ロズリートレクカプセル100 mg
ロズリートレクカプセル200 mg
（エヌトレクチニブ）

第2部　（モジュール2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.6 毒性試験の概要文

中外製薬株式会社

略語一覧

略語一覧	英名	和名
ALP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ALT	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
APTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	alanine aminotransferase	アラニン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
BLQ	below the quantification limit	定量下限未満
C_{max}	maximum (peak) plasma concentration	最高血漿中薬物濃度
CTD	common technical document	コモン・テクニカル・ドキュメント
DRF	dose range finding	用量設定
ECG	electrocardiogram	心電図
EOD	end of dosing	最終投与日
EOR	end of recovery	回復期間終了日
FISH	fluorescence *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
γ-GTP	γ-glutamyltransferase	γ–グルタミルトランスペプチダーゼ
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
HNSTD	highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
LOEL	lowest observed effect level	最小影響量
MCHC	mean cell hemoglobin concentration	平均赤血球血色素濃度
MCV	mean cell volume	平均赤血球容積
MRHD	maximum recommended human dose	最高推奨臨床用量
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NTRK	neurotrophic tyrosine receptor kinase	神経栄養因子チロシン受容体キナーゼ
QTc	corrected QT	補正 QT
ROS1	c-ros oncogene 1, receptor tyrosine kinase	—
SD	standard deviation	標準偏差
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	time to reach the maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TRK	tropomyosin receptor kinase	トロポミオシン受容体キナーゼ
TTC	threshold of toxicological concern	毒性学的懸念の閾値
UVR	ultraviolet radiation	紫外線照射

目次

頁

2.6.6 毒性試験の概要文 6
2.6.6.1 まとめ 6
2.6.6.2 急性毒性試験 10
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 11
2.6.6.3.1 雌 CD-1 マウスを用いた 14 日間探索的試験 11
2.6.6.3.2 ラット反復経口投与試験 11
2.6.6.3.2.1 SD ラットを用いた 14 日間用量設定試験 12
2.6.6.3.2.2 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験） 13
2.6.6.3.2.3 SD ラットを用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験） 14
2.6.6.3.2.4 SD ラットを用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験） 15
2.6.6.3.3 イヌ反復経口投与試験 16
2.6.6.3.3.1 雌ビーグル犬を用いた 14 日間用量設定試験 16
2.6.6.3.3.2 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験） 17
2.6.6.3.3.3 ビーグル犬を用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験） 18
2.6.6.3.3.4 ビーグル犬を用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験） 19
2.6.6.4 遺伝毒性試験 20
2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験 20
2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 20
2.6.6.4.1.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核予備試験 21
2.6.6.4.1.3 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション分析試験 21
2.6.6.4.2 *In vivo* 遺伝毒性試験 21
2.6.6.4.3 ラットを用いた小核試験とコメットアッセイ 21
2.6.6.5 がん原性試験 22
2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 22
2.6.6.6.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する予備試験 22
2.6.6.6.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 23
2.6.6.7 新生児を用いた毒性試験 24
2.6.6.7.1 幼若ラットを用いた 6 日間忍容性試験 24
2.6.6.7.2 幼若ラットを用いた 4 週間用量設定試験 24
2.6.6.7.3 幼若ラットを用いた 13 週間試験（4 週間回復性試験） 25
2.6.6.8 局所刺激性試験 26
2.6.6.8.1 ウサギを用いた皮膚刺激性試験 26

2.6.6.8.2 ウサギを用いた眼刺激性試験 26
2.6.6.9 その他の毒性試験 26
2.6.6.9.1 光毒性試験 26
2.6.6.9.1.1 3T3 マウス線維芽細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験 26
2.6.6.9.1.2 有色ラットを用いた *in vivo* 光毒性試験 26
2.6.6.9.2 不純物の毒性試験 27
2.6.6.9.2.1 不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験 27
2.6.6.9.2.2 *不純物G のラットを用いた 4 週間経口投与毒性試験 28
2.6.6.9.3 ビーグル犬を用いた中枢神経系及び QT 延長に関する探索的試験 28
2.6.6.10 考察及び結論 29
2.6.6.10.1 死亡 30
2.6.6.10.2 標的器官毒性 30
2.6.6.10.2.1 中枢神経系への影響 31
2.6.6.10.2.2 皮膚への影響 31
2.6.6.10.2.3 血液系への影響 32
2.6.6.10.2.4 肝臓への影響 32
2.6.6.10.2.5 消化管への影響 33
2.6.6.10.2.6 QT／QTc 間隔の延長 33
2.6.6.10.2.7 角膜への影響 34
2.6.6.10.2.8 胚・胎児への影響 34
2.6.6.10.2.9 新生児への影響 35
2.6.6.10.2.10 その他の影響 35
2.6.6.10.2.11 回復性 35
2.6.6.10.3 結論 36
2.6.6.11 参考文献 37

*新薬承認情報提供時に置き換え

図一覧

該当なし。

表一覧

表 2.6.6.1-1 エヌトレクチニブの毒性試験 7
表 2.6.6.1-1 エヌトレクチニブの毒性試験（続） 8
表 2.6.6.2-1 エヌトレクチニブの急性毒性試験 11
表 2.6.6.3.2-1 ラット反復経口投与毒性試験における平均定常状態曝露 12
表 2.6.6.3.3-1 イヌ反復投与毒性試験におけるエヌトレクチニブ及びM5の平均定常状態曝露 16
表 2.6.6.4-1 エヌトレクチニブの遺伝毒性試験 20
表 2.6.6.6-1 胚・胎児発生に関する試験における $AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値及び臨床用量との曝露比 22
表 2.6.6.9.2.1-1 不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験 28

添付資料一覧

該当なし。

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

エヌトレクチニブ（entrectinib，RXDX-101，NMS-1192372，RO7102122）の毒性試験を表2.6.6.1-1に示す。エヌトレクチニブの一般毒性は，ICH S9（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン）に従って成熟ラット及びイヌを用いた単回及び最長13週間の反復経口投与毒性試験で評価した。これらの試験では，薬物曝露を評価するためにトキシコキネティクス（TK）を含め，所見の回復性を評価するために休薬期間を設定した。

ラット及びイヌはエヌトレクチニブに対して薬理学的な反応を示すことから，Sprague-Dawley（SD）ラット（Crl:CD）及びビーグル犬を毒性試験の動物種として選択した。また，イヌはヒトに近い代謝プロファイルを示しており，代謝物 M5はイヌ及びヒトにおける主要代謝物であった。

エヌトレクチニブの遺伝毒性は，*in vitro* 及び *in vivo* を組み合わせた遺伝毒性試験により評価を行った。エヌトレクチニブは *in vitro* 光毒性試験で陽性であったため，Long-Evans ラットを用いて *in vivo* 光毒性試験を実施した。生殖発生毒性として，妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施した。この試験で催奇形性及び胎児への影響が認められ，妊娠中の女性に対しエヌトレクチニブを服用するリスクを伝えるには十分な情報であることから，再確認を目的としたウサギを用いた試験は実施しなかった。また，エヌトレクチニブは小児患者も適用とすることから，成長発達途上の動物を用いた最長13週間の幼若毒性試験を実施した。エヌトレクチニブの局所刺激性は，皮膚及び眼に対する刺激性試験により評価した。

*In silico*解析により構造上のアラートを有した製造過程不純物については，細菌を用いた復帰突然変異試験を実施した。また，開発中に検出された *不純物G についてはラット4週間試験を実施した。

ICH S9ガイドラインでは，進行がん患者への投与を目的とした医薬品の承認申請にあたり，（1）受胎能及び着床までの初期胚発生，（2）出生前及び出生後の発生並びに母体の機能，並びに（3）がん原性に関する試験は要求されていないことから，これらの試験は実施しなかった。また，一般毒性試験における血液学及び病理学的パラメータの評価において，エヌトレクチニブは免疫系に対して薬理学的性質に基づく影響を示さなかったことから，免疫毒性に関する試験は実施しなかった。

*新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.6.1-1 エヌトレクチニブの毒性試験

試験の種類及び投与期間［資料番号］	種／系統	投与経路	投与量／濃度	GLP適合性
急性毒性				
単回［4.2.3.1-1］	ラット／SD	経口	0, 60, 120, 240 mg/kg	非
単回［4.2.3.1-2］	イヌ／ビーグル	経口	0, 300 mg/kg	非
反復投与毒性				
14日間探索的試験［4.2.3.2-1］	マウス／CD-1	経口	0, 120, 240 mg/kg/日	非
14日間用量設定試験［4.2.3.2-2］	ラット／SD	経口	0, 100, 200, 400 mg/kg/日	非
4週間間欠投与（2週間サイクル×2回）[a]及び4週間休薬［4.2.3.2-3］	ラット／SD	経口	0, 50, 100, 200 mg/kg/日	適
4週間投与及び2週間休薬［4.2.3.2-4］	ラット／SD	経口	0, 25, 50, 100 mg/kg/日	適
13週間投与及び8週間休薬［4.2.3.2-5］	ラット／SD	経口	0, 7.5, 15, 30 mg/kg/日	適
14日間用量設定試験［4.2.3.2-6］	イヌ／ビーグル	経口	0, 30, 60, 120 mg/kg/日, 120 mg/kg を1日2回（計240 mg/kg）	非
4週間間欠投与（2週間サイクル×2回）[a]及び4週間休薬［4.2.3.2-7, 4.2.3.2-8[b]］	イヌ／ビーグル	経口	0, 30, 60, 120 mg/kg/日	適
4週間投与及び2週間休薬［4.2.3.2-9］	イヌ／ビーグル	経口	0, 15, 30, 60/45 mg/kg/日	適
13週間投与及び8週間休薬［4.2.3.2-10］	イヌ／ビーグル	経口	0, 7.5, 15, 30 mg/kg/日	適
遺伝毒性				
復帰突然変異［4.2.3.3.1-1］	ネズミチフス菌及び大腸菌	*in vitro*	2.44-1250 µg/plate	適
In vitro 小核予備［4.2.3.3.1-2］	ヒト末梢血リンパ球	*in vitro*	3.9-62.5 µg/mL	非
In vitro 小核及び FISH［4.2.3.3.1-3］	ヒト末梢血リンパ球	*in vitro*	小核: 3-25 µg/mL FISH: 15 µg/mL	適
In vivo 小核及びコメット／3日間［4.2.3.3.2-1］	ラット／SD	経口	0, 250, 1000, 2000 mg/kg/日	適
生殖発生毒性				
胚・胎児発生				
胚・胎児発生に関する用量設定試験（妊娠6から17日）［4.2.3.5.2-1］	ラット／SD	経口	0, 25, 50, 100, 200 mg/kg/日	非
胚・胎児発生に関する試験（妊娠6から17日）［4.2.3.5.2-2］	ラット／SD	経口	0, 12.5, 50, 200 mg/kg/日	適

表 2.6.6.1-1 エヌトレクチニブの毒性試験（続）

試験の種類及び投与期間［資料番号］	種／系統	投与経路	投与量／濃度	GLP 適合性
新生児を用いた試験				
6日間忍容性試験［4.2.3.5.4-1］	ラット／SD	経口	25, 50, 100 mg/kg/日	非
4週間用量設定試験［4.2.3.5.4-2］	ラット／SD	経口	0, 25, 50, 75 mg/kg/日	非
13週間［4.2.3.5.4-3］	ラット／SD	経口	0, 4, 8, 16 mg/kg/日	適
局所刺激性				
皮膚刺激性［4.2.3.6-1］	ウサギ／ニュージーランドホワイト	皮膚適用	500 mg	適
眼刺激性［4.2.3.6-2］	ウサギ/ニュージーランドホワイト	眼適用	100 mg/眼	適
その他の毒性				
光毒性				
ニュートラルレッド取り込み光毒性試験［4.2.3.7.1-1］	BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞	*in vitro*	0.178-10.0 µg/mL	適
眼及び皮膚に対する光毒性試験/3日間［4.2.3.7.1-2］	ラット/Long-Evans	経口	0, 50, 100, 200 mg/kg/日	適
不純物の毒性試験				
*不純物Aの復帰突然変異［4.2.3.7.6-2］	ネズミチフス菌及び大腸菌	*in vitro*	1000 µg/well まで	適
*不純物Bの復帰突然変異［4.2.3.7.6-3］		*in vitro*	1000 µg/well まで	適
*不純物Cの復帰突然変異［4.2.3.7.6-4］		*in vitro*	1000 µg/well まで	適
*不純物D の復帰突然変異［4.2.3.7.6-5］	ネズミチフス菌	*in vitro*	5000 µg/plate まで	適
*不純物E の復帰突然変異［4.2.3.7.6-6］		*in vitro*	5000 µg/plate まで	適
*不純物F の復帰突然変異［4.2.3.7.6-7］		*in vitro*	5000 µg/plate まで	適
*不純物Gの4週間反復投与［4.2.3.7.6-1］	ラット/SD	経口	0, 0.33, 1.0 mg/kg/日	適
その他の試験				
中枢神経系及び QT 延長に関する7日間探索的試験［4.2.3.7.7-1］	イヌ/ビーグル	経口	80, 120 mg/kg/日	非

[a] 投与スケジュール：2週間投与/2週間休薬/2週間投与+4週間休薬

[b] 4.2.3.2-7試験で採取した組織の追加病理組織検査

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；SD = Sprague-Dawley；FISH = 蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション

*新薬承認情報提供時に置き換え

急性及び反復投与毒性

エヌトレクチニブの一般毒性は，ラット及びイヌを用いて最長13週間までの最大耐量（MTD）及びMTDを超える用量の投与により評価した。

エヌトレクチニブの主要な毒性が，ラット及びイヌにおいて，中枢神経系，皮膚，血液系及び肝臓に認められた。イヌでは，消化管毒性並びにQT及び補正QT（QTc）の延長も認められた。これらの影響は用量及び投与期間依存性であり，休薬により回復性を示した。主な所見を以下に要約する。

- 中枢神経系症状が，14日間及び4週間間欠投与（2週間 × 2サイクル）試験において，ラットでは200 mg/kg/日以上及びイヌでは60 mg/kg/日以上で認められた。ラットでは協調運動障害及び異常歩行が，イヌでは協調運動障害，よろめき歩行，異常歩行，振戦，活動性低下及び抑うつが観察された。
- 痂皮及びびらん／潰瘍といった皮膚病変が両動物種でみられ，用量依存性を示した。影響はラットでより顕著であり，13週間試験では7.5 mg/kg/日以上でみられ，ラット反復投与試験における用量制限毒性となった。血中白血球数，フィブリノゲン及び血清蛋白質濃度の増加が，皮膚の変化に対する炎症反応として一貫して認められた。
- 白血球の増加及び赤血球系パラメータの減少を含む血液系への影響がラット及びイヌ（ともに15 mg/kg/日以上）で認められた。病理組織学的には，脾臓及び肝臓における髄外造血の亢進及び骨髄の変化が関連して認められた。これらの変化は軽微から軽度で，用量依存性があり，重篤な変化にはならず，回復性を示した。皮膚の炎症及び／又は消化管の炎症（イヌ）に対する二次的反応と考えられたが，エヌトレクチニブによる骨髄に対する直接的な影響も否定できない。
- 肝臓に対する影響がラット（50 mg/kg/日以上）及びイヌ（30 mg/kg/日以上）で認められた。具体的には，肝トランスアミナーゼ（ALT及びAST）活性，総ビリルビン及び肝重量が増加した。病理組織学的所見として，ラットで200 mg/kg/日以上で肝細胞及び胆管上皮の空胞化，胆管上皮過形成並びに肝細胞の単細胞壊死が，イヌで120 mg/kg/日投与の途中剖検例で胆嚢上皮過形成，60 mg/kg/日以上で肝細胞壊死及び30 mg/kg/日以上で色素沈着マクロファージの増加がみられた。
- 消化管への影響（体重減少を伴う嘔吐及び下痢；病理組織学的には直腸のびらん／潰瘍）がイヌでみられ（LOELは15 mg/kg/日），30 mg/kg/日以上で投与量の減量又は休薬となった。
- イヌ4週間間欠投与試験（2週間 × 2サイクル）及び7日間探索的試験において，QT及びQTc間隔の延長が120 mg/kg/日（C_{max}の群平均：7 µmol/L以上）に認められた。4週間連日投与試験では，15 mg/kg/日以上の雌で，軽度のQT及びQTcの延長（対照群に比較して+10%以内の変化）が認められた。30 mg/kg/日まで投与した13週間試験及び300 mg/kgまで投与した2つの単回投与テレメトリー試験（CTD 2.6.2.4.2.2参照）では，QT及びQTc間隔の変化は認められなかった。

遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験の結果，エヌトレクチニブは変異原性を示さなかった。

エヌトレクチニブは，ラットを用いた*in vivo*小核試験で染色体異常を誘発せず，ラットを用いたコメット試験でDNA損傷を起こさなかった。ヒト末梢血リンパ球を用いた*in vitro*小核試験では，染色体分離異常誘発性（異数性誘発能）のポテンシャルが示された。

生殖発生毒性

エヌトレクチニブをラットの妊娠6～17日に投与したところ，胚・胎児に対する影響がみられた。母動物の毒性（体重増加量の減少及び摂餌量低下）及び外表及び骨格異常を含む胚・胎児毒性が200 mg/kg/日で認められた（最高推奨臨床用量［MRHD］における $AUC_{0\text{-}24h}$ の2.6倍）。胎児体重の減少が50 mg/kg/日以上でみられ（MRHD における $AUC_{0\text{-}24h}$ の0.9倍），12.5 mg/kg/日では胚・胎児発生に対する影響はみられなかった（MRHD における $AUC_{0\text{-}24h}$ の0.2倍）。

幼若毒性

エヌトレクチニブを幼若ラットに13週間反復投与（出生後7から97日）したところ，8 mg/kg/日で幼若ラットは忍容性を示したが，16 mg/kg/日では死亡がみられた。痙攣，振戦，歩行異常及び活動性低下といった中枢神経症状が8 mg/kg/日以上で観察され，有害作用と考えられたが，回復性があり，中枢神経系の病理組織学的変化を伴わなかった。非有害性の作用として，成熟ラットと同様に皮膚及び血液系にも影響がみられた。更に，体重増加抑制，摂餌量減少，大腿骨長の減少，性成熟遅延及び神経行動学的検査における反応時間の延長によって示される成長発達遅延が認められた。

光毒性

エヌトレクチニブは，*in vitro* 試験で光毒性の可能性を示したため，ラットを用いた *in vivo* 試験を追加実施した。この試験で光毒性のエビデンスは得られなかったが，光毒性試験の UVR 有り条件下の100 mg/kg/日及び UVR 有り及び無し条件下の200 mg/kg/日の有色ラットにおいて，病理組織学的に角膜固有質への好中球浸潤及び角膜上皮の単細胞壊死が認められた。これらの角膜の変化は光毒性ではないもののエヌトレクチニブに関連すると考えられた。

不純物の毒性

*In silico*解析により構造上のアラートを有した6つの製造過程不純物について細菌を用いた復帰突然変異試験を実施した結果，陰性であった。

ICHガイドラインQ3A（R2）及びQ3B（R2）による評価が必要となる閾値を超えた不純物は無かったが，開発中に検出された不純物として，　　*不純物G　　についてはラット4週間試験を実施した。

2.6.6.2 急性毒性試験

エヌトレクチニブの非 GLP 急性毒性試験は，SD ラット及びビーグル犬に単回経口投与することにより実施した。これらの試験結果は表 2.6.6.2-1に要約した。

ラット及びイヌを用いた単回経口投与毒性試験において，概略の致死量は，それぞれ，240及び300 mg/kg（各試験の最高投与量）を超えていた。マウスでは，14日間投与試験の結果（CTD2.6.6.3.1参照）から，240 mg/kg（本試験の最高投与量）を超えると考えられた。

*新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.6.2-1 エヌトレクチニブの急性毒性試験

種及び系統	動物数/性/群	投与方法	投与量 (mg/kg)	所見	資料番号
ラット/Sprague-Dawley	5	経口	0, 60, 120, 240	概略の致死量 ≥240 mg/kg 一般症状の変化なし；240 mg/kg で好中球数↑，血小板↑；240 mg/kg（雌）でリン及び総ビリルビン↑；240 mg/kg（雄）で体重の低値，脾臓における髄外造血の低下，120 mg/kg（雄）で体重の低値	4.2.3.1-1
イヌ/ビーグル	1	経口	0, 300	概略の致死量 ≥300 mg/kg 一般症状又は心電図の変化なし； 300 mg/kg（雄）で 乳酸脱水素酵素及びクレアチンキナーゼが軽微な増加 (平均 C_{max} =2.06 µmol/L 及び AUC_{inf} = 67.7 µmol/L•h)	4.2.3.1-2

MTD = 最大耐量；C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC_{inf} = 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積

2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

反復投与毒性試験として，マウスを用いた14日間探索的試験，SD ラット及びビーグル犬を用いた14日間用量設定（DRF）試験，4週間（間欠及び連日投与）試験及び13週間試験を実施した。ラット及びイヌを用いたいずれの反復投与試験においても回復性の評価を行った。評価項目には，一般状態観察，体重，摂餌量測定，眼科学的検査，臨床病理学的検査（血清生化学，血液学，凝固系及び尿検査），剖検，臓器重量測定，病理組織学的検査及びトキシコキネティクス解析が含まれた（ただし，これらの項目に限らない）。その他に，イヌ試験で心電図検査（ECG）及びラット4週間間欠投与（2週間 × 2サイクル）試験で Irwin 変法による検査も実施した。

エヌトレクチニブは，脱イオン化水で希釈した0.5%（w/v）メチルセルロースを溶媒として，マウス，ラット及びイヌに経口投与した。対照群の動物には，0.5%（w/v）メチルセルロースを投与した。

2.6.6.3.1 雌 CD-1マウスを用いた14日間探索的試験

（資料番号4.2.3.2-1）

本探索的試験では，雌の CD-1マウスに0，120 又は240 mg/kg/日のエヌトレクチニブを14日間，1日1回経口投与した。

240 mg/kg/日の初回投与後には一般状態に変化は認められなかった。投与3及び4日目には1例で，一過性の軽度な活動性低下と呼吸困難がみられた。240 mg/kg/日の用量では，血清クレアチニン，尿素，ナトリウム，塩素及びカリウムの軽微から軽度の増加が，また，血清アミラーゼ，リパーゼ，総コレステロール及びトリグリセリドの軽微から軽度の減少が観察された。

エヌトレクチニブの無毒性量（NOAEL）は240 mg/kg/日であった（$AUC_{0\text{-}24h}$ =152 µmol/L•h）。また，概略の致死量は240 mg/kg/日以上であった。

2.6.6.3.2 ラット反復経口投与試験

ラット試験間の定常状態における AUC の比較を表 2.6.6.3.2-1に示す。

表 2.6.6.3.2-1 ラット反復経口投与毒性試験における平均定常状態曝露

試験の種類［資料番号］	Day	投与量 (mg/kg/日)	エヌトレクチニブ AUC_{0-24h} (μmol/L•h) [a]		M5 AUC_{0-24h} (μmol/L•h) [a]	
			雄	雌	雄	雌
14日間［4.2.3.2-2］	14	100	37.5	68.9	NA	NA
		200	78.9	167	NA	NA
		400 [b]	158	189	NA	NA
4週間間欠投与［4.2.3.2-3］	42 [d]	50	36.3	50.8	NA	NA
		100	54.0	111	NA	NA
		200	111	192	NA	NA
4週間［4.2.3.2-4］	28	25	11.3	18.4	NC	NC
		50	34.7	49.3	4.18	1.63
		100 [c]	54.5	83.0	4.15	2.19
13週間［4.2.3.2-5］	91	7.5	5.98	6.71	0.349	0.0218
		15	10.5	15.4	0.950	0.459
		30	19.4	29.6	2.54	1.10

AUC =血漿中濃度–時間曲線下面積；h = 時間，NA: 測定なし，NC: 算出不能

[a] 個別の記載が無い限り，平均定常状態 AUC_{0-24} は最終 TK 測定時から算出した。

[b] 本試験群を早期終了したことにより，AUC は雌で7日目，雄で9日目から算出した。

[c] 本試験群を早期終了したことにより，AUC は1日目から算出した。

[d] Day 42 = 2回目の2週間投与の最終投与日

2.6.6.3.2.1 SD ラットを用いた14日間用量設定試験

（資料番号4.2.3.2-2）

本用量設定試験では，雌雄のラット（3例／性／群）にエヌトレクチニブ0，100，200 及び400 mg/kg/日を最長14日間連日経口投与した。TK 及び1週間の回復性を評価するため，サテライト動物（3例／性／群）を用いた。

400 mg/kg/日群において，主試験群の雄1例と TK 試験群の雌1例が，活動性低下，協調運動性障害及び呼吸困難を呈し，8日目に死亡した。400 mg/kg/日群の他の動物についても，7日目（雌）及び9日目（雄）の時点で投与を中止した。死亡例の主要な病理組織所見として，肝細胞空胞化とこれに関連した壊死，胸腺，脾臓及びリンパ節におけるリンパ球枯渇，骨髄抑制並びに腎臓皮質の空胞化が認められた。上記の中枢及び呼吸器系症状に加えて，病理組織学的所見で示唆される肝毒性やリンパ造血系の抑制といった要因が重なったことが，400 mg/kg/日群の雌雄各1例の死亡の原因と考えられた。

100 mg/kg/日以上：100 mg/kg/日群の雌1例で投与期間終盤に協調運動障害が観察され，200 mg/kg/日群の全例でも4日目から観察された。1週間の休薬期間後，本症状は回復した。

血液学的検査では，100 mg/kg/日以上で網状赤血球数，血小板数及び白血球数の増加が観察された。血液生化学検査では，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の用量依存性の増加が認められた。

200 mg/kg/日以上：体重減少又は体重増加量減少が一部の動物にみられた。200 mg/kg/日の雌及び400 mg/kg/日でヘモグロビンの減少並びに400 mg/kg/日で赤血球数及びヘマトクリットの減少がみられた。尿素の軽度増加（血清クレアチニンの変化を伴わない）がみられた。

軽度から重度の肝細胞空胞化及びこれに関連した壊死／単細胞壊死から成る肝臓の病理組織学的変化が200 mg/kg/日の雌及び400 mg/kg/日の雌雄で認められた。これらの変化は ALT 及び AST の変化と関連付けられた。骨髄における細胞数の減少，並びに胸腺，脾臓，リンパ節におけるリンパ球枯渇が，200 mg/kg/日以上の雌雄でみられた。これらの変化の頻度と重症度は，雌の方が高かった。

400 mg/kg/日：活動性低下と呼吸困難といった重度の臨床症状がみられたため，7日目（雌）

及び9日目（雄）の時点で投与を中止した。摂餌量の減少が400 mg/kg/日の雌で観察された。いくつかの動物の腎臓では，皮質の尿細管上皮細胞に空胞化が認められた。

回復性については，臨床病理学的変化は，100 mg/kg/日では回復性を示したが，200 mg/kg/日以上では部分回復であった。病理組織学的変化については，腎臓の変化は回復期間後に完全に回復したが，肝臓及び造血・造リンパ系 の変化は7日間の回復期間後も部分的に残存した。

この試験から，MTD は200 mg/kg/日（$AUC_{0\text{-}24h}$ = 78.9 µmol/L•h［雄］及び 167.1 µmol/L•h［雌］）と判断した。

2.6.6.3.2.2 SDラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）

（資料番号4.2.3.2-3）

間欠投与スケジュール（投与2週間，休薬2週間，投与2週間）に従い，ラットにエヌトレクチニブを0，50，100，200 mg/kg/日の投与量（15例／性／群）で経口投与した。2回目の投与サイクルの完了後に，4週間の休薬期間を設定した。サテライト動物として，ラットそれぞれ3例／性／群を TK 解析に供した。中枢神経行動学的観察のため，1群当たり雌5例を用い，1日目と14日目（1回目の投与サイクル終了時）に Irwin 変法による検査を行った。

200 mg/kg/日群のうち雌3例が，15日目の臨床病理採血用麻酔中に死亡した。全身状態の悪化が原因と考えられた。他の個体はいずれも予定終了時点まで生存した。

<u>50 mg/kg/日以上</u>：11日目から頸部，背部，鼻口周囲及び下顎領域において痂皮が観察され，100 mg/kg/日以上では潰瘍に至った。鼻周囲の赤色物質が50 mg/kg/日群の雌1例及び100 mg/kg/日以上の雌雄に認められた。

赤血球関連パラメータの軽微から軽度の減少（回復性あり）及び網状赤血球の増加が各投与サイクルの終了時に認められた。リンパ球の軽微から軽度の減少が1回目の休薬期間終了時にみられたが，2回目の投与サイクル終了時の値は対照群と同等であった。好中球及び単球の軽微から軽度の増加が50 mg/kg/日以上の雄及び200 mg/kg/日の雌で認められ，皮膚における痂皮及び潰瘍とそれに対する炎症反応と関連付けられた。

AST及びALTの用量依存性の軽度の増加が全用量群の各投与期間の終了時に観察されたが，その後は正常範囲内に回復した。ビリルビンの軽微から軽度の増加が1回目の投与サイクル終了時にみられたが，用量反応性はなかった。用量反応性のないリパーゼの増加が投与サイクル終了時にみられた。

病理組織学的には，軽微から中等度のリンパ球枯渇が全用量群の脾臓で認められた。脾臓では他に，髄外造血の亢進（頻度の増加及び／又は重症度の悪化）並びに赤脾髄のうっ血が認められた。これらの変化は，全用量群における脾重量の増加に関連付けられた。髄外造血の亢進は，赤血球系パラメータの減少及び網状赤血球の増加と関連付けられた。リンパ球枯渇は，血液学的検査におけるリンパ球減少の一因として関連付けられた。

皮膚病変は，病理組織学的には扁平上皮における反応性上皮過形成，炎症，潰瘍及び細菌塊であった。また，200 mg/kg/日群の雌数例の鼠径部皮膚に，過角化症を伴う扁平上皮のびまん性の過形成が観察された。

<u>100 mg/kg/日以上</u>：切歯の退色が100 mg/kg/日以上で観察された。

血液学的検査では，各投与サイクルの終了時に血小板数の高値が認められた。

眼科学的検査では，100 mg/kg/日群の雄1例及び200 mg/kg/日群の数例に角膜混濁（片側又は両側）が観察された。病理組織学的には，切歯及び角膜に異常は認められなかった。

