol-2-yl}phenyl)urea	

1. 非臨床試験計画概略

キザルチニブは、FMS 様チロシンキナーゼ 3（FMS-like tyrosine kinase 3: FLT3）に対して強力かつ選択的な阻害作用を示すクラス III の受容体型チロシンキナーゼ（receptor tyrosine kinase: RTK）阻害薬である。キザルチニブは現在、急性骨髄性白血病（acute myeloid leukemia: AML）、特に FLT3 受容体活性化変異が陽性の AML の治療薬として開発中である。本申請で目標とする適応は、再発又は難治性の FLT3 遺伝子内縦列重複（internal tandem duplication: ITD）変異陽性の AML 患者の治療を目的とする単剤療法である。非臨床試験の概括評価では、本申請資料第 4 部に示す非臨床試験報告書について総括するとともに、目標患者集団に臨床使用した際の安全性を非臨床データから予測し、その妥当性を評価する。

キザルチニブとその活性代謝物 AC886 の非臨床プロファイルは、薬理試験、薬物動態試験、及び毒性試験により評価した。マウス、ラット、イヌ、及びサルを用いた in vivo 試験の大半は、臨床予定投与経路である経口投与を用いて実施した。安全性薬理試験及び主要な毒性試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice: GLP）を遵守し実施したほか、各試験の実施時に有効であった経済協力開発機構（Organisation for Economic Co-operation and Development）基準にも準拠して実施した。また、医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use: ICH）、欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会（Committee for Medicinal Products for Human Use）、及び米国食品医薬品局（Food and Drug Administration: FDA）の該当するガイダンス文書も参照した[1,2,3,4,5,6,7]。なお、薬物動態試験は医薬審第 496 号 厚生省医薬安全局審査課長通知「非臨床薬物動態試験ガイドラインについて」に従い実施した。本概括評価では、特記しない限り、投与量及び濃度はフリー体換算で表示する。

キザルチニブ及び AC886 の薬理学的プロファイルは、in vitro アッセイ及び in vivo モデル系の両方で広範に評価した。無細胞系を用いた一連の in vitro 結合アッセイでは、クラス III の RTK である FLT3 の阻害薬としてのキザルチニブ及び AC886 の生化学的作用の強さ及び選択性が確認された。細胞系を用いたアッセイでは、MV4-11 細胞（FLT3-ITD 変異を有するため FLT3 が活性化されているヒト白血病細胞株）の細胞内 FLT3 活性及び細胞増殖に対するキザルチニブの阻害作用が示された。一連の固形腫瘍異種移植及び播種性腫瘍移植マウスモデルを用いて、キザルチニブの in vivo での抗腫瘍作用を評価した。また、in vitro 生化学的アッセイにて、キナーゼ以外の一連の酵素、受容体、チャネル、及びトランスポーター（計 118 種）に対する副次的薬理作用も評価した。

キザルチニブ及び AC886 の安全性薬理プロファイルは、in vitro 及び in vivo 試験系を用いて評価した。In vitro 試験として開発初期に、ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（human ether-à-go-go-related gene: hERG）チャネル電流（hERG を導入したヒト胎児腎臓由来［human embryonic kidney: HEK］293 細胞を使用）、活動電位（ウサギ心室組織を使用）、種々のイオンチャネル電流（ナトリウム電流［sodium currents: I_{Na}］、緩徐活性型遅延整流カリウム電流［slowly activating component of delayed rectifier potassium currents: I_{Ks}］及び L 型カルシウム電流［L-type calcium currents: I_{Ca-L}］）（イヌ心筋細胞又は I_{Ks} 発現チャイニーズハムスター卵巣

［Chinese hamster ovary: CHO］細胞を使用）、並びに心臓の電気生理学的及び機械的パラメータに対する作用に関する試験（ウサギ摘出心臓を使用）を実施した。しかし、上記の in vitro 試験で評価したキザルチニブ及び AC886 の濃度範囲（1～30 μM）は以下に示すように高い濃度と考えられた。臨床推奨用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）を投与したヒトの最高血漿中濃度（maximum plasma concentration: Cmax）はキザルチニブが 487 ng/mL（0.9 μM：分子量 560.67 をもとに算出）及び AC886 が 192 ng/mL（0.3 μM：分子量 576.67 をもとに算出）であった（添付資料番号：5.3.5.2-2）。キザルチニブ及び AC886 ともに高いタンパク結合率（≥99%）を示すため、非結合型薬物の Cmax はそれぞれ約 1%と推定され、上記の 4 つの in vitro 安全性薬理試験で用いた 1～30 μM はヒトにおける非結合型薬物の Cmax の 100～10,000 倍高い濃度であった。さらに、検体液の濃度の実測値は設定濃度より 20%以上低値であった。また、I_{Na} 及び $I_{Ca\text{-}L}$ に対する作用の評価には分離したイヌ心筋細胞を用いた。これらを踏まえ、より適切な濃度範囲及び細胞を用いて、hERG 電流、I_{Ks}、I_{Na}、遅延ナトリウム電流（late sodium currents: $I_{Na,L}$）、及び $I_{Ca\text{-}L}$ に対するイオンチャネルアッセイを、ヒト遺伝子を導入した培養細胞を用いて 0.1～3 μM の濃度範囲で追加実施した。さらに、カニクイザルを用いた in vivo 心血管系テレメトリー試験を実施した。ICH S9 に従って、ラットを用いた中枢神経系（central nervous system: CNS）及び呼吸器系（respiratory system: RS）に対する安全性薬理試験は実施しなかった[2]。ラット、イヌ、及びサルを用いた 13 週間反復投与毒性試験では、CNS 及び RS に対する影響はみられなかった（2.6.6.3）。薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

キザルチニブ及び AC886 の薬物動態プロファイルは、in vitro アッセイ及び in vivo モデル系の両方で広範に評価した。キザルチニブの膜透過性は Caco-2 細胞を用いて評価した。P 糖タンパク（P-glycoprotein: P-gp）を介するキザルチニブの輸送は、MDR1（multidrug resistance 1）発現細胞（Madin-Darby イヌ腎臓由来細胞 II［Madin-Darby canine kidney strain II: MDCKII］-MDR1 細胞）を用いて評価した。キザルチニブの静脈内及び経口投与後の薬物動態プロファイルは、薬理試験及び毒性試験に使用した動物種（マウス、ラット、イヌ、及びカニクイザル）で評価した。キザルチニブの血漿中濃度は、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法（liquid chromatography/tandem mass spectrometry: LC-MS/MS）によって測定した。ノンコンパートメントモデル解析により薬物動態パラメータを求め、用量比例性を評価したほか、性別及び食餌の影響を評価する試験を実施した。

Sprague-Dawley（SD）ラット及び Long-Evans ラットに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を単回経口投与し、分布を評価した。ヒト血清アルブミン、ヒト α1-酸性糖タンパク質（alpha 1-acid glycoprotein: AAGP）、並びにマウス、ラット、イヌ、サル、及びヒト血漿を用いて、キザルチニブ及び AC886 の in vitro 血漿タンパク結合率を評価した。ラット脳内への分布及びヒト血中での血球移行性も評価した。

キザルチニブの代謝物プロファイルは、in vitro 及び in vivo 試験系の両方を用いて評価した。キザルチニブの肝臓における安定性は、非臨床動物種及びヒトの肝ミクロソーム、肝の 9000 *g* 遠心上清（9000 *g* supernatant: S9）分画、又は肝細胞とのインキュベーション後に評価した。

ヒト肝ミクロソーム及び複数の組換えヒトチトクロム P450（cytochrome P450: CYP）分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9*1、CYP2C19、CYP2D6*1、CYP3A4、及び CYP3A5）を用いた CYP 分子種同定試験も実施した。ラット及びイヌに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を投与し、血漿、尿、及び糞中の代謝物を評価した。ラット及びイヌに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を単回経口投与した後、キザルチニブとその代謝物由来放射能の尿及び糞中排泄を評価した。さらに、キザルチニブ及び AC886 の胆汁排泄、並びに胆汁中の代謝物プロファイルを、胆管カテーテル留置ラットを用いて評価した。ヒト肝ミクロソームを用いて薬物代謝酵素である CYP 分子種（CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、及び CYP3A4）に対するキザルチニブ及び AC886 の阻害作用を評価した。CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、及び CYP3A4）に対するキザルチニブの誘導作用を、ヒト肝細胞を用いて評価した。キザルチニブ及び AC886 と P-gp 及びその他のトランスポーターとの相互作用を、in vitro で評価した。In vivo 薬物相互作用試験は実施しなかった。

キザルチニブの毒性プロファイルは、ラット、イヌ、及びカニクイザルの単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、ラット生殖発生毒性試験、幼若ラット反復投与毒性試験、並びにその他の特殊毒性試験（抗原性試験、キザルチニブの各種不純物の毒性評価、光安全性試験、皮膚及び眼刺激性試験）で評価した。開発の初期には、キザルチニブの非げっ歯類での毒性をイヌで評価した。しかし、ヒト、ラット、及びサルでの曝露量はイヌと比較して高かったにもかかわらず、イヌでの血中主要代謝物のうち 1 種類（モルフォリン環の酸化体）は、これらの種で検出されず、イヌのみで検出された。この代謝物はイヌ特有の肝毒性（複屈折結晶沈着）に関与した可能性がある。そのため、薬物動態及び毒性データに基づき非げっ歯類でのキザルチニブの毒性プロファイル評価によるヒトでの安全性リスクの予測には、イヌの代わりにカニクイザルを用いた。原薬及び製剤中の不純物の毒性は、ICH Q3A 及び Q3B ガイドライン [6,7] を参照し評価した。また、ICH S9 に従い [2]、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、及びがん原性試験は実施しなかった。

2. 薬理試験

キザルチニブの薬理試験プログラムについては、2.6.2 及び 2.6.3 に要約する。

2.1 効力を裏付ける試験

キザルチニブの効力を裏付ける試験については、2.6.2.2 及び 2.6.3.2 に要約する。

2.1.1 生化学的作用の強さ及び選択性

キザルチニブは FLT3 に対し最も高い親和性で結合し（K_d = 1.3 nM）、KIT に対してはそれよりも低い親和性で結合した。また、キザルチニブは CSF1R/FMS、PDGFRα、PDGFRβ、及びクラス III ではない RTK である RET にも FLT3 に対する Kd 値の約 10 倍以内の親和性で結合した。評価した 441 種類のキナーゼのうち、FLT1、FLT4、及び DDR1 もキザルチニブとの結合が確認されたほか、クラス III 以外の RTK のうち、10 種類がキザルチニブに中程度の親和性で結合し（K_d 値: 100～1000 nM）、31 種類がキザルチニブに弱く結合した（K_d 値: >1000 nM）（添付資料番号：4.2.1.1-1）。AC886 は FLT3 に対し最も高い親和性で結合し（K_d = 0.54 nM）、KIT に対してはそれよりも低い親和性で結合した。また、AC886 は CSF1R/FMS、PDGFRα、PDGFRβ、及び RET にも結合するが、その親和性は FLT3 に対する K_d 値の約 25 倍以内であった。評価した 391 種類のキナーゼのうち、FLT1 及び FLT4 も AC886 との結合が確認されたほか、クラス III 以外の RTK のうち、5 種類が AC886 に中程度の親和性で結合し（K_d 値: 100～1000 nM）、31 種類が AC886 に弱く結合した（K_d 値: >1000 nM）（添付資料番号：4.2.1.1-2）。したがって、この生化学的な結合アッセイでは、キザルチニブ及び AC886 はそれぞれ、特定のクラス III の RTK に対して高い親和性を示した（表 2.4-1）。

表 2.4-1　キナーゼに対する結合アッセイにおけるキザルチニブ及び AC886 の選択性

キナーゼ	キザルチニブ（K_d、nM）	AC886（K_d、nM）
CSF1R/FMS	9.6	8.6
DDR1	81	510
FLT1	44	94
FLT3	1.3	0.54
FLT4	49	69
KIT	4.9	0.97
PDGFRα	14	3.6
PDGFRβ	8.4	1.8
RET	7.1	14
VEGFR2	100	110

2.1.2 In vitro での有効性

2.1.2.1 細胞内 FLT3 活性に対するキザルチニブの阻害作用

細胞内 FLT3 キナーゼの活性に対するキザルチニブの阻害作用は、FLT3-ITD 変異（AML で高頻度に検出される変異）を有するヒト MV4-11 細胞にキザルチニブを様々な濃度で添加したときの FLT3-ITD のリン酸化の程度を測定し、ジメチルスルホキシド（dimethyl

sulfoxide: DMSO）処理した対照細胞におけるリン酸化の程度と比較することにより評価した（添付資料番号：4.2.1.1-3）。キザルチニブは、濃度 0.8～20 nM で FLT3 のリン酸化を著しく阻害することが明らかになり、FLT3-ITD のキナーゼ活性を細胞内で強力に阻害することが示された。

2.1.2.2　白血病細胞に対するキザルチニブの増殖阻害作用

MV4-11 細胞を用いて、FLT3 依存性の細胞増殖に対するキザルチニブの阻害作用を in vitro で評価した（添付資料番号：4.2.1.1-4）。MV4-11 細胞及び対照細胞株（RS4;11）（野生型 FLT3 を発現しており、FLT3 活性非依存性の増殖を示す細胞株）の増殖に対する 50%阻害濃度（50% inhibitory concentration: IC_{50}）を求めた。キザルチニブは MV4-11 細胞の増殖を強力に阻害したが（IC_{50} = 0.3 nM）、RS4;11 細胞に対する活性は 1000 倍以上弱かった（IC_{50} = 990 nM）。

2.1.3　In vivo での有効性

この章では、キザルチニブの投与量は塩酸塩として表示する。

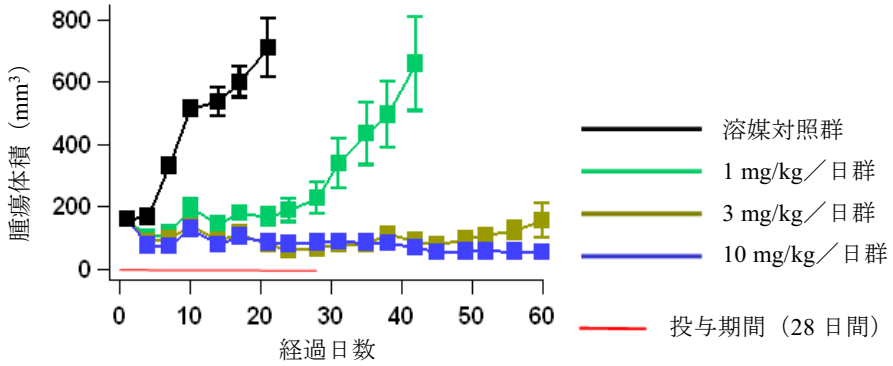
2.1.3.1　キザルチニブの薬力学解析

MV4-11 細胞を用いた固形腫瘍移植マウスモデルを用いて、MV4-11 腫瘍のリン酸化 FLT3（phosphorylated FLT3: p-FLT3）発現量及び FLT3 タンパクの総発現量に対するキザルチニブ投与時の作用推移を評価した（添付資料番号：4.2.1.1-5）。溶媒投与群では、FLT3 のリン酸化率は一定に推移した。キザルチニブ塩酸塩 10 mg/kg の単回投与群では、FLT3 のリン酸化率が時間依存的に低下した。最大の作用が認められたのは投与 1、2、及び 6 時間後であり、FLT3 のリン酸化率はそれぞれ 6%、4%、及び 7%であった。投与 48 及び 96 時間後には、FLT3 のリン酸化率が回復したものの、約 60%が最高値であった。キザルチニブ及び AC886 の曝露量は、投与後 48 時間にわたり、腫瘍検体中と血漿検体中で同程度であった。