泡沫マクロファージの蓄積が100 mg/kg/日の雌の腸間膜リンパ節で軽微に，200 mg/kg/日では脾臓，腸間膜及び下顎リンパ節，肝臓，並びに歯周組織で軽微から中等度に認められた。これらのマクロファージは出現場所を問わず，類似した形態学的特徴を示し，変性又は炎症の兆候を伴わなかった。

軽微から軽度の顎下腺の変化（100 mg/kg/日の雌及び200 mg/kg/日の雌雄における腺房細胞の

アポトーシスの発現増加及び重症度悪化並びに100 mg/kg/日以上における腺房肥大）が認められた。

200 mg/kg/日：協調運動障害が両性で認められたが，雌で発現頻度が高かった。14日目に実施した中枢神経行動学的観察（Irwin 変法）では，異常歩行及び鼻の着色（赤色）がみられた。すべての変化は回復性を示した。なお，この用量において最終投与24時間後の脳組織中にエヌトレクチニブが検出されたことから，これらの中枢神経系症状と関連すると考えられた。

アミラーゼの軽微な増加が投与サイクル終了時の雌に認められた。

肝臓の胆管上皮に軽微から中等度の空胞化が観察され，時に軽微な胆管上皮過形成を伴った。更に，肝細胞空胞化の軽度の増加がみられ，時に軽微な単細胞壊死を伴った。これらの変化は，両性ともに，ALT 及び AST の増加，肉眼的な肝肥大並びに肝重量の増加に関連付けられた。軽微から中等度のリンパ球枯渇が，脾臓に加えて腸間膜リンパ節にも認められた。肺の泡沫マクロファージが，対照群に比べて重症度が悪化した。耳下腺では，腺房細胞のアポトーシスの軽度の発現増加及び重症度悪化が認められた。

この試験において，MTD は100 mg/kg/日（42日目における $AUC_{0\text{-}24h}$＝54.0［雄］及び111［雌］μmol/L•h］と考えられた。

2.6.6.3.2.3 SD ラットを用いた4週間試験（2週間回復性試験）

（資料番号4.2.3.2-4）

ラット（10～15例／性／群）にエヌトレクチニブを0，25，50 又は100 mg/kg/日の用量で連日4週間投与した。各群にサテライト TK 動物も設定した（各群9例／性及び対照群3例／性）。

投与24日に100 mg/kg/日群の投与を中止し，毒性評価用の主群及び TK 群の全例を屠殺したが，回復評価用動物（5例／雌雄）については休薬期間を開始した。また，50 mg/kg/日における回復性評価のため，TK 群5例／雌雄を回復評価用動物に割り当て，2週間の休薬期間を設定した。100 mg/kg/日の回復評価用の雌2例は，全身状態の悪化及び皮膚の進行性湿潤病変のため，最終投与の5日後に安楽死処置した。残りの動物は全例とも予定屠殺時まで生存した。

25 mg/kg/日以上：痂皮及び炎症がすべての投与群で認められ，用量依存性に頻度が増加し，重症度が悪化した。50 mg/kg/日の病変は潰瘍性湿潤病変に進行し，獣医師による治療が必要となった。

臨床病理所見は，全般的に軽微から軽度で用量依存性がみられ，すべての投与量の雄及び／又は雌に認められ，炎症反応に関連するものであった。血液学的検査では，赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少，MCV 及び MCH の増加，血小板数及び網状赤血球数の増加並びに白血球数及び好中球数の増加がみられた。血液生化学検査では，アルブミン及びアルブミン：グロブリン比の減少並びにグロブリンの増加がみられた。25及び50 mg/kg/日の雌におけるフィブリノゲンの軽微な増加が，炎症反応に関連して認められた。

脾重量の増加がみられたが，病理組織学的には赤脾髄のうっ血及び髄外造血の増加に一致した。更に脾臓では，リンパ球枯渇（動脈周囲リンパ鞘の直径減少，辺縁帯の細胞数減少及び赤脾髄の細胞数減少を特徴とする）が認められた。顎下腺重量の減少が25及び50 mg/kg/日の雄でみられたが，病理組織学的検査で異常はみられなかった。

皮膚では，痂皮及び炎症部位に表皮肥厚，びらん／潰瘍，表皮表面の滲出液，出血及び／又は混合細胞型炎症が観察された。

50 mg/kg/日以上：角膜病変（剥離又は多巣性の白色沈着物，片側性）が50 mg/kg/日群の雄2例及び雌1例に認められた。本所見に対応する病理組織学的所見は認められなかった。

臓器重量では，50 mg/kg/日で精嚢重量の減少が認められたが，病理組織学的検査では異常はみられなかった。

100 mg/kg/日：体重増加量の減少及び摂餌量の軽度の減少が，皮膚病変の進行とともに認められた。

前述以外の血液学的変化として，リンパ球，単球及び好塩基球の増加があった。血液生化学検査では，尿素窒素，トリグリセリド，カルシウム，無機リン，ALT，アルカリフォスファターゼ（ALP）及び γ-グルタミルトランスフェラーゼ（γ-GTP）活性の増加及び塩素の減少（雄のみ）が認められた。肝機能酵素の上昇と関連付けられる病理組織学的変化はみられなかった。

顎下腺では，分泌物の増加（豊富かつ正常な形態を有する分泌顆粒を含む大型の腺房細胞を特徴とする）が認められた。

観察されたすべての所見は，休薬期間終了時に完全な回復又は回復傾向を示した。すべての用量で中等度以上の皮膚病変が観察され，臨床病理学的変化も認められたことから，NOAELは25 mg/kg/日未満（28日目における $AUC_{0\text{-}24h}$ は 11.3［雄］及び18.4［雌］μmol/L•h）と考えられた。

2.6.6.3.2.4 SD ラットを用いた13週間試験（8週間回復性試験）

（資料番号4.2.3.2-5）

雌雄のラット（10～15例／性／群）を4群に割り付け，エヌトレクチニブを0，7.5，15又は30 mg/kg/日の用量で最長13週間連日経口投与し，毒性を評価するとともに，8週間の休薬期間を設定した（15及び30 mg/kg/日群のみ）。TK 評価のためサテライト動物を加えた（9例/性/投与群及び3例/性/媒体投与群）。

用量依存性の皮膚の炎症及び／又は痂皮がみられたため，15及び30 mg/kg/日群の動物を29～64日目の間に一時的に投与中断し，更に4例（15 mg/kg/日群の雌1例並びに30 mg/kg/日群の雄2例及び雌1例）については，70～85日目の間に安楽死処置した。15 mg/kg/日群の雄1例が82日目に死亡発見された。この動物では一般症状に異常はみられず，特筆すべき病理組織学的所見も認められなかったため，エヌトレクチニブ投与による死亡とは考えられなかった。

7.5 mg/kg/日以上：痂皮及び／又は炎症が用量依存性にすべての用量群に認められた。痂皮及び炎症は，概して頭部，肩部及び／又は頸部にみられた。7.5 mg/kg/日における痂皮は，発現頻度及び重症度を考慮すると有害作用とは考えられなかった。しかしながら，15 mg/kg/日以上では，獣医師による治療を行うとともに，15 mg/kg/日群の雄3例及び雌1例並びに30 mg/kg/日群の雄11例及び雌3例では投与を中断した（49日目あるいは64日目から投与再開）。皮膚病変は休薬期間中に回復した。

軽微な体重増加が雄のみに認められ，摂餌量の増加と関連付けられた。投与期間終了時における投与群の体重は，対照群と比較して104～106%の範囲にあり，休薬期間終了時では，30 mg/kg/日の雄の体重が対照群と比較して113%であった。体重増加量は，摂餌量の増加と同様のトレンドで推移した。このような変化は雌では認められなかった。

投与期間終了時の病理組織学的検査では，頭部，頸部及び／又は肩部の皮膚及び皮下織にびらん／潰瘍，表皮肥厚，血清細胞性クラスト，出血及び混合細胞性炎症が肉眼的に認められた痂皮及び炎症に一致してみられた。

15 mg/kg/日以上：臨床病理所見は，主に 15 mg/kg/日以上でみられた非進行性かつ軽度の変化に限られ，しばしば途中屠殺例で程度の悪化が認められた。認められた変化は，赤血球量（赤血球数，ヘモグロビン濃度及び／又はヘマトクリット）及び MCHC の軽微な減少，MCV 及び MCH の軽微な増加，網状赤血球の絶対数の軽度から中等度の増加，白血球数（白血球，単球及び好中球）の軽微又は軽度の増加，グロブリン濃度の軽微な増加並びにアルブミン：グロブリン比低下であり，炎症反応に関連付けられた。血小板数の軽微な増加がみられ，炎症反応に起因する骨髄刺激の亢進の二次的変化と考えられた。これらの変化は，病理組織学的に皮膚炎症，脾臓の髄外造血亢進，及び／又は骨髄細胞数の増加と関連付けられた。

脾臓重量の増加が15 mg/kg/日以上の雄及び30 mg/kg/日の雌で認められ，関連して脾臓の髄外造血亢進がみられた。病理組織学的検査では，更に骨髄細胞数の増加も15 mg/kg/日以上でみられたが，皮膚の痂皮及び／又は炎症に関連して炎症性細胞数が増加したことに関連すると考えられた。

30 mg/kg/日：臨床病理所見としては，30 mg/kg/日の雄にフィブリノゲン濃度の軽微な増加もみられたが，炎症反応の延長上にある変化と考えられた。

すべての所見は回復又は回復傾向を示した。30 mg/kg/日の雄における体重増加は，休薬期間終了時にも認められた。

以上，15 mg/kg/日以上で中等度の皮膚病変が観察され，臨床病理学的変化も認められたことから，ラットに13週間投与したときのNOAELは7.5 mg/kg/日（91日目におけるエヌトレクチニブの $AUC_{0\text{-}24h}$ は 5.98［雄］及び6.71［雌］μmol/L•h）と考えられた。

2.6.6.3.3 イヌ反復経口投与試験

イヌ試験間の定常状態におけるエヌトレクチニブ及びM5の AUC の比較を表 2.6.6.3.3-1に示す。

表 2.6.6.3.3-1 イヌ反復投与毒性試験におけるエヌトレクチニブ及びM5の平均定常状態曝露

試験の種類［資料番号］	日	投与量 (mg/kg/日)	エヌトレクチニブ $AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L•h) [a]		M5 $AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L•h) [a]	
			雄	雌	雄	雌
14日間［4.2.3.2-6］	14	30	NA	15.1	NA	NA
		60	NA	55.3	NA	NA
		120	NA	63.4	NA	NA
		240 (120, 1日2回) [b]	NA	119	NA	NA
4週間間欠投与［4.2.3.2-7, 4.2.3.2-8］	42 [f]	30	20.8	21.1	NA	NA
		60	37.3	37.8	NA	NA
		120 [c]	147	159	NA	NA
4週間［4.2.3.2-9］	28	15	2.63	2.57	4.69	5.04
		30	9.13	9.49	9.13	8.52
		45 [d]	7.97	10.3	8.43	9.63
		60 [e]	15.8	17.6	17.5	20.4
13週間［4.2.3.2-10］	91	7.5	1.93	1.81	2.66	2.44
		15	3.39	5.04	4.46	6.45
		30	8.04	7.09	9.06	8.06

AUC =血漿中濃度–時間曲線下面積；h＝ 時間；NA＝ 該当せず

[a] 個別の記載が無い限り，平均定常状態 $AUC_{0\text{-}24}$ は最終 TK 測定時から算出した。

[b] 投与中断により，AUC は7日目から算出した。

[c] 本試験群を早期終了したことにより，AUC は雄で11日目，雌で10日目から算出した。

[d] AUC は28日目から算出したが，15日目から投与を再開したため，実際には投与14日にあたる。

[e] 9日目に投与中断したことにより，AUC は1日目から算出した。

[f] Day 42 = 2回目の2週間投与の最終投与日

2.6.6.3.3.1 雌ビーグル犬を用いた14日間用量設定試験

（資料番号4.2.3.2-6）

この用量設定試験では，雌のイヌ 3例／群に，エヌトレクチニブを0，30，60 及び120 mg/kg/日の用量で1日1回，最長14日間連日経口投与した。更にイヌ2例に，エヌトレクチニブを120 mg/kg の投与量で1日2回投与した（240 mg/kg/日）。

240 mg/kg/日群では，中枢神経系に有害な症状がみられたため，7日目に投与を中止した。症状としては，活動性低下，よろめき歩行，協調運動障害（後肢の不自由を伴う），抑うつ，間欠的な横臥及び振戦であった。更に摂餌量の低下がみられ，嘔吐及び下痢も発現した。

30 mg/kg/日以上：すべての用量群で軟便／下痢が観察された。誤嚥性肺炎が，30，120及び240 mg/kg/日で認められたが，食物の誤嚥による二次的なものであり，エヌトレクチニブとの直接的な関連は無いと考えられた。臨床病理学的検査では好中球数増加，アルブミン減少及び

ALP 増加が，すべての用量群で用量依存性にみられた。

60 mg/kg/日以上：追加所見なし。

120 mg/kg/日以上：1例で，15日目に軽度の活動性低下と中等度の摂餌量低下がみられた。散発的に嘔吐がみられた。血液生化学検査では，120 mg/kg/日で AST の軽度の増加がみられた。

240 mg/kg/日：240 mg/kg/日の雌2例ともに QT 及び QTc 間隔の延長が8日目に観察された。投与前からの変化（平均）は，QT が+65 msec，QTc が+87 msec であった。血液学的検査では，網状赤血球数の軽度から重度の減少及び中等度のリンパ球数減少がみられた。血液生化学検査では，ALT の重度の増加がみられた。

観察された臨床症状に基づき，MTD は，120 mg/kg/日（$AUC_{0\text{-}24h}$ = 63.4 μmol/L•h）と考えられた。

2.6.6.3.3.2 ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）

（資料番号4.2.3.3.2-7, 4.2.3.3.2-8）

本 GLP 試験では，エヌトレクチニブを0（4例／性／群），30，60 及び120 mg/kg/日（5例／性／群）の用量で1日1回，間欠投与スケジュール（投与2週間，休薬2週間，投与2週間）にて経口投与した。更に4週間の休薬期間を設定した。

120 mg/kg/日群では，重度の神経学的症状により，10日目（雌）及び11日目（雄）に投与を中止した。13日目（投与中止から3日後），雌1例の死亡が確認され，当該群の他の雌3例を安楽死させた。組織学的所見として，急性誤嚥性肺炎がみられ，やや頻度は少ないものの小葉辺縁帯から中間帯の肝細胞壊死，脾臓のリンパ球枯渇及び色素沈着マクロファージの増加，並びに骨髄の細胞数減少がみられた。また，一部の個体には，軽度の肝臓の胆管上皮過形成及び／又は軽微から中等度の胆嚢上皮過形成がみられた。

生存した120 mg/kg/日群のイヌは，最終投与後28日間の回復性を評価した。0，30 及び60 mg/kg/日群については，各群2例／性を回復評価用動物とした。

30 mg/kg/日以上：下痢や軟便が散発的に観察された。30 mg/kg/日以上の群のほとんどの個体に軽度から重度の体重減少がみられ，42日目以降に一部の動物のみ回復性がみられた。

血液学的検査では，用量依存性の網状赤血球数の軽度から重度の減少，並びに赤血球及びそれに関連するパラメータの軽微から軽度の減少（進行性）がみられた。血清蛋白質の変化として，アルブミン濃度の軽微から中等度の減少がみられた。

病理組織学的検査では，脾臓に色素沈着マクロファージの軽微から中等度の増加（Perl 染色陽性であったことからヘモジデリンである可能性が高い）及び軽度から重度のうっ血がみられた。投与群において誤嚥性肺炎の発現頻度が増加した。

60 mg/kg/日以上：異常歩行又は協調運動障害及び活動性低下といった中枢神経系への影響を示唆する臨床症状が，1回目の投与サイクル終了時（13日目）から観察され，2回目の投与サイクルには，軽度から重度の活動性亢進及び／又は常同行動もみられた。中枢神経系の臨床症状は，投与終了後2～5 日以内に回復した。なお，この用量において最終投与24時間後の脳組織中にエヌトレクチニブが検出されたことから，これらの中枢神経系症状と関連すると考えられた。軽度から中等度の摂餌量減少及び投与後の嘔吐及び下痢が投与サイクル中にみられた。

剥離や時に潰瘍及びクラストを含む皮膚病変が，2回目の投与サイクルから前後肢，肉球及び眼瞼に認められた。病理組織学的には，線維増生，水腫及びフィブリン滲出を伴う好中球，リンパ球，プラズマ細胞及びマクロファージ浸潤によって特徴づけられる炎症であった。皮膚病変は休薬期間中に回復した。

臨床病理学的には，白血球数，好中球数及び単球数の軽微から軽度の増加，血小板数の軽度の増加，並びに ALT の軽度から中等度の増加（2.4倍まで）がみられた。

投与期間終了時の病理組織学的検査では，雌1例に軽度の肝細胞壊死及び雌数例に肝髄外造

血の軽微な発現頻度増加が認められた。

120 mg/kg/日：軽度から重度の後肢及び前肢の協調運動障害，よろめき歩行，異常歩行，振戦及び活動性低下が6～7日目に，重度の活動性低下，抑うつ，横臥，無気力，下痢，体重の重度減少及び摂餌量の減少が9～10日目に観察された。

11日目に ECG を評価した際，120 mg/kg/日群の雄5例のうち2例（QTc の平均値 +29 ms）及び雌5例のうち4例（QTc の平均値 +80 ms）で心室再分極延長（QT 及び／又は QTc 間隔）がみられた。これらのうち雌4例は，Day 13に死亡が確認された1個体及び13日目に安楽死させた3個体であった。これら QTc 延長がみられた雌雄の曝露 C_{max} は5.64～12.6 µmol/L の範囲にあった（平均値としては雌雄それぞれ7.43及び7.52 µmol/L）。

120 mg/kg/日群の生存例では，赤血球と関連パラメータの軽微から軽度の増加及び網状赤血球数の減少がみられたが，その後の休薬期間中に部分的から完全な回復がみられた。また，ALT の中等度から重度の増加（個体別に投与前値の4.3～29 倍），並びに AST，ALP，γ-GTP 及び総ビリルビンの軽度から重度の増加（個体別に投与前値の2～16 倍）がみられたが，その後回復した。病理組織学的検査では，肝臓及び脾臓に軽微から中等度の髄外造血及び色素沈着マクロファージが観察され，休薬期間終了時にも軽度から重度のうっ血がみられた。

本試験の MTD は，60 mg/kg/日（42日目における $AUC_{0\text{-}24h}$ は，37.3［雄］及び37.8［雌］µmol/L•h）と考えられた。

2.6.6.3.3.3 ビーグル犬を用いた4週間試験（2週間回復性試験）

（資料番号4.2.3.2-9）

4群のイヌ（3例／性／群）に，エヌトレクチニブを0，15，30又は60/45 mg/kg/日の用量で連日4週間経口投与した。また，2週間の回復期間後の回復を評価するため，対照群及び60/45 mg/kg/日群に2例／性／群を設定した。60/45 mg/kg/日群では，嘔吐及び液状便といった有害作用と判断できる一般症状，摂餌量減少，体重減少及び9日目に雌1例の死亡が認められたため，60 mg/kg の用量で8日間投与した後，休薬日をおき，その後15日目より45 mg/kg/日の用量で14日間投与した。

60 mg/kg/日群の雌1例が9日目に死亡発見され，死亡前の一般状態観察では糞便の異常（液状，粘液性及び／又は異常な便）がみられた。死因を確定できなかったが，同群で投与終了時に屠殺した他の動物と同様の所見（直腸の粘膜皮膚接合部にみられたびらん／潰瘍）が認められた。他に肝壊死及び肝細胞萎縮がみられたが，被験物質による直接的な影響というよりは死戦期における変化と考えられた。

15 mg/kg/日以上：15 mg/kg/日以上の雄及び15及び30 mg/kg/日の雌で皮膚及び皮下織において皮膚の損傷，退色，痂皮及び／又は炎症がみられ，対応する病理組織学的所見として，潰瘍，表皮肥厚，過角化，皮膚線維症，単核細胞浸潤及び好中球浸潤が認められた。これらの変化は回復性を示した。

対照群と比較して，雌では25日目の投与4時間後に，QTc 間隔延長が，15 mg/kg/日（+10 msec，4%），30 mg/kg/日（+23 msec，10%）又は60/45 mg/kg/日（+22 msec，9%）で認められた。QTc 間隔延長は，休薬11日目にも引き続き60/45 mg/kg/日の雌の生存例1例でみられたが，対照群の雌でも休薬期間中に QTc 間隔延長が認められた。これらの雌にみられた変化は生理学的に重要ではあるものの，軽度であり，有害な変化ではないと判断された。なお，雄においては，いずれの投与用量，検査日においても，用量に依存した QTc 間隔延長は認められなかった。

臨床病理学的変化は，30 mg/kg/日以上の雄及びすべての用量の雌でみられた炎症反応に特徴付けられるものであり，皮膚及び直腸の粘膜皮膚接合部の病変に関連付けられた。具体的には，白血球数，好中球数，単球数，好酸球数及び大型非染色細胞数の軽微から軽度の増加並びにフィブリノゲン濃度の軽度から中等度の増加であった。更に，血小板数増加が60/45 mg/kg/日の雄及びすべての用量の雌でみられた。

30 mg/kg/日以上：液状便がみられたが，60/45 mg/kg/日と比較して30 mg/kg/日の発現頻度は

低かった。臨床病理学的には，30 mg/kg/日以上の雄及び60/45 mg/kg/日の雌における赤血球量の減少並びに30 mg/kg/日以上におけるコレステロール濃度の軽度増加がみられた。

肝重量の増加が30 mg/kg/日以上でみられたが，関連する病理組織学的所見及び／又は血液生化学的変化は認められなかった。

直腸のびらん／潰瘍が30 mg/kg/日以上でみられた。休薬期間には，直腸の所見は認められなかった。肺では，30 mg/kg/日以上で，誤嚥によると考えられる変化（軽微から中等度の混合型細胞浸潤，軽微な肉芽腫性炎症及び軽度の細気管支－肺胞上皮過形成）がみられた。

60/45 mg/kg/日：嘔吐及び／又は液状便が，60/45 mg/kg/日で他群と比較して高頻度にみられた。

血清蛋白質の変化として，アルブミン濃度の軽度から中等度の減少及びグロブリン濃度の軽度から重度の増加，その結果としてのアルブミン：グロブリン比の低下及び総蛋白濃度の増加が雌で認められた。アルブミン濃度の減少によるカルシウム濃度の軽度の減少が雌でみられた。

60/45 mg/kg/日の血清蛋白に関するパラメータ及びカルシウム濃度の変化は休薬期間終了時まで認められたが，それ以外の変化は回復性を示した。

以上の結果から，すべての用量で中等度以上を含む皮膚病変が観察され，臨床病理学的変化も認められたことから，NOAELは15 mg/kg/日未満と判断した（15 mg/kg/日群の28日目における雌雄合わせた $AUC_{0\text{-}24h}$ は，エヌトレクチニブが2.60 µmol/L•h，M5が4.87 µmol/L•h）。

2.6.6.3.3.4 ビーグル犬を用いた13週間試験（8週間回復性試験）

（資料番号4.2.3.2-10）

雌雄のビーグル犬（4～6例／性／群）に，エヌトレクチニブを0，7.5，15又は30 mg/kg/日の用量で13週間経口投与した後，8週間の休薬期間を設定した。

15 mg/kg/日群の雄1例に行動上の問題（スナッピング，噛みつきやもがきといった行動及び発声）がみられたため33日目に安楽死処置した。この動物は，25日目の投与後に白色泡状吐物，横臥，活動性低下，異常呼吸音及び呼吸数の増加（1分間あたり100回）といった誤嚥を示唆する症状を呈した。用量反応性がみられず，投与群の他の動物では類似した所見が認められなかったことから，この死亡はエヌトレクチニブに関連したものではないと考えられた。病理組織検査では，肺の右尾状葉に誤嚥性肺炎によると考えられる重度の慢性炎症がみられた。この動物におけるエヌトレクチニブに関連する病理組織学的変化は，投与終了時に計画屠殺した他の動物の所見と同様（直腸内の粘膜皮膚接合部の扁平上皮にみられた軽度のびらん／潰瘍）であった。

7.5 mg/kg/日以上：皮膚病変（炎症，痂皮／鱗状の皮膚，腫脹／隆起領域，足／肉球及び／又は鼠蹊部における退色領域，並びに前述の病変によって二次的に起こったと考えられる左右前肢及び／又は後肢の不自由）が観察された。これらの一般症状は，休薬期間終了時に回復性を示した。

以下の可逆性の臨床病理学的変化が炎症反応に関連してみられた：40及び90日目に7.5 mg/kg/日以上の雄における白血球数の軽微から軽度の増加（好中球数の軽微から軽度の増加による），40及び90日目に7.5 mg/kg/日以上の雄及び15 mg/kg 以上の雌における単球数の軽微な増加，40及び90日目に7.5 mg/kg/日以上の雄及び15 mg/kg 以上の雌に蛋白濃度の軽微な増加，アルブミン濃度の軽微から軽度の減少，グロブリン濃度の軽度の増加，アルブミン：グロブリン比の軽度から中等度の減少及びフィブリノゲン濃度の軽微から軽度の増加。7.5 mg/kg/日以上でカルシウム濃度の軽微から軽度の減少がみられたが，アルブミン濃度の減少に関連する可能性が考えられた。これらの血液学的及び血液生化学的変化は，直腸及び足や肉球の皮膚におけるびらん／潰瘍及び炎症，並びに肺の誤嚥性炎症といった病理組織学的所見に関連付けられた。

7.5 mg/kg/日以上の動物で，誤嚥に関連付けられる肺の所見（肺胞の混合型細胞炎症，慢性炎症及び／又は細気管支－肺胞上皮過形成）がみられた。同様の病変は対照群の肺にもみられ

たが，発現頻度及び重症度は明らかに低かった。

すべての病理組織学的変化は回復性を示した。

15 mg/kg/日以上：赤血球量（赤血球数，ヘモグロビン濃度及び／又はヘマトクリット）の軽度の減少が15 mg/kg/日以上の雌及び30 mg/kg/日の雄で40及び90日目に認められ，炎症反応に対する二次的な変化と考えられた。

エヌトレクチニブに関連して肛門及び肛門周囲の皮膚を含む直腸切片の粘膜皮膚接合部に軽微又は軽度の扁平上皮のびらん／潰瘍，及び／又は軽微な好中球浸潤がみられた。

30 mg/kg/日：エヌトレクチニブにより異常便（赤色又は黒色の液状便，粘液便及び／又は泥状便）が起こり，2例についてそれぞれ3及び6日目に投与中断した。これらの動物で体重及び摂餌量の減少もみられた。体重及び摂餌量の変化は休薬期間中に回復した。

肝重量増加及び前立腺重量減少が雄にみられたが，肉眼的及び病理組織学的所見を伴わず，回復性も示された。

以上の結果から，すべての用量で一般症状観察時に皮膚病変が観察され，病理組織学的検査により所見がみられた30 mg/kg/日では中等度以上の病変も確認され，すべての用量で臨床病理学的変化も認められたことから，NOAEL は7.5 mg/kg/日未満（7.5 mg/kg/日群の91日目における雌雄合わせた $AUC_{0\text{-}24h}$ は，エヌトレクチニブが1.87 µmol/L·h，M5 が2.55 µmol/L·h）と判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

エヌトレクチニブの遺伝毒性を評価するために実施した *in vitro* 及び *in vivo* で遺伝毒性試験を表 2.6.6.4-1に示す。

表 2.6.6.4-1 エヌトレクチニブの遺伝毒性試験

試験	試験系	用量/濃度	所見	資料番号
細菌復帰突然変異 (Ames，GLP)	ネズミチフス菌及び大腸菌	2.44-1250 µg/plate	変異原性：陰性	4.2.3.3.1-1
in vitro 小核予備 (非 GLP)	ヒト末梢血リンパ球	3.9-62.5 µg/mL	明らかな小核誘発性：陰性	4.2.3.3.1-2
in vitro 小核及び FISH (GLP)	ヒト末梢血リンパ球	小核: 3-25 µg/mL	S9 + /－ 4時間処理：陰性 15 µg/mL，S9－24時間処理：陽性	4.2.3.3.1-3
		FISH: 15 µg/mL（S9－24時間処理）	小核誘発は異数性誘発メカニズムによることが示唆された	
in vivo 小核及びコメット (GLP)	SD ラット	250，1000及び2000 mg/kg を3日間連日投与	肝臓における DNA 損傷：陰性，骨髄における小核誘発：陰性，	4.2.3.3.2-1

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，FISH = 蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション，SD = Sprague Dawley

2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

（資料番号4.2.3.3.1-1）

ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535，TA1537）及び大腸菌（WP2 uvrA）を用いて，エ

ヌトレクチニブの遺伝子突然変異誘発性をプレインキュベーション法にて評価した。すべての試験は，*in vitro* 代謝活性化系（S9）の存在下又は非存在下で実施した。

用量設定試験は，上記ネズミチフス菌及び大腸菌の5種菌株を用いて2.44～1250 μg/plate の濃度範囲で検討した。312.5 μg/plate 以上の濃度で析出が認められたため，本試験は，1.22～312.5 μg/plate の間の濃度で試験を実施した。Experiment I における抗菌性は，代謝活性化の非存在下では TA1535，TA98及び WP2 uvrA において上の2用量で認められたのに対し，TA100で9.76 μg/plate 以上，及び TA1537で4.88 μg/plate 以上から認められた。代謝活性化の存在下では，TA100，TA98及び WP2 uvrA において最高用量で認められたのに対し，TA1535で78.1 μg/plate 以上及び TA1537で39 μg/plate 以上から認められた。