2.1.3.2　腫瘍異種移植モデル

腫瘍増殖に対するキザルチニブの作用は、MV4-11 細胞を用いた腫瘍異種移植マウスモデルで評価した（添付資料番号：4.2.1.1-6）。キザルチニブは、MV4-11 細胞を用いた異種移植モデルで強力かつ用量依存的な活性を示した。キザルチニブ塩酸塩 10 mg/kg／日群では、投与中止後、32 日間の観察期間を通して腫瘍の再増殖はみられなかった（図 2.4-1）。さらに、キザルチニブ群では、体重減少をはじめとする毒性の徴候はみられなかった。

図 2.4-1　腫瘍異種移植マウスモデル

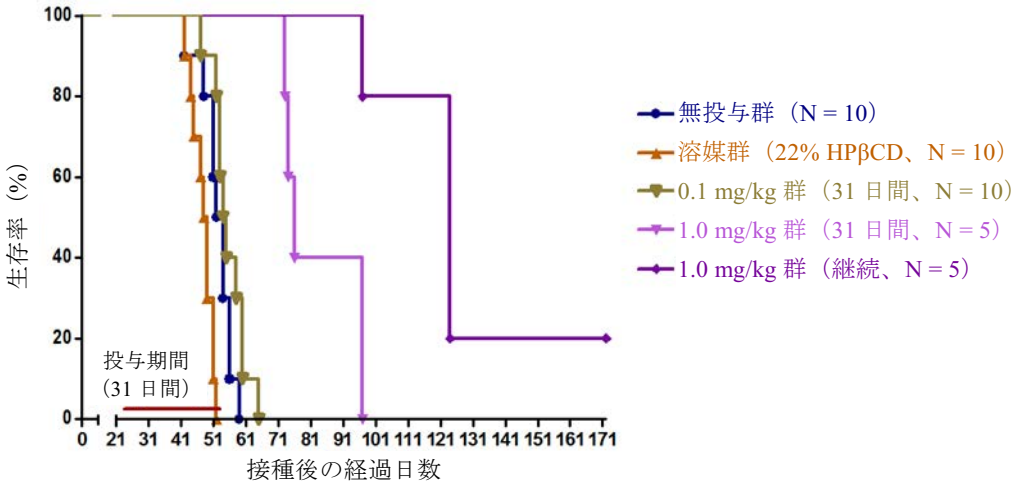


各群 10 例。データは平均値及び標準誤差で示す。溶媒対照として 22% HPβCD を用いた。

2.1.3.3　播種性腫瘍移植モデル

MV4-11 細胞を静脈内接種し骨髄に播種させたモデルでも、キザルチニブの活性を評価した（添付資料番号：4.2.1.1-7）。同モデルでは、溶媒対照群の生存期間中央値は接種後 49 日間であった。同群の全例とも死亡前に腫瘍による一般状態変化を示し、末梢血中に MV4-11 細胞が出現した。キザルチニブは同モデルで用量依存的な活性を示した。キザルチニブ群における延命作用は、発症（一般状態変化及びフローサイトメトリーを用いた血中 MV4-11 細胞の検出により評価）の遅延と相関を示した。31 日間投与群と 150 日間継続投与群の間でも、作用を比較評価した。全投与群で溶媒単独群と比較して延命作用が得られたが、キザルチニブ塩酸塩 1 mg/kg／日の継続投与群では、31 日間投与群を大幅に上回る延命作用が得られた（図 2.4-2）。

図 2.4-2　MV4-11 細胞を用いた播種性腫瘍移植モデルにおける 31 日間投与群と継続投与群の比較



継続: 150 日間投与した群

2.2　副次的薬理試験

副次的薬理試験については 2.6.2.3 及び 2.6.3.3 に要約する。

キザルチニブが標的以外に対する活性を有するか否かを評価するため、生化学的アッセイにて、キナーゼ以外の一連の酵素、受容体、チャネル、及びトランスポーター（計 118 種）に対するキザルチニブの作用をスクリーニングした（添付資料番号：4.2.1.2-1）。評価したキナーゼ以外（118 種）の標的のうち、キザルチニブが 2 μM を下回る IC_{50} 値を示したものはなく、10 μM を下回る IC_{50} 値を示したものは 5 種のみであった（表 2.4-2）。

表 2.4-2　キナーゼ以外に対するキザルチニブの阻害活性

アッセイ	阻害率（%） （10 μM）	IC_{50}（μM）
リポキシゲナーゼ（15-LO）	68	5.12
ペプチダーゼ（レニン）	67	10.3
プロスタノイド受容体（EP_4）	70	5.55
シグマ受容体（σ_1）	57	7.16
シグマ受容体（σ_2）	62	5.04
ナトリウムチャネル（site 2）	81	2.71

IC_{50}: 50%阻害濃度

2.3　安全性薬理試験

安全性薬理試験については 2.6.2.4 及び 2.6.3.4 に要約する。

hERG 電流（急速活性型遅延整流カリウム電流［rapidly activating component of delayed rectifier potassium currents: I_{Kr}］）に対するキザルチニブ及び AC886 の影響を、濃度範囲 1～30 μM で評価した（添付資料番号：4.2.1.3-1）。キザルチニブは、30 μM までの濃度で I_{Kr} を阻害しなかったが、AC886 は、濃度範囲 1～30 μM で I_{Kr} に対する濃度非依存性の阻害作用を示し、最大阻害率は 36.5%であった。

ウサギ心臓から分離した心室組織の APD に対するキザルチニブ及び AC886 の影響を、高インピーダンス微小電極を用いた細胞内記録法にて評価した（添付資料番号：4.2.1.3-3）。キザルチニブは 30 μM までの濃度で APD に対して統計学的に有意な影響を及ぼさなかった。AC886 は濃度範囲 1～30 μM で 30%再分極時活動電位持続期間（action potential duration at 30% repolarization: APD_{30}）に影響を及ぼさなかったが、APD_{90} 及び APD_{90-30} を延長させた。

イヌ新鮮心室組織から分離した心筋細胞及びヒト KvLQT1/minK-CHO（I_{Ks} 発現 CHO）細胞を用いて、I_{Na}、I_{Ks}、及び I_{Ca-L} 電流に対するキザルチニブ及び AC886 の影響を、ホールセルパッチクランプ法にて評価した（添付資料番号：4.2.1.3-2）。キザルチニブは、濃度範囲 1～30 μM で I_{Na} 及び I_{Ca-L} を阻害しなかったが、I_{Ks} 阻害率は最大 37%であり、阻害率は 1 μM でプラトーに達した。AC886 は、10 及び 30 μM で I_{Ca-L} を統計学的に有意に阻害し、阻害率はそれぞれ 23.6%及び 17.3%であった。AC886 は、濃度範囲 1～30 μM で I_{Ks} を阻害し、阻害率は 29.0%でプラトーに達した。また、I_{Na} を濃度依存的に阻害し、IC_{50} は 24.4 μM であった。

ニュージーランドホワイト（New Zealand White: NZW）ウサギからの摘出心標本を用いた

ランゲンドルフ試験にて、心臓の電気生理学的パラメータ（単相性活動電位［monophasic action potential: MAP］、QT、QRS、RR、PR、及び QTc 間隔［Van de Water の補正式を用いて心拍数で補正された QT 間隔］）及び機械的パラメータ（左室圧［left ventricular pressure: LVP］及び収縮速度［dLVP/dtmax］）に対するキザルチニブ及び AC886 の影響を評価した（添付資料番号 : 4.2.1.3-4）。キザルチニブ及び AC886 はいずれも、濃度範囲 1～30 μM で MAP、RR、PR、及び QT 間隔を延長させた。統計学的に有意な延長作用を示したキザルチニブ濃度は、RR 及び PR 間隔に対しては 10 μM 以上、QT 間隔に対しては 3 μM 以上、MAP に対しては 1 μM 以上であった。RR、PR、及び QT 間隔、並びに MAP に対し統計学的に有意な延長作用を示した AC886 濃度は、それぞれ 10 μM 以上、1 μM 以上、3 μM 以上、及び 30 μM であった。両被験物質のウォッシュアウト後、QT 間隔及び MAP の延長は回復しなかった。一方、RR 及び PR 間隔はウォッシュアウト後も延長し続けた。3 μM 以上のキザルチニブ及び 10 μM 以上の AC886 による QTc 延長は、ウォッシュアウト後も統計学的に有意であった。キザルチニブ及び AC886 は、dLVP/dtmax も低下させたが、LVP に有意な影響を及ぼさなかった。

上記の 4 つの in vitro 安全性薬理試験で用いた濃度範囲（1～30 μM）は以下に示すように高い濃度と考えられた。推奨臨床用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）を投与したヒトの Cmax はキザルチニブが 487 ng/mL（0.9 μM：分子量 560.67 をもとに算出）及び AC886 が 192 ng/mL（0.3 μM：分子量 576.67 をもとに算出）であった（添付資料番号：5.3.5.2-2）。キザルチニブ及び AC886 ともに高いタンパク結合率（≥99%）を示すため、非結合型薬物の Cmax はそれぞれ約 1%と推定され、上記の 4 つの in vitro 安全性薬理試験で用いた 1～30 μM はヒトにおける非結合型薬物の Cmax の 100～10,000 倍高い濃度であった。さらに検体液の実際の濃度は設定濃度より 20%以上低値であった。また、I_{Na} 及び $I_{Ca\text{-}L}$ に対する作用の評価には分離したイヌ心筋細胞を用いた。これらを踏まえ、より適切な濃度範囲及び細胞を用いて、キザルチニブ及び AC886 の hERG 電流（添付資料番号：4.2.1.3-5）、I_{Ks}（添付資料番号 : 4.2.1.3-6）、I_{Na}（添付資料番号 : 4.2.1.3-7）、$I_{Na,L}$（添付資料番号 : 4.2.1.3-8）、及び $I_{Ca\text{-}L}$（添付資料番号：4.2.1.3-9）に対する作用をそれぞれ hERG-HEK293 細胞、hKvLQT1/minK-HEK293 細胞、hNav1.5-HEK293 細胞、late hNav1.5-HEK293 細胞、及び hCav1,2-CHO 細胞を用いて 0.1～3 μM の濃度範囲で追加検討した。その結果、キザルチニブ及び AC886 ともに hERG 電流及び I_{Ks} を阻害した。キザルチニブ及び AC886 は 3 μM で統計学的に有意に hERG 電流をそれぞれ 16.4%及び 12.0%阻害した。I_{Ks} に対しては、キザルチニブは 0.1～2.9 μM の濃度範囲で評価した結果、2.9 μM で最大 67.5%阻害した。AC886 も 0.3～2.9 μM の濃度範囲で評価した結果、2.9 μM で最大 26.9%阻害した。キザルチニブ及び AC886 ともに最高濃度まで I_{Na}、$I_{Na\text{-}L}$、及び $I_{Ca\text{-}L}$ に対する阻害作用を示さなかった。これらから、キザルチニブ及び AC886 は hERG 電流と I_{Ks} を阻害し、再分極電流の減少により QT 間隔の延長を惹起することが示唆された。I_{Ks} に対する作用は hERG 電流に対するよりも顕著であった。

心血管系に対するキザルチニブの影響は、雄カニクイザルを用いてテレメトリー法にて評価した（添付資料番号：4.2.1.3-10）。キザルチニブは、10 mg/kg 以上で QTc 間隔を用量依存的に延長させ、この延長は 24 時間のモニタリング期間を通して認められた。100 及び

200 mg/kg では、体血圧に対する有意かつ用量依存的な影響も認められ、この影響は 24 時間のモニタリング期間を通しての一過性の血圧上昇を特徴とした。30 mg/kg では、収縮期血圧に対してのみ有意かつ用量依存的な影響が認められた。3 mg/kg で、生物学的に重要な影響がみられなかったことから、カニクイザルのテレメトリー試験での無作用量（no observed effect level: NOEL）は 3 mg/kg と判断した。

ラット、イヌ、及びサルを用いた 13 週間反復投与毒性試験では、CNS 及び RS に対する影響はみられなかった（2.6.6）。

3. 薬物動態試験

キザルチニブの非臨床薬物動態試験プログラムについては、2.6.4 及び 2.6.5 に要約する。トキシコキネティクス（toxicokinetics: TK）試験で採取したラット血漿、イヌ血漿、及びカニクイザル血漿中のキザルチニブとその主要な薬理活性代謝物 AC886 の濃度測定法として、LC-MS/MS を用いる分析方法をバリデートした（2.6.5.2.A）。薬物動態及び毒性試験に用いたキザルチニブ投与液（溶媒: 2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン［2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin: HPβCD］の 5%～22%水溶液）中のキザルチニブ濃度測定法として、高速液体クロマトグラフィー（high performance liquid chromatography: HPLC）法を用いる分析方法もバリデートした（2.6.5.2.C）。

3.1 吸収

吸収試験については、2.6.4.3、2.6.5.3、及び 2.6.5.4 に要約する。キザルチニブの in vitro の Caco-2 細胞単層膜透過性は中程度であった（添付資料番号：4.2.2.2-1）。MDR1 発現細胞（MDCKII-MDR1 細胞）及び野生型細胞を用いて、P-gp を介するキザルチニブの輸送を評価した（添付資料番号：4.2.2.2-2）。Net flux ratio は 3.6 であり、キザルチニブの基底側から管腔側への経細胞輸送は、P-gp のモデル阻害剤（(±)-ベラパミル、ケトコナゾール）により阻害された。これらの結果は、キザルチニブが P-gp の基質であることを示唆している。

薬物動態試験では、キザルチニブの曝露量は、nu/nu マウスへの 0.1～300 mg/kg の範囲での投与（添付資料番号：4.2.2.2-3 及び 4.2.2.2-4）、SD ラットへの 3～100 mg/kg の範囲での投与（添付資料番号：4.2.2.2-5）、イヌへの 1～25 mg/kg の範囲での投与（添付資料番号：4.2.2.2-7 及び 4.2.2.2-8）でほぼ用量に比例して増加することが明らかになった。ラットでは、キザルチニブの平均血漿中曝露量が、雌で雄の 1.4～2 倍であった（添付資料番号：4.2.2.2-5）。さらにラットを用いた薬物動態試験では、キザルチニブの絶食下で 42%のバイオアベイラビリティが食餌によりほぼ 100%まで上昇したことから、キザルチニブの吸収が食餌により増加することが示唆された（添付資料番号：4.2.2.2-5）。イヌにおいて、雌の曝露量は雄よりも高かった（添付資料番号：4.2.2.2-7）。イヌに 1 mg/kg、10 mg/kg、及び 25 mg/kg 経口投与後のバイオアベイラビリティは、雄で 28%～37%であった（添付資料番号：4.2.2.2-7）。サルではクリアランスが高く、バイオアベイラビリティが低値（13%～15%）であり、プロファイルに性差はみられなかった（添付資料番号：4.2.2.2-9）。

3.2 分布

分布試験については、2.6.4.4 及び 2.6.5.5～2.6.5.8 に要約する。

3.2.1 組織分布

雌雄 SD ラットに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を単回経口投与したとき、キザルチニブ由来放射能は投与後 24 時間を通して広範な組織分布を示した（添付資料番号：4.2.2.3-1）。組織中放射能濃度がピークに達したのは、ほとんどの組織で投与 2 又は 4 時間後であった。定量