結果として，代謝活性化系の有無にかかわらず，いずれの菌株のいずれの用量においても復帰コロニー数の用量依存性及び再現性のある増加はみられなかった。

したがって，この試験条件下において，エヌトレクチニブに変異原性はないと判断した。

2.6.6.4.1.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核予備試験

（資料番号4.2.3.3.1-2）

非 GLP 下で実施された本 *in vitro* 小核予備試験では，ヒト末梢血リンパ球を用いてエヌトレクチニブの小核誘発性を評価した。溶媒対照群と比較して，代謝活性化系の有無にかかわらず，小核を有する細胞の割合が，わずかに高値を示したが統計学的に有意な増加ではなかった。これらの結果から，エヌトレクチニブは，ヒト末梢血リンパ球に対して明らかな小核増加を誘発することはないと考えられた。

2.6.6.4.1.3 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション分析試験

（資料番号4.2.3.3.1-3）

GLP 下で実施された本 *in vitro* 小核試験は，ヒト末梢血リンパ球を用いてアロクロールで誘導した代謝活性化系（S9）の存在下又は非存在下で評価した。試験に用いた最高濃度は25（4時間/S9非存在下），20（4時間/S9存在下）及び15 μg/mL（24時間/S9非存在下）であった。15 μg/mL において，溶媒対照群と比較したとき，S9非存在下24時間曝露群における小核を有する細胞の割合（1.6%）は，有意に高かった。コクラン・アーミテージ検定でも用量反応性は有意であった。S9存在下又は非存在下の4時間曝露群では，溶媒対照群と比較したとき，いずれの濃度でも，小核を有する細胞の統計学的に有意な増加は認められなかった。

続いて蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション（FISH）分析を行った結果，S9非存在下24 時間，15 μg/mL の条件下において，エヌトレクチニブ処理群におけるセントロメア陽性小核の割合は81%であった。Clastogen 陽性対照 (Mitomycin C)と Aneugen 陽性対照 (Vinblastine)のセントロメア陽性小核の割合はそれぞれ29%と78%であり，エヌトレクチニブによる小核誘発は，異数性誘発メカニズムによることが示唆された。

この試験の結果に基づき，ヒト末梢血リンパ球を用いた S9非存在下24 時間処理条件下の *in vitro* 小核試験において，エヌトレクチニブの小核誘発能は陽性であることがわかった。続いて行った FISH 分析から，小核の誘発は，主として異数性誘発メカニズムを介して起こることが示された。

2.6.6.4.2 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.3 ラットを用いた小核試験とコメットアッセイ

（資料番号4.2.3.3.2-1）

エヌトレクチニブ0，250，1000又は2000 mg/kg/日を雄のラットに3日間連日経口投与し，肝細胞における DNA 損傷誘発性を調べるためコメットアッセイを，また骨髄における染色体異常誘発性あるいは異数性誘発能を調べるため小核試験を行い *in vivo* 遺伝毒性を評価した。

コメットアッセイにおけるエヌトレクチニブの肝細胞での反応は陰性（非 DNA 損傷性）であった。溶媒対照群と比較したとき，エヌトレクチニブを投与したラットからのいずれの標本においても，% Tail DNA に有意な増加は認められなかった。小核試験においては，溶媒対照群と比較して，エヌトレクチニブは，骨髄中に小核を有する多染性赤血球を有意に増加させることはなかった。

本試験条件下において，エヌトレクチニブは *in vivo* コメットアッセイ及び小核試験で陰性であると判断した。

2.6.6.5 がん原性試験

エヌトレクチニブは，進行がん患者の治療を意図した抗がん剤であることから，ICH S9ガイドラインに沿って，がん原性試験は実施していない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

エヌトレクチニブは進行癌の患者を対象としているため，ICH S9ガイドラインに沿って，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ていない。ラット及びイヌに最長3カ月間投与した反復投与毒性試験において，雌雄生殖器に及ぼす悪影響は認められなかった。ただし，状態悪化を伴わない最高用量の全身曝露量は，臨床曝露量に比べて同程度かそれ未満であったことから，本薬の雌雄生殖器に及ぼす影響を十分に評価できているとは言えない。なお，網羅的な文献検索の結果，TRKA, TRKB，TRKC 又は ALK を欠損したマウスにおいて，受胎能に対する明らかな悪影響を示す報告はなかった。また，いずれの標的分子に関しても，ヒトにおける遺伝子欠損又は loss of function に伴って受胎能及び初期胚発生が悪影響を受ける報告はみつからなかった。一方，ROS1 欠損マウスにおいては精子の形態異常，運動能低下及び不妊が報告されている[12), 13)]。以上のことを考慮すると，本薬が受胎能及び初期発生に悪影響を及ぼす可能性は完全には否定できないと考えられる。

予備試験を含むラットの胚・胎児発生に関する毒性評価を実施した。この試験では，エヌトレクチニブを妊娠雌ラットの妊娠6～17日に投与した。胚・胎児発生に関する試験（予備試験を含む）における $AUC_{0\text{-}24h}$ 及び臨床用量との曝露比の比較を表 2.6.6.6-1に示す。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する毒性試験成績において，明らかな影響が認められたため，非げっ歯類での2種目の動物を用いた試験は実施しなかった。

表 2.6.6.6-1 胚・胎児発生に関する試験における $AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値及び臨床用量との曝露比

種	試験［資料番号］	日	投与量 (mg/kg/日)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L•h)	ヒト MRHD における曝露[a]との比
ラット	胚・胎児発生［4.2.3.5.2-2］	妊娠6～17日	12.5	10.2	0.2
			25*	19.2	0.4
			50	41.5	0.9
			200	127	2.6

$AUC_{0\text{-}24h}$ =血漿中濃度–時間曲線下面積（投与後24時間）；MRHD = 最高推奨臨床用量
[a] MRHD（600 mg）における AUC の平均値：48.0 μmol/L•h（RXDX-101-01試験の F2A 製剤投与群から算出）
* 用量設定試験［4.2.3.5.2-1］の結果から引用

2.6.6.6.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する予備試験

（資料番号4.2.3.5.2-1）

本非 GLP 試験の胚・胎児発生に関する用量設定試験では，エヌトレクチニブを25，50，100及び200 mg/kg/日の用量で妊娠雌ラット（8例／群）の妊娠6～17日に投与した。摂餌量の減少

を伴わない母動物の平均体重増加量の減少が200 mg/kg/日の用量で投与期間中にみられ，同群におけるネット母動物体重（母動物体重－妊娠子宮重量）の減少につながった。平均胎児体重の減少が全用量群（統計学的有意差は100 mg/kg/日以上の群のみ）でみられ，妊娠子宮重量の減少と相関した。いずれの用量でもエヌトレクチニブによる胎児の外表異常及び発生変異は認められなかった。これらの結果に基づき，本試験の用量を12.5，50，200 mg/kg/日に設定した。

2.6.6.6.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

（資料番号4.2.3.5.2-2）

GLP 下で実施した胚･胎児発生に関する試験では，エヌトレクチニブ12.5，50及び200 mg/kg/日を妊娠雌ラット（25例／群）に，妊娠6から17日まで（器官形成期），1日1回投与した。それぞれの雌について妊娠20日に帝王切開を実施した。評価項目には生死確認，一般状態観察，体重，摂餌量，子宮・胎盤及び卵巣の観察，胎児数，早期及び後期吸収胚数，総着床数，黄体数，妊娠子宮重量，ネット体重並びにネット体重変化を含めた。胎児の体重を測定して性別を確認し，外表，内臓及び骨格異常及び発生変異の有無を調べた。更に TK を評価するため，対照群4例及び各投与群8例を TK 評価群に追加して割り当てた。TK は妊娠6日目及び17日目に評価し，妊娠ラットの曝露を表 2.6.6.6-1に示した。全例の TK 評価動物でエヌトレクチニブ及びM5の曝露が示された。ごく軽度から中等度の蓄積がみられ，エヌトレクチニブの曝露量は12.5 mg/kg/日から50 mg/kg/日までは用量に比例すると考えられたが，50 mg/kg/日から200 mg/kg/日にかけては用量比を下回った。非妊娠ラットと同様に，代謝物 M5は循環中において微量成分であった。

雌の全例とも計画剖検時まで生存した。鼻周囲の赤色物質の発現頻度増加が，200 mg/kg/日で主に妊娠13～20日に認められた。12.5及び50 mg/kg/日では特筆すべき臨床症状はみられなかった。

摂餌量低下に伴って平均体重減少（最大で8.5%の減少）及び平均体重増加量減少が200 mg/kg/日で認められた。これらの影響はエヌトレクチニブ投与と関連性があり毒性変化と考えられた。投与終了後の200 mg/kg/日における平均体重増加量は対照群と同程度であったが，妊娠20 日齢の平均体重には引き続き8.1%の減少がみられた。12.5 及び50 mg/kg/日では，体重パラメータ，妊娠子宮重量及び摂餌量に影響は認められなかった。

50 及び200 mg/kg/日で，用量依存性の胎児体重減少が認められ（最大でそれぞれ10.8%及び35.9%），毒性変化と考えられた。胎児低体重は200 mg/kg/日で認められた妊娠子宮低重量に相関した。12.5 mg/kg/日でも平均胎児体重は低かった（最大で5.4%）が，その値は試験施設の背景対照データベースにおける値の範囲内（範囲の下限ではあったが）であった。また，この群では，発生の遅延を示唆するエヌトレクチニブ関連の胎児形態学的所見又は胎児骨形成障害は認められなかった。したがって，12.5 mg/kg/日における胎児体重の低値は毒性変化ではないと考えられた。いずれの用量においても，子宮内胎児生存への影響は認められなかった。

200 mg/kg/日では外表及び骨格異常が観察され，エヌトレクチニブ投与に関連すると考えられた。それらの所見は，臍帯ヘルニア，腹壁破裂，小肢症，無指症，索状尾，限局性胎児浮腫，四肢骨弯曲及び肋骨異常を伴う椎骨異常であった。また，骨格発生変異の平均同腹仔比率増加が，50 及び／又は200 mg/kg/日で用量依存性にみられた。所見としては，肋骨弯曲，頭蓋骨骨化度低下，第5及び／又は第6胸骨分節未骨化，椎弓骨化度低下，肋骨骨化度低下，胸骨分節配列異常（軽度又は中等度），第1，2，3及び／又は4胸骨分節未骨化，坐骨未骨化，恥骨未骨化並びに肩甲骨弯曲が観察された。骨化度低下は胎児体重減少と関連付けられた。12.5 及び50 mg/kg/日ではエヌトレクチニブ関連の異常はみられず，12.5 mg/kg/日（$AUC_{0\text{-}24h}$ =10.2 µmol/L•h）ではエヌトレクチニブ関連の発生変異は認められなかった。

以上，母動物毒性は200 mg/kg/日で明らかであり，エビデンスとして臨床症状，体重パラメータの減少及びそれに対応する摂餌量低下が，概ね妊娠期間を通して観察された。母動物毒性

に関する NOAEL は50 mg/kg/日であり，この用量での平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ は41.5 μmol/L•h であった。胎児体重の低値が50及び200 mg/kg/日でみられた。また，エヌトレクチニブに関連した胎児の外表・骨格異常が200 mg/kg/日でみられた。これらの結果に基づくと，胚･胎児発生毒性に関する NOAEL は12.5 mg/kg/日と考えられ，この用量での母動物の曝露平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ は10.2 μmol/L•h であった。

2.6.6.7 新生児を用いた毒性試験

エヌトレクチニブの発達に対する影響を評価するため，ラットを用いて幼若毒性試験を実施した。13週間毒性試験の用量設定のため，幼若ラットの6日間忍容性試験並びに4週間用量設定試験を実施した。

2.6.6.7.1 幼若ラットを用いた6日間忍容性試験

（資料番号4.2.3.5.4-1）

本忍容性試験では，幼若雌 SD ラットに，25，50及び100 mg/kg/日の用量でエヌトレクチニブを単回強制経口投与（出生後7日）又は6日間反復強制経口投与（出生後7から12日）した。評価項目には，生死確認，一般状態観察，体重，剖検及び TK 解析を含めた。

単回投与したラットでは，いずれの用量でも一般症状及び体重に異常は認められなかった。

反復投与の25 mg/kg/日では，一般症状及び体重に異常は認められなかった。

反復投与の50 mg/kg/日では，皮膚の光沢が減弱したことから軽度の脱水が疑われた。中等度の体重増加抑制がみられた。

反復投与の100 mg/kg/日では，皮膚の光沢が減弱しており軽度から中等度の脱水が疑われ，触った際に低温を呈した。顕著な体重減少がみられた。

2.6.6.7.2 幼若ラットを用いた4週間用量設定試験

（資料番号4.2.3.5.4-2）

本用量設定試験では，幼若 SD ラットに，0，25，50及び75 mg/kg/日の用量（主群：6例／性／群，TK 群：27例／性／群［対照群は6例／性／群］）で出生後7から34日にエヌトレクチニブを反復強制経口投与した。評価項目には，生死確認，一般症状観察，体重，摂餌量，臨床病理学的検査（血清生化学，血液学及び凝固系検査），剖検，臓器重量測定及び TK 解析を含めた。

すべての用量で死亡が認められ，75 mg/kg/日群では出生後15から17日に，50 mg/kg/日群では出生後21から22日に中止した。対照群及び25 mg/kg/日群の生存動物は，出生後34及び35日に剖検した。死亡又は安楽死処置は，75 mg/kg/日群で8例，50 mg/kg/日群で3例，25 mg/kg/日群で1例に認められた。

25 mg/kg/日以上で，出生後10～14日から有害な一般症状（活動性低下及び脱水症状が疑われる所見［皮膚の光沢の減弱］）がみられた。出生後13又は14日から，25及び75 mg/kg/日の雄で用量非依存性に削痩がみられた。出生後20日から，25及び／又は50 mg/kg/日で歩行異常，協調運動障害及び閉眼又は部分的な閉眼が観察された。

エヌトレクチニブ投与による平均体重及び平均体重変化量の減少がすべての用量の雌雄で認められた。平均体重は，75，50及び25 mg/kg/日で対照群と比べてそれぞれ最大52，48及び30%減少した。50及び75 mg/kg/日群は離乳前に中止したため，対照群及び25 mg/kg/日群でのみ摂餌量を測定した。その結果，25 mg/kg/日では，試験最終週（出生後28から34日）に，対照群と比べて雄で25.3%，雌で46.7%の減少がみられた。他には，赤血球系及び白血球系パラメータの減少，血清蛋白質の変化（アルブミン，総タンパク及びグロブリンの軽度減少）等が25 mg/kg/日の雌雄で認められた。

剖検では，エヌトレクチニブによる変化は認められなかったものの，絶対臓器重量並びに体

重比及び脳比重量の減少が，平均体重及び平均体重変化量の減少を反映して認められた。
本試験の MTD は，最低用量の25 mg/kg/日より下であった。

2.6.6.7.3 幼若ラットを用いた13週間試験（4週間回復性試験）

（資料番号4.2.3.5.4-3）

本試験では，幼若 SD ラットに，0，4，8及び16 mg/kg/日の用量で出生後7から97日にエヌトレクチニブを反復強制経口投与するとともに，出生後125日まで4週間の休薬期間を設定した。試験実施に際して動物を4つのサブグループ（主群：10例／性／群，神経病理組織評価群：5例／性／群，回復群：20例／性／群，TK 群：24例／性／群［対照群は6例／性／群］）に分けた。本試験では，以下のパラメータ及びエンドポイントを評価した：生死確認，一般症状観察，体重，摂餌量，性成熟，眼科学的検査，神経行動学的評価（機能観察総合評価［FOB］，運動性，聴覚性驚愕馴化及びモリスの水迷路），臨床病理学的検査（血清生化学，血液学，凝固系及び尿検査），剖検，臓器重量測定，大腿骨長測定，病理組織学的・神経病理組織学的検査及び TK 解析。神経病理組織学的検査には，脳（形態学的評価を含む），脊髄，ガッセル神経節，第5脳神経，眼球，背側神経節及び脊髄神経，末梢神経並びに骨格筋の切片の評価が含まれ，詳細な評価のために，hematoxylin and eosin 染色に加えて，luxol fast blue-cresyl violet（LFB-CV），Bielschowsky 鍍銀及び Fluoro-Jade B 染色を実施した。

血漿中薬物曝露量は，出生後7日において概ね用量比例的に増加し，出生後97日には成長に伴うクリアランスの増加を反映して中等度に減少した。出生後97日における血漿中薬物曝露量は，成熟ラットの結果と概ね同程度であった。

エヌトレクチニブによる死亡又は安楽死処置が，16 mg/kg/日群の雄2例及び雌1例で認められた。しかしながら，これらの動物では病理組織学的に投与に関連する変化は観察されず，同群の他の動物と同様の一般症状を示した。

4 mg/kg/日以上：一般症状として，部分的な閉眼，立毛，脱水症状（皮膚の光沢の減弱），皮膚における痂皮等の所見，被毛の減少又は消失，並びに被毛の着色（赤，橙又は黄色）がすべての用量にみられた。エヌトレクチニブによる成長遅延（体重増加抑制）が，平均摂餌量の減少に一致してすべての用量の雌雄で認められ，8 mg/kg/日以上では有害な作用と考えられた。その結果，回復期間を通じた平均体重の低値傾向がすべての用量の雄及び16 mg/kg/日の雌で認められた。雌雄の性成熟遅延が成長遅延に一致してすべての用量で認められた。FOB では，部分的閉眼，立毛，前後肢握力及び／又は着地開脚への影響が4 mg/kg/日以上の雄及び8 mg/kg/日以上の雌で投与期間又は回復期間中にみられた。これらの所見は，概ね成長遅延によると考えられた。

エヌトレクチニブによる血液学及び血液生化学的変化がすべての用量で認められたが，いずれも軽微から軽度な変化であった。血液学的検査では，赤血球量の減少がすべての用量の雌雄で認められ，出生後128日においても8 mg/kg/日以上の雄及びすべての用量の雌で認められた。血液生化学的検査では，すべての用量の雄及び16 mg/kg/日の雌で尿素窒素の増加，8 mg/kg/日以上の雄でクレアチニンの増加，すべての用量の雄でトリグリセリドの減少及びカルシウムの減少を伴うアルブミンの減少，並びに16 mg/kg/日の雄で血糖値の減少が認められたが，動物の一般状態（脱水及び摂餌量の減少）による二次的な変化と考えられた。

脾重量の増加が，病理組織学的な髄外造血亢進に一致して，すべての用量の雄及び16 mg/kg/日の雌でみられ，休薬期間終了時に部分的に回復した。投与期間終了時の病理組織検査では，皮膚病変（角化亢進，真皮の線維化，表皮の過形成，真皮における炎症性単核細胞浸潤及びクラスト）がすべての用量の雌雄で認められたが，休薬期間終了時には回復した。脾臓及び皮膚病変は，概ね軽微又は軽度であったため有害な作用ではないと判断した。

8 mg/kg/日以上：一般症状として，非持続性痙攣，異常歩行，活動性低下，振戦，円背位，

皮膚の蒼白化，呼吸困難，衰弱，うずくまり及び呼吸数の増加が観察されたが，休薬後に概ね回復した。水迷路試験では，出生後80から96日の評価において，8 mg/kg/日以上の雄及び16 mg/kg/日の雌でゴールとなる逃避台に到達する時間の延長が認められた。逃避台を取り去って実施したプローブテストでは，16 mg/kg/日の雄で逃避台があった4分割の象限に滞在する時間が短くなった。休薬期間の評価（出生後118から125日の間に実施）では，雄で逃避台に到達する時間に差は認められなかったものの，雌では16 mg/kg/日で逃避台に到達する時間の延長が認められた。また，8 mg/kg/日以上の雌で逃避台があった象限に滞在する時間の短縮が認められた。これらの所見は，概ね成長遅延によると考えられた。なお，詳細な神経病理組織学的検査では，異常は認められなかった。

16 mg/kg/日：大腿骨長の減少が投与期間及び休薬期間終了時に認められたが，病理組織学的変化を伴わなかった。この変化は成長遅延の二次的な変化と考えられた。

エヌトレクチニブ投与により，8 mg/kg/日で幼若ラットは忍容性を示したが，16 mg/kg/日では死亡がみられた。痙攣，振戦，歩行異常及び活動性低下といった中枢神経症状が8 mg/kg/日以上で観察され，有害作用と考えられたが，回復性があり，中枢神経系の病理組織学的変化を伴わなかった。更に，体重増加抑制，摂餌量減少，大腿骨長の減少，性成熟遅延，神経行動学的検査における反応時間の延長によって示される成長発達遅延及び赤血球系パラメータの減少を伴う皮膚病変がすべての用量で認められた。これらの結果に基づき，NOAELは4 mg/kg/日未満（出生後97日における $AUC_{0\text{-}24h}$ は2.2［雄］及び3.1［雌］μmol/L•h），MTD は8 mg/kg/日（出生後97日における $AUC_{0\text{-}24h}$ は5.8［雄］及び8.1［雌］μmol/L·h）と考えられた。

2.6.6.8 局所刺激性試験

2.6.6.8.1 ウサギを用いた皮膚刺激性試験

（資料番号4.2.3.6-1）

ニュージーランドホワイトウサギの無傷の皮膚に エヌトレクチニブ500 mg を単回塗布（4時間）したとき，刺激性はみられなかった。

2.6.6.8.2 ウサギを用いた眼刺激性試験

（資料番号4.2.3.6-2）

ニュージーランドホワイトウサギの眼に エヌトレクチニブ100 mg/眼を単回適用（1時間）したとき，一過性の刺激反応がみられた。これらの影響は7日以内に完全に回復した。

2.6.6.9 その他の毒性試験

2.6.6.9.1 光毒性試験

2.6.6.9.1.1 3T3 マウス線維芽細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験

（資料番号4.2.3.7.1-1）

BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞をエヌトレクチニブと紫外線に曝露させ *in vitro* ニュートラルレッド取込み光毒性試験（3T3 NRU PT）を実施した結果，PIF（Photoirritancy factor）と MPE（Mean photo effect）に基づきエヌトレクチニブには光毒性の可能性があることが判明した。

2.6.6.9.1.2 有色ラットを用いた *in vivo* 光毒性試験

（資料番号4.2.3.7.1-2）

GLP 適用 *in vivo* 光毒性追加評価試験において，眼及び皮膚に対するエヌトレクチニブの光毒性の有無を，ラットを用いて評価した。雌 Long-Evans 有色ラット（5例／群）に，エヌトレクチニブを0，50，100又は200 mg/kg/日の用量で1日1回3日間連日投与し，3回目投与の約5時間15分後に UV 照射（UVR：紫外線 A，紫外線 B 及び可視光線）又はシャム照射（200 mg/kg/日群のみ）を行った。光毒性を示唆する皮膚及び眼の所見を誘発することが知られている8-メト

キシソラレン（8-MOP）を比較対照物質として使用した。動物をUVR又はシャム照射後3日間観察し，初回投与から6日目に剖検した。皮膚反応の評価は，UVR前，UVR又はシャム照射の約1及び4時間後並びにUVR又はシャム照射後3日間にわたって1日1回以上実施した。眼科学的検査を，投与前及びUVR又はシャム照射の3日後に実施した。眼の病理組織学的検査を行った。

皮膚検査では光毒性を示唆する皮膚反応は検出されなかった。UVRを行った200 mg/kg/日群のラット1例で，非着色皮膚部位におけるグレード1の紅斑（かろうじて見える淡紅色）及びグレード1の浮腫（軽度の1 mm未満の隆起）が，UVR当日のみに観察された。この所見は1例のラットのみで単発的にみられ，光毒性を示唆する他の皮膚又は眼の反応を伴わなかったことから，明確に光毒性を示唆するものではないと考えられた。対照的に，8-MOP投与群では，3例のラット全例で光毒性を示唆する皮膚反応が示され，試験法の信頼性が確認された。

眼科学的検査では光毒性を示唆するエヌトレクチニブ関連の所見はみられなかった。一方，8-MOP群の3例のラット全例で，両眼にびまん性の角膜浮腫が認められ，角膜浮腫によって内部構造が不明瞭となった。エヌトレクチニブ群の病理組織学的検査では，角膜固有質における好中球浸潤の発現頻度及び／又は重症度の増加並びに角膜上皮の単細胞壊死が，UVR有り条件下の100 mg/kg/日及びUVR有り及び無し条件下の200 mg/kg/日に認められた。これらの所見は被験物質関連の影響を示唆するものであったが，8-MOP投与ラットで示されたような生体異物誘発性の光眼毒性による病理組織学的変化（角膜上皮の空胞化，角膜内皮の消失及び水晶体の組織変化）とは異なっていた。したがって，眼におけるこれらの顕微鏡所見は，光毒性を示唆するものではないと考えられた。

以上，エヌトレクチニブをLong-Evansラットに投与した後，単回UVRを実施したところ，明らかな皮膚反応又は眼科学的所見及び眼の病理組織学的所見はみられなかったことから，エヌトレクチニブに光毒性はほとんど又は全くないと結論された。しかし，角膜固有質及び上皮にみられた顕微鏡所見は，エヌトレクチニブ関連の影響を示唆するものであった。

2.6.6.9.2 不純物の毒性試験

79個のエヌトレクチニブ関連不純物について，ICHガイドラインM7（潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中DNA反応性［変異原性］不純物の評価及び管理ガイドライン）に準拠した2つの（Q）SAR評価方法（専門的経験に基づくルールベースの方法及び統計ベースの方法）からなる最新版のDerek Nexus及びLeadscope Model Applierを用いて*in silico*による変異原性評価を行った。*In silico*で陰性（クラス5）であった化合物は，非変異原性不純物と判断した。*In silico*で陽性（クラス3）であった化合物は，TTC（毒性学的懸念の閾値）アプローチ下で管理されるか，Amesアッセイによって評価された。表 2.6.6.9.2.1-1に示された6化合物についてAmesアッセイを実施した結果，陰性であったことから，非変異原性不純物と判断した。

ICHガイドライン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），ICHガイドライン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）による評価が必要となる閾値を超えた不純物は無かったが，開発中に検出された*不純物Gについてはラット4週間試験を実施した。

2.6.6.9.2.1 不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験

（資料番号4.2.3.7.6-2，4.2.3.7.6-3，4.2.3.7.6-4，4.2.3.7.6-5，4.2.3.7.6-6及び4.2.3.7.6-7）

*不純物A，*不純物B，*不純物Cに関しては，細菌を用いた復帰突然変異試験において，ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535，TA97）及び大腸菌（WP2 uvrA）を用いて，アロクロールで誘導したラット肝S9による代謝活性化系の存在下又は非存在下で各被験物質を評価した。各被験物質の最高濃度は，1プレートあたり1000 µgとした。アッセイは，6ウェルプレートを用いたプレート変法により実施した。*不純物D，*不純物E，*不純物Fに関しては，ネズミチフス菌（TA97, TA98, TA100, TA1535及びTA102）を用いて，

*新薬承認情報提供時に置き換え

ß-Naphthoflavone/Phenobarbital で誘導したラット肝 S9による代謝活性化系の存在下又は非存在下で各被験物質を評価した。各被験物質の最高濃度は，1 well あたり5000 µg とした。これらの試験結果を表 2.6.6.9.2.1-1に示す。

表 2.6.6.9.2.1-1 不純物の細菌を用いた復帰突然変異試験

不純物	試験系	濃度	資料番号	GLP	結果
*不純物A	ネズミチフス菌及び大腸菌（代謝活性化あり／なし）	1000 µg/well まで	4.2.3.7.6-2	適	陰性
*不純物B			4.2.3.7.6-3	適	陰性
*不純物C			4.2.3.7.6-4	適	陰性
*不純物D	ネズミチフス菌（代謝活性化あり／なし）	5000 µg/plate まで	4.2.3.7.6-5	適	陰性
*不純物E			4.2.3.7.6-6	適	陰性
*不純物F			4.2.3.7.6-7	適	陰性

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

本アッセイの結果，S9の存在下／非存在下にかかわらず，評価したいずれの試験株においても陽性の変異原性反応はみられなかったことから，検討したすべての不純物は，細菌を用いた復帰突然変異試験において陰性であることが示された。

2.6.6.9.2.2 *不純物G のラットを用いた4週間経口投与毒性試験

（資料番号4.2.3.7.6-1）

エヌトレクチニブの周辺物質の分解物であり，開発中に高レベルで検出された不純物の*不純物G を評価するため，ラット4週間試験を実施した。

*不純物G を0，0.33又は1.0 mg/kg/日の投与量で雌雄ラット（10例／性／群）に4週間経口投与したところ，忍容性は良好であった。本試験のすべての用量群で *不純物G による影響はみられなかったことから，ラットに4週間経口投与した際の*不純物G の NOAEL は，1.0 mg/kg/日であった。

2.6.6.9.3 ビーグル犬を用いた中枢神経系及び QT 延長に関する探索的試験

（資料番号4.2.3.7.7-1）

エヌトレクチニブを全身曝露させた4週間間欠投与試験において中枢神経系症状及び QT 延長が観察されたことから，これらの時間／用量依存性について検討するため本探索的試験を実施した。雌のイヌ（4例／群）にエヌトレクチニブ80 又は120 mg/kg/日を1日1回，7日間経口投与し，これに引き続き11日間の回復期間を設定した。臨床症状のモニタリングを毎日行い，ECG の記録を投与前2 回及び1，4，7（投与約4時間後），8，9及び11日目に記録した。Day 1，4 及び7の血漿検体を用いてエヌトレクチニブの測定を行った。

曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）にはばらつきがあったが，エヌトレクチニブの用量とともに増加した。反復投与後には明らかな蓄積がみられ，4日目で定常状態に達した。

この試験では死亡はみられなかった。80 mg/kg/日を7日間投与したとき，中枢神経系への有害作用は認められなかった。120 mg/kg/日群では4例のうち2 例に中枢神経系への有害作用が認められた。7から12日目まで，振戦，活動性低下，よろめき歩行及び前後肢の軽度から中等度の協調運動障害が1 例でみられた。10～11日目に他の1例で前後肢の軽度から中等度の協調運動障害及びよろめき歩行がみられた。

すべての個体で軽度から重度の消化管毒性症状（軟便，下痢）がみられたが，休薬後2～3日以内に回復した。中枢神経系への有害作用がみられた120 mg/kg/日群の2例では，これらの症

*新薬承認情報提供時に置き換え

状の頻度及び重症度が高かった。また，120 mg/kg/日群では嘔吐が散発的に観察された。

すべての個体で用量依存性を伴わない軽微から軽度の体重の減少（漸進性）がみられた。中枢神経系への有害作用がみられた120 mg/kg/日群の2例では，軽度から重度の摂餌量の低下が認められた。

120 mg/kg/日群の1例で（投与7日目の C_{max} = 7.08 µmol/L），8及び9日目に，QT 間隔及び QTc 間隔の中等度の延長（投与前値との比較）が認められた。11日目時点では QT 間隔及び／又は QTc 間隔への影響はみられなかった。

この試験条件下において，エヌトレクチニブ80 mg/kg/日を1日1回，7日間経口投与したとき，忍容性は良好であった。120 mg/kg/日投与群のうち，7日目の全身曝露量が C_{max} 4.2 µmol/L 以上，$AUC_{0\text{-}24h}$ 90 µmol/L•h 以上を示した2例では中枢神経系への有害作用がみられ，C_{max} が7.08 µmol/L，$AUC_{0\text{-}24h}$ が144 µmol/L•h を示した1例では QT 間隔延長がみられた。エヌトレクチニブ 120 mg/kg/日の4日以内の投与（4日目の曝露は，C_{max} 5.75 µmol/L 以下，$AUC_{0\text{-}24h}$ 103 µmol/L•h 以下）では中枢神経系への有害作用も QT 間隔の延長もみられなかった。

2.6.6.10 考察及び結論

エヌトレクチニブは，受容体型チロシンキナーゼである TRK 及び ROS1の強力な阻害剤であり，種々のがん種の治療を目的として開発されている。エヌトレクチニブは ALK に対しても阻害作用を有する。

TRK ファミリーメンバーは，成長過程及び成人の脳に高度に発現しており，TRK 由来の向神経性作用を通じて正常の中枢及び末梢神経細胞の発達及び分化に重要な役割を持つ。それらは，生体中の神経細胞の生存（又はプログラム細胞死の阻止）を制御し，機能を維持する。TRKA は中枢及び末梢神経系に発現するのに対して，TRKB 及び TRKC は末梢神経系には広範にはみられない[1)]。更に，血球，肺，骨，前立腺及び膵臓を含む多くの非神経系組織でも TRK の発現がみられる[2)]。

ROS1は，ALK と遠縁の関係にあり，両者ともインスリン受容体スーパーファミリーに属する。TRK 受容体と同様，ALK は脳の発達に重要な役割を持ち，神経系の特定のニューロンに作用する。ROS1の発現は，動物（鶏，マウス及びラット）では，腎臓，小腸，肺，心臓及び雄生殖器の上皮細胞に高度に限局してみられる一方，ヒトでは，成人の肺組織に高レベルで認められる。最近の研究結果から，ROS1が上皮組織の分化プログラムの重要な構成要素であるシグナリング・イベントを開始させることが示唆されている。

エヌトレクチニブは，GLP 及び ICH ガイドラインに準拠した反復投与毒性，遺伝毒性，生殖発生及び発達に対する影響並びに光毒性試験を含む包括的毒性プログラムにより評価した。不純物の遺伝毒性ポテンシャルを評価するために *in silico* 評価及び細菌を用いた復帰突然変異試験を実施した。また，開発中に高レベルで検出された不純物の評価のために当該不純物のラット4週間試験を実施した。

NOAEL 又は MTD における全身曝露及び最高推奨臨床用量（MRHD，600 mg）投与時の曝露との比較を表2.6.6.10-1に示した。

表 2.6.6.10-1 エヌトレクチニブの反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験とヒト臨床用量との曝露マージン

動物種	試験の種類	NOEL/NOAEL 又は MTD (mg/kg/日)	C_{max} [a] (μmol/L)	AUC [a] (μmol/L•h)	ヒト臨床用量との曝露マージン [b]	
					C_{max}	AUC
反復投与毒性						
ラット	4週間の間欠投与（2週間サイクル×2回）	MTD: 100	3.46 (雄) 6.44 (雌)	54.0 (雄) 111 (雌)	1.1 (雄) 2.1 (雌)	1.1 (雄) 2.3 (雌)
	4週間連日投与	NOAEL: < 25	< 1.17 (雄) < 1.51 (雌)	< 11.3 (雄) < 18.4 (雌)	< 0.4 (雄) < 0.5 (雌)	< 0.2 (雄) < 0.4 (雌)
	3カ月間連日投与	NOAEL: 7.5	0.631 (雄) 0.629 (雌)	5.98 (雄) 6.71 (雌)	0.2 (雄) 0.2 (雌)	0.1 (雄) 0.1 (雌)
イヌ	4週間の間欠投与（2週間サイクル×2回）	MTD: 60	2.98 (雌雄)	37.6 (雌雄)	1.0 (雌雄)	0.8(雌雄)
	4週間連日投与	NOAEL: < 15	< 0.384 (雌雄)	< 2.60 (雌雄)	< 0.1 (雌雄)	< 0.1 (雌雄)
	3カ月間連日投与	NOAEL: <7.5	< 0.251 (雌雄)	< 1.87 (雌雄)	< 0.1 (雌雄)	< 0.04 (雌雄)
生殖発生及び発達に対する影響						
ラット	胚・胎児発生	NOAEL: 12.5	0.82	10.2	0.3	0.2
ラット	13週間幼若毒性	NOAEL: < 4	< 0.343 (雌雄)	< 2.66 (雌雄)	< 0.1 (雌雄)	< 0.1 (雌雄)
		MTD: 8	0.763 (雌雄)	6.93 (雌雄)	0.2 (雌雄)	0.1 (雌雄)

MRHD：最高推奨臨床用量，NOAEL：無毒性量，MTD：最大耐量

[a] 定常状態における C_{max} ，$AUC_{0\text{-}24h}$ の平均値

[b] MRHD （600 mg）における C_{max} の平均値：3.13 μmol/L ，AUC の平均値：48.0 μmol/L•h （RXDX-101-01試験の F2A 製剤投与群から算出）

2.6.6.10.1 死亡

ラットの240 mg/kg 及びイヌの300 mg/kg 単回投与後には，死亡及び一般症状は認められなかった。

ラットでは，14日間試験の400 mg/kg/日において8日目に， 4週間間欠投与試験（2週間 × 2サイクル）の200 mg/kg/日において15日目に死亡が認められた。400 mg/kg/日では，呼吸困難，活動性低下及び協調運動障害といった症状に加えて，肝細胞壊死並びに造血・造リンパ系におけるリンパ球枯渇が死因と考えられた。4週間間欠投与試験（2週間 × 2サイクル）の200 mg/kg/日では，死亡は採血中に起こり，一般状態の悪化によると考えられた。また，4週間連日投与試験の100 mg/kg/日及び13週間投与試験の15及び30 mg/kg/日では，用量制限毒性である皮膚病変のため，投与期間終了前に安楽死処置した。

イヌでは，中枢神経系に対する影響が4週間間欠投与試験（2週間 × 2サイクル）の120 mg/kg/日群の雌で認められ，早期安楽死又は死亡の原因と考えられた。4週間連日投与試験の60 mg/kg/日で9日目に起こった死亡については，消化管毒性が死因と考えられた。

2.6.6.10.2 標的器官毒性

ラット及びイヌにおける主要な標的器官は，中枢神経系，皮膚，肝臓及び血液系であった。イヌでは，消化管への作用及び QT/QTc 間隔の延長も観察された。ラットでは，病理組織学的変化は，角膜，切歯，唾液腺及び腎臓にもみられた。

2.6.6.10.2.1 中枢神経系への影響

中枢神経系の一般症状所見が，反復投与後のラット及びイヌにみられた。

ラット：14日間試験において，200 mg/kg 日以上に協調運動障害が認められた。また，400 mg/kg/日に呼吸困難及び活動性低下がみられ，7日目に投与を中止した。4週間間欠投与試験（2週間 × 2サイクル）では，協調運動障害が200 mg/kg/日でみられた。神経行動学的評価（Irwin 変法，CTD 2.6.2.4.1参照）では，1日目に異常はみられなかったものの，14日目には200 mg/kg/日群の全動物に異常歩行がみられた。4週間連日投与試験では，100 mg/kg/日では24日目及び50 mg/kg/日以下では28日目（いずれも投与終了時）まで，中枢神経系症状は認められなかった。13週間試験では，30 mg/kg/日まで中枢神経系症状は認められなかった。

イヌ：14日間試験において，240 mg/kg/日の雌で，よろめき歩行と後肢の協調運動障害に加えて活動性低下がみられた。このうち1例では抑うつ及び間欠的な横臥が認められ，別の1例では軽度の振戦が認められたため，7日目に投与中止に至った。4週間間欠投与試験（2週間 × 2サイクル）では，60 mg/kg/日以上で中枢神経系症状がみられた。120 mg/kg/日で6日目から前後肢の協調運動障害，よろめき歩行，異常歩行，振戦，活動性低下及び抑うつを含む重度の中枢神経系症状が観察された。この群では，10（雌）及び11（雄）日目に投与を中止し，雌については13日目に1例が死亡し，3例を安楽死処置した。60 mg/kg/日では，1回目の投与サイクル終了時（13日目）に異常歩行，協調運動障害及び活動性低下がみられ，2回目の投与サイクル中に軽度から重度の活動性亢進及び常同行動が観察された。7日間反復投与探索的試験の120 mg/kg/日でも同様の所見，すなわち，振戦，活動性低下，よろめき歩行，軽度から中等度の前後肢の協調運動障害が7日目以降に1例で認められた。80 mg/kg/日を7日間，60 mg/kg/日を8日間，45 mg/kg/日を2週間，又は30 mg/kg/日を13週間投与した際に，中枢神経系症状は観察されなかった。

中枢神経系への影響は，ラットの14日間試験の100 mg/kg/日の雌1例で認められた影響を除き，概ね用量，期間及び全身曝露に関連していた。中枢神経系に対する最小影響量（LOEL）は，ラットで200 mg/kg/日（4週間間欠投与42日目雌雄平均 C_{max} 7.43 µmol/L），イヌで60 mg/kg/日（4週間間欠投与42日目雌雄平均 C_{max} 2.98 µmol/L）であった。中枢神経系症状は脳内エヌトレクチニブの検出と関連付けられたが（最終投与後24時間における脳組織中 − 血漿中本薬濃度比は， 4週間間欠投与試験［2週間 × 2サイクル］のラット及びイヌでそれぞれ0.57～1.1及び1.4～2.2［CTD2.6.4.4.4参照］），いずれの動物種においても脳に病理組織学的変化は認められなかった。

TRK ファミリーが成長過程及び成人脳において重要な役割を持つことを考えると，中枢神経系に対する影響は，エヌトレクチニブの薬理学的作用に関連すると考えられた。エヌトレクチニブの臨床試験では，神経学的有害作用が患者で報告されている。

2.6.6.10.2.2 皮膚への影響

皮膚の変化は病理組織学的変化を伴い，ラット及びイヌでみられ，用量依存性があった。両種ともに，血中白血球数の増加，フィブリノゲン及び血清蛋白質の増加が，皮膚の変化に対する炎症反応として認められた。

ラット：すべての反復投与試験において，頭，肩及び／又は頸部における痂皮及び潰瘍性皮膚炎から成る用量依存性の皮膚病変が7.5 mg/kg/日以上で認められ，病理組織学的には表皮肥厚，びらん／潰瘍，表皮表面の滲出液，血清細胞性クラスト，出血及び／又は混合細胞型炎症が観察された。皮膚の変化は用量制限毒性であり，4及び13週間連日投与試験では，高用量群の早期安楽死の原因となった。また，13週間投与試験では，15 mg/kg/日の投与中止の原因にもなった。炎症反応に関連付けられる臨床病理所見として，軽微又は軽度の白血球数（白血球，単球及び好中球）増加，フィブリノゲン及び／又はグロブリン濃度増加並びにアルブミン：グロブリン比低下が認められ，病理組織学的には，皮膚の炎症に加えて，脾臓の髄外造血亢進及び／又は骨髄細胞数の増加が関連所見として認められた。軽微な血小板数の増加は，炎症反応

に対する骨髄刺激の亢進として二次的に起こったものと考えられた。

イヌ：皮膚病変は，反復投与後に四肢及び眼瞼に認められたが，ラットの病変と比較して重症度は低かった。7.5 mg/kg/日以上において，びらん／潰瘍，表皮肥厚及び／又は皮膚の混合細胞型炎症から成る病理組織学的所見がみられ，血中白血球数，フィブリノゲン濃度及び血清蛋白質濃度の増加を伴っていた。

ラット及びイヌで観察された皮膚病変は，エヌトレクチニブの薬理学的作用である TRK 阻害に関連している可能性がある。TRK 欠損（-/-）マウスでは，TRK 阻害による知覚欠如に起因する全身性の皮膚病変（斑状の被毛及び痂皮）が報告されている[3)]。しかしながら，皮膚病変は，エヌトレクチニブの臨床試験では報告されていない。ヒト正常皮膚における TRK の発現レベルは低いあるいは非常に低いようであるが，一方でラットやイヌにおける発現レベルの報告はない。

2.6.6.10.2.3 血液系への影響

ラット及びイヌで白血球の増加及び赤血球系パラメータの減少を含む血液系への影響が認められた。病理組織学的には，脾臓及び肝臓における髄外造血の亢進及び骨髄の変化が関連して認められた。これらの変化は軽微から軽度で，用量依存性があり，重篤な変化にはならず，回復性を示した。皮膚の炎症及び／又は消化管の炎症（イヌ）に対する二次的反応と考えられたが，エヌトレクチニブによる骨髄に対する直接的な影響も否定できない。

ラット：血液学的変化が，14日間並びに4週間間欠及び連日投与毒性試験のすべての用量でみられた。13週間試験では，15 mg/kg/日以上で赤血球量（赤血球数，ヘモグロビン濃度及び／又はヘマトクリット）及びMCHCの軽微な減少，MCV 及びMCH の軽微な増加，網状赤血球の軽度から中等度の増加，白血球数（白血球，単球及び好中球）の軽微から軽度の増加並びに軽微な血小板数の増加がみられた。病理組織学的には，脾臓の髄外造血亢進及び骨髄の細胞数増加に関連付けられた。リンパ球枯渇が4週間連日投与試験の25 mg/kg/日以上で脾臓に，4週間間欠投与（2週間 × 2サイクル）の50 mg/kg/日以上で脾臓及びリンパ節に，14日間試験の200 mg/kg/日以上で脾臓，リンパ節及び胸腺にみられた。また，骨髄の細胞数減少が14日間試験の200 mg/kg/日以上で観察された。

イヌ：血液学的変化が，反復投与毒性試験のすべての用量でみられた。13週間試験では，15 mg/kg/日以上で白血球，好中球及び単球の増加が，赤血球量（赤血球数，ヘモグロビン濃度及び／又はヘマトクリット）の減少とともに認められた。病理組織学的には，30 mg/kg/日以上で肝臓及び脾臓における軽微から中等度の髄外造血亢進及び色素沈着マクロファージの増加，脾臓における軽度から重度のうっ血が観察された。4週間間欠投与試験の120 mg/kg/日群の死亡例では，脾臓のリンパ球枯渇及び骨髄の細胞数減少がみられた。

エヌトレクチニブの臨床試験では，血液学的な有害事象として，貧血，好中球減少，白血球減少等が報告されている。 非臨床における血液系への影響の原因として，皮膚及び／又は消化管における炎症が考えられたが，臨床では，本薬投与に関連する皮膚病変は報告されていない一方，消化管関連の有害事象としては，便秘，下痢，悪心及び嘔吐が認められている。発現機序としてエヌトレクチニブ による骨髄に対する直接的な影響も考えられる点，ラット及びイヌ13週間投与毒性試験における毒性発現時の投与量（15 mg/kg/日）における曝露とヒト臨床用量 600 mg における曝露との間に乖離が無い（C_{max} 及び AUC ベースで，ラットでそれぞれ0.3及び0.3倍，イヌでそれぞれ0.2及び0.1倍）点を考え合わせると，ヒトへの外挿性がある変化と考えられた。本リスクについては，添付文書等で注意喚起する予定である。

2.6.6.10.2.4 肝臓への影響

肝トランスフェラーゼ活性，総ビリルビン及び肝重量の増加がラット及びイヌで認められ，高用量では病理組織学的所見を伴った。

ラット：用量依存性の ALT 及び AST の増加が50 mg/kg/日以上で認められた。これらのトラ

ンスフェラーゼの増加は，雌雄ともに200 mg/kg/日以上における壊死／単細胞壊死を伴う肝細胞空胞化の発現率の増加に一致した。ビリルビンの増加は軽微から軽度であり用量依存性が明らかでなかったが，肝臓の胆管上皮における軽微から中等度の空胞化に関連付けられた。また，一部の例では軽微な胆管上皮過形成が認められた。

イヌ：ALT の中等度から重度の増加（4.3～29倍）並びに AST，ALP，γ-GTP 及び総ビリルビンの軽度から重度の増加（2～16倍）が，120 mg/kg/日の10又は11日間投与後にみられた。ALT の増加（2.4倍まで）が，60 mg/kg/日の14日間投与後にみられた。肝臓の病理組織学的所見として，30 mg/kg/日以上において色素沈着マクロファージの増加及び髄外造血の亢進，並びに60 mg/kg/日以上において軽微から軽度の肝細胞壊死がみられた。肝重量の増加が，4週間試験の60/45及び30 mg/kg/日群の雌雄並びに13週間試験の30 mg/kg/日群の雄に認められたが，病理組織学的所見を伴わなかった。なお，120 mg/kg/日投与で途中剖検となった一部の例では軽度の肝臓の胆管上皮過形成及び軽微から中等度の胆嚢上皮過形成がみられた。

ラット及びイヌを用いた毒性試験で認められた肝臓に対する影響は，主に肝傷害及び／又はそれに伴う肝トランスアミナーゼ活性の増加であり，進行性の悪性腫瘍を適応とするキナーゼ阻害剤でしばしば認められている[4),5)]。毒性発現時の曝露とヒト臨床曝露との間に乖離が無く，実際にエヌトレクチニブの臨床試験では肝トランスアミナーゼの増加が患者に認められている。本リスクについては，添付文書等で注意喚起する予定である。

ラット及びイヌで認められた肝内胆管及び／又は胆嚢上皮の過形成は，一般に胆管に対する直接的傷害又は胆汁うっ滞等を介した間接的傷害によって起こることが知られており[10)]，代謝物の影響も含めて薬剤投与による直接的な影響によって惹起された可能性が考えられた。ただし，当該所見が認められたラットを用いた4週間間欠投与毒性試験の200 mg/kg/日及びイヌを用いた4週間間欠投与毒性試験の120 mg/kg/日における曝露量の臨床曝露量に対する比は，2.4～3.3倍の範囲にあり，軽微から中等度の非臨床所見がみられた曝露との間に一定の乖離が認められている点，臨床試験においては過形成性胆嚢症等の事象は報告されていない点を考慮すると，現状の投与レジメンにおいては，ヒトへの外挿性は低いと考えられた。なお，これらの病変は，動物では，加齢等の原因により自然発生性に起こることが知られており[10), 11)]，微小環境の変化により比較的起こりやすい病態である。

2.6.6.10.2.5　消化管への影響

エヌトレクチニブの消化管に対する影響がイヌで認められた。嘔吐，下痢並びに体重及び摂餌量の減少が，14日間，4週間間欠投与試験（2週間 × 2サイクル），並びに4及び13週間試験の30 mg/kg/日以上において認められ，投与量の減少や投与中止の原因となった。病理組織学的には，肛門扁平上皮のびらん／潰瘍及び／又は直腸の好中球浸潤が15 mg/kg/日以上でみられた。臨床病理検査では，炎症に関連付けられる変化（好中球及びフィブリノゲンの増加並びに血清蛋白レベルの変化）が認められた。

イヌで認められたような消化管障害は，進行性の悪性腫瘍を適応とするキナーゼ阻害剤でしばしば認められている[4),6)]。毒性発現時の曝露とヒト臨床曝露との間に乖離が無く，実際にエヌトレクチニブの臨床試験でも便秘，下痢，悪心及び嘔吐が認められている。

2.6.6.10.2.6　QT／QTc 間隔の延長

In vitro において，エヌトレクチニブは0.6 μmol/L（非結合型として）の IC_{50}で hERG チャネルを阻害し，心血管系に対するリスクポテンシャルが示唆された。hERG データ（IC_{50}：0.6 μmol/L）から，QT 延長ポテンシャルとヒト（MRHD 600 mg）における非結合型の平均 C_{max}（0.0157 μmol/L［エヌトレクチニブの蛋白結合率を99.5 %として算出］）との間には38倍の乖離があった。

テレメトリー装着イヌにおいて，単回投与では，エヌトレクチニブ300 mg/kg まで ECG 間隔も含めた心血管系パラメータに影響を与えなかった（CTD 2.6.2.4.2.2参照）。

イヌ反復投与毒性試験におけるすべての心血管系評価は，単一測定時点に拘束下でマルチ誘導 ECG 測定により実施した。7日間探索的試験では，120 mg/kg/日群の1例に QT 及び QTc 間隔の中等度の延長が認められた（投与7日の C_{max} は7.08 μmol/L）。14日間試験において，QT 及び QTc 間隔の延長が240 mg/kg/日群の2例の雌に認められた（投与前値と比較して平均してそれぞれ+65及び+87 msec の変化）。4週間間欠投与試験（2週間 × 2サイクル）において，QT 及び QTc 間隔の延長が120 mg/kg/日（Cmax：雌雄それぞれ7.52及び7.43 μmol/L）に認められた（雌は10日目及び雄は11日目に測定）。この様に，エヌトレクチニブの曝露に依存した QTc 間隔の延長が認められた。

なお，4週間連日投与試験の15 mg/kg/日以上の雌において，QT 及び QTc 間隔の軽度延長（15，30及び60/45 mg/kg/日でそれぞれ+10，+23及び+22 msec）が認められたが（25日目に測定），これらの雌の変化は生理学的に重要ではあるものの，軽度であり，有害な変化ではないと判断された。また，本試験の雄では，QTc 間隔の延長は認められなかった。また，4週間連日投与試験と同様の15及び30 mg/kg/日群を有する13週間試験では，雌雄ともに，最高用量の30 mg/kg/日まで QT 及び QTc 間隔の変化は認められなかった（40及び90日目に測定）。

エヌトレクチニブの臨床試験では，QT 間隔の延長を含む心血管系関連の有害事象が認められていることから，添付文書等で注意喚起する予定である。

2.6.6.10.2.7　角膜への影響

有色ラットを用いた光毒性試験において，角膜固有質における好中球浸潤及び角膜上皮の単細胞壊死から成る病理組織学的所見が UVR 有り条件下の100 mg/kg/日及び UVR 有り及び無し条件下の200 mg/kg/日に認められ，エヌトレクチニブに関連する角膜への影響が示唆された。これらの所見は，8-MOP 投与ラットで示されたような生体異物誘発性の光眼毒性による病理組織学的変化とは異なっていたことから，光毒性を示唆するものではないと考えられた。なお，アルビノ SD ラット及びビーグル犬を用いた一般毒性試験では，角膜又は眼の病理組織学的所見はみられなかった。注目すべきは，眼科検査において，ラット4週間間欠投与試験（2週間 × 2サイクル）の100 mg/kg/日以上に片側又は両側性の角膜混濁領域が，4週間連日投与試験の50 mg/kg/日群の3例に角膜の剥離／白色沈着物が観察されたものの，関連する病理組織学的所見は認められなかった。

これらの角膜の所見の発生機序は，明確ではないが，TRK 欠損（-/-）マウスでは，まばたき反射に影響を与える知覚消失による角膜混濁が報告されていること[3]，Long-Evans ラットでは，麻酔注射により角膜病変が生じやすいとの報告があること[7]， 更に，エヌトレクチニブ投与によって惹起された皮膚病変に対するスクラッチング（角膜周囲の皮膚を引っ掻いた際に角膜に当たった可能性）に起因した変化の可能性が考えられた。

これらを考慮すると，エヌトレクチニブがヒトの角膜に影響を及ぼす可能性は低く，臨床試験の成績（角膜に関する有害事象の角膜びらん，角膜炎は，355例中各1例）を考慮しても，非臨床でみられた変化のヒトへの外挿性は低いと考えられる。

なお，眼への影響は，チロシンキナーゼ阻害作用を有する抗がん剤の非臨床及び臨床試験においてしばしば起こる副作用の一つとして報告されており[8]，本薬の臨床試験でも霧視，羞明，複視といった副作用が認められている。

2.6.6.10.2.8　胚・胎児への影響

エヌトレクチニブは，ラットに胚・胎児毒性を誘発した。妊娠ラットの器官形成期に相当する期間にエヌトレクチニブを投与した際，200 mg/kg/日において母動物に対する毒性発現下で胎児の外表及び骨格異常が認められた（MRHD 600 mg の $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して2.6倍）。用量依存性の胎児体重減少及び骨化遅延が50 mg/kg/日以上で認められた（MRHD の $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して0.9倍）。母動物毒性に関する NOAEL は50 mg/kg/日であり，胚・胎児発生毒性に関する NOAEL は12.5 mg/kg/日であった（MRHD の $AUC_{0\text{-}24h}$ と比較して0.2倍）。

ICH S9ガイドラインでは，進行がん患者への投与を目的とした医薬品の承認申請にあたり，（1）受胎能及び着床までの初期胚発生，並びに（2）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要求されていないことから，これらの試験は実施しなかった。ラット及びイヌの反復経口投与毒性試験では，雌雄生殖器に対する影響は認められなかった。

2.6.6.10.2.9　新生児への影響

幼若ラット試験で認められたエヌトレクチニブによる変化は，中枢神経系，皮膚及び血液系に対する影響を示すものであり，成熟ラットの変化と同様であったが，特に中枢毒性が低用量でみられたことを考慮すると，幼若ラットではエヌトレクチニブによってより高い感受性で影響を受ける可能性がある。この原因として，中枢神経系の成長・発達において Trk シグナル伝達系が重要な働きを持つことが報告されていることから[14]，Trk 阻害作用に関連して幼若ラットでより高い感受性が認められた可能性が考えられた。また，げっ歯類では，ヒトと比較して出生時では神経系が機能的に未成熟であることが影響している可能性もある[15]。更に，体重増加抑制，摂餌量減少，大腿骨長の減少，性成熟遅延及び神経行動学的検査における反応時間の延長によって示される成長発達遅延が認められた。同様の影響は，他の抗がん剤の幼若毒性試験でも報告されている[9]。

2.6.6.10.2.10　その他の影響

ラットでは，腎臓（400 mg/kg/日における尿素の増加及び病理組織学的所見として腎皮質尿細管上皮細胞の空胞化），顎下腺（100 mg/kg/日以上における腺房細胞のアポトーシス及び腺房肥大）及び切歯（100 mg/kg/日における退色）にも影響が認められた。これらの変化は，ラットの高用量のみに認められ，ヒト臨床用量に相当する曝露ではより長期間の投与も含めて認められなかったことから，本臨床投与レジメンにおいては，ヒトへの外挿性は低いと考えられた。エヌトレクチニブは，13週間試験の雄ラットに摂餌量の増加を伴う体重増加量の軽微な増加をもたらした。

また，ラットではリン脂質症に関連する可能性がある変化（200 mg/kg/日における脾臓，腸間膜及び下顎リンパ節，肝臓，並びに歯周組織で軽微から中等度の泡沫マクロファージの蓄積，200 mg/kg/日以上における肝細胞の空胞化，400 mg/kg/日における腎皮質尿細管上皮の空胞化）が認められたが，ヒト臨床用量に相当する曝露ではより長期間の投与も含めてこれらの所見は認められなかったことから，今回の投与レジメンでは，ヒトへの外挿性は低いと考えられた。

なお，イヌの各試験において，誤嚥性肺炎の発現頻度の増加が対照群を含めて，投与用量に依存して認められた。高用量群（60 mg/kg/日以上）では，中枢神経症状が発現していることから，嚥下障害の可能性が示唆された。一方，低用量群あるいは対照群でも変化はみられていることから，中枢神経症状以外にも，カテーテル挿入による刺激性，嘔吐，薬液の胃からの逆流，あるいは長期の投与期間によるそれらの頻度上昇の可能性などにより，誤嚥性肺炎が発現したと思われる。エヌトレクチニブの臨床試験では，嚥下障害が報告されているが，ヒトにおいて誤嚥性肺炎に至った症例は本剤との因果関係が否定されている1例のみであり，適切な臨床における管理により，誤嚥による重篤な有害事象は防げることを考え合わせると，誤嚥性肺炎についてヒトへの外挿性は低いと考えられた。

2.6.6.10.2.11　回復性

すべてのエヌトレクチニブによる影響は，休薬により回復性を示した。エヌトレクチニブ投与の中止により，完全な回復（中枢神経系，肝臓，QT 及び QTc 延長及び消化管）又は回復傾向（皮膚及び血液系）が確認された。

2.6.6.10.3 結論

本概要に記載された非臨床安全性評価プログラムは，ICH S9を満たしており，これによりエヌトレクチニブの安全性プロファイルが明らかになった。エヌトレクチニブの非臨床安全性評価により，用量制限毒性が明らかになり，主要な標的器官／影響として，中枢神経系，皮膚，肝臓，血液系，消化管並びにQT及びQTc延長が同定された。エヌトレクチニブは変異原性及び染色体異常を誘発しなかった。また，*in vitro*アッセイで異数性誘発性を示したが，ラットを用いた*in vivo*試験では陰性であった。エヌトレクチニブは胚・胎児の発生及び幼若ラットの成長発達に影響を与え，有色ラットの角膜に変化を起こした。本非臨床安全性データは，進行がん患者へのエヌトレクチニブの1日1回投与をサポートする。

2.6.6.11 参考文献

1) Hondermarck H, Demont Y, Bradshaw RA. Chapter 17; The TrK Receptor Family. In: Wheeler DL, Yarden Y, editors. Receptor Tyrosine Kinases: Family and Subfamilies. Switzerland: Springer International Publishing; 2015.p.777-820.
2) Shibayama E, Koizumi H. Cellular localization of the Trk neurotrophin receptor family in human non-neuronal tissues. Am J Pathol 1996;148:1807-18.
3) Barbacid M. The Trk Family of Neurotrophin Receptors. J Neurobiol 1994;25:1386-1403.
4) Tridente G. Chapter 28. Overview. in Adverse Events and Oncotargeted Kinase Inhibitors. Academic Press. 641-693, 2017.
5) Shah RR, Morganroth J, Shah DR. Hepatotoxicity of Tyrosine Kinase Inhibitors: Clinical and Regulatory Perspectives. Drug Saf. 2013: 36: 491-503.
6) Pessi MA, Zilembo N, Haspinger ER, Molino L, Di Cosimo S, Garassino M, Ripamonti CI. Targeted therapy-induced diarrhea: A review of the literature. Crit Rev Oncol Hematol. 2014: 90: 165-79.
7) Turner PV, Albassam MA. Susceptibility of rats to corneal lesions after injectable anesthesia. Comp Med. 2005;55:175-82.
8) Raizman MB, Hamrah P, Holland EJ, Kim T, Mah FS, Rapuano CJ, et al. Drug-induced corneal epithelial changes. Surv Ophthalmol 2017;62:286-301.
9) European Medicines Agency, Human medicines evaluation division. Results of juvenile animal studies (JAS) and impact on anti-cancer medicine development and use in children – Project Report. EMA/629174/2017; November 2017.
10) Greaves P. Chapter 9. Liver and pancreas. in Histopathology of preclinical toxicity studies, 4th ed., Academic Press. 2012; 433-535.
11) Sato J, Doi T, Wako Y, Hamamura M, Kanno T, Tsuchitani M, et al. Histopathology of incidental findings in beagles used in toxicity studies. J Toxicol Pathol 2012;25:103-134.
12) Jun HJ, Roy J, Smith TB, Wood LB, Lane K, Woolfenden S, et al. ROS1 signaling regulates epithelial differentiation in the epididymis. Endocrinology 2014;155:3661-73.
13) Sonnenberg-Riethmacher E, Walter B, Riethmacher D, Godecke S and Birchmeier C. The c-ros tyrosine kinase receptor controls regionalization and differentiation of epithelial cells in the epididymis. Genes Dev 1996;10:1184-93.
14) Segal RA. Selectivity in neurotrophin signaling: theme and variations. Annu Rev Neurosci 2003;26:299-330.
15) Schmitt G. Parrott N, Prinssen E, Barrow P. The great barrier belief: The blood-brain barrier and considerations for juvenile toxicity studies. Reprod Toxicol 2017;72:129-35.