全身オートラジオグラフィーにおいて、最高放射能濃度到達時間（time to reach maximum radioactivity: Tmax）での放射能濃度が高かった組織（>10 μg equivalent/g）は、胃、小腸、副腎、肝臓、腎臓髄質、脳下垂体、腎皮質、膵臓、脾臓、甲状腺、褐色脂肪組織、下顎唾液腺、胃壁、心筋、卵巣、大腸、肺、胸腺、白色脂肪組織、骨髄、リンパ節、子宮壁、及び前立腺であった。消化管内容物、並びに排泄及び代謝に関連する器官（肝臓及び腎臓）でも、高濃度の放射能が検出され、胆汁排泄及び腎排泄が示唆された。投与後 24 時間までで、血中放射能濃度が最も高かった時点は、雄で投与 2 時間後、雌で投与 4 時間後であった。Tmax における放射能濃度が特に低かった組織は、CNS 及び骨であった。放射能濃度は、水晶体では試験全体を通して定量下限未満、CNS（雄）及び乳腺（雌）では投与 24 時間及び 4 時間後に定量下限未満となったが、それ以外の全組織では定量可能であった。放射性標識体［^{14}C］キザルチニブ（100 μCi）を用いる臨床試験に際して吸収線量を算出するため、有色 Long-Evans ラットで試験（添付資料番号：4.2.2.3-2）を実施したところ、有色組織であるブドウ膜の放射能濃度が最も緩徐に低下したが、有色組織である皮膚の放射能濃度は投与 336 時間後までにほぼ定量下限未満まで低下し、［^{14}C］キザルチニブ由来放射能とメラニンとの結合が可逆的であることが示唆された。

3.2.2 タンパク結合

キザルチニブの血漿タンパク結合率は検討したすべての動物種（マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒト）で高かった（≥99%）（添付資料番号：4.2.2.3-3）。ヒト AAGP に対するキザルチニブの結合率は測定できず、その原因は低い溶解性にあると考えられた。一方、ヒト血清アルブミン（300 μM）に対する結合率は、総血漿タンパクに対する結合率と同程度であった（添付資料番号：4.2.2.3-4）。AC886 のヒト血漿タンパク結合率も、検討したすべての動物種（マウス、ラット、イヌ、サル、及びヒト）で高かった（≥99%）（添付資料番号：4.2.2.3-3）。

3.2.3 その他の分布試験

SD ラットでは、静脈内又は経口投与後のキザルチニブの脳内移行性は低く（いずれの投与経路を用いた場合でも、脳－血漿比は約 10%～25%）、脳脊髄液中では検出されなかった（添付資料番号：4.2.2.3-5）。

37°C のヒト全血にキザルチニブ又は AC886 を添加したときの血漿中濃度は、全血への添加濃度又は全血中濃度の測定値とほぼ等しかったか、あるいは全血中濃度以下であったことから、両化合物が血球に分布又は吸着されることが示唆された（添付資料番号：4.2.2.3-6、4.2.2.3-7、及び 4.2.2.3-8）。

3.3 代謝

代謝試験については、2.6.4.5 及び 2.6.5.9～2.6.5.11 に要約する。

3.3.1 In vitro 代謝試験

マウス、ラット、イヌ、カニクイザル、及びヒト肝ミクロソームにおけるキザルチニブの安定性及び代謝を評価した（添付資料番号：4.2.2.4-2）。マウス、ラット、及びヒト肝ミクロソームとインキュベートしたときのキザルチニブの固有クリアランスは低値を示した。イヌ及びカニクイザルの肝ミクロソームでのクリアランスは、それぞれ中程度及び高値であった。検討した 4 種の動物種で *N*-脱エチル体（−26 質量単位、モルフォリン環の開環及び開裂）が認められた。また、モルフォリン側鎖の複数の酸化的代謝物（水酸化、脱水素、ケト基の生成、及び開環）がイヌ、サル、及びヒト肝ミクロソームで認められた。モルフォリン側鎖の酸化には種差がみられ、イヌ、サル、又はヒト特異的な代謝物が認められた。サル及びヒト肝ミクロソームとともにインキュベートしたとき、tert-ブチルイソキサゾールの酸化体が認められた。キザルチニブ及び AC886 は、ヒト肝 S9 分画での固有クリアランスも低く（添付資料番号：4.2.2.4-3）、ヒト肝ミクロソームとのインキュベーション後と同程度であった。

CYP 分子種同定試験により、キザルチニブ、AC886 はともに CYP3A4 及び CYP3A5 の基質であること、また、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、又は CYP2D6 の関与はほとんど又は全くないことが示された。キザルチニブは組換えヒト CYP3A4 及び CYP3A5 により AC886 に変換されることが確認された。（添付資料番号：4.2.2.4-4）。

3.3.2 In vivo 代謝試験

3.3.2.1 マウス

キザルチニブ及び活性代謝物 AC886 の薬物動態を、雌 nu/nu マウスで検討した（添付資料番号：4.2.2.4-5）。その結果、マウスへのキザルチニブ塩酸塩単回経口投与後の血漿中曝露量及び血漿中濃度推移は、キザルチニブと AC886 で同様であることが示された。Cmax は、キザルチニブが 7.99 μM に対し、AC886 が 6.14 μM であり、最高血漿中濃度到達時間（time to reach maximum plasma concentration: Tmax）は、それぞれ 1.3 及び 3.0 時間であった。血漿中濃度及び総曝露量の推移を検討したところ、投与後 2 時間にはキザルチニブが AC886 と比較して高値であったが、投与後 24 時間までの推移はキザルチニブと AC886 で同様であった。投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to 24 h: $AUC_{0\text{-}24}$）は、キザルチニブ及び AC886 でそれぞれ 83.77 μM·h 及び 80.11 μM·h であった。終末相の消失半減期（terminal elimination half-life: $T_{1/2}$）は、キザルチニブ及び AC886 でそれぞれ 4.6 及び 4.2 時間と極めて類似していた。本試験の結果、マウスへのキザルチニブ経口投与 2～24 時間後の血漿中濃度は、キザルチニブとその主要な活性代謝物 AC886 で同程度であることが示された。

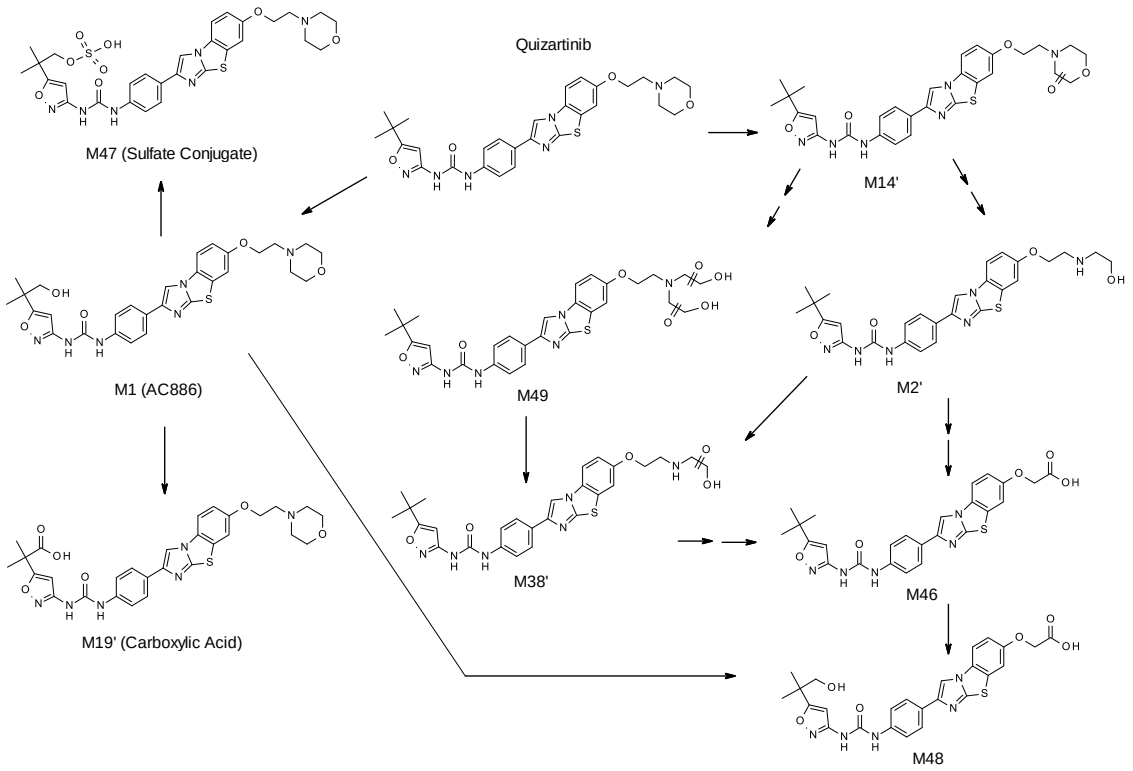
3.3.2.2 ラット

キザルチニブ及び活性代謝物 AC886 の薬物動態を、雄 SD ラットで検討した（添付資料番号：4.2.2.4-6）。その結果、キザルチニブの血漿中濃度は AC886 と比較してわずかに高いことが示された。キザルチニブの平均 Cmax は 2.68 μM であり、Tmax は 2.3 時間であった。無限

大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to infinity: AUCinf）の平均値は 41.58 μM·h であり、$T_{1/2}$ は 8.9 時間であった。AC886 の平均 Cmax は 1.72 μM であり、Tmax は 4.7 時間であった。平均 AUCinf は 27.88 μM·h であり、$T_{1/2}$ はキザルチニブと同程度（9.5 時間）であった。本試験の結果、ラットへの経口投与後、キザルチニブは速やかに AC886 へと代謝されるが、すべてが AC886 に代謝されないことが示された。ラットに 1 mg/kg の AC886 塩酸塩を単回静脈内投与したとき、AC886 のクリアランスは 8.83 mL/min/kg、見かけの分布容積は 1.34 L/kg、見かけの $T_{1/2}$ は 3.4 時間であった。さらに、10 mg/kg の AC886 塩酸塩を単回経口投与したとき、Cmax は 0.36 μM、Tmax は 1.2 時間、絶対的バイオアベイラビリティは 6.9%であった（添付資料番号：4.2.2.4-7）。

［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩をラットに投与し、血漿中及び糞中代謝物プロファイルを検討したところ、ラット血漿中の主要代謝物が AC886 であることが示された（添付資料番号：4.2.2.3-1）。いずれの測定時点（投与 2、4、又は 24 時間後）においても、AC886 以外に比率として 6.1%超を占める血漿中代謝物は検出されなかった。推定される代謝経路（一部）を図 2.4-3 に示す。キザルチニブの主要代謝経路では、イソキサゾール側鎖が酸化及び抱合を受け、モルフォリン環が酸化を受け開裂する。この主要代謝経路はヒトでも認められた（2.7.2.2.2.1）。

図 2.4-3　ラット胆汁中代謝物から推定される代謝経路



キザルチニブの推定代謝経路では、イソキサゾール側鎖が酸化及び抱合を受け、モルフォリン環が酸化を受け開裂する。二連の矢印は、2 段階以上の反応が予想されることを意味する。

3.3.2.3　イヌ

複数の液体製剤及び固形製剤の薬物動態及び用量比例性を、雄ビーグル犬を用いて検討した（添付資料番号：4.2.2.4-9）。AC886 の血漿中濃度－時間曲線はキザルチニブと同様に推移したが、半減期は AC886 の方が長かった。その結果、キザルチニブに対する AC886 の投与 24 時間後までの最高血漿中濃度比（Cp［AC886］/Cp［キザルチニブ］）は、約 0.5 であったが、総曝露量（AUC）比は 30%未満であった。

雌雄イヌに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を投与し、キザルチニブの血漿中及び糞中代謝物プロファイルを検討した（添付資料番号：4.2.2.4-10）。イヌでは、後半の測定時点における血中主要代謝物は AC886 であったが、比率として 15%超を占める主要代謝物がもう 1 種（モルフォリン環の酸化体と同定）検出された。この代謝物は、ラット及びヒトの血漿中からは主要成分として検出されず、モルフォリン側鎖の酸化に種差がみられた。いずれの測定時点（投与 2、4、又は 24 時間後）においても、その他に比率として 8.2%超を占める血中代謝物は検出されなかった。

3.3.2.4　サル

雄カニクイザルにキザルチニブ塩酸塩の Gelucire カプセル剤（Gelucire 44/14）及び 5%

HPβCD 水溶液を溶媒とする液体製剤を食後投与したときの薬物動態を検討した（添付資料番号：4.2.2.4-11）。Gelucire カプセル剤及び 5% HPβCD 液体製剤を投与したとき、キザルチニブの Cmax（0.06 vs. 0.02 μM）及び AUCinf（0.32 vs. 0.21 μM·h）は、Gelucire カプセル剤の投与後が高値であった。Gelucire カプセル剤と 5% HPβCD 液体製剤を投与したとき、AC886 の Cmax はそれぞれ 0.21 及び 0.13 μM であり、AC886 の AUCinf はそれぞれ 2.53 及び 1.94 μM·h であった。採取したサル血液を血漿分離時まで氷中保存したときの血漿中 AC886 濃度は、37°C 保存条件での濃度と比較して 4 倍高かったが、キザルチニブ濃度には、保存温度による差はみられなかった（2.6.4.2.4）。実際の試験では、薬物動態解析用に採取した血液検体は血漿分離時まで氷中保存されたことから、AC886 の血漿中濃度が実際より高く推定された可能性がある。

3.4 排泄

排泄試験については、2.6.4.6、2.6.5.13、及び 2.6.5.14 に要約する。

［^{14}C］キザルチニブの非臨床吸収・分布・代謝・排泄（absorption, distribution, metabolism, and excretion: ADME）試験では、キザルチニブの主要排泄経路が糞中であることが示された。［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を用いたラット及びイヌ ADME 試験（添付資料番号：4.2.2.3-1 及び 4.2.2.4-10）では、キザルチニブ関連総放射能の尿中回収率が 2%未満、（雄及び雌ラットでそれぞれ 1.53%及び 1.68%、雄及び雌イヌでそれぞれ 0.52%及び 0.70%）、糞中回収率が 87%超であった（表 2.4-3 及び表 2.4-4）。雄及び雌ラットでは、投与量のそれぞれ 25.32%及び 18.98%がキザルチニブとして、7.81%及び 9.09%が AC886 として糞中から回収された。雄及び雌イヌでは、投与量のそれぞれ 47.73%及び 21.06%がキザルチニブとして、12.50%及び 13.89%が AC886 として糞中から回収された。ラット試験では、キザルチニブ及び AC886 が他の数種の代謝物とともに胆汁中に直接排泄されることが示され、胆汁排泄が排泄経路であることが裏付けられた（添付資料番号：4.2.2.4-8）。

表 2.4-3 SD ラットに投与した放射能の平均回収率

	投与量に占める比率（%）	
マトリックス	雄	雌
尿	1.53	1.68
ケージ洗浄液	2.45	0.84
糞	90.03	92.96
組織	0.21	0.23
屍体	ND[1]	0.03
合計	94.21	95.75

[1] ND: 検出不能（検出限界未満）、検出不能値は 0 として算出した。

表 2.4-4　イヌに投与した放射能の平均回収率

	投与量に占める比率（%）	
マトリックス	雄	雌
尿	0.52	0.70
ケージ洗浄液	0.76	1.26
糞	91.86	87.26
血液	ND[1]	ND[1]
肝臓	0.06	0.26
合計	93.21	89.49

[1] ND: 検出不能（検出限界未満）、検出不能値は 0 として算出した。

3.5　薬物動態学的薬物相互作用試験

薬物動態学的薬物相互作用試験については、2.6.4.7 及び 2.6.5.12 に要約する。

In vitro 試験では、キザルチニブが主要なヒト CYP に対する可逆的阻害作用（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4; IC_{50} > 40 μM）、時間依存的阻害作用（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、及び CYP3A）、及び誘導作用（CYP1A2、CYP2B6、及び CYP3A4）を有さないことが示された（添付資料番号：4.2.2.6-1、4.2.2.6-2、4.2.2.6-7、及び 4.2.2.6-8）。AC886 は、CYP2C19 に対する弱い可逆的阻害作用（Ki = 10.4 μM）を有するが、その他 6 種の分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2D6; IC_{50} > 40 μM、CYP2C8: Ki = 60.8 μM 及び CYP3A4: Ki = 48.9 μM）に対する可逆的阻害作用はないことが明らかになった。AC886 は、CYP（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、及び CYP3A）に対する時間依存的阻害作用を示さなかった。AC886 は、臨床濃度で CYP 阻害作用を示さないと予想される（添付資料番号：4.2.2.6-3、4.2.2.6-4、4.2.2.6-5、及び 4.2.2.6-7）。

In vitro 試験では、キザルチニブ及び AC886 は 30 μM までシチジンデアミナーゼによるシタラビン代謝を阻害しないことが明らかになった（添付資料番号：4.2.2.6-13）。

ヒトトランスポーター発現 MDCKII 細胞を用いた in vitro 試験では、キザルチニブは、濃度 10 μM で有機アニオントランスポーター（organic anion transporter: OAT）1、OAT3、有機カチオントランスポーター（organic cation transporter: OCT）1、OCT2、有機アニオン輸送ポリペプチド（organic anion transporting polypeptide: OATP）1B1、OATP1B3、multidrug and toxin extrusion（MATE）1、及び乳癌耐性タンパク質（breast cancer resistance protein: BCRP）に対する阻害作用を示さず、MATE2-K に対する弱い阻害作用及び胆汁酸塩輸送ポンプ（bile salt export pump: BSEP）に対する阻害作用を示した。AC886 は、濃度 10 μM で OAT1、OAT3、OCT1、OATP1B1、及び OATP1B3 に対する阻害作用を示さず、OCT2、MATE1、MATE2-K、及び BCRP に対する弱い阻害作用を示した。しかし、BSEP を除く上記の評価したいずれのトランスポーターに対するキザルチニブ及び AC886 の IC_{50} 値も、10 μM 超であった（添付資料番号：4.2.2.6-9 及び 4.2.2.6-10）。

MDCKII-MDR1 細胞を用いた in vitro 試験では、P-gp を介する輸送に対するキザルチニブ及び AC886 の IC_{50} 値は、それぞれ 9.55 μM 及び 30 μM 超であった（添付資料番号：4.2.2.6-11

及び 4.2.2.6-12)。

4. 毒性試験

4.1 単回投与毒性試験

SD ラット、ビーグル犬、及びカニクイザルにおける単回投与毒性は、各動物種を用いた用量設定試験の初期に最大耐用量を求める試験として評価した（2.6.6.2 及び 2.6.7.5）。

雌ラットでは、150 mg/kg 以上の投与量で死亡がみられたが、雄ラットでは、300 mg/kg まで死亡はみられなかった。雌ラットの死亡前に、自発運動の低下、軟便又は暗色便、血尿、半閉眼、及び皮膚蒼白が雌雄で認められた。ラットでは、キザルチニブの毒性（一般状態悪化の発現時期及び重篤度）に対する感受性は、雄より雌で高かった（添付資料番号：4.2.3.1-1）。イヌでは、40 mg/kg 以上の投与群の雌で軽度の体重減少が認められたことを除き、200 mg/kg まで死亡例及びキザルチニブ投与に関連する重度の所見は認められなかった（添付資料番号：4.2.3.1-2）。カニクイザルでは、400 mg/kg まで死亡は認められなかった。しかし、キザルチニブ投与に関連する一般状態の変化として、100 mg/kg 以上の投与群でトレーに白色又は褐色の泡、あるいは赤色の粘液物質がみられ、摂餌量低下及び体重減少（9%～11%）も認められた。また、200 mg/kg 以上の投与群で軟便又は液状便が認められ、300 及び 400 mg/kg 群では液状便の発現頻度がさらに上昇した（添付資料番号：4.2.3.1-3）。

4.2 反復投与毒性試験及びトキシコキネティクス

SD ラット、ビーグル犬、及びカニクイザルを用いて、キザルチニブ塩酸塩の 13 週間までの反復投与毒性試験を実施した（2.6.6.3、2.6.7.6、及び 2.6.7.7）。各動物種の 28 日間又は 13 週間毒性試験では、投与終了後 4 週間までキザルチニブ投与に関連する影響の回復性、持続性、及び遅発性を評価した。ラット、イヌ、又はサル血漿中でのキザルチニブ及び AC886 の TK は 2.6.7.3 に要約する。

4.2.1 ラット

7 日間投与毒性試験では、SD ラット（雌雄各 5 例／群）に対し、125 mg/kg／日の投与量でキザルチニブ塩酸塩を経口投与した（添付資料番号：4.2.3.1-1）。投与 3 日目に 10 例中 6 例（雄 2 例及び雌 4 例）が死亡したか切迫解剖された。その後、残り 4 例（雄 3 例及び雌 1 例）に対し、1 日休薬後に投与 4 日目から 100 mg/kg／日を投与した結果、投与 6 日目までに全 4 例が死亡で発見された。125 mg/kg／日の 2 日間投与後、ほとんどの動物で血尿がみられた。暗色便又は軟便、自発運動の低下、皮膚蒼白、接触時冷感、及び半閉眼（両眼）も観察された。また、全例で持続的な体重減少がみられた。剖検では、腎臓の暗色化、盲腸、結腸、十二指腸、回腸、胃、肝臓、膵臓、及び精巣の暗色／蒼白領域、膀胱の斑点形成、胸腺の暗色領域、消化管内容物中の暗色／淡色の物質、肺の暗色領域／斑点形成、並びに非虚脱肺が認められた。

28 日間投与毒性試験では、SD ラット（雌雄各 10 例／群）に対し、0 mg/kg／日（溶媒）、5 mg/kg／日、15 mg/kg／日、及び 60 mg/kg／日の投与量でキザルチニブ塩酸塩の投与を開始した（添付資料番号：4.2.3.2-1）。高用量群で毒性が認められたため、雄の生存例は 1 日休薬

後、投与 5～7 日目に投与量を 30 mg/kg／日に減量した（以降、同投与量は 60/30 mg/kg／日と表記する）。しかし、投与 15 日目までに全例が死亡で発見又は切迫解剖された。一方、雌は 2 日間休薬したが 7 日目までに全例が死亡又は切迫解剖に至った。高用量群の全例は、投与 3～15 日目に死亡で発見又は切迫解剖された。5 及び 15 mg/kg／日群では、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液凝固検査パラメータ、及び尿検査に対してキザルチニブ投与に関連する変化はみられなかった。また、5 及び 15 mg/kg／日群では、赤血球パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン［hemoglobin: HGB］、及びヘマトクリット［hematocrit: HCT］）及び白血球パラメータ（好中球数、単球数、及び好酸球数）の用量依存的な減少が認められ、15 mg/kg／日群の雌では、網状赤血球数の増加が認められた。血液化学的検査でみられた変化は、15 mg/kg／日群の雌におけるアラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase: ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（aspartate aminotransferase: AST）、及びアルカリフォスファターゼ（alkaline phosphatase: ALP）の軽度上昇、並びに 15 mg/kg／日群の雄における AST の軽度上昇であった。5 mg/kg／日以上の投与群の雌及び雄で、それぞれ卵巣及び精巣重量が減少した。5 mg/kg／日以上の投与群で脾臓重量が減少し、15 mg/kg／日群で胸腺重量が減少した。病理組織学的検査では、15 mg/kg／日群で骨髄細胞密度の軽微～中等度の低下（胸骨及び大腿骨）、軽微な胸腺萎縮、腎尿細管細胞の軽微～軽度の空胞化が認められ、ときに尿細管上皮の好塩基性化及び顆粒円柱を伴ったほか、60/30 mg/kg／日群の複数器官に重篤な変化が認められた。血液学的及び血液化学的検査値、器官重量、並びに肉眼所見の異常はすべて、回復期間終了時までに回復した。これらのデータから、供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する用量は 15 mg/kg／日と判断した。

13 週間投与毒性試験では、SD ラット（雌雄各 10～15 例／群）に 0 mg/kg／日（溶媒）、1 mg/kg／日、3 mg/kg／日、及び 10 mg/kg／日のキザルチニブ塩酸塩を投与したところ、10 mg/kg／日まで死亡例はみられなかった（添付資料番号：4.2.3.2-2）。3 mg/kg／日以上の投与群で、キザルチニブの薬理作用から予想された変化（白血球数、赤血球数、HGB、HCT、血小板数、及び網状赤血球の絶対数の減少）が認められた。30 日間の回復期間終了時には、10 mg/kg／日群の雄における赤血球数減少、並びに 10 mg/kg／日群の雌における白血球数、好中球数、リンパ球数、及び好酸球数の軽度減少を除く大半の変化が回復した。投与期間終了時に、10 mg/kg／日群の雌雄で尿素の軽度上昇、10 mg/kg／日群の雄でクレアチニンの軽度上昇がみられたが、回復期間終了時には完全に回復した。

キザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見が、骨髄、腎臓、脾臓、胸腺、精巣、精巣上体、卵巣、及び膣にみられた。1 mg/kg／日以上の投与群では、雌雄で脾臓の色素沈着増加（鉄陽性）、雌で胸腺リンパ組織の萎縮／壊死、雌で膣粘膜の粘液産生亢進が認められた。3 mg/kg／日以上の投与群では、大半の雌雄で骨髄細胞密度の低下、雄で胸腺リンパ組織の萎縮／壊死、雌で卵巣嚢胞が認められた。10 mg/kg／日群では、雄又は雌で腎尿細管上皮の変化（好塩基性化、尿細管上皮の複屈折結晶形成、腎尿細管上皮の空胞化、尿細管拡張、単核細胞浸潤）、雄で脾臓の髄外造血、精細管変性／萎縮、及び精子細胞の停留も認められた。30 日間の回復期間終了時に 10 mg/kg／日群で認められた病理組織学的所見は、骨髄細胞密度の

軽微な低下（回復傾向）、腎臓の変化（雌雄における尿細管上皮の好塩基性化、尿細管上皮の色素沈着、又は尿細管拡張、雄における尿細管上皮の複屈折結晶形成）、脾臓の色素沈着増加、膣粘膜の粘液産生亢進であった。3 mg/kg／日群では、所見の発現率及び重篤度が低かったこと、また、骨髄細胞密度の低下が薬理作用による反応であったことから、本試験での無毒性量（no observed adverse effect level: NOAEL）は 3 mg/kg／日と判断した。

ラットの TK 解析では、雌雄いずれにおいても、投与 1 及び 86 日目の Cmax 及び AUC_{0-24} は、投与量比を上回る上昇を示した（表 2.4-5）。投与 86 日目の TK パラメータは投与 1 日目と比較して高値であり、反復投与による蓄積が確認された。明らかな性差はみられなかった。

表 2.4-5　ラットにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のキザルチニブのトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	性別	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-24}（ng·h/mL）	
		投与 1 日目	投与 86 日目	投与 1 日目	投与 86 日目	投与 1 日目	投与 86 日目
1	M	73.3	179	6	2	1090	2840
	F	116	236	4	4	1490	3140
3	M	296	730	4	2	4360	11,700
	F	374	908	2	2	4830	12,500
10	M	1360	3650	6	4	20,700	65,400
	F	1780	4610	6	4	25,500	85,800

AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 雌、M: 雄、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

4.2.2　イヌ

7 日間投与毒性試験では、ビーグル犬（雌雄各 2 例／群）に対し、キザルチニブ塩酸塩 200 mg/kg／日を 2 日間、250 mg/kg／日を 4 日間投与した（添付資料番号：4.2.3.1-2）。重篤な一般状態変化（自発運動の低下、円背位又はケージ床での臥位、摂餌量低下を伴う削痩、流涎過剰、身体各部の重度の黄色皮膚、便量減少又は無便）がみられたため、投与 6 日目に全動物を切迫解剖した。摂餌量低下を伴う著明な体重減少が、試験期間を通して認められた。肉眼検査所見として、大半の動物で全身黄疸（外部及び内部組織、並びに器官の黄色化）及び肝葉の硬化がみられた。

28 日間投与毒性試験では、ビーグル犬（雌雄各 3 例／群）に対し、0 mg/kg／日（溶媒）、10 mg/kg／日、50 mg/kg／日、及び 150 mg/kg／日の投与量でキザルチニブ塩酸塩の投与を開始した（添付資料番号：4.2.3.2-3）。50 及び 150 mg/kg／日群で投与 9 日目までに毒性が認められたことを受け、高用量群についてはほとんどの動物で最低 2 日以上の休薬後、投与量を 5 mg/kg／日、25 mg/kg／日、及び 40 mg/kg／日に減量した（以降、これらの投与量は 10/5 mg/kg／日、50/25 mg/kg／日、及び 150/40 mg/kg／日と表記する）。50/25 及び 150/40 mg/kg／日群で、重篤な一般状態変化（無便、自発運動の低下、及び流涎過剰）、体重減少、用量依存的な赤血球パラメータ（赤血球数、HGB、HCT、及び網状赤血球数）及び白血球パラメータ（白血球数、好中球数、リンパ球数、及び単球数）減少がみられた。50/25 及び 150/40 mg/kg／日

群で、投与 7 日目に ALT、AST、ALP、及び総ビリルビン（total bilirubin: TBIL）の用量依存的な上昇がみられた。これらの高値は引き続き投与 14 及び 28 日目にも認められたが、概して投与量の減量時ほど顕著でなかった。キザルチニブ投与による尿検査パラメータに対する影響はみられなかった。10/5 mg/kg／日群では、キザルチニブ投与に関連する病理組織学的変化は認められなかった。50/25 mg/kg／日以上の投与群では、クッパー細胞活性化を伴う中等度～重度の肝臓内結晶沈着及び門脈周囲の軽微～軽度の肝細胞空胞化が認められたほか、胸腺又は脾臓の軽微～重度萎縮、大腿骨及び胸骨の骨髄細胞密度の軽微～軽度低下、腎尿細管上皮の好塩基性化､並びに副腎皮質の軽微～軽度肥大が認められた｡これらのデータから、重篤な毒性が発現しない最大投与量（highest non-severely toxic dose: HNSTD）は 10/5 mg/kg／日と判断した。