ロズリートレクカプセル100 mg
ロズリートレクカプセル200 mg
（エヌトレクチニブ）

第2部　（モジュール2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.7 毒性試験概要表

中外製薬株式会社

略語一覧

略語一覧	英名	和名
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
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
A/G ratio	albumin/globulin ratio	アルブミン／グロブリン比
APTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours	0から24時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積
AUC_{inf}	area under the plasma concentration–time curve from time zero to extrapolated infinity	0から無限時間までを外挿した血漿中濃度–時間曲線下面積
BLQ	below the quantification limits	定量限界未満
C_{max}	maximum (peak) plasma concentration	最高血漿中薬物濃度
d	day	日
D/C	discontinued	投与中止
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
F	female	雌
FISH	fluorescence *in situ* hybridization	蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション
F0	parental generation	親世代
F1	first filial generation	第一世代
GD	gestation day	妊娠日
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
M	male	雄
MCV	mean corpuscular volume	平均赤血球容積
MCH	mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MnPCE	micronucleated polychromatic erythrocyte	小核を有する多染性赤血球
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NA	not applicable	該当せず
NC	not calculable	算出不能
ND	not detected	検出せず
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	no observed effect level	無影響量
PCE	polychromatic erythrocyte	多染性赤血球
PT	prothrombin time	プロトロンビン時間
RBC	red blood cell	赤血球
SD	standard deviation	標準偏差
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
WBC	white blood cell	白血球
wk	week	週

目次

頁

2.6.7 毒性試験概要表 ... 8
2.6.7.1 毒性試験一覧表 ... 8
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 ... 12
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧 ... 13
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 ... 15
2.6.7.5 急性毒性試験 ... 16
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 ... 17
2.6.7.6.1 雌 CD-1 マウスを用いた 14 日間探索的試験 ... 17
2.6.7.6.2 SD ラットを用いた 14 日間用量設定試験 ... 18
2.6.7.6.3 雌ビーグル犬を用いた 14 日間用量設定試験 ... 19
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 ... 20
2.6.7.7.1 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験） ... 20
2.6.7.7.2 SD ラットを用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験） ... 29
2.6.7.7.3 SD ラットを用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験） ... 36
2.6.7.7.4 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験） ... 42
2.6.7.7.5 ビーグル犬を用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験） ... 52
2.6.7.7.6 ビーグル犬を用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験） ... 58
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 ... 64
2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 ... 64
2.6.7.8.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核予備試験 ... 67
2.6.7.8.3 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション分析試験 ... 68
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 ... 70
2.6.7.9.1 ラットを用いた小核試験とコメットアッセイ ... 70
2.6.7.10 がん原性試験 ... 72
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 ... 73
2.6.7.11.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する予備試験 ... 73
2.6.7.12 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 ... 74
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 ... 75
2.6.7.13.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 ... 75
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：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 ... 79
2.6.7.15 新生児を用いた毒性試験 ... 80
2.6.7.15.1 幼若ラットを用いた 6 日間忍容性試験 ... 80

2.6.7.15.2 幼若ラットを用いた 4 週間用量設定試験 81
2.6.7.15.3 幼若ラットを用いた 13 週間試験（4 週間回復性試験） 82
2.6.7.16 局所刺激性試験 88
2.6.7.17 その他の毒性試験 89
2.6.7.17.1 光毒性試験 89
2.6.7.17.2 不純物の毒性試験 91
2.6.7.17.3 ビーグル犬を用いた中枢神経系及び QT 延長に関する探索的試験 92

図一覧

該当なし。

表一覧

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧 8
表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧（続） 9
表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧（続） 10
表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧（続） 11
表 2.6.7.2-1 トキシコキネティクス試験の一覧 12
表 2.6.7.3-1 トキシコキネティクス試験成績の一覧 13
表 2.6.7.4-1 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 15
表 2.6.7.5-1 急性毒性試験 16
表 2.6.7.6.1-1 雌 CD-1 マウスを用いた 14 日間探索的試験 17
表 2.6.7.6.2-1 SD ラットを用いた 14 日間用量設定試験 18
表 2.6.7.6.3-1 雌ビーグル犬を用いた 14 日間用量設定試験表 19
表 2.6.7.7.1-1 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験） 20
表 2.6.7.7.1-1 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 21
表 2.6.7.7.1-1 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 22
表 2.6.7.7.1-1 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 23
表 2.6.7.7.1-1 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 24
表 2.6.7.7.1-1 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 25
表 2.6.7.7.1-1 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 26
表 2.6.7.7.1-1 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 27
表 2.6.7.7.1-1 SD ラットを用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 28
表 2.6.7.7.2-1 SD ラットを用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験） 29
表 2.6.7.7.2-1 SD ラットを用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 30
表 2.6.7.7.2-1 SD ラットを用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 31
表 2.6.7.7.2-1 SD ラットを用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 32

表 2.6.7.7.2-1 SD ラットを用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 33
表 2.6.7.7.2-1 SD ラットを用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 34
表 2.6.7.7.2-1 SD ラットを用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 35
表 2.6.7.7.3-1 SD ラットを用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験） 36
表 2.6.7.7.3-1 SD ラットを用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験）（続） 37
表 2.6.7.7.3-1 SD ラットを用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験）（続） 38
表 2.6.7.7.3-1 SD ラットを用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験）（続） 39
表 2.6.7.7.3-1 SD ラットを用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験）（続） 40
表 2.6.7.7.4-1 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験） 42
表 2.6.7.7.4-1 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 43
表 2.6.7.7.4-1 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 44
表 2.6.7.7.4-1 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 45
表 2.6.7.7.4-1 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 46
表 2.6.7.7.4-1 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 47
表 2.6.7.7.4-1 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 48
表 2.6.7.7.4-1 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 49
表 2.6.7.7.4-1 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 50
表 2.6.7.7.4-1 ビーグル犬を用いた間欠投与 4 週間試験（投与 2 週間／休薬 2 週間／投与 2 週間 ＋4 週間回復性試験）（続） 51
表 2.6.7.7.5-1 ビーグル犬を用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験） 52
表 2.6.7.7.5-1 ビーグル犬を用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 53
表 2.6.7.7.5-1 ビーグル犬を用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 54
表 2.6.7.7.5-1 ビーグル犬を用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 55
表 2.6.7.7.5-1 ビーグル犬を用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 56
表 2.6.7.7.5-1 ビーグル犬を用いた 4 週間試験（2 週間回復性試験）（続） 57
表 2.6.7.7.6-1 ビーグル犬を用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験） 58
表 2.6.7.7.6-1 ビーグル犬を用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験）（続） 59
表 2.6.7.7.6-1 ビーグル犬を用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験）（続） 60
表 2.6.7.7.6-1 ビーグル犬を用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験）（続） 61

表 2.6.7.7.6-1 ビーグル犬を用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験）（続） 62
表 2.6.7.7.6-1 ビーグル犬を用いた 13 週間試験（8 週間回復性試験）（続） 63
表 2.6.7.8.1-1 細菌を用いた復帰突然変異試験 64
表 2.6.7.8.1-1 細菌を用いた復帰突然変異試験（続） 65
表 2.6.7.8.1-1 細菌を用いた復帰突然変異試験（続） 66
表 2.6.7.8.2-1 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核予備試験 67
表 2.6.7.8.3-1 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション分析試験 68
表 2.6.7.8.3-1 ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション分析試験（続） 69
表 2.6.7.9.1-1 ラットを用いた小核試験とコメットアッセイ 70
表 2.6.7.9.1-1 ラットを用いた小核試験とコメットアッセイ（続） 71
表 2.6.7.9.1-2 ラットを用いた小核試験における entrectinib 及び M5 の TK パラメータの平均値 71
表 2.6.7.11.1-1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する予備試験 73
表 2.6.7.13.1-1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 75
表 2.6.7.13.1-1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続） 76
表 2.6.7.13.1-1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続） 77
表 2.6.7.13.1-1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続） 78
表 2.6.7.15.1-1 幼若ラットを用いた 6 日間忍容性試験 80
表 2.6.7.15.2-1 幼若ラットを用いた 4 週間用量設定試験 81
表 2.6.7.15.3-1 幼若ラットを用いた 13 週間試験（4 週間回復性試験） 82
表 2.6.7.15.3-1 幼若ラットを用いた 13 週間試験（4 週間回復性試験）（続） 83
表 2.6.7.15.3-1 幼若ラットを用いた 13 週間試験（4 週間回復性試験）（続） 84
表 2.6.7.15.3-1 幼若ラットを用いた 13 週間試験（4 週間回復性試験）（続） 85
表 2.6.7.15.3-1 幼若ラットを用いた 13 週間試験（4 週間回復性試験）（続） 86
表 2.6.7.15.3-1 幼若ラットを用いた 13 週間試験（4 週間回復性試験）（続） 87
表 2.6.7.16-1 局所刺激性試験 88
表 2.6.7.17.1-1 光毒性試験 89
表 2.6.7.17.1-1 光毒性試験（続） 90
表 2.6.7.17.1-2 光毒性試験： Long-Evans 雌ラットにおける entrectinib の平均血漿中濃度（C5h） 90
表 2.6.7.17.2-1 不純物の毒性試験 91
表 2.6.7.17.3-1 ビーグル犬を用いた中枢神経系及び QT 延長に関する探索的試験 92

添付資料一覧

該当なし。

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験一覧表

表 2.6.7.1-1　毒性試験一覧

被験物質：entrectinib

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Report No.	Location in CTD
Acute Toxicity									
	Rat/SD	PO	1 day	0, 60, 120, 240 [a]	No	[redacted]	0108-[redacted]	1087336	4.2.3.1-1
	Dog/Beagle	PO	1 day	0, 300 [a]	No	[redacted]	0228-[redacted]	1087337	4.2.3.1-2
Repeat-Dose Toxicity									
	Mouse/CD-1	PO	14 days	0, 120, 240 [b]	No	[redacted]	0518-[redacted]	1087345	4.2.3.2-1
	Rat/SD	PO	14 days	0, 100, 200 [a], 400	No	[redacted]	0189-[redacted]	1087347	4.2.3.2-2
	Rat/SD	PO	2 x 2 weeks	0, 50, 100 [a], 200	Yes	[redacted]	0163-[redacted]	1087346	4.2.3.2-3
	Rat/SD	PO	4 weeks	0, 25 [h], 50, 100	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-006	1087348	4.2.3.2-4
	Rat/SD	PO	13 weeks	0, 7.5 [b], 15, 30	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-024	1087349	4.2.3.2-5
	Dog/Beagle	PO	14 days	0, 30, 60, 120 [a], 240 (120 bid)	No	[redacted]	0024-[redacted]	1087340	4.2.3.2-6
	Dog/Beagle	PO	2 x 2 weeks	0, 30, 60 [a], 120	Yes	[redacted]	0157-[redacted]-0079	1087335 1087341	4.2.3.2-7 4.2.3.2-8
	Dog/Beagle	PO	4 weeks	0, 15 [f], 30, 60/45	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-007	1087342	4.2.3.2-9
	Dog/Beagle	PO	13 weeks	0, 7.5 [g], 15, 30	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-029	1087343	4.2.3.2-10
Genotoxicity									
Bacterial Reverse Mutation	*Salmonella typhimurium Escherichia coli*	*In vitro*		2.44-1250 µg/plate	YES	[redacted]	0273-[redacted]	1087350	4.2.3.3.1-1

表 2.6.7.1-1　毒性試験一覧（続）

被験物質：entrectinib

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Report No.	Location in CTD
Micronucleus	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro*		3.9-62.5 µg/mL	No	[redacted]	0279-[redacted]	1087351	4.2.3.3.1-2
Micronucleus and FISH	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro*		Micronucleus: 3-25 µg/mL FISH: 15 µg/mL	Yes	[redacted]	AD94TF.348ICHFISH.BTL	1087352	4.2.3.3.1-3
Micronucleus and Comet	Rat/SD	*In vivo*	3 days	0, 250, 1000, 2000 [b] mg/kg/day	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-006	1087353	4.2.3.3.2-1
Carcinogenicity	Not Conducted								
Reproductive and Developmental Toxicity									
Embryo-Fetal Developmental Toxicity									
Dose Range-Finding	Rat/SD	PO	GDs 6-17	0, 25, 50, 100, 200	No	[redacted]*	SR-[redacted]-025	1087362	4.2.3.5.2-1
Embryo-Fetal Developmental Toxicity	Rat/SD	PO	GDs 6-17	0, 12.5 [c], 50 [d], 200	Yes	[redacted]*	SR-[redacted]-007	1087361	4.2.3.5.2-2
Juvenile Animal Study									
Tolerability (PNDs 7-12)	Rat/SD	PO	6 days	25, 50, 100	No	[redacted]	SR-[redacted]-015	1087702	4.2.3.5.4-1
4-week dose range finding (PNDs 7-34)	Rat/SD	PO	4 weeks	0, 25, 50, 75	No	[redacted]	SR-[redacted]-021	1087703	4.2.3.5.4-2
13-week (PNDs 7-97)	Rat/SD	PO	13 weeks	0, 4 [e], 8 [a], 16	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-001	1087245	4.2.3.5.4-3
Local Tolerance									
Dermal Irritation	New Zealand White rabbits	Topical	4 hours	500 mg	Yes	[redacted]	0326-[redacted]	1087357	4.2.3.6-1
Ocular Irritation	New Zealand White rabbits	Topical	1 hour	100 mg/eye	Yes	[redacted]	0327-[redacted]	1087358	4.2.3.6-2

表 2.6.7.1-1　毒性試験一覧（続）

被験物質：entrectinib

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Report No.	Location in CTD
Other Toxicity									
Phototoxicity									
Neutral Red Uptake Phototoxicty	BALB/c 3T3 mouse fibroblasts	*In vitro*			Yes	[redacted]	20063920	1087359	4.2.3.7.1-1
In vivo phototoxicity on Eyes and Skin	Rat/Long-Evans	PO	3 days	0, 50, 100, 200	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-001	1087360	4.2.3.7.1-2
Studies on Impurities									
4-week Oral Toxicity ＊不純物G	Rat/SD	PO	4 weeks	0, 0.33, 1.0	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-013	1087339	4.2.3.7.6-1
Bacterial reverse mutation: ＊不純物A	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	*In vitro*		up to 1000 µg/well	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-011	1087355	4.2.3.7.6-2
Bacterial reverse mutation: ＊不純物B	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	*In vitro*		up to 1000 µg/well	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-002	1087356	4.2.3.7.6-3
Bacterial reverse mutation: ＊不純物C	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	*In vitro*		up to 1000 µg/well	Yes	[redacted]	SR-[redacted]-010	1087354	4.2.3.7.6-4
Bacterial reverse mutation: ＊不純物D	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*		up to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]UK)	8393492	1085144	4.2.3.7.6-5
Bacterial reverse mutation: ＊不純物E	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*		up to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]UK)	8395985	1085149	4.2.3.7.6-6

＊新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.7.1-1　毒性試験一覧（続）

被験物質：entrectinib

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Report No.	Location in CTD
Bacterial reverse mutation: ＊不純物F	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*		up to 5000 µg/plate	Yes	[redacted] UK)	8395986	1085150	4.2.3.7.6-7
Exploratory toxicity									
Exploratory for CNS and QT prolongation	Dog/Beagle	PO	7 days	80, 120	No	[redacted]	0218-[redacted]	1087338	4.2.3.7.7-1

[redacted] ([redacted], Italy), [redacted] ([redacted], USA), [redacted] ([redacted], USA), [redacted]. ([redacted], USA), [redacted] ([redacted], China)

* = [redacted]. ([redacted], USA) = formerly [redacted]

GD = Gestation Day, PO = Oral gavage; SD = Sprague-Dawley,

[a] The MTD (Maximum Tolerated Dose) is underlined,

[b] The highest NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined,

[c] The NOAEL for embryo-fetal toxicity,

[d] The NOAEL for maternal toxicity

[e] The NOAEL for 13-week juvenile toxicity was lower than 4 mg/kg/day.

[f] The NOAEL for dog 4-week toxicity was lower than 15 mg/kg/day.

[g] The NOAEL for dog 13-week toxicity was lower than 7.5 mg/kg/day.

[h] The NOAEL for rat 4-week toxicity was lower than 25 mg/kg/day.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.2　トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7.2-1　トキシコキネティクス試験の一覧

被験物質：entrectinib

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg /kg/day)	GLP Compliance	Study Number (Sponsor/CRO)	Report No.
14-day toxicity study	Mouse	Oral gavage	120, 240	No	0518-[redacted]	1087345
14-day toxicity study	Rat	Oral gavage	100, 200, 400	No	0189-[redacted]	1087347
4-week (2-week cycle with 2 week rest between cycles) toxicity study	Rat	Oral gavage	50, 100, 200	Yes	0163-[redacted]	1087346
4-week daily dose toxicity study	Rat	Oral gavage	25, 50, 100	Yes	SR-[redacted]-006 (8324195)	1087348
13-week daily dose toxicity study	Rat	Oral gavage	7.5, 15, 30	Yes	SR-[redacted]-024 (8330795)	1087349
7-day exploratory toxicity study	Dog	Oral gavage	80, 120	No	0218-[redacted]	1087338
14-day toxicity study	Dog	Oral gavage	30, 60, 120, 240	No	0024-[redacted]	1087340
4-week (2-week cycle with 2 week rest between cycle) toxicity study	Dog	Oral gavage	30, 60, 120	Yes	0157-[redacted]	1087335
4-week daily dose toxicity study	Dog	Oral gavage	15, 30, 60/45	Yes	SR-[redacted]-007 (8324196)	1087342
13-week daily dose toxicity study	Dog	Oral gavage	7.5, 15, 30	Yes	SR-[redacted]-029 (8330794)	1087343
Embryofetal developmental toxicity study	Rat	Oral gavage	12.5, 50, 200	Yes	SR-[redacted]-007 ([redacted]-307502)	1087361
13-week juvenile toxicity study	Juvenile Rat	Oral gavage	4, 8, 16	Yes	SR-[redacted]-001 (20103518)	1087245

2.6.7.3　トキシコキネティクス試験成績の一覧

表 2.6.7.3-1　トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：entrectinib

Steady State $AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L•h) [a]								
Daily dose	Mice [b]		Rats [c]		Dogs [d]		Pregnant Rats [e]	Human [f]
(mg/kg/day)	M	F	M	F	M	F	F	
4			2.20 (13 wk) [i]	3.12 (13 wk) [i]				
7.5			5.98 (13 wk)	6.71 (13 wk)	1.93 (13 wk)	1.81 (13 wk)		
8			5.78 (13 wk) [i]	8.08 (13 wk) [i]				
12.5							10.2 (GD 17)	
15			10.5 (13 wk)	15.4 (13 wk)	2.63 (4 wk) 3.39 (13 wk)	2.57 (4 wk) 5.04 (13wk)		
16			6.29 (13 wk) [i]	11.1 (13 wk) [i]				
25			11.3 (4 wk)	18.4 (4 wk)				
30			19.4 (13 wk)	29.6 (13 wk)	20.8 (2x2 wk) 9.13 (4 wk) 8.04 (13 wk)	15.1 (14 d) 21.1 (2x2 wk) 9.49 (4 wk) 7.09 (13 wk)		
45					7.97 (4 wk) [g]	10.3 (4 wk) [g]		
50			36.3 (2x2 wk) 34.7 (4 wk)	50.8 (2x2 wk) 49.3 (4 wk)			41.5 (GD 17)	
60					37.3 (2x2 wk)	55.3 (14 d), 37.8 (2x2 wk)		
80						48.4 (7 d)		
100			37.5 (2 wk) 54.0 (2x2 wk)	68.9 (2 wk) 111 (2x2 wk)				
120		99.8 (2 wk)			147 (2x2 wk)	73.2 (7 d), 63.4 (14 d) 159 (2x2 wk)		
200			78.9 (2 wk) 111 (2x2 wk)	167 (2 wk) 192 (2x2 wk)			127 (GD 17)	
240		152 (2 wk)						
400			158 (14 d) [h]	189 (14 d) [h]				
600 mg/body								48.0

d: day, wk: week, GD: gestation day
[a] $AUC_{0\text{-}24h}$ = Area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours postdose on the last day of dosing,
[b] 14-day study,
[c] 14-day, 4-week intermittent (2x2-week cycle), 4-week daily dose, and 13-week daily dose, and 13-week juvenile daily dose
[d] 14-day, 4-week intermittent (2x2-week cycle), 4-week daily dose, and 13-week daily dose
[e] Gestation Day 6-17,
[f] From clinical study,
[g] 14 days treatment after dose reduction (60→45) in 4-week daily dose study,
[h] 9 days treatment for male, 7 days treatment for female in 14 days study
[i] Day 97, 13 week juvenile tox study.

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

表 2.6.7.4-1　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：entrectinib

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)				Study Number [Report No.]	Type of Study
		[redacted] (C-026291)	[redacted] (C-026273)	[redacted] (C-026272)	*不純物C (C-027141)		
SPECIFICATION:	98.0 ～ 102.0	≤ 0.15	≤ 0.15	≤ 0.10	≤ 0.10		
RXDX-101-TOX101 (N08ALKA010901B, N0900202, N1001822)	98.4	0.32	0.08	0.13	ND	0273-[redacted] [1087350] AD94TF.348ICHFISH.BRL [1087352] 0163-[redacted] [1087346], 0157-[redacted] [1087335]	Ames assay *In vitro* micronucleus and FISH 4-week intermittent dosing in rat and dog
14ALOA010302B (N1400955)	100	ND	0.07	ND	0.07	SR-[redacted]-006 [1087353]	*In vivo* micronucleus and Comet assay in rat
CA14-0258	99.7	ND	ND	0.14	ND	SR-[redacted]-006 [1087348], SR-[redacted]-007 [1087342]	4-week continuous dosing rat and dog
CA15-0919	99.7	ND	0.11	0.10	0.07	SR-[redacted]-024 [1087349], SR-[redacted]-029 [1087343]	13-week rat and dog
CA16-0478	99.6	ND	0.1	0.1	0.13	SR-[redacted]-001 [1087245]	13-week juvenile rat

ND: not detected

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5　急性毒性試験

表 2.6.7.5-1　急性毒性試験

被験物質：entrectinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dose (mg/kg)	Sex and No. Per Group	Observed maximum nonlethal dose (mg/kg)	Approximate lethal dose	Noteworthy Findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Rat/ Sprague-Dawley	Gavage (0.5% methylcellulose 400 cP solution)	0 60 120 240	5M 5F	240	ND	MTD ≥ 240 mg/kg No clinical signs; ↑platelets and ↑neutrophil at 240 mg/kg; ↑phosphorus and total bilirubin in 240 mg/kg females; ↓body weight, reduced severity of extramedullary hemopoiesis in spleen of 240 mg/kg males, ↓body weight at 120 mg/kg males	0108-[redacted] [1087336] (4.2.3.1-1)
Dog/Beagle	Gavage (0.5% methylcellulose 400 cP solution)	0 300	1M 1F	300	ND	MTD ≥ 300 mg/kg No clinical signs or electrocardiogram changes; minimal increase in lactic dehydrogenase and creatine kinase in the male Entrectinib M & F average exposure: C_{max} = 2.06 µmol/L and AUC_{inf} = 67.7 µmol/L•h	0228-[redacted] [1087337] (4.2.3.1-2)

ND: not determined

C_{max}, maximum (peak) plasma concentration; MTD, maximum tolerated dose; AUC_{inf}, area under the concentration-time curve from time 0 to extrapolated infinity.