13 週間投与毒性試験では、イヌ（雌雄各 4～6 例／群）に 0 mg/kg／日（溶媒）、1 mg/kg／日、5 mg/kg／日、及び 15 mg/kg／日のキザルチニブ塩酸塩を投与したところ、15 mg/kg／日まで死亡例はみられなかった（添付資料番号：4.2.3.2-4）。15 mg/kg／日群で皮膚蒼白が認められた。5 mg/kg／日以上の投与群の雄で、有意な体重（群平均値）低値がみられた。回復期間終了時には、これらの差は認められなかった。15 mg/kg／日群の雌雄では、試験期間を通して白血球パラメータ（好中球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、及び大型非染色細胞数）の著しい減少が認められたが、これらの減少は回復性を示した。15 mg/kg／日群の雄では、投与 4 週目以降に赤血球パラメータ（赤血球数、HGB、及び HCT）の減少が認められた。5 mg/kg／日以上の投与群の雌雄で、一過性の網状赤血球数減少がみられたが、投与 4 週目以降はみられず、変化への適応及び回復性が示された。15 mg/kg／日群で AST、ALT、ALP、TBIL、及び抱合型ビリルビンの上昇がみられたが、回復期間終了時には回復した。15 mg/kg／日群（特に雄）で、肝臓重量の増加が認められた。15 mg/kg／日群の雄及び全キザルチニブ投与群の雌で胸腺重量の減少がみられ、リンパ組織の萎縮／壊死も一部の動物で認められた。30 日間の回復期間終了時には、雄の胸腺重量は依然として低値（統計学的に有意でない）であったが、雌で胸腺重量の増加（統計学的に有意でない）が認められた。キザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見が、雄の腎臓及び胸腺、並びに雌雄の肝臓及び脾臓にみられた。腎臓では、1 mg/kg／日以上の投与群の雄で尿細管上皮の好塩基性化、15 mg/kg／日群の雄で尿細管上皮の非複屈折結晶状の色素沈着（鉄、ビリルビン、及びリポフスチン陰性）が認められた。肝臓では、5 mg/kg／日以上の投与群で複屈折結晶状の色素沈着（鉄、ビリルビン、及びリポフスチン陰性)、類洞壁細胞の活性化、並びに胆管過形成（雌のみ)、15 mg/kg／日群で肝細胞の単細胞壊死（雄のみ）及び肝細胞の空胞化（雌のみ）が認められた。肝臓における結晶沈着（複屈折結晶状の色素沈着）の発現率及び重篤度は用量依存性を示し、5 mg/kg／日以上の投与群で認められた。脾臓の病理組織学的所見としては、15 mg/kg／日群の雄及び 5 mg/kg／日以上の投与群の雌で、色素沈着増加（ヘモジデリンと想定されるが鉄陰性）などが認められた。胸腺萎縮／壊死が全キザルチニブ投与群の雄で認められ、発現率は用量依存的に上昇した。30 日間の回復期間終了時には、15 mg/kg／日群の雌 1 例で、キザルチニブ投与に関連する腎臓の病理組織学的所見として、尿細管上皮の非複屈

折結晶状の色素沈着が認められ、15 mg/kg／日群のすべての雌雄で、肝臓の複屈折結晶状の色素沈着、類洞壁細胞の活性化、及び炎症が認められた。肝酵素の上昇がみられず、肝臓の色素沈着が軽度であったことから、NOAEL は 5 mg/kg／日と判断した。

TK 解析（表 2.4-6）では、Cmax 及び AUC_{0-24} は投与量にほぼ比例して上昇した。投与 90 日目には投与 1 日目と比較して、Cmax が低下し Tmax が延長した。15 mg/kg／日群では、投与 90 日目の平均 AUC_{0-24} が投与 1 日目と比較して低下したほか、Cmax 及び AUC_{0-24} が雄で雌より低かった。

表 2.4-6　イヌにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	性別	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-24}（ng·h/mL）	
		投与 1 日目	投与 90 日目	投与 1 日目	投与 90 日目	投与 1 日目	投与 90 日目
1	M	97.3	86.4	1	2	697	769
	F	104	69.0	1	3	801	834
5	M	569	453	1	2	4520	4480
	F	546	387	1	2	3850	3380
15	M	2440	807	2	4	17,300	9470
	F	2370	1240	2	5	17,700	13,200

AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 雌、M: 雄、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

4.2.3　サル

5 日間投与毒性試験では、カニクイザル（雌雄各 1 例／群）に対し、キザルチニブ塩酸塩 200 mg/kg／日を経口投与した（添付資料番号：4.2.3.1-3）。200 mg/kg／日の 5 日間投与は肝酵素、TBIL、クレアチニン、及び血中尿素の明らかな上昇、並びに網状赤血球数、単球数、及びリンパ球数の減少がみられたことを除き、良好な忍容性を示した。病理組織学的検査では、雌の肝臓で軽微な肝細胞空胞化がみられた。

14 日間投与毒性試験では、カニクイザル（雌雄各 1 例／群）に 30 mg/kg／日、100 mg/kg／日、及び 200 mg/kg／日のキザルチニブ塩酸塩を投与したところ、死亡例はみられなかった（添付資料番号：4.2.3.2-5）。一般状態の変化として、30 mg/kg／日以上の投与群で、体重減少（6%～14%）を伴う重度の摂餌量減少及び脱水、軟便又は液状便が認められた。しかし、投与量との明らかな相関はみられなかったため、これらの変化は溶媒に関連するものと考えられた。30 mg/kg／日以上の投与群で、血液学的検査パラメータ（赤血球数、HGB、HCT、白血球数、リンパ球数、単球数、好酸球数、好塩基球数、及び網状赤血球数）の減少が認められた。キザルチニブ投与に関連する組織学的所見として、30 mg/kg／日以上の投与群の全例で、造血細胞密度の中等度～重度の低下（大腿骨骨髄）及び胸腺リンパ組織の軽微～中等度の萎縮／壊死がみられた。また、30 mg/kg／日以上の投与群では、骨髄巨核球の軽微なエンペリポレシス及び腎尿細管上皮の軽微な変性がみられた。

28 日間投与毒性試験では、カニクイザル（雌雄各 3～5 例／群）に対し、0 mg/kg／日（溶

媒）、10 mg/kg／日、30 mg/kg／日、及び 100 mg/kg／日の投与量でキザルチニブ塩酸塩の投与を開始した（添付資料番号：4.2.3.2-6）。最高用量の 100 mg/kg／日群で投与 11 日目に雄 1 例、投与 16 日目に雌 1 例が死亡したことを受け、100 mg/kg／日を 60 mg/kg／日に減量した（以降、同投与量は 100/60 mg/kg／日と表記する）。投与量の減量後、100/60 mg/kg／日群の雄 1 例が投与 33 日目に切迫解剖された。死因は不明であったが、摂餌量低下及び体重減少に関連すると考えられた。摂餌量低下は溶媒対照群を含む全投与群でみられ、投薬群の体重減少には溶媒（HPβCD）とキザルチニブの両方が関与したと推察された。10 mg/kg／日以上の投与群で、用量依存的かつ可逆的な骨髄抑制がみられた。さらに、10 mg/kg／日以上の投与群で、複数のリンパ器官（胸腺、脾臓、リンパ節、及び消化管関連リンパ系組織）に用量依存的かつ可逆的なリンパ組織の萎縮／壊死がみられた。しかし、10 mg/kg／日群でみられたリンパ組織の変化は、30 及び 100/60 mg/kg／日群と比較して重篤度及び発現率が明らかに低かった。100/60 mg/kg／日群で、中等度の ALT 上昇が認められたが、TBIL 上昇及び肝臓の病理組織学的変化はみられなかった。10 mg/kg／日以上の投与群でみられた骨髄抑制は、キザルチニブの作用機序に関連するものと考えられた。以上の結果より、NOAEL は 10 mg/kg／日であった。

13 週間投与毒性試験では、カニクイザル（雌雄各 4～6 例／群）に対し、0 mg/kg／日（溶媒）、3 mg/kg／日、10 mg/kg／日、及び 30 mg/kg／日の投与量でキザルチニブ塩酸塩の投与を開始した（添付資料番号：4.2.3.2-7）。10 及び 30 mg/kg／日群では、30 mg/kg／日群の 3 例（投与 6、25、及び 32 日目）及び 10 mg/kg／日群の 2 例（投与 31 及び 36 日目）が死亡又は切迫解剖に至った。2 例（10 及び 30 mg/kg／日群の各 1 例）の死因は貧血であった。また、1 例の死亡は骨髄細胞密度の著明な低下に伴う二次的な影響に起因する可能性が高く、残り 2 例の死因は不明であった。そのため、10 及び 30 mg/kg／日群の投与量をそれぞれ 6 及び 12 mg/kg／日に減量した（以降、これらの投与量は 10/6 及び 30/12 mg/kg／日と表記する）。

10 mg/kg／日以上の投与群では、キザルチニブ投与に関連する一般状態の変化として、摂餌量低下、自発運動の低下、円背位、重度の脱水、半閉眼、中等度ないし重度の協調運動障害、軟便又は液状便、重度の嘔吐、及び脊椎の隆起が認められた。

キザルチニブ投与に関連する血液学的所見として、3 mg/kg／日以上の投与群で、赤血球数、HGB、及び HCT の軽微～中等度の減少が認められた。10/6 mg/kg／日群では、網状赤血球数が著しく減少した。赤血球パラメータ及び網状赤血球数の減少は骨髄造血細胞密度の低下と関連していた。10/6 mg/kg／日群で、血小板数の中等度増加がみられた。4 週間の回復期間終了時に、血液学的検査パラメータの部分的回復が認められた。キザルチニブ投与に関連する血液化学的検査パラメータの変化として、全キザルチニブ群で、AST、ALT、TBIL、尿素、クレアチニン、グルコース、及びトリグリセリドの上昇、並びに総タンパク、アルブミン、グロブリン、リン、ナトリウム、カリウム、及びクロライドの低下がみられた。

リンパ及び造血系（3 mg/kg／日以上の投与群の胸腺、リンパ節、脾臓、及び骨髄）、消化器系（10/6 mg/kg／日以上の投与群の食道、舌、及び肝臓）、生殖器系（10/6 mg/kg／日以上の投与群の精巣、子宮、膣、及び卵巣）といった複数の器官系に、キザルチニブ投与に関連

する病理組織学的所見が認められた。3 mg/kg／日群では、雌にのみ、骨髄、腸間膜リンパ節、及び脾臓に病理組織学的変化が認められた。10/6 mg/kg／日以下の投与群では、キザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見の多くは、回復期間終了時に消失しており、可逆的変化であることが示唆された。3 mg/kg／日群で認められた変化は程度又は重篤度が軽度であり、回復期間終了時までに消失した。したがって、NOAEL は 3 mg/kg／日と判断した。

TK 解析では、キザルチニブは全身血中に速やかに吸収され、代謝物 AC886 が生成した（表 2.4-7）。キザルチニブ及び AC886 の総血漿中曝露量は、雌雄ともに、キザルチニブ投与量の増加に応じて上昇した。反復投与後における両分析対象物質の血漿中曝露量は、投与 1 日目と比較して高かった。サルでは、キザルチニブ及び AC886 の TK パラメータは、一貫性のない性差を示した。

表 2.4-7　サルにおけるキザルチニブ塩酸塩の 13 週間経口投与後のキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	性別	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-24}（ng·h/mL）	
キザルチニブ							
		投与 1 日目	投与 91 日目	投与 1 日目	投与 91 日目	投与 1 日目	投与 91 日目
3	M	40.8	102	1	2	278	836
	F	71.8	123	1	2	332	618
10[a]	M	191	NA	1	NA	1660	NA
	F	220	NA	1	NA	1570	NA
6[a]	M	58.3	305	2	4	628	4060
	F	43.5	296	2	2	364	2440
30[b]	M	274	NA	18	NA	4630	NA
	F	291	NA	2	NA	3650	NA
12[b]	M	131	340	2	4	1580	4280
	F	158	618	2	4	1600	8140
AC886							
		投与 1 日目	投与 91 日目	投与 1 日目	投与 91 日目	投与 1 日目	投与 91 日目
3	M	177	347	4	4	2290	5010
	F	334	386	4	2	3540	4950
10[a]	M	659	NA	4	NA	10,700	NA
	F	794	NA	4	NA	10,800	NA
6[a]	M	331	656	4	4	4580	11,300
	F	219	657	4	4	3150	10,100
30[b]	M	1410	NA	18	NA	25,900	NA
	F	1530	NA	5	NA	25,200	NA
12[b]	M	610	1260	6	6	9510	24,000
	F	808	1320	4	6	11,000	25,400

AUC_{0-24}: 投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、F: 雌、M: 雄、NA: 該当なし、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

[a] 重篤な一般状態悪化がみられたため、10 日間休薬後、雄では投与 48 日目、雌では投与 46 日目に 10 mg/kg／日から 6 mg/kg／日に減量した。全体で 13 週間の投与を完了させるため、上記の投与終了後に 10 日間の投与を追加した（投与終了時は 14 週目）。

[b] 重篤な一般状態悪化がみられたため、10 日間休薬後、雄では投与 43 日目、雌では投与 42 日目に 30 mg/kg／日から 12 mg/kg／日に減量した。状態悪化のため同群の雄は投与 61 日目に、雌は投与 60 日目にそれぞれ全例の剖検を実施した。

4.3　遺伝毒性試験

キザルチニブの遺伝毒性は、細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（マウスリンフォーマ・チミジンキナーゼ試験）、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験、及びラットを用いたキザルチニブの単回又は 28 日間反復経口投与後の骨髄小核試験において評価した。これらの試験については、2.6.6.4、2.6.7.8、及び 2.6.7.9 に要約する。

細菌を用いた復帰突然変異試験（添付資料番号：4.2.3.3.1-1）では、ネズミチフス菌 TA1535、TA1537、TA98、及び TA100 株、並びに大腸菌 WP2*uvrA* 株に、22% HPβCD に溶解したキザルチニブ塩酸塩を 5000 μg／プレートまでの濃度となるよう添加し、代謝活性化系の存在下

又は非存在下でインキュベートした。TA98 及び TA100 株で、復帰変異コロニー数が明らかに増加した。これらの増加は概ね用量依存性を示した。TA100 株で復帰変異コロニー数が増加したのは、S9 代謝活性化系の存在下のみであった。したがって、キザルチニブは、この細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性であった。

哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（添付資料番号：4.2.3.3.1-2）では、マウスリンフォーマ L5178Y $TK^{+/-}$細胞に、22% HPβCD に溶解したキザルチニブ塩酸塩を添加し、S9 代謝活性化系の存在下及び非存在下で 3 時間、あるいは代謝活性化系の非存在下で 24 時間インキュベートした。処理細胞の生存率を勘案して、各処理後の突然変異頻度を算出した。キザルチニブを添加した細胞では、細胞毒性の発現濃度まで、突然変異頻度の有意な上昇はみられなかった。したがって、キザルチニブはこの遺伝子突然変異試験で遺伝毒性を示さなかった。

ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（添付資料番号：4.2.3.3.1-3）では、22% HPβCD に溶解したキザルチニブ塩酸塩をヒト血液に添加後、インキュベートした。検討したキザルチニブ濃度は代謝活性化系非存在下の 4 時間処理では 40～320 μg/mL、代謝活性化系非存在下の 21 時間処理では 5～20 μg/mL、代謝活性化系存在下の 4 時間処理では 160～1280 μg/mL とした。キザルチニブを添加しても、細胞毒性の発現濃度まで分裂中期細胞の染色体異常の出現頻度に統計学的に有意な上昇はみられなかった。したがって、この in vitro 染色体異常試験では、キザルチニブは陰性であった。

28 日間反復経口投与毒性試験（添付資料番号：4.2.3.2-1）に用いた SD ラット（雌雄各 5 例／群）において、骨髄細胞中の小核の出現頻度を検討した（添付資料番号：4.2.3.3.2-2）。5 及び 15 mg/kg／日を 28 日間投与したラットを解剖し、採取した骨髄細胞を検査に用いた。キザルチニブ群では、小核を含有する未成熟赤血球の出現頻度が軽度ながら統計学的に有意な上昇を示した。しかし、個体値、群平均値ともに背景データの範囲内であったため、本試験では明確な結論が得られなかった。引き続き、従来の試験デザインによるラット小核試験を実施した（添付資料番号：4.2.3.3.2-1）。キザルチニブ塩酸塩（15 mg/kg、50 mg/kg、及び 100 mg/kg）の単回投与 24 及び 48 時間後に小核の出現頻度を調べた。この試験では、キザルチニブの遺伝毒性は陰性と結論した。

4.4 がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。

4.5 生殖発生毒性試験

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった。

4.5.1 胚・胎児発生毒性試験

胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験及び主試験（GLP 試験）では、妊娠 SD ラットの妊

娠 6～17 日（器官形成期）にキザルチニブを投与した。これらの試験については、2.6.6.6、2.6.7.11、及び 2.6.7.13 に要約する。

用量設定試験では、雌ラット（3～5 例／群）に 0 mg/kg／日（溶媒）、1 mg/kg／日、3 mg/kg／日、10 mg/kg／日、及び 20 mg/kg／日のキザルチニブ塩酸塩を投与したところ、10 mg/kg／日群の母動物で体重の軽度増加抑制及び摂餌量減少、20 mg/kg／日群の母動物で一般状態悪化が認められた（添付資料番号：4.2.3.5.2-1）。10 mg/kg／日群の胎児では、着床後死亡の上昇、胎児奇形、及び胎児低体重が認められた。さらに、20 mg/kg／日群では、胚胎児死亡（全胎児吸収の所見）がみられた。

主試験では、雌ラット（25 例／群）に、0 mg/kg／日（溶媒）、0.6 mg/kg／日、2 mg/kg／日、及び 6 mg/kg／日のキザルチニブを投与したところ、6 mg/kg／日まで、母動物に対する毒性は認められなかった。また、6 mg/kg／日まで、キザルチニブ投与に関連する胚胎児死亡はみられなかった（添付資料番号：4.2.3.5.2-2）。6 mg/kg／日群で、胎児毒性（主な所見は骨化に対する影響を伴う胎児低体重）及び催奇形性（主な胎児異常所見は全身浮腫）が認められた。以上の結果から、母動物での一般毒性及び生殖に対する NOAEL は 6 mg/kg／日であり、胚・胎児発生に対する NOAEL は 2 mg/kg／日と判断した。TK 解析（表 2.4-8）では、キザルチニブの曝露量は、キザルチニブ塩酸塩の投与量比を上回る上昇を示したが、AC886 の曝露量は投与量に比例した上昇を示した。キザルチニブの反復投与後にキザルチニブ及び AC886 の明らかな蓄積はみられなかった。0.6～6 mg/kg／日投与時のキザルチニブに対する AC886 の Cmax 及び定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve up to the last quantifiable time: AUC_{0-t}）比は妊娠 6 日で 41%～83%、妊娠 17 日では 31%～69%であった。

表 2.4-8　妊娠ラットにおけるキザルチニブ及び AC886 のトキシコキネティクスパラメータ

投与量（mg/kg／日）	Cmax（ng/mL）		Tmax（h）		AUC_{0-t}（ng·h/mL）	
分析対象物質: キザルチニブ						
	GD 6	GD 17	GD 6	GD 17	GD 6	GD 17
0.6	56.3	64.5	4	4	726	993
2	224	294	2	2	3290	4390
6	1160	1770	6	6	17,200	28,000
分析対象物質: AC886						
	GD 6	GD 17	GD 6	GD 17	GD 6	GD 17
0.6	43.9	49.5	2	6	601	741
2	172	202	4	4	2550	2710
6	478	551	6	6	7160	9070

AUC_{0-t}: 定量可能な最終時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積、Cmax: 最高血漿中濃度、GD: 妊娠日齢、Tmax: 最高血漿中濃度到達時間

4.5.2　幼若動物を用いる毒性試験

幼若動物を用いる毒性試験の用量設定試験及び主試験は雌雄の幼若 SD ラットを用いて実施した。これらの試験については、2.6.6.6 及び 2.6.7.15 に要約する。

幼若ラット（雌雄各 8 例／群）を用いた用量設定試験（添付資料番号：4.2.3.5.4-1）では、出生後 10 日から 28 日まで、0 mg/kg／日（溶媒）、0.3 mg/kg／日、1 mg/kg／日、及び 3 mg/kg／日のキザルチニブ塩酸塩を投与した。3 mg/kg／日群まで、キザルチニブに対する忍容性は良好であった。1 及び 3 mg/kg／日群で標的臓器に対する影響、すなわち体重及び器官重量の減少がみられた。3 mg/kg／日群では血液学的検査値の低下も認められた。

幼若ラット（雌雄各 10～20 例／サブセット／群）を用いた主試験（添付資料番号：4.2.3.5.4-2）では、出生後 10 日から 70 日まで、0 mg/kg／日（溶媒）、0.3 mg/kg／日、3 mg/kg／日、及び 10 mg/kg／日のキザルチニブ塩酸塩を投与した後、出生後 113 日まで 6 週間の回復期間を設けた。10 mg/kg／日群で死亡及び切迫解剖に至り、その原因は重度の骨髄毒性であった。3 mg/kg／日群でキザルチニブ投与に関連する器官重量の変化又は骨髄及び雄生殖器の病理組織学的変化が認められたことから、雌雄ラットにおける NOAEL は 0.3 mg/kg／日であった。

4.6　局所刺激性試験

投与経路が経口投与であるため、局所刺激性試験は実施しなかった。

4.7　その他の毒性試験

その他の試験（抗原性試験、キザルチニブの各種不純物の毒性評価、光安全性試験、皮膚及び眼刺激性試験）については、2.6.6.8 及び 2.6.7.17 に要約する。

4.7.1　抗原性試験

Hartley 系のアルビノモルモット（雌雄各 10 例）に、濃度 100%（0.3 g）のキザルチニブ塩酸塩を週 1 回、3 週間連続で局所適用した（添付資料番号：4.2.3.7.1-1）。2 週間の休薬後、濃度 100%のキザルチニブ塩酸塩を局所適用することにより惹起を行った。キザルチニブ投与群で認められた惹起適用に対する反応を、同時に置いた惹起対照群（雌雄各 5 例）の反応と比較した。キザルチニブ塩酸塩による惹起後、キザルチニブ投与群及び惹起対照群で皮膚反応は認められず、皮膚スコアは 0 であった。以上の結果より、キザルチニブはモルモットで接触感作を誘発しないと判断した。

4.7.2　不純物の毒性試験

5 種の不純物（ [redacted] A*、 [redacted] B*、 [redacted] C*、 [redacted] D*、及び [redacted] E*）の毒性を、ラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験で評価した（添付資料番号：4.2.3.7.6-1）。SD ラット（雌雄各 10 例／群）に対し、不純物を含有しないキザルチニブ塩酸塩（5 mg/kg／日）、又は 5 種の不純物（[redacted] mg/kg／日［[redacted]%］又は [redacted] mg/kg／日［[redacted]%］）を含有するキザルチニ

ブ塩酸塩（5 mg/kg／日）を投与した。一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査、及び病理学的検査に毒性変化はみられなかった。以上の結果より、不純物含有率 [redacted]%までのキザルチニブを 28 日間強制経口投与しても、毒性変化はないと判断した。

4.7.3　光毒性試験

キザルチニブの光毒性は、Balb/c マウス線維芽細胞（3T3）株を用いて検討した（添付資料番号：4.2.3.7.7-1）。キザルチニブ塩酸塩は、1%DMSO/Ca^{2+}及び Mg^{2+}含有ダルベッコリン酸緩衝食塩水（Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+}: DPBS）に 10.5 mg/L までの濃度で溶解し、用量設定試験及び主試験で検討した。光毒性の評価では、Schott WG 320 フィルター（厚さ 1 mm）を装着した 6500W キセノンアークソーラーシュミレーターから、紫外線 A 波（ultraviolet A light: UVA）5 J/cm^2 を細胞に照射した。背景データから、同照射には紫外線 B 波（ultraviolet B light: UVB）約 18 mJ/cm^2 が含まれていることが確認されている。用量設定試験及び主試験のいずれにおいても、1%DMSO/DPBS に溶解するキザルチニブの最高濃度（用量設定試験: 10.5 mg/L、主試験: 10.05 mg/L）は、細胞毒性の IC_{50} より低濃度であった。キザルチニブは UVA 照射条件でのみ細胞毒性を示したため、正確な photo irritation factor（PIF）値は算出できなかった（用量設定試験の PIF: >3.313、主試験の平均 PIF: >1.576）。これに対し、mean photo effect の算出値は 0.15 未満であり、ICH S10 ガイドライン[8]に従い光毒性を示さないと判断した。以上の結果より、Balb/c マウス線維芽細胞（3T3）株を用いた in vitro ニュートラルレッド取り込み（neutral red uptake: NRU）光毒性試験で、キザルチニブは光毒性を示さないと判断した。

4.7.4　眼及び皮膚刺激性試験

雌 NZW ウサギ（3 例／群）の右眼結膜嚢にキザルチニブ塩酸塩 0.0354 g を適用した（添付資料番号：4.2.3.7.7-2）。キザルチニブの曝露 1 時間後に、3 眼中 3 眼で結膜炎（発赤、膨張、又は眼脂）がみられた。3 眼中 2 眼では曝露 48 時間後までに、1 眼では曝露 72 時間後までに、結膜炎は完全に回復した。その他の眼所見として、全供試動物の眼内にキザルチニブが残存していた。以上の結果より、キザルチニブはウサギで軽度の眼刺激性を示すと判断した。

雄 NZW ウサギ（3 例／群）の皮膚にキザルチニブ塩酸塩 0.57 g を単回塗布した（添付資料番号：4.2.3.7.7-3）。キザルチニブの曝露 1 時間後に、3 例中 3 例で辺縁明瞭な紅斑がみられた。3 例中 2 例では曝露 48 時間後までに、残り 1 例では曝露 72 時間後までに、皮膚刺激性は完全に回復した。以上の結果より、キザルチニブはウサギで軽度の皮膚刺激性を示すと判断した。

5. 総括及び結論

5.1 薬理試験

本概要に示す非臨床薬理データから、キザルチニブは FLT3 に対して強力かつ選択的な阻害作用を示す経口投与可能なクラス III の RTK 阻害薬であり、ヒト白血病のマウスモデルで強力な抗腫瘍作用を示すことが明らかになった。

In vitro 試験では、キザルチニブは生化学的な競合的結合アッセイで FLT3 に高い親和性で結合するとともに（K_d = 1.3 nM）、細胞内 FLT3 キナーゼの活性及び FLT3-ITD 依存性の細胞増殖を阻害した。キザルチニブは FLT3 に対し最も高い親和性で結合し、KIT にはそれよりも低い親和性で結合した。また、他のいくつかのクラス III の RTK 及び RET にも、FLT3 に対する K_d の 10 倍以内の親和性で結合した。他のキナーゼには高い親和性では結合しなかった。主要代謝物 AC886 はキザルチニブと極めて類似した結合プロファイルを示した。

MV4-11 細胞（FLT3-ITD 変異を有するヒト白血病細胞株）を用いた異種移植マウスモデルで、キザルチニブの経口投与は有効性を示した。キザルチニブ塩酸塩は 1 mg/kg 以上の 1 日 1 回投与で、MV4-11 固形腫瘍の増殖を著しく遅延させるとともに、腫瘍を退縮させた。MV4-11 細胞を用いた液性腫瘍／播種性腫瘍移植モデルでは、キザルチニブは延命効果を示した。これらのモデルでは、効果の大きさが用量依存性を示したほか、投与期間の延長により効果が増大した。

キザルチニブは、極めて高い選択性を特徴とするため、標的以外には意味のある作用をもたらさないと予想される。キナーゼ以外の一連の標的（すなわち、キナーゼ以外の酵素、受容体、チャネル、及びトランスポーター）に対する活性を検討したところ、クラス III の RTK ファミリー以外に対する in vitro 活性は極めて低かった。

心血管系安全性薬理試験では、サルにおいてキザルチニブの 10 mg/kg 以上の投与量で QTc が延長し、100 mg/kg 以上の投与量で体血圧が上昇した。開発初期に実施した in vitro 試験のうち、ウサギ摘出心臓を用いた試験において、キザルチニブ及び AC886 はいずれも、濃度範囲 1～30 μM で MAP、RR、PR、及び QT 間隔を延長させた。キザルチニブは、30 μM までの濃度で hERG、I_{Na}、及び $I_{Ca\text{-}L}$ 電流、並びにウサギ心室組織の活動電位パラメータに有意な影響を及ぼさなかったが、1 μM で I_{Ks} を 37%阻害した。これに対し、AC886 は、hERG 電流に対する濃度非依存性の阻害作用（最大阻害率 36.5%）、I_{Ks} に対するプラトーに達する阻害作用、I_{Na} に対する濃度依存的な阻害作用（IC_{50}: 24.4 μM）、及び $I_{Ca\text{-}L}$ に対する阻害作用を示したほか、ウサギ心室組織の APD を延長させた。しかし、上記の in vitro 試験で評価した濃度範囲は高い濃度であり、かつ検体液の濃度の実測値は設定濃度より 20%以上低値であった。また、I_{Na} 及び $I_{Ca\text{-}L}$ に対する作用の評価には分離したイヌ心筋細胞を用いた。これらを踏まえ、より適切な濃度範囲及び細胞を用いて、hERG 電流、I_{Ks}、I_{Na}、$I_{Na,L}$、及び $I_{Ca\text{-}L}$ に対するイオンチャネルアッセイを、ヒト遺伝子を導入した培養細胞を用いて追加実施した。追加試験では、キザルチニブ及び AC886 ともに hERG 電流及び I_{Ks} を阻害した。キザルチニブ及び AC886 は 3 μM で統計学的に有意に hERG 電流をそれぞれ 16.4%及び 12.0%阻害した。I_{Ks} に対しては、キザルチニブは 0.1～2.9 μM の濃度範囲で評価した結果、2.9 μM で最大 67.5%阻害した。

AC886 も 0.3～2.9 μM の濃度範囲で評価した結果、2.9 μM で最大 26.9%阻害した。キザルチニブ及び AC886 ともに最高濃度まで I_{Na}、$I_{Na,L}$、及び $I_{Ca\text{-}L}$ に対する阻害作用を示さなかった。これらから、キザルチニブ及び AC886 は hERG 電流と I_{Ks} を阻害し、再分極電流の減少により QT 間隔の延長を惹起することが示唆された。I_{Ks} に対する作用は hERG 電流に対するよりも顕著であった。キザルチニブと AC886 の QT 延長に対する正確な寄与率は不明である。サルでの QT 延長に対する NOEL（3 mg/kg）でのキザルチニブ及び AC886 の Cmax、並びに両化合物の Cmax の和は、最大臨床推奨用量 60 mg（キザルチニブ塩酸塩、キザルチニブとして 53 mg）のキザルチニブを被験者に投与したときの Cmax を下回るか同程度であった（表 2.4-9）。したがって、キザルチニブを臨床で使用する際には、心電図モニタリングを注意深く実施することを推奨する。

表 2.4-9　臨床用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）／日と、QT 延長に対する無作用量又は毒性用量での全身曝露量（Cmax）の比較に基づくキザルチニブ及び AC886 の曝露マージン