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.6.1　雌 CD-1マウスを用いた14日間探索的試験

表 2.6.7.6.1-1　雌 CD-1マウスを用いた14日間探索的試験

被験物質：entrectinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. Per Group	NOAEL or MTD (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Mouse/CD-1	Gavage (0.5% Methylcellulose 400 cP aqueous solution)	14 days	0, 120, 240	5F	NOAEL=240	240 mg/kg/day: One animal exhibited a transient slight decrease in activity and dyspnea on Days 3 and 4. Minimal to slight increases in serum creatinine and urea, sodium, chloride and potassium concentrations and minimal to slight decreases in serum amylase, lipase, total cholesterol and triglycerides concentrations were observed. Maximum plasma concentrations of entrectinib were achieved 1 hour post-dose at both dose levels. Entrectinib exposure increased with dose with no apparent accumulation following repeat dosing. Brain penetration was minimal but increased with dose. At steady state, C_{max} = 5.85 and 8.73 µmol/L; $AUC_{0\text{-}24h}$ = 99.8 and 152 µmol/L•h at doses of 120 and 240 mg/kg/day, respectively	0518-[redacted] [1087345] (4.2.3.2-1)

2.6.7.6.2　SD ラットを用いた14日間用量設定試験

表 2.6.7.6.2-1　SD ラットを用いた14日間用量設定試験

被験物質：entrectinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of dosing	Dose (mg/kg/ day)	Sex and No. Per Group	NOAEL or MTD (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Rat/ Sprague-Dawley	Gavage (0.5% Methylcellulose 400 cP aqueous solution)	14 days (7 days in females and 9 days in males at 400 mg/kg/day, with 1 week recovery)	0, 100, 200, 400	3/sex/group for tox, 3/sex/group for TK/ recovery	NOAEL <100, MTD = 200	≥100 mg/kg/day: Incoordination 1F; ↑ reticulocytes, platelets & WBCs; dose-related ↑ AST and ALT ≥200 mg/kg/day: incoordination start on Day 5 for F and Day 6 for M, which completely resolved; ↓ body weigh; ↑ reticulocytes, platelets & WBCs and ↓ hemoglobin in F; marked ↑ AST & ALT with histopath correlates in F; slight ↑ urea; reduced cellularity of the bone marrow and lymphoid depletion in thymus, spleen and lymph nodes, more frequent and severe in F 400 mg/kg/day: Mortality: 1M/&1F (TK) on Day 8 due to CNS clinical signs and liver changes; D/C after Day 7/9 for F/M due to CNS clinical signs; ↓ body weight; ↓ food consumption in F; ↑ reticulocytes, platelets &WBCs and ↓ RBC/hematocrit; marked ↑ AST & ALT with histopath correlates; reduced cellularity of the bone marrow and lymphoid depletion in thymus, spleen and lymph nodes, more frequent and severe in F; vacuolation of cortical tubular epithelial cell in kidney. At Steady state, C_{max} = 2.33, 4.12, 7.40 in males and 3.64, 7.72, 9.35 µmol/L in females; $AUC_{0\text{-}24h}$ = 37. 5, 78.9, 158 in males and 68.9, 167, 189 µmol/L•h in females, at low, mid and high dose, respectively. Higher exposure was observed in females compared to that in males with accumulation ratio (AUC) ranging from 0.97 to 2.32.	0189-[redacted] [1087347] (4.2.3.2-2)

D/C: discontinued

2.6.7.6.3　雌ビーグル犬を用いた14日間用量設定試験

表 2.6.7.6.3-1　雌ビーグル犬を用いた14日間用量設定試験表

被験物質：entrectinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. Per Group	NOAEL or MTD (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Dog/Beagle	Gavage (0.5% Methylcellulose 400 cP aqueous solution)	14 days	0, 30, 60, 120, 240 (120 bid, 7 days)	3F	NOAEL was not determined MTD = 120	30 mg/kg/day: Diarrhea; dose-related ↑ neutrophils, ↓ albumin and ↑ALP 60 mg/kg/day: Diarrhea; dose-related ↑ neutrophils, ↓ albumin and ↑ALP 120 mg/kg/day: diarrhea and sporadic emesis; dose-related ↑ neutrophils, ↓ albumin and ↑ALP; slight ↑AST 240 mg/kg/day: D/C after Day 7 due CNS signs in 2/2 (C_{max} >6.25 µmol/L; AUC >119 µmol/L•h); ↑QT/QTc in 2/2 animals Dose-related ↑ neutrophils, ↓albumin and ↑ALP; slight to marked ↓reticulocytes; moderate ↓lymphocytes; marked ↑ALT Mean t_{max} ranged from 1.5 to 2 hrs. At Steady state, mean C_{max} = 1.15, 4.63*, 3.98 µmol/L; AUC_{0-24h} = 15.1, 55.3*, 63.4 in µmol/L•h, at 30, 60, 120 mg/kg/day doses, respectively with accumulation ratio ranging from 1.2 to 2.2 following repeat dosing. Brain tissue concentration of entrectinib was measured in one control and one 120 mg/kg/day animals. Entrectinib was detected in samples from the cerebellum, brain stem and cortex at similar level in the 120 mg/kg/day animal * n=2	0024-[redacted] [1087340] (4.2.3.2-6)

MTD: maximum tolerated dose, D/C: discontinued, ALP: alkaline phosphatase, ALT: alanine aminotransferase, AST: aspartate aminotransferase, F: female, M: male

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1　SD ラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）

表 2.6.7.7.1-1　SD ラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）

被験物質：entrectinib

2.6.7.7.1 Repeat-Dose Toxicity	Report Title: NMS-1191372: 4-Week Oral Toxicity Study in the Rat Followed by a 4-Week Recovery Period	Test Article: Entrectinib (RXDX-101, also known as NMS-1191372)
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) Initial Age: 7 (M), or 8 (F) weeks Date of First Dose: [redacted] (F), [redacted] (M)	Duration of Dosing: 4 weeks (two-week treatment - two-week rest - two-week treatment) Duration of Recovery: 4 weeks Method of Administration: Oral Gavage	Study No. 0163-[redacted] Report No. 1087346 Location in CTD: 4.2.3.2-3
	Vehicle Control Article: 0.5 % (w/v) methylcellulose (MC, 400 cP) in Water for Injection	GLP Compliance: Yes

Special Features: Brain samples (from mid and high dose animals) were collected for analysis of entrectinib.
Irwin's tests were conducted in female rats in the main study.
No Observed Adverse Effect Level: Not determined.　Maximum Tolerated Dose: 100 mg/kg/day

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Number of Toxicokinetic Animals	3	3	3	3	3	3	3	3
Dosing Phase								
Toxicokinetics:								
Test Article: entrectinib in systemic circulation								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	30.5	47.9	81.6	BLQ	41.2	70.9	86.7
C_{max} (µmol/L)	BLQ	2.52	3.32	4.61	BLQ	2.90	4.58	4.60
Day 42 (Last Day of Dosing)								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	36.3	54.0	111	BLQ	50.8	111	192
C_{max} (µmol/L)	BLQ	2.60	3.46	5.82	BLQ	3.19	6.44	9.04
Test Article: entrectinib (brain/plasma ratio)	ND	ND	0.574	0.592	ND	ND	0.591	1.1
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund [a]	0	0	0	0	0	0	0	3

表 2.6.7.7.1-1 SD ラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Clinical Observations [b]								
Incoordination	0	0	0	8 (2.3)	0	0	0	15 (12.1)
Discoloration of incisors	0	0	1 (3.0)	8 (3.8)	0	0	1 (3.0)	7 (4.6)
Reddish material around nose	0	0	1 (3.0)	7 (3.7)	0	1 (3.0)	2 (3.0)	14 (13.2)
Scabbed area of skin	0	8 (6.4)	11 (11.7)	10 (22)	0	9 (8.8)	5 (5.4)	8 (8.1)
Ulceration of skin	0	0	3 (8.7)	9 (10.2)	0	0	0	1 (1.0)
Irwin's test: abnormal gait and red staining of nose on Day 14, 3 hours after dosing	ND	ND	ND	ND	0	0	0	5/5
Body Weight (%) on Day 42 (last dose)	438 g	+2	+1	-1	252 g	0	-4	-7*
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations (Day 42)								
Corneal: opacity (monolateral or bilateral)	0	0	1/15	8/15	0	0	0	7/12
Hematology								
Day 15								
Red blood cells (E6/ μL)	8.01	7.28*	6.88**	6.96**	7.60	6.77**	6.83	7.00*
Hemoglobin (g/dL)	16.8	15.5*	14.6**	14.5**	15.5	14.4	14.0**	14.3
Hematocrit (%)	48.0	44.3*	42.0**	41.9**	42.8	39.8	38.7*	39.6*
Red cell distribution width (%)	10.9	12.8*	13.9**	14.7**	10.0	14.4**	15.4**	13.0**
Hemoglobin distribution width (g/dL)	2.37	2.89	3.00*	3.06*	2.37	3.16**	3.30**	3.03**
Absolute reticulocyte count (E9/L)	235.9	396.1**	436.3**	473.7**	168.2	461.1**	412.2**	345.6*
Reticulocytes (%)	3.0	5.5**	6.4**	6.8**	2.2	6.8**	6.2**	5.0*
Platelet count (E3/μL)	1210	1380	1803	2294*	1228	1597	1975*	1695
Platelet distribution width (%)	54.7	62.8	60.8*	61.2**	53.1	58.5*	58.7**	72.3**
Mean platelet volume (fL)	7.0	7.2	7.7**	8.0**	6.8	7.1	7.5*	9.0**
Platelet hematocrit (%)	0.84	0.99	1.38*	1.84**	0.84	1.14	1.48**	1.51**
White blood cells (E3/μL)	11.35	12.71	14.26	15.65	10.14	9.09	10.17	14.80
Absolute neutrophil count (E3/μL)	1.61	2.62	3.46*	4.02	1.44	1.79	2.22	4.09
Absolute monocyte count (E3/μL)	0.29	0.56*	0.54*	0.69**	0.41	0.44	0.34	0.85

表 2.6.7.7.1-1　SD ラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Day 29								
Red blood cell count (E6/μL)	8.38	7.90	8.09	8.11	7.84	7.27	7.40	7.28
Hemoglobin (g/dL)	16.2	15.4	15.8	16.0	15.5	15.1	15.2	13.7*
Hematocrit (%)	47.7	45.3	46.7	47.4	43.3	41.9	42.7	41.6
Red cell distribution width (%)	10.7	11.2	11.5	11.9**	10.6	11.6	12.1*	12.4**
Hemoglobin distribution width (g/dL)	2.56	2.74*	2.86	2.78*	2.37	2.64	2.58	2.62
Absolute reticulocyte count (E9/L)	207.4	170.8	198.9	228.7	160.4	184.6	206.5	232.8
Reticulocytes (%)	2.5	2.2	2.4	2.8	2.1	2.6	2.8	3.2
Mean platelet volume (fL)	7.1	7.2	7.4	7.7**	6.3	6.7	7.1**	7.6**
Platelet distribution width (%)	55.0	54.6	56.1	57.0	54.8	61.4	56.9	64.1**
White blood cell (E3/μL)	14.78	11.07*	11.62	11.00*	11.00	10.31	7.45*	7.98
Absolute neutrophil count (E3/μL)	1.79	1.16	1.49	2.20	1.31	1.96	1.03	2.38
Absolute lymphocyte count (E3/μL)	12.37	9.48*	9.69	8.25**	9.25	7.94	6.10*	5.29*
Absolute monocyte count (E3/μL)	0.36	0.22**	0.23*	0.30	0.21	0.20	0.15	0.17
Day 43								
Red blood cell count (E6/μL)	8.36	7.90	7.76	7.90	8.08	6.91**	7.38	6.58**
Hemoglobin (g/dL)	15.1	14.8	14.4	14.7	14.8	13.7	14.2	12.4**
Hematocrit (%)	43.9	42.8	41.7	42.5	42.6	39.0	41.2	36.8**
Mean corpuscular volume (fL)	52.4	54.2	54.1	53.9	52.7	56.4*	56.3	55.9*
Red cell distribution width (%)	11.9	15.1**	16.5**	16.2**	12.1	14.7*	15.1**	16.1**
Hemoglobin distribution width (g/dL)	2.79	3.53**	3.74**	3.74**	2.45	3.28**	3.35**	3.51**
Absolute reticulocytes counts (E9/L)	177.9	388.7**	440.4**	371.0**	189.5	406.4**	354.9*	429.0**
Reticulocytes (%)	2.2	4.9**	5.8**	4.7**	2.3	5.9**	5.1	6.6*
Platelet counts (E3/μL)	1062	1264	1824**	2007**	1109	1534	1920**	2307**
Mean platelet volume (fL)	6.5	6.7	7.1**	7.1**	6.9	7.5	8.2**	9.4**
Platelet hematocrit (%)	0.70	0.85	1.29**	1.44**	0.77	1.14	1.56**	2.16**
Platelet distribution width (%)	52.6	54.0	55.5	58.3**	50.8	52.4	57.2*	65.0**
White blood cells (E3/μL)	13.22	13.12	14.22	13.73	8.64	9.08	9.23	13.29**
Absolute Neutrophil Count (E3/μL)	1.76	2.33	2.44	2.66	0.94	1.88	1.68*	2.33
Absolute lymphocyte count (E3/μL)	10.82	9.97	11.00	10.34	7.35	6.78	7.05	10.07
Absolute monocyte count (E3/μL)	0.32	0.52	0.55*	0.49	0.19	0.23	0.34	0.71**

表 2.6.7.7.1-1　SD ラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Clinical Chemistry								
Day 15								
AST (IU/L)	168	193	203	256**	169	207*	222	391**
ALT (IU/L)	47	53	56	79**	35	48*	53**	93**
Total Bilirubin (mg/dL)	0.09	0.14**	0.15**	0.15*	0.11	0.20*	0.21**	0.14
Amylase (IU/L)	1950	2213	2238	2258	1058	1181	1271	1631**
Lipase (U/L)	4.0	5.7	5.2	8.4	4.6	6.6	6.8	8.2
Phosphorus (mg/dL)	9.3	9.7	12.3**	13.6**	7.1	8.3*	8.3*	8.6*
Potassium (mEq/L)	4.5	4.5	4.8	5.2**	4.6	4.5	4.6	5.2
Day 29								
Phosphorus (mg/dL)	8.1	8.1	8.4	10.9*	6.8	6.1	5.8*	6.5
Amylase (IU/L)	2007	2198	2245	2186	1149	1173	1212	1379
Day 43								
AST (IU/L)	157	160	174	268**	154	188*	208	356*
ALT (IU/L)	37	43	49	91**	36	45	60*	95
Total bilirubin (mg/dL)	0.08	0.10	0.10	0.12*	0.11	0.15	0.15	0.13
Amylase (IU/L)	2083	2274	2383	2464	1291	1510	1425	1911*
Lipase (U/L)	5.0	5.6	9.9	9.9*	4.8	11.6	4.8	5.5
Phosphorus (mg/dL)	8.7	9.0	10.4	11.8*	6.4	7.5	6.6	9.0**
Potassium (mEq/L)	5.6	5.9	5.5	6.0*	4.9	5.2	5.0	5.4
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (Day 43 Sacrifice)								
Spleen								
Absolute Organ Weight (%) [c]	0.75 g	+48**	+80**	+65**	0.54 g	+30**	+26**	+20
Organ to Body Weight (%)	0.18	0.26	0.32	0.32	0.23	0.30	0.31	0.32
Liver								
Absolute Organ Weight (%) [c]	10.61 g	+4.9	+8.2	+4.8	5.88 g	+6.5	+9.7	+22**
Organ to Body Weight (%)	2.61	2.58	2.72	2.83	2.56	2.73	2.93	3.48

表 2.6.7.7.1-1　SD ラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Unscheduled deaths (Day 15)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3
Macroscopic Observations								
End of Treatment (Day 43), No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	8
Spleen: Enlarged	0	2	9	6	0	0	1	2
Liver: Enlarged	0	0	0	1	0	1	0	1
Skin: Scabs (encrusted areas)	0	0	2	2	0	3	2	2
Teeth (Incisor): White discoloration	0	0	0	0	0	0	0	3
Histopathology								
Unscheduled Death (Day 15)								
Number of Animals Examined	0	0	0	0	0	0	0	3
Spleen/mesenteric, and/or mandibular lymph node/lung								
Accumulation of foamy macrophages, minimal to moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3
Liver:								
Minimal bile duct hyperplasia,	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Slight to moderate vacuolation of bile duct epithelia	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3
Accumulation of foamy macrophages	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Skin: marked scab with ulceration, epithelial hyperplasia, dermatitis with presence of bacteria	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Mandibular salivary gland								
Acinar apoptosis, minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
End of Treatment (Day 43), No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	8
Liver								
Foamy macrophages								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	5
Diffuse hepatocellular vacuolation								
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	5
Slight	0	0	0	2	0	1	2	1
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0

表 2.6.7.7.1-1　SD ラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Vacuolation of bile duct epithelium								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Slight	0	0	0	7	0	0	0	6
Moderate	0	0	0	2	0	0	0	2
Single cell necrosis, minimal	0	0	0	1	0	0	0	2
Bile duct epithelial hyperplasia, minimal	0	0	0	3	0	0	0	4
Spleen, Congestion of red pulp								
Minimal	4	0	0	0	4	1	0	0
Slight	0	8	0	0	0	8	0	1
Moderate	0	1	8	1	0	1	7	4
Marked	0	1	2	9	0	0	3	3
Foamy macrophages								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	4
Slight	0	0	0	0	0	0	0	3
Lymphoid depletion								
Minimal	0	1	0	0	0	2	2	2
Slight	0	7	4	0	0	6	7	3
Moderate	0	1	6	10	0	0	0	3
Extramedullary hematopoiesis								
Minimal	4	2	2	6	1	2	3	2
Slight	1	7	6	1	0	5	2	1
Moderate	0	1	2	0	0	2	1	0
Mandibular lymph node								
Foamy macrophages								
Slight	0	0	0	4	0	0	0	2
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	4
Mesenteric lymph node								
Foamy macrophages								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Slight	0	0	0	2	0	0	0	5
Moderate	0	0	0	7	0	0	0	3

表 2.6.7.7.1-1　SD ラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Lymphoid depletion								
Minimal	0	0	0	2	0	0	0	0
Slight	0	0	0	3	0	0	0	3
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Lung								
Alveolar macrophages infiltration								
Minimal	8	7	8	1	5	7	6	1
Slight	0	0	1	6	2	0	3	1
Moderate	0	0	0	3	0	0	0	6
Skin, No. Examined	10	0	2	10	10	10	10	8
Hyperplasia of squamous epithelium								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	3
Slight	0	0	0	2	0	2	2	0
Moderate	0	0	2	0	0	1	0	2
Hyperkeratosis of squamous epithelium								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	3
Dermatitis								
Minimal	0	0	1	0	0	2	0	0
Slight	0	0	1	1	0	0	1	1
Moderate	0	0	0	1	0	1	1	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Ulceration								
Minimal	0	0	0	1	0	1	0	0
Slight	0	0	1	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Scab formation								
Slight	0	0	0	1	0	0	1	1
Moderate	0	0	1	1	0	2	1	1
Marked	0	0	1	0	0	1	0	0
Skin, bacteria present	0	0	2	1	0	3	1	1

表 2.6.7.7.1-1　SD ラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Mandibular salivary gland								
Acinar apoptosis								
Minimal	0	0	0	4	0	0	7	1
Slight	0	0	0	1	0	0	1	6
Acinar hypertrophy								
Minimal	0	0	2	3	0	0	0	1
Slight	0	0	1	4	0	0	1	1
Parotid salivary gland (parotids)								
Acinar apoptosis								
Minimal	4	3	4	5	2	2	2	2
Slight	0	0	0	4	0	0	0	6
Teeth, No. examined	0	0	0	0	2	0	0	3
Foamy macrophage, slight	NA	NA	NA	NA	0	NA	NA	2
Recovery Phase – end of recovery (Day 73)								
Number of Animals Examined	5	5	5	5	5	5	5	4
Hematology (Day 73)								
Mean corpuscular volume (fL)	50.6	50.1	52.4	51.7	49.9	52.5*	53.3**	52.9**
Red cell distribution width (%)	12.9	12.0*	11.8**	12.2	11.6	11.0*	10.9*	10.8*
Absolute lymphocyte counts (E3/μL)	8.97	7.62	7.28	5.80**	5.97	6.60	4.97	5.77
Organ Weights								
Spleen, Absolute Organ Weight (%) [c]	0.77 g	+17	+10	+19	0.48	+8	-2	-4
Spleen: Relative to Body Weight (%)	0.16 g	0.20	0.19	0.20	0.19	0.21	0.21	0.21

表 2.6.7.7.1-1　SD ラットを用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)	0 (Control)	50 (Low)	100 (Mid)	200 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Histopathology (Day 73)								
No. of Animals Examined	5	5	5	5	5	5	5	4
Spleen								
Lymphoid depletion								
Minimal	0	2	0	2	0	0	0	2
Slight	0	1	3	3	0	1	2	0
Congestion of red pulp								
Minimal	2	1	1	1	3	2	0	1
Slight	0	4	4	3	0	2	3	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0

- = No noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum (peak) plasma concentration;
GLP = Good Laboratory Practice; NA: not applicable, ND: not done; BLQ: below the quantification limits

* = Statistically significant from Group 1 ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) based on actual data (not on percent difference).

[a] Three animals died on Day 15 during blood collection procedure, death attributed to poor condition of the animals

[b] The number of animals observed with the sign and (mean number of animal days that the group displayed the sign)

[c] For controls, group means are shown.　For treated groups, percent difference from controls is shown.

2.6.7.7.2　SD ラットを用いた4週間試験（2週間回復性試験）

表 2.6.7.7.2-1　SD ラットを用いた4週間試験（2週間回復性試験）

被験物質：entrectinib

2.6.7.7.2 Repeat-Dose Toxicity	Report Title: RXDX-101: 4-Week Toxicity Study with a 2-Week Recovery in Rats	Test Article: Entrectinib (RXDX-101)
Species/Strain: Rat / Crl:CD(SD) Initial Age: 6-7 weeks Date of First Dose: [redacted]	Duration of Dosing: 4 weeks, Duration of Recovery: 2 weeks Method of Administration: Oral gavage Vehicle Control Article: 0.5 % (w/v) methylcellulose (MC, 400 cP) in reverse osmosis water	Study No. SR-[redacted]-006 (8324195) Report No. 1087348 Location in CTD: 4.2.3.2-4 GLP Compliance: Yes

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: lower than 25 mg/kg/day

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	10	15	15	10	10	15
Number of Toxicokinetic Animals	3	9	9	9	3	9	9	9
Dosing Phase								
Toxicokinetics:								
Test Article: entrectinib								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	11.6	25.8	54.5	BLQ	19.8	36.5	83.0
C_{max} (µmol/L)	BLQ	1.04	2.06	4.42	BLQ	1.64	2.73	5.29
Day 28								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	11.3	34.7	NA	BLQ	18.4	49.3	NA
C_{max} (µmol/L)	BLQ	1.17	2.88	NA	BLQ	1.51	3.51	NA
Metabolite: M5								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	NC	1.51	4.15	BLQ	NC	NC	2.19
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.0539	0.110	0.369	BLQ	0.0573	0.112	0.180
Day 28								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	NC	4.18	NA	BLQ	NC	1.63	NA
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.0930	0.313	NA	BLQ	0.0544	0.149	NA
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund [a]	0	0	0	10	0	0	0	11

表 2.6.7.7.2-1 SD ラットを用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	10	15	15	10	10	15
Clinical Observations [b]								
Scab	2(2)	7(5)	17(5)	34(10)	0(0)	22(9)	45(9)	58(15)
Sore	0(0)	0(0)	1(1)	1(1)	0(0)	1(1)	5(4)	2(2)
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight Change (g)								
Days 8-15	42	48	47	40	22	25	17	15*
Days 15-22	44	47	46	41	20	22	19	2*
Days 22-28	30	36	29	13*	11	12	13	10
Food Consumption	-	-	-	Slight ↓ (Day 22-28)	-	-	-	Slight ↓ (Day 22-28)
Ophthalmic Examinations								
Cornea								
Corneal abrasion, left eye	0	0	1	0	0	0	0	0
Corneal deposits, left eye, multifocal, predominantly white	0	0	0	0	0	0	1	0
Corneal deposits, right eye, multifocal, predominantly white	0	0	1	0	0	0	0	0
Hematology								
Day 24								
Red blood cell count (E6/μL)	NA	NA	NA	6.65	NA	NA	NA	6.57
Hemoglobin (g/dL)	NA	NA	NA	13.8	NA	NA	NA	13.4
Hematocrit (%)	NA	NA	NA	42.6	NA	NA	NA	41.0
MCV (fL)	NA	NA	NA	64.1	NA	NA	NA	62.6
MCH (pg)	NA	NA	NA	20.8	NA	NA	NA	20.5
Platelet Count(E3/μL)	NA	NA	NA	1377	NA	NA	NA	1436
Absolute Reticulocyte Count (E3/μL)	NA	NA	NA	556.5	NA	NA	NA	456.3
White Blood Cell Count (E3/μL)	NA	NA	NA	16.06	NA	NA	NA	17.13
Absolute Neutrophil Count (E3/μL)	NA	NA	NA	3.73	NA	NA	NA	5.45

表 2.6.7.7.2-1　SD ラットを用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	10	15	15	10	10	15
Day 29								
Red blood cell count (E6/μL)	8.34	7.81*	7.67*	7.35*	8.56	7.81*	7.18*	6.81*
Hemoglobin (g/dL)	15.4	15.4	14.9	15.0	16.0	15.2*	14.3*	13.8*
Hematocrit (%)	50.9	50.7	48.7	49.6	51.0	48.9	45.8*	45.4*
MCV (fL)	61.1	65.0*	63.6*	67.6*	59.6	62.7*	63.7*	66.8*
MCH (pg)	18.5	19.7*	19.5*	20.4*	18.7	19.5*	19.9*	20.2*
Platelet Count(E3/μL)	1012	1195*	1350*	1349*	924	1233*	1421*	1645*
Absolute Reticulocyte Count (E3/μL)	268.3	382.6*	438.2*	464.6*	163.7	336.8*	411.5*	640.8*
White Blood Cell Count (E3/μL)	9.72	9.39	12.96*	10.94	7.47	10.43*	13.01*	8.13
Absolute Neutrophil Count (E3/μL)	1.59	2.10	3.05*	2.48	1.13	2.89*	3.76*	2.50*
Absolute lymphocyte Count (E3/μL)	7.75	6.81	9.34	7.93	5.98	7.05	8.66*	5.27
Absolute Monocyte Count (E3/μL)	0.19	0.28	0.32*	0.26	0.15	0.25*	0.31*	0.20
Absolute Basophil Count (E3/μL)	0.04	0.04	0.06	0.05	0.02	0.04*	0.06*	0.02
Coagulation								
Day 29								
Fibrinogen (mg/dL)	301	299	307	293	244	308*	298*	264
Clinical Chemistry								
Day 24								
Urea Nitrogen (mg/dL)	NA	NA	NA	15	NA	NA	NA	19
Triglycerides (mg/dL)	NA	NA	NA	122	NA	NA	NA	76
Calcium (mg/dL)	NA	NA	NA	12.7	NA	NA	NA	12.8
Inorganic Phosphorus (mg/dL)	NA	NA	NA	10.5	NA	NA	NA	8.5
Alanine Aminotransferase (U/L)	NA	NA	NA	70	NA	NA	NA	63
Alkaline Phosphatase (U/L)	NA	NA	NA	278	NA	NA	NA	187
Gamma Glutamyltransferase (U/L)	NA	NA	NA	<4	NA	NA	NA	<3
Chloride (mmol/L)	NA	NA	NA	97	NA	NA	NA	100
Day 29								
Albumin (g/dL)	4.7	4.7	4.5*	4.4	5.3	5.0	4.7*	4.8*
Albumin:Globulin Ratio	2.6	2.3	2.1*	2.1*	2.9	2.4*	2.0*	2.3*
Globulin (g/dL)	1.8	2.1	2.1*	2.1	1.8	2.1*	2.4*	2.2*

表 2.6.7.7.2-1　SD ラットを用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	10	15	15	10	10	15
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights								
Spleen								
Absolute Organ Weight (%) [c]	0.8529 g	+19	+35*	NA	0.6289 g	+27*	+23*	NA
Organ to Body Weight (%)	0.2561	0.2856	0.3297*	NA	0.2721	0.3356*	0.3398*	NA
Organ to Brain Weight (%)	40.5680	50.7761*	54.5268*	NA	31.9569	39.2080	39.3890	NA
Mandibular Salivary Gland								
Absolute Organ Weight (%) [c]	0.6404 g	-11*	-11*	NA	0.4278 g	+5	-8	NA
Organ to Body Weight (%)	0.1913	0.1610*	0.1637*	NA	0.1848	0.1891	0.1731	NA
Organ to Brain Weight (%)	30.4007	28.4606	27.0676*	NA	21.6192	22.0018	20.0121	NA
Seminal Vesicle								
Absolute Organ Weight (%) [c]	1.3552 g	-5	-14*	NA	NA	NA	NA	NA
Organ to Body Weight (%)	0.4058	0.3664	0.3353*	NA	NA	NA	NA	NA
Organ to Brain Weight (%)	64.4408	64.2231	55.1302*	NA	NA	NA	NA	NA
Macroscopic Observations [d]								
Skin/Subcutis								
Scab	1	2	5	5	0	7	8	11
Sore	0	0	1	0	0	0	2	2
Histopathology								
Number of Animals Examined [d]	10	10	10	10	10	10	10	12
Skin/Subcutis								
Acanthosis								
Minimal	0	0	1	0	0	1	0	0
Slight	0	1	1	0	0	1	0	5
Moderate	0	0	3	4	0	4	7	6
Marked	0	0	0	0	0	0	2	0
Erosion/ulcer								
Minimal	0	0	1	0	0	2	0	0
Slight	0	0	2	0	0	0	0	2
Moderate	0	0	1	2	0	4	7	8
Marked	0	0	0	2	0	0	2	0

表 2.6.7.7.2-1　SD ラットを用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	10	15	15	10	10	15
Exudate, epidermal surface								
Minimal	0	0	0	0	1	2	0	1
Slight	0	1	1	0	0	0	0	2
Moderate	0	0	3	4	0	4	7	8
Marked	0	0	0	0	0	0	2	0
Hemorrhage								
Minimal	0	0	2	2	0	1	3	2
Slight	0	0	1	0	0	0	0	0
Inflammation, mixed cell								
Minimal	0	1	1	1	0	2	0	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	3
Moderate	0	0	3	3	0	4	7	7
Marked	0	0	0	1	0	0	2	0
Spleen								
Congestion								
Minimal	1	4	8	4	0	7	5	5
Slight	0	0	0	6	0	0	2	3
Hematopoiesis, extramedullary, increased								
Minimal	0	2	4	2	0	1	2	2
Slight	0	0	0	0	0	1	0	3
Depletion, lymphocytes								
Minimal	0	1	6	0	0	1	4	4
Slight	0	0	1	10	0	0	0	8
Mandibular Salivary Gland								
Secretory product, increased								
Minimal	0	0	0	4	0	0	0	4
Slight	0	0	0	3	0	0	0	0

表 2.6.7.7.2-1　SD ラットを用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	10	15	15	10	10	15
Recovery Phase								
Number of Toxicity Animals in Recovery	5	0	0	5	5	0	0	5
Number of TK Animals in Recovery	0	0	5	0	0	0	5	0
Died or Sacrificed Moribund [e]	0	NA	0	0	0	NA	0	2
Hematology								
Day 16								
Red blood cell count (E6/μL)	8.72	NA	8.66	8.24	8.47	NA	8.27	8.07
MCV (fL)	57.7	NA	59.4	62.0*	57.5	NA	61.2*	61.8*
MCH (pg)	18.2	NA	19.0	19.7*	18.7	NA	20.1*	20.5*
Organ Weights								
Spleen								
Absolute Organ Weight (%) [c]	0.8847 g	NA	+4	+15	0.6228 g	NA	+21	0
Organ to Body Weight (%)	0.2230	NA	0.2409	0.2649	0.2519	NA	0.3067	0.2638
Organ to Brain Weight (%)	40.6136	NA	43.8008	49.0332	30.2747	NA	36.3600	31.3063
Histopathology								
Number of Animals Examined	5	0	5	5	5	0	5	5
Skin/Subcutis								
Acanthosis								
Minimal	1	NA	0	0	0	NA	0	0
Slight	0	NA	1	0	0	NA	1	0
Erosion/ulcer								
Minimal	0	NA	1	0	0	NA	1	0
Exudate, epidermal surface								
Minimal	1	NA	1	0	0	NA	1	0
Inflammation, mixed cell								
Minimal	1	NA	0	0	0	NA	0	0
Slight	0	NA	1	0	0	NA	1	0

表 2.6.7.7.2-1　SD ラットを用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	25 (Low)	50 (Mid)	100 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	10	15	15	10	10	15
Spleen								
Congestion								
Minimal	0	NA	2	2	1	NA	2	1
Hematopoiesis, extramedullary, increased								
Minimal	0	NA	0	0	0	NA	0	1

- = No noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum (peak) plasma concentration; GLP = Good Laboratory Practice; MCH = Mean corpuscular hemoglobin; MCV = Mean corpuscular volume; NA = Not applicable; NC = Not calculable; BLQ = below the quantification limits;

* = Statistically significant from Group 1 ($p < 0.05$) based on actual data (not on percent difference).

[a] Ten animals/sex from Group 4 were sacrificed in moribund condition on Day 24 of the dosing phase. The remaining animals in Group 4 continued to the recovery phase. Additionally, Animal B38792 (Group 4 toxicokinetic female) was found dead on Day 22 of the dosing phase.

[b] Clinical Observations are presented as Total Number of Occurrences (Number of Animals Affected). This includes all observations made between Days 1 and 29 of the dosing phase.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

[d] Group 4 observations were collected at the unscheduled sacrifice on Day 24 of the dosing phase; the two Group 4 females (Animals B38779 and B38781) sacrificed on Day 1 of the recovery phase are also included in these observations.

[e] Two Group 4 females (Animals B38779 and B38781) were sacrificed in moribund condition on Day 1 of the recovery phase.

2.6.7.7.3　SD ラットを用いた13週間試験（8週間回復性試験）

表 2.6.7.7.3-1　SD ラットを用いた13週間試験（8週間回復性試験）

被験物質：entrectinib

2.6.7.7.3 Repeat-Dose Toxicity	Report Title: RXDX-101: 13-Week Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats with an 8-Week Recovery Phase	Test Article: Entrectinib (RXDX-101)
Species/Strain: Rat / Crl:CD(SD) Initial Age: 6-7 weeks Date of First Dose: [redacted]	Duration of Dosing: 13 weeks Duration of Recovery: 8 weeks Method of Administration: Oral gavage Vehicle Control Article: 0.5 % (w/v) methylcellulose (MC, 400 cP) in reverse osmosis water	Study No. SR-[redacted]-024 (8330795) Report No. 1087349 Location in CTD: 4.2.3.2-5 GLP Compliance: Yes
Special Features: None　No Observed Adverse Effect Level: 7.5 mg/kg/day		

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	15	15	15	10	15	15
Number of Toxicokinetic Animals	3	9	9	9	3	9	9	9
Dosing Phase								
Toxicokinetics:								
entrectinib								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	3.13	6.87	15.5	BLQ	4.11	8.22	22.0
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.382	0.589	1.40	BLQ	0.344	0.756	1.77
Day 42								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	4.70	11.4	20.0	BLQ	6.74	14.0	27.3
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.458	0.879	1.41	BLQ	0.474	1.05	1.67
Day 91								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	5.98	10.5	19.4	BLQ	6.71	15.4	29.6
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.631	0.851	1.45	BLQ	0.629	1.13	2.57
M5 (Metabolite of entrectinib)								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	0	0.177	0.892	BLQ	0	0.0576	0.627
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0	0.0255	0.0802	BLQ	0	0.00878	0.0567
Day 42								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	0.215	0.905	2.43	BLQ	0	0.321	1.01
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.0285	0.0689	0.155	BLQ	0	0.0368	0.0914

表 2.6.7.7.3-1　SD ラットを用いた13週間試験（8週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	15	15	15	10	15	15
Number of Toxicokinetic Animals	3	9	9	9	3	9	9	9
Day 91								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	0.349	0.950	2.54	BLQ	0.0218	0.459	1.10
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.0521	0.0965	0.193	BLQ	0.00622	0.0465	0.112
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund [a]	0	0	1	2	0	0	2	1
Dosing Phase (Continued)								
Clinical Observations [b]								
Scab	5	0	12	15	0	4	10	10
Sore	0	0	7	8	0	0	3	7
Body Weight (%) [c]								
Day 91	572 g	+4	+5	+6	322 g	-1	+2	+1
Food Consumption (%) [c]								
Days 85-91	28 g	+10.7*	+14.3*	+17.9*	18 g	+16.7	+11.1	+11.1
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Day 42								
Red blood cell count (E6/µL)	8.54	8.68	8.14	7.72*	8.64	8.58	8.44	7.68*
Hemoglobin (g/dL)	15.5	15.8	15.2	14.8	15.6	15.7	15.6	14.7*
Hematocrit (%)	49.3	51.1	49.2	47.8	48.7	49.7	50.0	46.8
MCV (fL)	57.8	58.9	60.5*	62.0*	56.4	58.0	59.3*	61.0*
MCH (pg)	18.1	18.2	18.7*	19.2*	18.1	18.3	18.5	19.1*
MCHC (g/dL)	31.4	30.9	30.9	31.0	32.1	31.6	31.2*	31.3*
Reticulocyte count (E3/µL)	238.8	303.4	355.2*	406.4*	169.9	225.9*	283.3*	319.4*
Reticulocyte (%)	2.8	3.5	4.4*	5.3*	2.0	2.6*	3.4*	4.2*
White blood cell count (E3/µL)	10.34	11.37	12.74	14.83*	8.52	8.65	9.52	10.85
Neutrophil count (E3/µL)	1.60	1.91	2.83*	4.06*	0.96	1.17	1.92*	2.61*
Monocyte count (E3/µL)	0.24	0.28	0.36*	0.39*	0.17	0.17	0.22	0.29*
Platelet count (E3/µL)	948	1079	1063	1184*	985	967	1061	1090

表 2.6.7.7.3-1　SD ラットを用いた13週間試験（8週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	15	15	15	10	15	15
Day 92								
Red blood cell count (E6/μL)	9.19	9.13	8.61*	8.40*	9.12	8.99	8.50*	7.92*
Hemoglobin (g/dL)	15.4	15.3	14.9	14.7*	15.8	15.7	15.4	14.8*
Hematocrit (%)	51.5	51.2	49.8	48.2*	51.6	51.7	50.2	48.3*
MCV (fL)	56.1	56.1	57.9*	57.5	56.6	57.6	59.0*	61.0*
MCH (pg)	16.8	16.7	17.3	17.5*	17.3	17.5	18.1*	18.7*
MCHC (g/dL)	29.9	29.8	29.9	30.4*	30.6	30.4	30.7	30.6
Reticulocyte count (E3/μL)	220.1	256.9	317.1*	343.5*	129.1	152.1	175.7*	283.9*
Reticulocyte (%)	2.4	2.8	3.7*	4.2*	1.4	1.7*	2.1*	3.6*
White blood cell count (E3/μL)	9.20	9.45	10.29	12.76*	6.08	6.42	6.72	8.15
Neutrophil count (E3/μL)	1.68	2.17	2.89*	3.82*	0.91	1.04	1.45*	2.44*
Monocyte count (E3/μL)	0.35	0.31	0.37	0.46	0.19	0.24	0.24	0.33*
Platelet count (E3/μL)	870	932	1006	1110*	807	806	812	934*
Coagulation								
Day 42								
Fibrinogen (mg/dL)	285	309	313	322*	229	232	242	250
Clinical Chemistry								
Day 42								
Globulin (g/dL)	2.3	2.5	2.5	2.5	2.1	2.3	2.5*	2.4*
Day 92								
Albumin:Globulin	1.5	1.4	1.4	1.4	2.0	1.9	1.9*	1.8*
Urinalysis								
Day 42								
Urine Occult Blood [d]								
Negative	15	9	9	4	15	10	12	9
Trace	0	1	3	0	0	0	1	1
1+	0	0	0	3	0	0	2	2
2+	0	0	1	3	0	0	0	2
3+	0	0	2	5	0	0	0	1

表 2.6.7.7.3-1　SD ラットを用いた13週間試験（8週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	15	15	15	10	15	15
Day 92								
Urine Occult Blood [d]								
Negative	14	10	10	8	15	10	11	12
Trace	0	0	1	1	0	0	0	0
1+	0	0	2	0	0	0	2	0
2+	1	0	1	2	0	0	0	1
3+	0	0	0	2	0	0	0	1
Organ Weights								
Spleen								
Absolute Organ Weight (%) [c]	0.9904 g	+11	+36*	+47*	0.5695 g	+6	+9	+39*
Organ to Body Weight (%)	0.1871	0.1950	0.2378*	0.2601*	0.1961	0.2019	0.2101	0.2672*
Organ to Brain Weight (%)	44.0021	49.4539	61.2730*	65.4073*	28.4343	29.6789	30.6246	38.4281*
Macroscopic Observations								
Number of Animals Examined	10	10	11	11	10	10	11	11
Skin/Subcutis								
Scab	0	0	6	7	0	2	4	5
Sore	0	0	1	1	0	0	2	3
Histopathology								
Skin/Subcutis								
Number Examined	0	0	6	6	0	2	4	6
Erosion/ulcer								
Minimal	0	0	1	0	0	0	1	1
Slight	0	0	0	0	0	0	2	1
Moderate	0	0	1	4	0	0	1	4
Acanthosis								
Minimal	0	0	4	3	0	1	4	3
Slight	0	0	2	3	0	0	0	2
Crust, serocellular								
Present	0	0	6	6	0	2	4	6

表 2.6.7.7.3-1　SD ラットを用いた13週間試験（8週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	15	10	15	15	15	10	15	15
Hemorrhage								
Minimal	0	0	2	2	0	0	1	2
Slight	0	0	0	1	0	0	0	1
Inflammation, mixed cell								
Minimal	0	0	2	4	0	1	2	1
Slight	0	0	2	1	0	0	2	3
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	2
Spleen								
Number Examined	10	10	10	9	10	10	9	10
Hematopoiesis, extramedullary, increased								
Minimal	3	2	6	7	0	0	2	6
Marrow, Femur								
Number Examined	10	10	10	9	10	10	9	10
Hypercellular								
Minimal	0	0	2	4	0	0	1	2
Marrow, Sternum								
Number Examined	10	10	10	9	10	10	9	9
Hypercellular								
Minimal	0	0	3	5	0	0	1	2
Recovery Phase								
Number of Toxicity Animals in Recovery	5	0	4	4	5	0	4	4
Body Weight (%) [c]								
Day 56	652 g	NA	+1	+13	389 g	NA	0	-4
Food Consumption (%) [c]								
Days 50-56	27 g	NA	+7.4	+25.9	21 g	NA	+4.8	0
Organ Weights								
Spleen								
Absolute Organ Weight (%) [c]	1.1015 g	NA	+16	+37*	0.6710 g	NA	+2	-2
Organ to Body Weight (%)	0.1785	NA	0.2048	0.2192	0.1850	NA	0.1882	0.1921
Organ to Brain Weight (%)	45.2782	NA	52.4797*	60.7833*	30.9485	NA	31.8622	31.6069

- = No noteworthy findings; AUC_{0-24h} = area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours postdose; BLQ = below the quantification limits; C_{max} = maximum (peak) plasma concentration; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable.

* = Statistically significant ($p < 0.05$), based on actual data (not on percent difference).

[a] Four toxicity animals (one female administered 15 mg/kg/day and two males and one female administered 30 mg/kg/day) and one TK animal (one male administered 30 mg/kg/day) were sacrificed between Days 70 and 85 of the dosing phase due to worsening sores or scabs and associated ulcerative dermatitis. One female administered 15 mg/kg/day died on Day 42 following the Week 6 clinical pathology blood collection and the death appeared to be related to the procedure. One male administered 15 mg/kg/day died on Day 82 of the dosing phase after being removed from the cage for observation, and although the cause of death was not determined microscopically, it was considered not entrectinib related based on the information.

[b] Clinical observations are presented as the number of animals in each group with the indicated clinical observation noted at least once during the dosing phase. Modifiers such as location were removed for clarity.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

[d] Data are presented as the number of animals with each observation; Negative = No occult blood, Trace = Trace amounts of occult blood, 1+ = Small amount of occult blood; 2+ = Moderate amount of occult blood; 3+ = Large amount of occult blood.

2.6.7.7.4　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）

表 2.6.7.7.4-1　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）

被験物質：entrectinib

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity	Report Title: NMS-1191372: 4-Week Oral Toxicity Study in the Dog Followed by a 4-Week Recovery Period	Test Article: Entrectinib (RXDX-101, also known as NMS-1191372
Species/Strain: Dogs/Beagles Initial Age: >7 months Date of First Dose: [redacted] for M/F at 0, 60 and 120 mg/kg/day groups [redacted] for 30 mg/kg/day group	Duration of Dosing: 4 weeks (two-week treatment - two-week rest - two-week treatment) Duration of Recovery: 4 weeks Method of Administration: Oral gavage Vehicle Control Article: 0.5 % (w/v) methylcellulose (MC, 400 cP) in Water for Injection	Study No. 0157-[redacted], [redacted]-0079 Report No. 1087335, 1087341 Location in CTD: 4.2.3.2-7, 4.2.3.2-8 GLP Compliance: Yes

Special Features: Study included 60 and 120 mg/kg/day groups initially. After the 120 mg/kg/day dose was discontinued, 30 mg/kg/day dose group was added. After the discontinuation of dosing at 120 mg/kg/day, surviving animals were allowed a four-week recovery period and necropsied on Day 38.
In histopathology, all organs/tissues from all animals in the 30 and 60 mg/kg/day groups collected on Days 43 or 72 and not examined in study 0157-[redacted] (i.e., not identified as target organs) were processed and histologically examined in study [redacted]-0079.
Maximum Tolerated Dose: 60 mg/kg/day

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)
Number of Animals at Study Start	4	5	5	5	4	5	5	5
Dosing Phase								
Toxicokinetics: entrectinib								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	31.1	50.7	10.5	BLQ	38.2	50.6	18.5
C_{max} (µmol/L)	BLQ	2.96	4.08	0.75	BLQ	3.45	3.83	1.88
Last Day [b]								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	37.3	147	20.8	BLQ	37.8	159	21.1
C_{max} (µmol/L)	BLQ	2.76	7.43	1.68	BLQ	3.19	7.52	1.56
Cerebellum/Plasma Ratio	NA	1.79	NA	1.49	NA	1.96	NA	1.74
Cortex/Plasma Ratio	NA	1.72	NA	1.6	NA	1.88	NA	1.87
Brain Stem/Plasma Ratio	NA	1.67	NA	1.36	NA	1.57	NA	2.17
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund [c]	0	0	0	0	0	0	4	0

表 2.6.7.7.4-1　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)
Number of Animals at Study Start	4	5	5	5	4	5	5	5
Clinical Observations [d]								
Abnormal gait	0 (0.0)	3 (1.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Abnormal vocalization	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)
Recumbency	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (3.3)	0 (0.0)
Staggering	0 (0.0)	2 (1.5)	3 (5.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (2.6)	0 (0.0)
Stereotypy	0 (0.0)	2 (4.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Tremors	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (3.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (3.8)	0 (0.0)
Twitches-Spasms	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Incoordination	0 (0.0)	2 (8.5)	5 (6.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (3.0)	5 (5.0)	0 (0.0)
Decreased activity	0 (0.0)	2 (6.0)	5 (5.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	5 (5.6)	0 (0.0)
Increased activity	0 (0.0)	2 (3.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Depression	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.0)	0 (0.0)
Unresponsive	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)
Diarrhea	1 (1.0)	3 (1.3)	4 (4.5)	2 (1.5)	1 (1.0)	4 (3.0)	5 (2.4)	4 (6.5)
Emesis of liquids	0 (0.0)	2 (1.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	1 (1.0)	1 (1.0)
Emesis of food	0 (0.0)	1 (1.0)	4 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	2 (1.5)	0 (0.0)
Soft stool	0 (0.0)	2 (3.5)	5 (2.8)	2 (3.0)	1 (1.0)	1 (2.0)	3 (1.3)	3 (5.0)
Reduced food intake	2 (3.0)	4 (6.8)	5 (5.8)	0 (0.0)	2 (2.0)	5 (3.2)	5 (5.0)	5 (8.2)
Body – abrasion	0 (0.0)	4 (12)	0 (0.0)	1 (16)	0 (0.0)	1 (10)	0 (0.0)	0 (0.0)
Body – swelling	0 (0.0)	1 (5.0)	0 (0.0)	1 (15)	0 (0.0)	1 (13.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Body - ulceration	0 (0.0)	1 (7.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (9.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Body - crusts	0 (0.0)	1 (9.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (9.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Body Weight Change (kg)								
Days 1-11(1st treatment period for 120 mg/kg)	NA	NA	-0.99	NA	NA	NA	-0.92	NA
Days 1-15 (1st treatment period)	-0.41	-0.98	-0.85	-0.41	-0.21	-0.59	-0.15	-0.13
Days 29-43 (2nd treatment period)	+0.23	-0.05	NA	-0.44	-0.02	-0.06	NA	-0.35
Days 50-70 (recovery period except 120 mg/kg)	+0.21	+0.35	NA	-0.39	+0.44	+0.71	NA	+0.20
Food Consumption	-	↓ to ↓↓	↓ to ↓↓↓	-	-	↓ to ↓↓	↓ to ↓↓↓	-
Ophthalmoscopic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-

表 2.6.7.7.4-1　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)
Number of Animals at Study Start	4	5	5	5	4	5	5	5
Electrocardiographic Examinations								
QTc Interval (msec, vs. pretest)								
Pretest	233	240	248	227	227	230	221	234
Day 11 (End of dosing for 120 mg/kg/day)	NA	NA	+29	NA	NA	NA	+80	NA
Day 38 (End of dosing for 30 and 60 mg/kg)	-7	-8	NA	0	7	-1	NA	+12
Hematology								
Day 11 (mean and % change vs pretest)								
Red blood cells (E6/μL)	NA	NA	7.19 (+14%)	NA	NA	NA	8.19 (+29%)	NA
Hemoglobin (g/dL)	NA	NA	16.8 (+13%)	NA	NA	NA	18.8 (+27%)	NA
Hematocrit (%)	NA	NA	49.0 (+11%)	NA	NA	NA	55.2 (+27%)	NA
Reticulocytes (E9/L)	NA	NA	8.2	NA	NA	NA	9.4	NA
White blood cells (E3/μL)	NA	NA	16.02 (+49%)	NA	NA	NA	12.0 (+42%)	NA
Absolute neutrophil count (E3/μL)	NA	NA	12.17 (+67%)	NA	NA	NA	8.49 (+90%)	NA
Absolute monocyte count (E3/μL)	NA	NA	1.06 (+80%)	NA	NA	NA	0.88 (+57%)	NA
Platelets (E3/μL)	NA	NA	387 (+21%)	NA	NA	NA	536 (+37%)	NA
Day 14								
Red blood cells (E6/μL)	6.75	7.12	NA	5.81*	7.24	6.89	NA	5.43**
Hemoglobin (g/dL)	15.8	16.4	NA	13.3*	16.5	15.7	NA	12.4**
Hematocrit (%)	45.7	47.5	NA	38.2**	49.8	46.7	NA	35.1**
Reticulocytes (E9/L)	65.4	21.4	NA	13.1	65.6	15.4**	NA	22.6*
White blood cells (E3/μL)	14.28	13.96	NA	11.35	10.66	18.09**	NA	12.69
Absolute neutrophil count (E3/μL)	9.91	9.70	NA	6.94	5.80	12.26**	NA	7.88
Absolute monocyte count (E3/μL)	0.62	0.88	NA	0.82	0.60	1.29*	NA	0.84
Platelets (E3/μL)	367	352	NA	325	330	424	NA	346

表 2.6.7.7.4-1　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)
Number of Animals at Study Start	4	5	5	5	4	5	5	5
Day 28								
Red blood cells (E6/μL)	6.42	5.61	NA	6.56	7.02	5.88	NA	6.69
Hemoglobin (g/dL)	15.0	12.9	NA	14.4	16.2	13.5*	NA	14.6
Hematocrit (%)	43.9	38.3	NA	43.1	47.3	39.8*	NA	44.0
Reticulocytes (E9/L)	41.9	47.6	NA	34.5	61.0	63.8	NA	100.3
White blood cells (E3/μL)	9.09	14.88	NA	10.22	8.07	14.72*	NA	11.24
Absolute neutrophil count (E3/μL)	5.28	10.15	NA	5.56	4.24	8.98	NA	6.79
Absolute monocyte count (E3/μL)	0.44	1.17**	NA	0.86	0.42	0.94*	NA	0.65
Platelets (E3/μL)	345	318	NA	406	299	380	NA	383
Day 42								
Red blood cells (E6/μL)	6.15	4.55**	NA	6.13	6.68	5.15**	NA	6.69
Hemoglobin (g/dL)	14.3	10.4**	NA	13.2	15.4	11.9**	NA	14.1
Hematocrit (%)	41.9	31.1**	NA	40.9	45.0	35.4**	NA	44.2
Reticulocytes (E9/L)	36.5	24.0	NA	29.2	33.1	20.2	NA	45.1
White blood cells (E3/μL)	8.96	18.59*	NA	13.25	9.21	15.75*	NA	13.29
Absolute neutrophil count (E3/μL)	5.51	13.52*	NA	8.54	4.97	10.57*	NA	8.54
Absolute monocyte count (E3/μL)	0.46	1.48*	NA	0.90*	0.47	1.06*	NA	0.72
Platelets (E3/μL)	308	446	NA	381	289	438*	NA	416*
Coagulation								
Day 42								
aPTT (sec)	13.5	16.9*	NA	15.4	13.3	17.7	NA	15.6
Fibrinogen (mg/dL)	205	422**	NA	310	173	314*	NA	278

表 2.6.7.7.4-1　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)
Number of Animals at Study Start	4	5	5	5	4	5	5	5
Clinical Chemistry								
Day 11 (mean and % change vs pretest)								
Alanine aminotransferase (IU/L)	NA	NA	231 (+645%)	NA	NA	NA	56 (+65%)	NA
Aspartate aminotransferase (IU/L)	NA	NA	132 (+277%)	NA	NA	NA	54 (+74%)	NA
Alkaline phosphatase (IU/L)	NA	NA	622 (+522%)	NA	NA	NA	203 (+78%)	NA
Gamma-glutamyl transferase (IU/L)	NA	NA	10 (+43%)	NA	NA	NA	8 (+33%)	NA
Total bilirubin (mg/dL)	NA	NA	0.21 +133%)	NA	NA	NA	0.14 (+56%)	NA
Albumin (g/dL)	NA	NA	2.14 (-23%)	NA	NA	NA	2.56 (-9%)	NA
Triglycerides (mg/dL)	NA	NA	65 (+124%)	NA	NA	NA	59 (+111%)	NA
Total cholesterol (mg/dL)	NA	NA	185 (+33%)	NA	NA	NA	136 (+13%)	NA
Urea (mg/dL)	NA	NA	32 (+19%)	NA	NA	NA	48 (+92%)	NA
Day 14								
Alanine aminotransferase (IU/L)	32	51*	NA	32	34	51	NA	28
Aspartate aminotransferase (IU/L)	27	47**	NA	38**	35	52	NA	31
Alkaline phosphatase (IU/L)	166	109	NA	97	133	134	NA	104
Albumin (g/dL)	2.76	2.47	NA	2.31*	2.90	2.43	NA	2.11**
Phosphorus (mg/dL)	5.3	6.1	NA	3.6*	6.2	7.3	NA	4.1*
Triglycerides (mg/dL)	42	52	NA	31	58	36*	NA	30**
Sodium (mEq/L)	143.5	147.2	NA	145.6*	141.5	150.2**	NA	145.4
Chloride (mEq/L)	112.8	113.6	NA	115.0	112.8	118.4*	NA	114.2
Urea (mg/dL)	32	51**	NA	27	29	44	NA	33
Day 28								
Albumin (g/dL)	2.77	2.46	NA	2.65	2.96	2.48*	NA	2.49*
Urea (mg/dL)	32	34	NA	31	23	33*	NA	28
Day 42								
Alkaline phosphatase (IU/L)	120	203	NA	120	120	150	NA	123
Albumin (g/dL)	2.65	1.96**	NA	2.46	2.91	2.21**	NA	2.36*
Phosphorus (mg/dL)	4.3	4.7	NA	4.0	4.7	5.8*	NA	4.1
Chloride (mEq/L)	111.5	117.0**	NA	114.4*	111.5	117.8*	NA	114.6
Sodium (mEq/L)	141.8	146.8**	NA	146.8**	143	149.2**	NA	145.4
Urea (mg/dL)	23	27	NA	29*	26	41*	NA	26

表 2.6.7.7.4-1　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)
Number of Animals at Study Start	4	5	5	5	4	5	5	5
Urinalysis								
Day 42								
Hemoglobin/Red blood cells	0	1.0	NA	1.0	0	1.0	NA	1.0
Organ Weights								
Day 43								
Spleen								
Absolute weight (%) [c]	24.89 g	-17	NA	+118	22.57 g	+36	NA	+84
Organ to Body Weight (%)	0.33	-18	NA	+79	0.32	+31	NA	+75
Thymus								
Absolute weight (%) [c]	2.115 g	-39	NA	+37	3.980 g	-34	NA	-6
Organ to Body Weight (%)	0.028	-43	NA	+11	0.056	-36	NA	-11
Testes								
Absolute weight (%)	11.53 g	-49**	NA	+6	NA	NA	NA	NA
Organ to Body Weight (%)	0.15	-47	NA	-7	NA	NA	NA	NA
Prostate gland								
Absolute weight (%)	2.48 g	-38	NA	+119	NA	NA	NA	NA
Organ to Body Weight (%)	0.03	-33	NA	+100	NA	NA	NA	NA
Macroscopic Observations								
Day 43								
Epididymides: small	0	3	NA	0	NA	NA	NA	NA
Gallbladder: blackish area	0	0	NA	0	0	0	NA	2
Prostate: small	1	3	NA	0	NA	NA	NA	NA
Skin								
Ulcers: marked	0	2	NA	0	0	0	NA	0
Crust formation: moderate	0	0	NA	1	0	0	NA	0
Testes: small, bilaterally	0	3	NA	0	NA	NA	NA	NA
Thymus: small	0	2	NA	0	0	0	NA	0

表 2.6.7.7.4-1　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)
Number of Animals at Study Start	4	5	5	5	4	5	5	5
Histopathology								
Unscheduled Sacrifice/No. Examined	0	0	0	0	0	0	4	0
Liver								
Hepatocellular necrosis								
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Mitotic increase, minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Bile duct hyperplasia, slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Gallbladder								
Epithelial hyperplasia,								
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Lung: aspiration pneumonia								
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Severe	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Spleen								
Increased pigmented macrophages, slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	NA
Lymphoid depletion								
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Day 43 End of Dosing Sacrifice/No. Examined	2	3	NA	3	2	3	NA	3
Liver								
Hepatocellular necrosis: slight	0	0	NA	0	0	1	NA	0
Increased pigmented macrophages								
Minimal	1	0	NA	0	1	1	NA	0
Slight	0	0	NA	0	0	0	NA	2
Extramedullary hematopoiesis								
Minimal	2	3	NA	2	2	1	NA	1
Slight	0	0	NA	0	0	1	NA	2

表 2.6.7.7.4-1　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)
Number of Animals at Study Start	4	5	5	5	4	5	5	5
Hepatocellular pigmentation								
Minimal	0	0	NA	2	0	0	NA	0
Moderate	0	0	NA	0	0	0	NA	3
Gallbladder								
Epithelial hyperplasia, slight	0	0	NA	0	0	0	NA	3
Yellowish granular pigment, slight	0	0	NA	0	0	0	NA	3
Spleen								
Increased extramedullary hematopoiesis								
Slight	0	1	NA	0	0	0	NA	0
Moderate	0	0	NA	0	0	0	NA	1
Increased pigmented macrophages								
Minimal	0	1	NA	1	1	1	NA	0
Slight	0	1	NA	1	0	1	NA	2
Moderate	0	0	NA	0	0	0	NA	1
Congestion								
Slight	0	2	NA	0	0	0	NA	0
Moderate	0	0	NA	1	0	0	NA	0
Marked	0	0	NA	1	0	2	NA	2
Kidney: Tubular pigmentation, minimal	0	1	NA	3	0	0	NA	3
Skin: Ulcer, Marked	0	2	NA	1	0	0	NA	0
Subacute inflammation								
Moderate	0	1	NA	1	0	0	NA	0
Marked	0	1	NA	0	0	0	NA	0
Crust formation, moderate	0	0	NA	1	0	0	NA	0
Lung: aspiration pneumonia								
Slight	0	1	NA	1	0	0	NA	1
Moderate	0	0	NA	0	0	1	NA	0
Marked	0	0	NA	0	0	1	NA	0
Severe	0	1	NA	0	0	0	NA	0

表 2.6.7.7.4-1　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)
Number of Animals at Study Start	4	5	5	5	4	5	5	5
Recovery Phase								
120 mg/kg/day group, No. in Recovery	NA	NA	5	NA	NA	NA	1	NA
Died or Sacrificed Moribund	NA	NA	0	NA	NA	NA	0	NA
Organ Weights Day 38								
Liver: Absolute Organ Weight	NA	NA	298.83 g	NA	NA	NA	277.33 g	NA
Organ to Body Weight (%)	NA	NA	3.67	NA	NA	NA	4.20	NA
Testes: Absolute Organ Weight	NA	NA	9.28 g	NA	NA	NA	NA	NA
Organ to Body Weight (%)	NA	NA	0.11	NA	NA	NA	NA	NA
Macroscopic Observations Day 38								
Small prostate, testes and epididymides	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA
Histopathology Day 38								
Liver								
Increased pigmented macrophages								
Minimal	NA	NA	3	NA	NA	NA	0	NA
Slight	NA	NA	1	NA	NA	NA	0	NA
Extramedullary hematopoiesis								
Minimal	NA	NA	3	NA	NA	NA	0	NA
Slight	NA	NA	2	NA	NA	NA	0	NA
Spleen								
Congestion								
Slight	NA	NA	2	NA	NA	NA	0	NA
Marked	NA	NA	1	NA	NA	NA	0	NA
Increased extramedullary hematopoiesis								
Slight	NA	NA	3	NA	NA	NA	0	NA
Moderate	NA	NA	1	NA	NA	NA	0	NA
Increased pigmented macrophages								
Minimal	NA	NA	2	NA	NA	NA	0	NA
Slight	NA	NA	1	NA	NA	NA	0	NA
Kidney: tubular pigmentation								
Minimal	NA	NA	3	NA	NA	NA	0	NA

表 2.6.7.7.4-1　ビーグル犬を用いた間欠投与4週間試験（投与2週間／休薬2週間／投与2週間 ＋4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)	0 (Control)	60 (Mid)	120 (High)	30 (Low)
Number of Animals at Study Start	4	5	5	5	4	5	5	5
Lung: aspiration pneumonia								
Moderate	NA	NA	3	NA	NA	NA	1	NA
Recovery Phase								
0, 30, 60 mg/kg/day groups, No in Recovery	2	2	0	2	2	2	0	2
Died or Sacrificed Moribund	0	0	NA	0	0	0	NA	0
Hematology Day 71								
Reticulocytes (E9/L)	79.1	34.9	NA	59.6	37.9	44.9	NA	92.7
Coagulation Day 71								
aPTT	12.9	12.5	NA	14.4**	13.0	13.2	NA	17.7**
Histopathology Day 72								
Liver: Increased pigmented macrophages								
Minimal	0	2	NA	1	0	1	NA	0
Spleen: Increased extramedullary hematopoiesis								
Minimal	0	2	NA	1	0	1	NA	0
Increased pigmented macrophages								
Minimal	0	2	NA	0	0	0	NA	1
Slight	0	0	NA	1	0	0	NA	0
Lung: aspiration pneumonia								
Slight	0	1	NA	0	0	1	NA	0
Moderate	1	0	NA	1	0	0	NA	0

- = No noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum (peak) plasma concentration; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable; BLQ = below the quantification limits;

* = Statistically significant ($p < 0.05$), ** = ($p < 0.01$) based on actual data (not on percent difference).