動物種	投与量	投与日	キザルチニブ		AC886		キザルチニブ ＋ AC886	
			Cmax（ng/mL）	MOE	Cmax（ng/mL）	MOE	Cmax（ng/mL）	MOE
ヒト	53 mg/man	1[a]	112	NA	33	NA	144	NA
		15[a]	487	NA	192	NA	742	NA
カニクイザル	3 mg/kg（NOEL）	1[b]	47	0.42	188 (47)[d]	5.7 (1.4)	235 (94)[d]	1.6 (0.65)
		91[c]	113	0.23	367 (92)[d]	1.9 (0.48)	480 (205)[d]	0.65 (0.28)
	10 mg/kg（毒性用量）	1[c]	206	1.8	727 (182)[d]	22 (5.5)	933 (388)[d]	6.5 (2.7)
		91[c]	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Cmax: 最高血漿中濃度、MOE: 曝露マージン、NA: 該当なし、NOEL: 無作用量
[a] ヒトにおける Cmax は代表的な幾何平均の値（添付資料番号：5.3.5.2-2）
[b] サルテレメトリー試験のデータ（添付資料番号：4.2.1.3-10）
[c] サル 13 週間反復投与毒性試験のデータ（添付資料番号：4.2.3.2-7）。Cmax 値は雌雄の平均値
[d] サル血液中の AC886 濃度は、氷中保存条件では 37°C 保存条件と比べて 4 倍高かったため、血液を氷中保存した場合には最大増加率「4」で補正した濃度を括弧内に示す（2.6.4.2.4）。

5.2　薬物動態試験

キザルチニブ塩酸塩をマウス、ラット、及びイヌに経口投与したときの血漿中曝露量（AUC）は、評価した用量範囲で投与量にほぼ比例した。いずれの非臨床動物種でも、曝露量は許容できるものであり、ほぼイヌ≥ラット≥マウス>サルの順に高かった。バイオアベイラビリティは、サルでラット及びイヌと比較して低く（13%～15% vs 30%～40%）、このような種差はサルでのクリアランスが相対的に高いことに相関すると考えられる。雄ラットでは、絶食下で 42%のバイオアベイラビリティが食餌によりほぼ 100%まで上昇したことから、ラット試験では、吸収率が食餌により増加することが示唆された。雌雄動物を用いたキザルチニブの薬物動態試験では、ラット及びイヌでの平均血漿中曝露量が雄と比較して雌で 1.4～

2.0 倍高かったが、サルでの曝露量に性差はみられず、薬物動態の性差も種特異的である可能性が示唆された。

非臨床動物種及びヒトを問わず、主要な血漿中代謝物は AC886 であった。In vitro 結合アッセイ及び細胞を用いたアッセイに基づき、AC886 の活性プロファイルはキザルチニブと同様であることが示された。検討したいずれの非臨床動物種でも、AC886 は最初の採血時点（投与 15 分後）で検出され、血漿中濃度推移はキザルチニブと概ね同様であった。マウス、ラット、及びイヌでは、低用量投与後のキザルチニブに対する AC886 の曝露量比（AUC の比として評価）は、ラットで平均 36%、イヌで平均 20%（反復投与試験の結果）、マウスで約 100%（単回投与試験の結果）であった。AC886 の $T_{1/2}$ は、マウス及びラットではキザルチニブと同程度又はキザルチニブより短かったが、イヌではキザルチニブより長かった。ラットへの経口投与後、AC886 のバイオアベイラビリティは低かった。キザルチニブ静脈内投与後のクリアランスは、雄ラット及びイヌで低く（7 mL/min/kg）、サルで高かった（28 mL/min/kg）。ラット、イヌ、及びサルでは、Vz が高値（3～5 L/kg）であった。

キザルチニブ及び AC886 の血漿タンパク結合率は、検討した全動物種（マウス［キザルチニブのみ評価］、ラット、イヌ、サル、及びヒト）で高かった（検討した全動物種で≥99%）。ヒト血清アルブミンに対する結合率は、総血漿タンパクに対する結合率と同程度であった。キザルチニブ及び AC886 の血漿中／全血中濃度比が 1 以下であったことから、血球に分布又は吸着されることが示唆された。

Long-Evans ラットの有色組織（ブドウ膜及び皮膚）への放射能分布から、［^{14}C］キザルチニブ由来放射能とメラニンとの結合が可逆的であることが示唆された。ラットでは、静脈内又は経口投与後のキザルチニブの脳内移行性は低く、脳脊髄液中では検出されなかった。ラット組織分布試験では、雌雄ラットに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を単回経口投与したとき、キザルチニブ由来放射能は投与後 24 時間を通して広範な組織分布を示したが、CNS にはほとんど移行しなかった。最高組織中濃度に達したのは、大半の組織で投与 2 又は 4 時間後であり、最も放射能濃度が高かった組織は、消化管内容物、並びに代謝及び排泄に関連する器官（肝臓及び腎臓）であった。ラットを用いた定量的組織分布試験の結果から、体重 70 kg の男性健康被験者に［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩（100 μCi）を経口投与したとき、米国連邦規則集の基準値に基づき、放射能への過剰曝露は生じないと判断した。

マウス、ラット、及びヒト肝ミクロソームとインキュベートしたときのキザルチニブの固有クリアランスは低値を示した。イヌ及びカニクイザルの肝ミクロソームでのクリアランスは、それぞれ中程度及び高値であった。サルにおいてキザルチニブ経口投与後の in vivo クリアランスが高かった原因は、肝臓中での代謝クリアランスが他の非臨床動物種より高かったためと判断した。ヒト肝ミクロソーム及び組換えヒト CYP 分子種を用いた CYP 分子種同定試験では、キザルチニブ、AC886 はともに CYP3A4/5 の基質であること、また、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、又は CYP2D6 の関与はほとんど又は全くないことが示された。肝ミクロソームにおける安定性及び代謝を検討した試験では、キザルチニブの代謝速度は、ラット、イヌ、及びヒトで低～中程度であったが、サルでは、固有クリアラン

スが高値を示した。キザルチニブは、組換えヒト CYP3A4/5 及びヒト肝 S9 分画により活性代謝物 AC886 に変換されることが確認された。マウスにキザルチニブ塩酸塩を単回経口投与したとき、投与 2～24 時間後の血漿中濃度はキザルチニブと AC886 で同程度であり、薬理活性体（キザルチニブ + その活性代謝物）濃度は、キザルチニブの薬物動態濃度の約 2 倍であることが示された。ラットの排泄／マスバランス試験では、血漿中の主要代謝物は AC886 であることが示された。イヌの排泄／マスバランス試験では、投与 24 時間後における血中主要代謝物は AC886 であったが、AC886 以外の代謝物（モルフォリン環の酸化体と同定）が、投与 2 及び 4 時間後に投与 24 時間後より高濃度で検出された。ラット及びイヌの排泄／マスバランス試験では、両動物種でのキザルチニブの主要排泄経路が糞中排泄であることが示された。［^{14}C］キザルチニブを用いたラット及びイヌ ADME 試験では、キザルチニブ関連総放射能の尿中回収率が 2%未満、糞中回収率が 87%超であった。ラットに［^{14}C］キザルチニブ塩酸塩を経口投与したとき、投与量の約 6%及び 4%がそれぞれキザルチニブ及び AC886 として胆汁排泄された。その他に数種の代謝物が検出された。

CYP との相互作用を検討した in vitro 阻害及び誘導試験では、キザルチニブが主要なヒト CYP 分子種に対する阻害作用（CYP3A4、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、及び CYP2D6）及び誘導作用（CYP3A4、CYP2B6、及び CYP1A2）を有さないことが示された。AC886 は、CYP2C19 に対する弱い阻害作用（Ki = 10.4 μM）を有するが、その他 6 種の分子種（IC_{50} > 40 μM: CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2D6、Ki = 60.8 μM: CYP2C8 及び Ki = 48.9 μM: CYP3A4）を阻害しないことが明らかになった。キザルチニブ及び AC886 は、これらの分子種に対する時間依存的阻害作用を示さず、シチジンデアミナーゼによるシタラビン代謝を阻害しなかった。これらの試験の結果から、キザルチニブの投与後、代謝的に誘発される薬物－薬物相互作用が発生する可能性は低いことが示唆された。ヒトトランスポーター発現 MDCKII 細胞を用いた in vitro 試験では、キザルチニブは、濃度 10 μM で OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、MATE1、及び BCRP に対する阻害作用を示さず、MATE2-K に対する弱い阻害作用、及び BSEP に対する阻害作用を示した（IC_{50} = 4.92 μM）。AC886 は、濃度 10 μM で OAT1、OAT3、OCT1、OATP1B1、及び OATP1B3 に対する阻害作用を示さず、OCT2、MATE1、MATE2-K、及び BCRP に対する弱い阻害作用を示した。しかし、BSEP を除く上記の評価したいずれのトランスポーター対するキザルチニブ及び AC886 の IC_{50} 値も、10 μM 超であった。P-gp を介する輸送に対するキザルチニブ及び AC886 の IC_{50} 値は、それぞれ 9.55 μM 及び 30 μM 超であった。

以上のように、キザルチニブの吸収、分布、代謝、及び排泄を詳細に評価した。キザルチニブ経口投与後の曝露量は、評価した非臨床動物種（ラット、マウス、イヌ、及びサル）で概ね用量に比例した増加を示した。評価した非臨床動物種では、キザルチニブは主要活性代謝物 AC886 に代謝された。キザルチニブ及び AC886 の代謝に関与する主な分子種は CYP3A4/5 と考えられた。キザルチニブ及び AC886 の血漿タンパク結合率は高く（検討した全動物種［ヒトを含む］で≥99%）、キザルチニブは、非臨床動物種で、AML 治療薬としての標的組織である血球及び骨髄を含む各種組織に広く分布した。非臨床動物種でもヒトと同様

に、キザルチニブは主に腎臓以外の経路で排泄された。キザルチニブは、in vitro 評価で P-gp の基質及び阻害薬であることが示唆されているが、主要な CYP 分子種に対して誘導作用及び意味のある阻害作用を示さなかった。キザルチニブは、ほとんどの動物種（ヒトを含む）で高い in vitro 代謝安定性を示した。キザルチニブの全般的な ADME プロファイルから、キザルチニブの薬理作用及び毒性を 4 種の非臨床動物種で評価すること、また、キザルチニブを AML の治療薬として使用することの妥当性が示された。

5.3　毒性試験

キザルチニブに関連する毒性の主要標的臓器（骨髄、リンパ器官など）は、動物種を問わず同様であった。しかし、キザルチニブ投与による腎臓の毒性変化はラット及びイヌでみられ、肝毒性はイヌ及びサルでみられた。一部の血液学的及び血液化学的検査パラメータにみられた変化は、それぞれ骨髄抑制及び肝毒性と概ね相関を示した。ラットでは、他の動物種より強い毒性が認められた。この理由は、恐らくキザルチニブの吸収が他の動物種より良好であったために、同じ用量での曝露量が相対的に高かったことに起因すると考えられる。キザルチニブ投与に関連して認められた毒性は、用量及び投与期間にも依存性を示した。しかし、ラット、イヌ、及びサルでみられた標的臓器毒性は、28 日間投与毒性試験と 13 週間投与毒性試験の間で差はなかった。

キザルチニブ投与に関連して認められた血液／造血毒性は、赤血球及び白血球パラメータの減少などであり、骨髄細胞密度の低下と相関していた。ラット 13 週間投与試験では、3 mg/kg／日以上の投与群で、赤血球及び白血球パラメータの減少、並びに骨髄細胞密度の低下が用量依存的に認められた。30 日間の回復期間終了時には、骨髄の組織学的変化は部分的な回復を示した。10 mg/kg／日群で軽微～軽度の骨髄造血細胞密度低下が認められた。イヌ 13 週間投与試験では、15 mg/kg／日群で、赤血球及び白血球パラメータの可逆的な減少がみられた。サル 13 週間投与試験では、10/6 mg/kg／日以上の投与群で、骨髄造血細胞密度の低下と赤血球パラメータの減少が認められた。10/6 mg/kg／日以下の投与群で認められたキザルチニブ投与に関連する病理組織学的所見の多くは、回復期間終了時に消失しており、可逆的変化であることが確認された。キザルチニブは、FLT3、KIT などの複数のチロシンキナーゼの選択的な阻害により、正常な造血組織に用量依存的な阻害作用を示すものと考えられる[9]。したがって、骨髄細胞密度の軽度低下とそれに伴う血液学的検査値の変化は、毒性変化でなく過剰な薬理作用と解釈できる。13 週間投与試験で認められた重度の造血阻害とそれによる骨髄細胞密度の低下に関する NOAEL は、ラットで 3 mg/kg／日、イヌで 5 mg/kg／日、サルで 3 mg/kg／日であった。

ラット、イヌ、及びサルでは、キザルチニブ投与により、用量及び投与期間依存的な胸腺重量減少及び胸腺リンパ組織の萎縮／壊死が認められた。胸腺萎縮／壊死が認められた投与量は、ラットの 28 日間及び 13 週間投与試験でそれぞれ 15 mg/kg／日以上及び 1 mg/kg／日以上、イヌの 28 日間及び 13 週間投与試験でそれぞれ 50/25 mg/kg／日以上及び 1 mg/kg／日以上（雄）、サルの 28 日間及び 13 週間投与試験でそれぞれ 10 mg/kg／日以上及び 10/6 mg/kg

／日以上であった。脾臓萎縮が認められた投与量は、ラット及びイヌの 28 日間投与試験でそれぞれ 60/30 mg/kg／日及び 50/25 mg/kg／日以上、サルの 28 日間及び 13 週間投与試験でそれぞれ 10 mg/kg／日以上及び 3 mg/kg 以上であったが、ラット及びイヌの 13 週間投与試験では脾臓萎縮は認められなかった。ラット、イヌ、及びサルにおけるリンパ器官の変化は、4 週間の休薬により回復した。

キザルチニブによる肝毒性には、用量及び投与期間に依存するとともに、種差が認められた。ラットでは、5 mg/kg／日以上の 28 日間投与で肝酵素（ALT、AST、及び ALP）の軽度上昇が認められた。ラット 13 週間投与試験では、3 mg/kg／日以上の投与群で肝酵素の軽度上昇のみが認められ、肝臓の組織学的変化はみられなかった。サル 28 日間投与試験では、100/60 mg/kg／日までの投与群で、中等度の ALT 上昇が認められたが、ビリルビン上昇及び肝臓の病理組織学的変化はみられなかった。しかし、サル 13 週間投与試験では、10/6 mg/kg／日以上の投与群で、AST、ALT、及び TBIL の軽度上昇、並びに軽微な組織学的変化（単細胞壊死、小葉中心性壊死、あるいは肝細胞の空胞化）が認められた。イヌは、キザルチニブの肝毒性（AST、ALT、ALP、及び TBIL 上昇）に対する感受性が相対的に高く、組織学的変化（複屈折結晶沈着、類洞細胞の活性化、及び肝細胞の空胞化）を示すと考えられた。イヌでは、肝臓内に結晶沈着がみられ、その重篤度が用量依存性を示した一方、ラット及びサルの 28 日間及び 13 週間投与試験では結晶沈着は観察されなかった。イヌの肝臓内に結晶沈着が発生する機序は明らかになっていない。しかし、イヌ 13 週間投与試験の 15 mg/kg／日群のホルマリン固定肝臓標本を生体試料分析に供したところ、肝臓内の結晶は概ね不溶性で、キザルチニブと様々な代謝物の複合体を含有することが確認された（2.6.5.9.I）。イヌ、ラット、及びサルの間では、キザルチニブの肝代謝又は肝細胞輸送に種差があると考えられ、イヌでは肝臓内の結晶沈着において、キザルチニブ及び代謝物が蓄積しやすい傾向にあると推察された。結晶の発生機序との関連は明らかでないが、ヒト、ラット、又はサルで検出されず、イヌのみで検出されている代謝物が 1 種類（モルフォリン環の酸化体）存在する。生体異物の肝細胞内輸送及び胆汁内排泄には種差が存在することが認識されており [10,11]、イヌでのみ肝臓内に結晶沈着がみられた一因は、このような種差にあると推察される。したがって、イヌ肝臓内での結晶沈着はヒトの肝毒性リスクと関連しないと考える。

ラットの 28 日間及び 13 週間投与試験では、腎臓の用量依存的な変化（可逆的な腎尿細管上皮の複屈折結晶沈着及び腎尿細管上皮の好塩基性化）が、10 mg/kg／日以上の投与群の雄で特に高頻度に認められた。ラット 13 週間投与試験では、10 mg/kg／日群で、腎尿細管上皮に若干の好塩基性化が認められた。13 週間投与試験の 30 日間の回復期間終了時には、10 mg/kg／日群の雌で腎臓内の結晶沈着はみられなかったが、同群の雌雄で腎尿細管上皮の好塩基性化が依然として認められた。腎臓の病理組織学的変化と相関する血液化学的検査パラメータ（血中尿素窒素及びクレアチニン）及び尿検査パラメータの異常は認められず、腎機能に影響しないことが示唆された。イヌでは、28 日間投与試験の 50/25 mg/kg／日以上の投与群及び 13 週間投与試験の 1 mg/kg／日以上の投与群（雄）で、腎尿細管上皮に好塩基性化が認められたが、13 週間投与試験では相関する血液化学的検査値の変動はみられなかった。

さらに、13 週間投与試験では、15 mg/kg／日群の雄で尿細管上皮に非複屈折結晶状の色素沈着が認められた。サル 13 週間投与試験で尿素及びクレアチニンの軽度上昇がみられたが、30/12 mg/kg／日までの投与群で腎尿細管上皮に好塩基性化は認められなかった。裏付けとなる分析試験は未実施であるが、ラットの腎尿細管上皮に認められた複屈折結晶の構成成分は、キザルチニブ又は代謝物（イヌ肝臓内の結晶に類似）と考えられた（2.6.5.10）。雄ラットで腎臓の変化（特に結晶沈着）が高頻度にみられたことは、雄ラット特有の相互作用（腎臓内での α-2u グロブリンと、腎排泄されるキザルチニブの間の相互作用）に関連すると考えられる。雄ラットでは、近位尿細管で α-2u グロブリンと生体異物との相互作用が発生するため、雄ラットは、ヒトの腎毒性及びがん原性の予測モデルに適さないとみなされることが少なくない[12]。

生殖器系に対する臓器毒性としては、ラット 13 週間投与試験の 10 mg/kg／日群の雄で、可逆性の精巣の精細管変性及び精子細胞の停留が認められた。雌では、10 mg/kg／日で毒性学的意義のある卵巣嚢胞及び膣粘膜の粘液産生亢進（不可逆性）が認められ、膣粘膜の変化は回復期間終了時にもみられた。サル 13 週間投与試験では、10/6 mg/kg／日以上の投与群で、精巣の軽微～重度の生殖細胞減少、並びに子宮、卵巣、及び膣の萎縮がみられた。これらの変化は 4 週間の回復期間終了時に回復性を示した。イヌ 13 週間投与試験では、15 mg/kg／日までの投与群で毒性学的に重要な所見はみられなかった。

心毒性の可能性については、サルのテレメトリー試験では、キザルチニブ塩酸塩の単回経口投与により、10 mg/kg／日以上の投与群で QTc が延長し、100 mg/kg／日以上の投与群で体血圧が上昇した（2.6.2.4）。これに対し、イヌ及びサルの 28 日間及び 13 週間投与試験では、キザルチニブ投与に関連する心電図の毒性学的に重要な変化は認められなかった。さらに、ラット、イヌ、及びサルにキザルチニブ塩酸塩を単回経口投与及び最長 13 週間反復経口投与したとき、毒性学的に重要な心臓の形態学的変化は認められなかった。

遺伝毒性試験では、キザルチニブは染色体異常試験及び単回投与によるラット骨髄小核試験で陰性であった。28 日間反復投与毒性試験に組み込んで実施したラット小核試験では明確な結論が得られなかった。キザルチニブは、哺乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（マウスリンフォーマ・チミジンキナーゼ試験）で陰性であった。細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性の結果が得られたものの、科学的根拠の重要度（weight of evidence）に基づき、キザルチニブの進行癌治療薬としての使用の支障とはならないと判断した。

ラット胚・胎児発生毒性試験では、6 mg/kg／日で胎児毒性が認められ、主な所見は骨化に対する影響を伴う胎児低体重であった。6 mg/kg／日では催奇形性（主な胎児異常所見は全身浮腫）も認められた。

幼若ラットを用いた毒性試験では、成熟ラットでみられたものと同質の変化が認められ、3 mg/kg／日での毒性の標的臓器は骨髄及び雄生殖器であった。

モルモットを用いてキザルチニブの抗原性を評価した。その試験結果から、キザルチニブはモルモットで接触感作を誘発しないと判断した。

キザルチニブは若干の光吸収性を示し、波長 290～350 nm に最大吸収がある。しかし、キ

ザルチニブは、Balb/c マウス線維芽細胞（3T3）株を用いた in vitro NRU 光毒性試験で陰性であった。したがって、キザルチニブにより光毒性が生じるリスクは高くないと判断した。

非臨床毒性試験の一部として、キザルチニブの不純物の毒性を評価した。毒性試験に用いたロット中に存在しない 5 種の不純物（ [redacted] A*、 [redacted] B*、 [redacted] C*、 [redacted] D*、及び [redacted] E*）を、ラット 28 日間反復経口投与毒性試験で評価したところ、不純物濃度 [redacted]%又は [redacted]%を含むキザルチニブは、いずれのパラメータにも毒性変化を及ぼさなかった。したがって、毒性データ及び製造実績から、設定した不純物の規格は妥当と判断した。

作業場所での安全性を裏付けるため、眼及び皮膚刺激性試験を実施した。これらの試験の結果から、キザルチニブはウサギで軽度の眼刺激性及び軽度の皮膚刺激性を有すると判断した。

5.4　曝露マージン

キザルチニブと AC886 が類似の薬理学的特性を示すこと、また、キザルチニブに関連する毒性の大半が薬理作用によるものと判断されたことから、安全性を評価する際には、両成分（キザルチニブ及び AC886）の曝露量を考慮する必要がある。キザルチニブ塩酸塩を投与後のキザルチニブと AC886 の血漿中濃度比に、種差及び用量依存性が認められた。さらに、サル血液を血漿分離時まで氷中保存したときの血漿中 AC886 濃度は、37°C 保存条件での濃度と比較して 4 倍高かったが、キザルチニブ濃度には、このような保存温度による差はみられなかった（2.6.4.2.4）。実際の毒性試験では、TK 解析用に採取した血液検体は血漿分離時まで氷中保存されたことから、リスクアセスメントでサルでの AC886 の毒性が過大評価される可能性を低減するため、サル試験では、AC886 濃度の補正値（最大増加率で除した値）も使用した。

キザルチニブ及び AC886 の曝露量（AUC）に関する臨床推奨用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）／日との比較に基づく安全域を、表 2.4-10 に示す。げっ歯類及び非げっ歯類で認められた両化合物の標的臓器毒性（骨髄毒性を除く）の曝露マージン、並びにこれらの毒性の程度又は重篤度が軽度かつ可逆的であったことから、進行癌患者にキザルチニブを長期連日投与することは、非臨床データから妥当と判断した。

表 2.4-10　臨床用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）／日と、標的臓器毒性に対する無毒性量又は毒性用量での全身曝露量（AUC）の比較に基づくキザルチニブ及び AC886 の曝露マージン（1/2）

試験の種類／標的毒性	動物種	投与量／NOAEL 又は毒性用量（mg/kg／日）	性別	キザルチニブ		AC886[d]		キザルチニブ ＋ AC886[d]	
				$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	MOE	$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	MOE	$AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）	MOE
臨床試験[a]	ヒト	53 mg/man	NA	8276	NA	4232	NA	14,280	
反復投与毒性試験									
血液／造血毒性	ラット	3	M	11,700	1.4	4680[b]	1.1	16,380	1.1
			F	12,500	1.5	5000[b]	1.2	17,500	1.2
		10	M	65,400	7.9	26,160[b]	6.2	91,560	6.4
			F	85,800	10	34,320[b]	8.1	120,120	8.4
	イヌ	5	M	4480	0.54	896[b]	0.21	5376	0.38
			F	3380	0.41	676[b]	0.16	4056	0.28
		15	M	9470	1.1	1894[b]	0.45	11,364	0.80
			F	13,200	1.6	2640[b]	0.62	15,840	1.1
	サル	3	M	836	0.10	5010 (1253)	1.2 (0.30)	5846 (2089)	0.41 (0.15)
			F	618	0.075	4950 (1238)	1.2 (0.29)	5568 (1856)	0.39 (0.13)
		10/6[c]	M	4060	0.49	11,300 (2825)	2.7 (0.67)	15,360 (6885)	1.1 (0.48)
			F	2440	0.29	10,100 (2525)	2.4 (0.60)	12,540 (4965)	0.88 (0.35)
肝毒性	ラット	10	M	65,400	7.9	26,160[b]	6.2	91,560	6.4
			F	85,800	10	34,320[b]	8.1	120,120	8.4
		NA	M	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			F	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	イヌ	5	M	4480	0.54	896[b]	0.21	5376	0.38
			F	3380	0.41	676[b]	0.16	4056	0.28
		15	M	9470	1.1	1894[b]	0.45	11,364	0.80
			F	13,200	1.6	2640[b]	0.62	15,840	1.1
	サル	3	M	836	0.10	5010 (1253)	1.2 (0.30)	5846 (2089)	0.41 (0.15)
			F	618	0.075	4950 (1238)	1.2 (0.29)	5568 (1856)	0.39 (0.13)
		10/6[c]	M	4060	0.49	11,300 (2825)	2.7 (0.67)	15,360 (6885)	1.1 (0.48)
			F	2440	0.29	10,100 (2525)	2.4 (0.60)	12,540 (4965)	0.88 (0.35)

表 2.4-10　臨床用量であるキザルチニブ塩酸塩 60 mg（キザルチニブとして 53 mg）／日と、標的臓器毒性に対する無毒性量又は毒性用量での全身曝露量（AUC）の比較に基づくキザルチニブ及び AC886 の曝露マージン（2/2）

試験の種類／標的毒性	動物種	投与量／NOAEL 又は毒性用量（mg/kg／日）	性別	キザルチニブ		AC886[d]		キザルチニブ ＋ AC886[d]	
				AUC_{0-24}（ng·h/mL）	MOE	AUC_{0-24}（ng·h/mL）	MOE	AUC_{0-24}（ng·h/mL）	MOE
腎毒性	ラット	3	M	11,700	1.4	4680[b]	1.1	16,380	1.1
			F	12,500	1.5	5000[b]	1.2	17,500	1.2
		10	M	65,400	7.9	26,160[b]	6.2	91,560	6.4
			F	85,800	10	34,320[b]	8.1	120,120	8.4
	イヌ	15	M	9470	1.1	1894[b]	0.45	11,364	0.80
			F	13,200	1.6	2640[b]	0.62	15,840	1.1
		NA	M	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			F	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	サル	30/12[c]	M	4280	0.52	24,000 (6000)	5.7 (1.4)	28,280 (10,280)	2.0 (0.72)
			F	8140	0.98	25,400 (6350)	6.0 (1.5)	33,540 (14,490)	2.3 (1.0)
		NA	M	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			F	NA	NA	NA	NA	NA	NA
生殖器毒性	ラット	3	M	11,700	1.4	4680[b]	1.1	16,380	1.1
			F	12,500	1.5	5000[b]	1.2	17,500	1.2
		10	M	65,400	7.9	26,160[b]	6.2	91,560	6.4
			F	85,800	10	34,320[b]	8.1	120,120	8.4
	イヌ	15	M	9470	1.1	1894[b]	0.45	11,364	0.80
			F	13,200	1.6	2640[b]	0.62	15,840	1.1
		NA	M	NA	NA	NA	NA	NA	NA
			F	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	サル	3	M	836	0.10	5010 (1253)	1.2 (0.30)	5846 (2089)	0.41 (0.15)
			F	618	0.075	4950 (1238)	1.2 (0.29)	5568 (1856)	0.39 (0.13)
		10/6[c]	M	4060	0.49	11,300 (2825)	2.7 (0.67)	15,360 (6885)	1.1 (0.48)
			F	2440	0.29	10,100 (2525)	2.4 (0.60)	12,540 (4965)	0.88 (0.35)
生殖発生毒性試験									
催奇形性	ラット	2	F	4390	0.53	2710	0.64	7100	0.50
		6	F	28,000	3.4	9070	2.1	37,070	2.6

AUC_{0-24}: 定常状態における投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、F: 雌、M: 雄、MOE: 曝露マージン、NA: 該当なし、NOAEL: 無毒性量（下線部）

[a] ヒトにおける AUC 値は代表的な幾何平均の値（添付資料番号：5.3.5.2-2）

[b] ラット及びイヌでの血漿中 AC886 濃度は、AC886 の AUC_{0-24} がラット及びイヌでキザルチニブの AUC_{0-24} のそれぞれ 40%（添付資料番号：4.2.2.2-6）及び 20%（添付資料番号：4.2.2.4-9）であると仮定し、薬物動態試験結果から推定した。

[c] 重篤な一般状態悪化がみられたため、10 日間休薬後、雄では投与 43 日目、雌では投与 42 日目に 30 mg/kg／日から 12 mg/kg／日に減量した。

[d] サル血液中の AC886 濃度は、氷中保存条件では 37°C 保存条件と比べて 4 倍高かったため、血液を氷中保存した場合には最大増加率「4」で補正した濃度を括弧内に示す（2.6.4.2.4）。

6. 参考文献一覧

1. Guidance for Industry: S2B Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals; July, 1997. Rockville (MD): U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER) (CBER).
2. Guidance for Industry: S9 Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals; March, 2010. Rockville (MD): U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER).
3. Guidance for Industry: Photosafety Testing; May, 2003. Rockville (MD): U.S. Dept of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER).
4. OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS. In Vitro 3T3 NRU phototoxicity test, No. 432 Section 4 Health Effects (Pink pages); adopted April 13, 2004. Organisation for Economic Co-operation and Development.
5. Note for Guidance on Photosafety Testing. Committee for Proprietary Medicinal Products. CPMP/SWP/398/01; June 27, 2002. EMEA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products).
6. Guidance for Industry: Q3A(R2) Impurities in New Drug Substances; June, 2008. Rockville (MD): U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER) (CBER). Rockville (MD): U.S. Dept of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER) (CBER).
7. Guidance for Industry: Q3B(R2) Impurities in New Drug Substances; July, 2006. Rockville (MD): U.S. Dept of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER) (CBER).
8. Guidance for Industry: S10 Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals; January, 2015. Rockville (MD): U.S. Dept of Health and Human Services Food and Drug Administration, (CDER) (CBER).
9. Lyman SD, Jacobsen SEW. c-KIT Ligand and Flt3 Ligand: Stem/Progenitor Cell Factors With Overlapping Yet distinct Activities. Blood. 1998;91:1101-34.
10. Ishizuka H, Konno K, Shiina T, et al. Species Differences in the Transport Activity for Organic Anions Across the Bile Canalicular Membrane. J Pharm Exper Therapeutics. 1999;290(3):1324-30.
11. Ninomiya M, Ito K, Horie T. Functional Analysis of Dog Multidrug Resistance-Associated Protein 2 (MRP2) in Comparison with Rat MRP2. Drug Metab Disposition. 2005;33(2):225-32.
12. Rodgers IS, Baetcke KP. Interpretation of Male Rat Renal Tubule Tumors. Environ Health Perspectives Supplements. 1993;101(6):45-52.