[a] The study included only the 60 and 120 mg/kg/day dose groups initially. Due to severe clinical signs, dosing was stopped after 10 (F) and 11 (M) days for the 120 mg/kg/day group, and surviving animals for the group were sacrificed after 4-week recovery (Days 37/38). Subsequently, a 30 mg/kg/day group was added and dosing started later.

[b] Day 10 (F) and Day 11(M) for 120 mg/kg/day animals; Day 42 for 30 and 60 mg/kg/day groups.

[c] One female was found dead on Day 13 and 3 other females from the 120 mg/kg/day were sacrificed for humane considerations. The cause of death was considered compound-related.

[d] Clinical Observations are presented as Number of animals affected (Mean number of animal days that the group displayed the sign)

2.6.7.7.5　ビーグル犬を用いた4週間試験（2週間回復性試験）

表 2.6.7.7.5-1　ビーグル犬を用いた4週間試験（2週間回復性試験）

被験物質：entrectinib

2.6.7.7.5 Repeat-Dose Toxicity Species/Strain: Dogs/Beagles Initial Age: 5 to 6 months Date of First Dose: [redacted]	Report Title: RXDX-101: 4-Week Toxicity Study with a 2-Week Recovery in Beagle Dogs Duration of Dosing: 4 weeks Duration of Recovery: 2 weeks Method of Administration: Oral gavage Vehicle Control Article: 0.5 % (w/v) methylcellulose (MC, 400 cP) in reverse osmosis water	Test Article: Entrectinib (RXDX-101) Study No. SR-[redacted]-007 (8324196) Report No. 1087342 Location in CTD: 4.2.3.2-9 GLP Compliance: Yes

Special Features: Electrocardiogram examinations.　On Day 9 of the dosing phase, dosing for all animals at 60 mg/kg/day was stopped due to toxicity. Animals resumed dosing on Day 15 of the dosing phase at a new dose level (45 mg/kg/day) for the remainder of the study.
No Observed Adverse Effect Level: lower than 15 mg/kg/day

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)
Number of Animals at Study Start	5	3	3	5	5	3	3	5
Dosing Phase								
Toxicokinetics:								
Test Article: entrectinib								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	1.97	9.23	15.8 [f]	BLQ	1.95	8.03	17.6
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.350	1.14	1.77	BLQ	0.374	0.998	1.79
Day 15 [b]								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	NA	NA	NA	10.6	NA	NA	NA	10.4
C_{max} (µmol/L)	NA	NA	NA	1.02	NA	NA	NA	1.26
Day 28								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	2.63	9.13	7.97 [f]	BLQ	2.57	9.49	10.3 [f]
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.341	1.37	1.14 [f]	BLQ	0.427	1.38	1.63 [f]
Metabolite: M5								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	3.71	13.8	17.5	BLQ	3.90	11.2	20.4
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.401	0.956	1.26	BLQ	0.411	0.942	1.29

表 2.6.7.7.5-1　ビーグル犬を用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)
Number of Animals at Study Start	5	3	3	5	5	3	3	5
Day 15 [b]								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	NA	NA	NA	12.8	NA	NA	NA	10.9
C_{max} (µmol/L)	NA	NA	NA	0.937	NA	NA	NA	0.942
Day 28								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	4.69	9.13	8.43 [f]	BLQ	5.04	8.52	9.63 [f]
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.384	0.843	0.791 [f]	BLQ	0.463	0.742	0.921 [f]
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund [c]	0	0	0	0	0	0	0	1
Clinical Observations [d]								
Vomitus, Days 1-8	0 (0)	0 (0)	1 (1)	17 (5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	13 (4)
Liquid Feces, Days 2-29	0 (0)	0 (0)	11 (3)	38 (5)	0 (0)	0 (0)	18 (3)	53 (5)
Body Weight Change								
Days 1-8	0.1	0.5	-0.4*	-0.6*	0.1	-0.2*	-0.1*	-0.6*
Food Consumption (%) [e]								
Days 1-8	1624 g	24.8	-21.2	-46.9*	1424 g	-17.1	-3.2	-54.9*
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Temperature	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiogram Examinations								
Day 25								
4 Hours Postdose								
QTc Interval (msec)	239 (Compare to the control)	249 (+4%)	239 (0%)	250 (+5%)	232 (Compare to the control)	242 (+4%)	255* (+10%)	254* (+9%)
Recovery Day 11								
QTc Interval (msec)	253	NA	NA	251	249	NA	NA	269

表 2.6.7.7.5-1　ビーグル犬を用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)
Number of Animals at Study Start	5	3	3	5	5	3	3	5
Hematology								
Day 29								
Red blood cell mass (E6/μL)	6.08	6.00	5.36*	5.49*	6.47	6.32	5.91	5.08*
Platelet count (E3/μL)	308	364	365	450	276	373*	426*	438*
White blood cell count (E3/μL)	8.65	10.01	15.47*	13.09*	8.79	13.54*	14.56*	14.82*
Absolute neutrophil count (E3/μL)	4.63	5.88	10.29*	8.76*	4.69	9.62*	9.19*	10.30*
Absolute monocyte count (E3/μL)	0.55	0.71	1.28*	1.17*	0.49	0.72	1.13*	1.13*
Absolute eosinophil count (E3/μL)	0.10	0.19	0.31	0.40*	0.21	0.11	0.35	0.26
Absolute large unstained cell count (E3/μL)	0.05	0.05	0.10	0.05	0.04	0.05	0.09*	0.09*
Coagulation								
Day 29								
Fibrinogen concentration (mg/dL)	256	330	399*	398*	167	345*	328*	494*
Clinical Chemistry								
Day 29								
Albumin concentration (g/dL)	3.3	3.2	2.9	2.8*	3.5	3.2	3.0*	2.5*
Globulin concentration (g/dL)	2.1	2.4	3.1*	2.5	1.8	2.4	2.2	3.7*
Albumin:Globulin	1.6	1.3	1.0*	1.2	2.0	1.3*	1.4	0.7*
Total protein (g/dL)	5.4	5.6	6.0	5.3	5.3	5.6	5.1	6.2*
Calcium concentration (mg/dL)	11.2	11.3	11.1	11.0	11.3	11.0	11.0	10.6*
Cholesterol concentration (mg/dL)	162	163	239	204	125	146	225*	194*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights								
Liver								
Absolute Organ Weight (%) [e]	253.333 g	+13.5	+29.5*	+20.5	203.172 g	+12.7	+31.0*	+41.9*
Organ to Body Weight (%)	2.8199	2.9399	3.4954*	3.4895*	2.5588	2.9267	3.0882	3.7272*
Organ to Brain Weight (%)	318.1166	380.9504	432.2171*	399.2271*	286.0047	297.3138	370.5175*	392.7094*

表 2.6.7.7.5-1　ビーグル犬を用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)
Number of Animals at Study Start	5	3	3	5	5	3	3	5
Macroscopic Observations								
Skin/subcutis								
Broken Skin	0	0	0	1	0	1	1	0
Discolored	0	0	0	1	0	0	0	0
Scab	0	1	1	0	0	1	0	0
Sore	0	0	0	1	0	0	0	0
Histopathology								
Number of Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Rectum								
Erosion/ulcer								
Minimal	0	0	0	1	0	0	1	1
Slight	0	0	0	0	0	0	2	0
Moderate	0	0	1	1	0	0	0	0
Skin/subcutis								
Ulcer								
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	1	1	0	0	0	0
Marked	0	0	0	0	0	1	0	0
Acanthosis								
Slight	0	0	0	0	0	2	0	0
Moderate	0	1	0	1	0	0	0	0
Hyperkeratosis								
Slight	0	0	0	1	0	2	0	0
Moderate	0	1	0	0	0	0	0	0
Fibrosis, dermis								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Slight	0	0	0	0	0	1	0	0

表 2.6.7.7.5-1　ビーグル犬を用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)
Number of Animals at Study Start	5	3	3	5	5	3	3	5
Infiltrate, mononuclear cell								
Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0
Moderate	0	1	0	0	0	0	0	0
Infiltrate neutrophils								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Lung								
Infiltrate, mixed cell								
Minimal	0	0	0	2	0	0	1	0
Slight	0	0	1	0	0	0	1	1
Moderate	0	0	1	0	0	0	0	1
Inflammation, granulomatous, Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Hyperplasia, bronchiolo-alveolar								
Slight	0	0	1	0	0	0	0	1
Recovery Phase								
Number of Animals in Recovery	2	0	0	2	2	0	0	1
Died or Sacrificed Moribund	0	NA	NA	0	0	NA	NA	0
Clinical Observations [d]								
Liquid feces, Day 3	0 (0)	NA	NA	2(2)	0 (0)	NA	NA	0 (0)
Clinical Chemistry								
Day 15								
Globulin concentration (g/dL)	2.5	NA	NA	2.8	2.5	NA	NA	4.1
Albumin:Globulin	1.4	NA	NA	1.0	1.5	NA	NA	0.6
Total protein (g/dL)	5.8	NA	NA	5.6	6.0	NA	NA	6.4
Calcium concentration (mg/dL)	10.9	NA	NA	10.4	10.7	NA	NA	9.8
Organ Weights								
Liver								
Absolute Organ Weight (%) [e]	266.612	NA	NA	+25.6	222.308	NA	NA	+22.2
Organ to Body Weight (%)	2.7598	NA	NA	3.2166	2.7296	NA	NA	3.3956
Organ to Brain Weight (%)	355.0754	NA	NA	430.9092	311.9594	NA	NA	373.5113

表 2.6.7.7.5-1　ビーグル犬を用いた4週間試験（2週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day) [a]	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)	0 (Control)	15 (Low)	30 (Mid)	60/45 (High)
Number of Animals at Study Start	5	3	3	5	5	3	3	5
Macroscopic observations	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Histopathology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-

- = No noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours postdose; C_{max} = maximum (peak) plasma concentration; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable; BLQ = below the quantification limits;

* = Statistically significant ($p < 0.05$) based on actual data (not on percent difference).

[a] Beginning on Day 9 of the dosing phase, dosing for all animals in receiving 60 mg/kg/day was stopped due to toxicity.　Animals resumed dosing on Day 15 of the dosing phase at a new dose level (45 mg/kg/day) for the remainder of the study.

[b] Blood for toxicokinetics was collected on Day 15 of the dosing phase for Group 4 animals only as this was the first day being dosed at 45 mg/kg.

[c] One female given 60 mg/kg/day was found dead on Day 9 of the dosing phase. A cause of death was undetermined although microscopic findings of liver necrosis and hepatocellular atrophy were likely associated with the death of the animal.

[d] Clinical observations are presented as number of occurrences during interval (number of animals affected)

[e] For controls, group means are shown.　For treated groups, percent difference from controls is shown.

[f] For Group 4, the end of day for 14 days dosed at 45 mg/kg.

2.6.7.7.6　ビーグル犬を用いた13週間試験（8週間回復性試験）

表 2.6.7.7.6-1　ビーグル犬を用いた13週間試験（8週間回復性試験）

被験物質：entrectinib

2.6.7.7.6 Repeat-Dose Toxicity	Report Title: RXDX-101: 13-Week Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs with an 8-Week Recovery Phase	Test Article: Entrectinib (RXDX-101)
Species/Strain: Dogs / Beagles Initial Age: 8-9 months Date of First Dose: [redacted]	Duration of Dosing: 13 weeks Duration of Recovery: 8 weeks Method of Administration: Oral gavage Vehicle Control Article: 0.5 % (w/v) methylcellulose (MC, 400 cP) in reverse osmosis water	Study No. SR-[redacted]-029 (8330794) Report No. 1087343 Location in CTD: 4.2.3.2-10 GLP Compliance: Yes

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: lower than 7.5 mg/kg/day

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	6	4	4	6	6	4	4	6
Dosing Phase								
Toxicokinetics:								
entrectinib								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	1.06	1.52	3.31	BLQ	0.773	1.92	4.17
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.195	0.274	0.528	BLQ	0.136	0.299	0.564
Day 42								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	2.16	2.66	7.09	BLQ	1.49	3.89	6.81
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.311	0.325	0.830	BLQ	0.187	0.481	0.775
Day 91								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	1.93	3.39	8.04	BLQ	1.81	5.04	7.09
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.276	0.476	0.912	BLQ	0.226	0.673	0.839
M5 (Metabolite of entrectinib)								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	2.00	2.53	4.73	BLQ	1.52	3.12	5.77
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.203	0.262	0.403	BLQ	0.158	0.261	0.451
Day 42								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	4.34	5.85	8.99	BLQ	2.93	6.71	9.40
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.382	0.400	0.663	BLQ	0.241	0.473	0.663

表 2.6.7.7.6-1　ビーグル犬を用いた13週間試験（8週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	6	4	4	6	6	4	4	6
Day 91								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (μmol/L•h)	BLQ	2.66	4.46	9.06	BLQ	2.44	6.45	8.06
C_{max} (μmol/L)	BLQ	0.239	0.350	0.699	BLQ	0.204	0.488	0.605
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund [a]	0	0	1	0	0	0	0	0
Clinical Observations								
Appearance								
Limited use, left front leg	0	1	0	0	0	0	0	0
Limited use, left hind leg	0	0	0	0	0	0	0	1
Limited use, right hind foot	0	0	0	1	0	0	0	0
Swollen, left hind digits	0	0	0	0	0	0	1	1
Swollen, right front digits	0	0	0	1	0	0	0	0
Swollen, right hind digits	0	0	0	1	0	0	0	2
Swollen, right hind interdigital	0	0	0	1	0	0	1	0
Discharge								
Vomitus, group observation [b]	0	0	2	0	0	0	4	2
Vomitus, individual observation [b]	2	1	6	12	7	1	5	9
Excretion								
Feces, discolored, group observation, red	0	0	0	0	0	0	0	2
Feces, discolored, individual observation, red	0	0	0	1	1	0	0	2
Feces, discolored individual observation, black	0	0	0	0	0	0	0	1
Feces, liquid, group observation	0	0	0	0	0	0	0	4
Feces liquid, individual observation	1	0	1	2	2	0	0	4
Feces, mucoid, individual observation	0	0	0	1	1	0	1	2

表 2.6.7.7.6-1　ビーグル犬を用いた13週間試験（8週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	6	4	4	6	6	4	4	6
Skin and pelage								
Discolored skin [b]	1	4	1	4	0	0	2	6
Raised area [b]	1	7	0	1	0	0	3	0
Scab [b]	0	4	1	10	1	0	3	6
Scaly skin [b]	0	0	1	3	0	0	2	3
Sore [b]	0	3	0	14	0	0	2	8
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%) [c, d]								
Day 92	9.7 kg	-4.1	-3.1	2.1	9.2 kg	-5.4	0.0	-6.5
Food Consumption (%) [c, d]								
Day 89-92	726 g	31.1	20.2	17.1	552 g	25.9	62.9	32.4
Electrocardiographic Examinations（Days 40 and 90）	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Day 40								
Red blood cell count (E6/μL)	6.03	6.20	5.87	5.58	6.05	6.23	6.26	5.82
Hemoglobin (g/dL)	13.3	13.2	13.0	11.9	13.4	13.9	14.1	12.8
Hematocrit (%)	41.4	41.6	40.2	37.8	41.9	43.9	43.8	40.3
White blood cell count (E3/μL)	10.35	15.85	15.92	14.97	10.24	12.52	12.67	11.45
Neutrophil count (E3/μL)	6.10	11.43	12.25	10.65	6.64	8.56	8.34	7.42
Monocyte count (E3/μL)	0.67	1.19	1.10	1.09	0.44	0.76	0.64	0.74
Fibrinogen (mg/dL)	286	404	380	384	261	259	332	364
Day 90								
Red blood cell count (E6/μL)	6.40	6.39	6.25	5.67	6.28	6.26	5.86	5.88
Hemoglobin (g/dL)	14.1	13.6	13.5	12.1	13.9	13.8	12.9	12.9
Hematocrit (%)	44.3	43.4	43.0	38.8	43.8	44.0	41.0	40.7
White blood cell count (E3/μL)	9.02	12.36*	11.89	15.74*	8.94	9.32	14.83	11.39
Neutrophil count (E3/μL)	5.14	8.24*	8.40*	11.34*	5.08	6.08	10.48	7.28
Monocyte count (E3/μL)	0.60	0.84	0.80	1.18*	0.38	0.52	0.92*	0.82*
Fibrinogen (mg/dL)	245	336	316	439*	232	241	359	417*

表 2.6.7.7.6-1　ビーグル犬を用いた13週間試験（8週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	6	4	4	6	6	4	4	6
Clinical Chemistry								
Day 40								
Glucose (mg/dL)	99	85	87	90	100	95	90	94
Total protein (g/dL)	5.5	6.4*	6.1	6.1*	5.6	5.7	5.8	5.6
Albumin (g/dL)	3.2	3.1	2.9	2.9	3.4	3.4	3.1	3.0
Globulin (g/dL)	2.2	3.3*	3.2	3.2*	2.2	2.2	2.7	2.6
Albumin:Globulin	1.5	0.9*	0.9	1.0*	1.6	1.6	1.2	1.3
Calcium (mg/dL)	11.1	10.9	10.9	10.8	11.2	11.1	11.0	10.9
Day 90								
Glucose (mg/dL)	93	86	87	87	96	95	86*	89
Total protein (g/dL)	5.6	6.2	5.7	6.2*	5.4	5.6	6.1*	5.9*
Albumin (g/dL)	3.2	3.1	2.9	2.7*	3.3	3.1	2.8*	2.8*
Globulin (g/dL)	2.3	3.1	2.8	3.5*	2.1	2.5	3.3*	3.1*
Albumin:Globulin	1.4	1.0*	1.0	0.8*	1.5	1.3	0.9*	1.0*
Calcium (mg/dL)	10.9	10.8	10.6	10.4	11.1	10.9	10.8	10.6
Phosphorus (mg/dL)	4.9	5.0	4.9	4.3	4.9	4.6	4.9	4.0*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights								
Liver								
Absolute Organ Weight (%) [c]	283.953 g	+10.7	+10.3	+16.7	280.884 g	-3.4	+10.2	+8.3
Organ to Body Weight (%)	2.9744	3.4092	3.3712	3.3590	3.0592	3.2513	3.4148	3.4851
Organ to Brain Weight (%)	350.1867	382.4564	410.4219	454.6386	369.7850	368.1787	424.6538	430.4515
Prostate								
Absolute Organ Weight (%) [c]	7.329 g	-8.5	-19.2	-35.4	NA	NA	NA	NA
Organ to Body Weight (%)	0.0746	0.0700	0.0623	0.0459	NA	NA	NA	NA
Organ to Brain Weight (%)	8.9953	8.0970	7.6571	6.3481	NA	NA	NA	NA
Macroscopic Observations								
Foot/Footpad								
Sore	0	0	0	1	0	0	0	1
Scab	0	0	0	0	0	0	0	1[e]

表 2.6.7.7.6-1　ビーグル犬を用いた13週間試験（8週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	6	4	4	6	6	4	4	6
Histopathology								
Rectum								
Number Examined	4	4	4 [f]	4	4	4	4	4
Erosion/ulcer, squamous epithelium, anus								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	1
Infiltrate, neutrophils								
Minimal	0	0	1	1	0	0	2	2
Foot/Footpad								
Number Examined	0	0	0	1	0	0	0	2
Erosion/ulcer, skin								
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Acanthosis								
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2
Inflammation, acute								
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation, mixed cell								
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Lung								
Number Examined	4	4	4 [f]	4	4	4	4	4
Infiltrate, mixed cell, alveolar								
Minimal	2	1	0	1	0	2	1	1
Slight	0	1	1	2	0	0	1	2
Moderate	0	0	1	0	0	0	0	0
Inflammation, chronic								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Marked	0	0	1	0	0	0	0	0

表 2.6.7.7.6-1　ビーグル犬を用いた13週間試験（8週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)	0 (Control)	7.5 (Low)	15 (Mid)	30 (High)
Number of Toxicity Animals at Study Start	6	4	4	6	6	4	4	6
Hyperplasia, epithelial, bronchiolo-alveolar								
Minimal	1	1	1	1	0	0	1	1
Slight	0	1	0	0	0	0	0	0
Moderate	0	0	1	0	0	0	0	0
Recovery Phase	-	-	-	-	-	-	-	-

- = No noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours postdose; BLQ = below the quantification limits; C_{max} = maximum (peak) plasma concentration; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable.

* = Statistically significant from Group 1 based on actual data (not on percent difference) where $p < 0.05$.

[a] One Group 3 male (Animal H12967) was sacrificed at unscheduled interval on Day 33 of the dosing phase due to behavioral issues. This death was not considered test article related.

[b] Represents all observed iterations of a given type of observation.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

[d] Test-article related effects were seen in sporadic individuals and may not be evident in the summary data presented.

[e] Recorded under skin/subcutis of foot.

[f] Includes one male (Animal H12967) sacrificed early on Day 33 of the dosing phase.

2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

表 2.6.7.8.1-1 細菌を用いた復帰突然変異試験

2.6.7.8.1 Genotoxicity: *In vitro*	Report Title: NMS-1191372: Bacterial Reverse Mutation Assay	Test Article: Entrectinib (RXDX-101, also known as: NMS-1191372)
Test for Induction of: Reverse mutation in bacteria Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* Metabolizing System: Phenobarbital-5,6-benzoflavone-induced rat liver (S9)	No. of Independent Assays: Range finding + 1 Ames Test No. of Replicate Plates: 3 (1 for Range Finding) No. of Bacteria Analyzed/Culture: 1-3x10^8	Study No.: 0273-[redacted] Report No. 1087350 Location in CTD: 4.2.3.3.1-1 GLP Compliance: Yes

Vehicles: Test Article: DMSO Positive controls: DMSO for 2-NF, 2AAN, 9AA; distilled water for NaN3 and MMS

Treatment: Preincubation for 30 minutes, 37 °C, followed by plate incubation for 3 days with and without S9 mix

Cytotoxic Effects: In the main study, toxicity was observed in presence of S9 in TA100, TA98 and WP2 uvrA only at the highest dose tested while in TA1535 starting from 78.1 µg/plate and in TA1537 starting from 39 µg/plate. In absence of S9, signs of toxicity were observed in TA1535, TA98 and WP2 uvrA at the two highest test doses, while in TA100 toxicity was observed starting from 9.76 µg/plate and in TA1537 starting from 4.88 µg/plate.

Genotoxic Effects: entrectinib was judged to be non-mutagenic in the pre-incubation mutagenesis assay in bacteria when tested with and without metabolic activation (S9) in *Salmonella typhiurium* strains TA98, TA100, TA1535, TA1537 and in *E. Coli* strain WP2 uvrA.

Metabolic Activation	Test Item	Dose level (µg/plate)	Experiment: Range Finding Revertant Colony Counts (Mean ±SD)				
			TA100	TA1535	TA1537	TA98	WP2 uvrA
With S9 mix	DMSO*	50 µL/plate	149 ± 11	24 ± 1	21 ± 1	34 ± 10	54 ± 13
	entrectinib	1250 P	17 A	7 R	18 S	31 S	17 S
		625 P	97 A	15 R	10 S	23 S	25 S
		312.5 P	369** A	14 R	16 S	32 S	32 K
		156.25	36 S	15 R	22 S	45	42
		78.1	158	12 R	11 K	46	67
		39	151	21	27	44	56
		19.5	154	22	25	39	51
		9.76	154	22	31	47	61
		4.88	158	22	27	57	59
		2.44	140	19	24	59	61
	Positive controls 2AAN 2AAN	 5 20	 3384	 313	 212	 1960	 367

表 2.6.7.8.1-1　細菌を用いた復帰突然変異試験（続）

Metabolic Activation	Test Item	Dose level (μg/plate)	Experiment: Range Finding Revertant Colony counts (Mean ±SD)				
			TA100	TA1535	TA1537	TA98	WP2 uvrA
Without S9 mix	DMSO*	50 μL/plate	120 ± 14	21 ± 3	18 ± 5	24 ± 3	41 ± 9
	entrectinib	1250 P	4 A	4 A	3 S	8 S	1311** HA
		625 P	5 A	11 S	5 S	23 S	1330** A
		312.5 P	8 A	8 S	7 S	21 S	983** A
		156.25	25 A	16 S	12 S	19	50 S
		78.1	50 S	19 S	7 S	15	27 S
		39	82 S	15	4 S	22	36
		19.5	106 K	17	11 S	36	38
		9.76	101	19	9 R	24	40
		4.88	145	12	16	27	36
		2.44	130	21	12	20	47
	Positive controls						
	2 NF	2				269	
	NaN_3	1	388	386			
	9AA	50			442		
	MMS	500					251

* = Solvent control, **= These values were not seemed to be revertant colonies because of severe toxic effect, lawn absent and pinpoint colonies.

P: precipitate, A: Lawn absent, S: sparse lawn, K: marginally sparse lawn, H: Pinpoint colonies, R: Reduction of colonies number.

Abbreviations: 2AAN: 2-aminoanthracene, 9AA: 9-aminoacridine, NaN_3: sodium azide, 2-NF: 2-nitrofluorene, MMS: methyl methane sulfonate, DMSO: dimethyl sulfoxide

表 2.6.7.8.1-1　細菌を用いた復帰突然変異試験（続）

Metabolic Activation	Test Item	Dose level (µg/plate)	Experiment 1 Revertant Colony Counts (Mean ±SD)				
			TA100	TA1535	TA1537	TA98	WP2 uvrA
With S9 mix	DMSO*	50 µL/plate	129 ± 8	22 ± 7	22 ± 6	41 ± 2	50 ± 11
	entrectinib	312.5	ND	ND	ND	29± 10 S P	30 ± 9 K P
		156.25	42 ± 7 S	16 ± 1 R	24± 2 S	45 ± 5	44 ± 11
		78.1	102 ± 13	15 ± 4 R	24 ± 4 S	54 ± 8	45 ± 5
		39	130 ± 6	23 ± 3	18 ± 12 K	42 ± 9	44 ± 6
		19.5	134 ± 7	16 ± 4	22 ± 3	46 ± 1	52 ± 4
		9.76	131 ± 21	22 ± 6	22 ± 4	ND	ND
	Positive controls						
	2 AAN	5	1972 ± 178	308 ± 37	149 ± 17	2462 ± 172	
	2 AAN	20					394 ± 32

* = Solvent control; P: Precipitate, S: Sparse lawn, K: Marginally sparse lawn, R: Reduction of colonies number, ND: not done, Abbreviations: 2AAN = 2-aminoanthracene

Metabolic Activation	Test Item	Dose level (µg/plate)	Experiment 1 Revertant Colony Counts (Mean ±SD)				
			TA100	TA1535	TA1537	TA98	WP2 uvrA
Without S9 mix	DMSO*	50 µL/plate	94 ± 11	19 ± 4	14 ± 3	21 ± 3	37 ± 10
	entrectinib	312.5	ND	ND	ND	18± 3 S P	ND
		156.25	ND	ND	ND	17 ± 4 K	ND
		78.1	ND	14 ± 2 S	ND	21 ± 1	19 ± 8 S
		39	101 ± 6 A	14 ± 3 K	29 ± 4 HS	21 ± 5	24 ± 1 K
		19.5	91 ± 12 S	21 ± 5	13 ± 2 S	19 ± 4	31 ± 5
		9.76	101 ± 14 K	17 ± 2	14 ± 4 S	ND	35 ± 7
		4.88	108 ± 10	17 ± 3	12 ± 3 K	ND	36 ± 3
		2.44	97 ± 15	ND	11 ± 1	ND	ND
		1.22	ND	ND	13 ± 2	ND	ND
	Positive controls						
	2 NF	2				276 ± 25	
	NaN_3	1	353 ± 16	395 ± 3			
	9AA	50			499 ± 209		
	MMS	500					195± 16

* = Solvent control; P: Precipitate, A: Lawn absent, S: Sparse lawn, K: Marginally sparse lawn, H: Pinpoint colonies, ND: not done

9AA: 9-aminoacridine, NaN_3: sodium azide, 2-NF: 2-nitrofluorene, MMS: methyl methane sulfonate.

2.6.7.8.2　ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核予備試験

表 2.6.7.8.2-1　ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核予備試験

被験物質：entrectinib

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (evaluable doses without toxicity)	Noteworthy findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Micronucleus Assay (non-GLP)	Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)	with and without metabolic Activation	3 hours with and without metabolic activation and 20 hours without metabolic activation	3.9-31.25 µg/mL (3 hours with and without S9 mix), 16.38-40 µg/mL (3 hours with S9 mix), 6.71-20.48 µg/mL (20 hours without S9 mix)	In presence of metabolic activation a slight but not statistically significant increase in the percentage of micronucleated cells was observed starting from 25.6 µg/mL when compared to the solvent control. In the condition of 20 hours without metabolic activation, an increase but not statistically significant of micronucleated cells was observed starting from 10.48 µg/mL, where a percentage of survival cells about 55 % was seen when compared to the solvent control. Based on the results obtained entrectinib was judged not able to induce a significant increase of micronuclei in human peripheral lymphocytes.	0279-[redacted] [1087351] (4.2.3.3.1-2)

2.6.7.8.3　ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション分析試験

表 2.6.7.8.3-1　ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション分析試験

被験物質：entrectinib

2.6.7.8.3 Genotoxicity: *In vitro*	Report Title: *In Vitro* Mammalian Cell Micronucleus Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)	Test Article: Entrectinib (RXDX-101)
Test for Induction of: Micronuclei Strains: Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL) Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9	No. of Independent Assays: 1 No. of Replicate Cultures: 2 No. of Cells Analyzed/Culture: 1000	Study No.: AD94TF.348ICHFISH.BTL Report No. 1087352 Location in CTD: 4.2.3.3.1-3 GLP Compliance: Yes
Vehicles: For Test Article: DMSO　For Positive controls: Water (MMC, CP, VB)		
Treatment:24 hr without S9; 4 hour with 20 hour recovery period with and without S9	First day test article administered to test system: [redacted]	
Cytotoxic Effects:	In the definitive micronucleus assay, substantial toxicity [50 to 60% cytokinesis-blocked proliferation index (CBPI) relative to the vehicle control] was observed at dose levels ≥25 µg/mL in the non-activated 4-hour exposure group, at dose levels ≥20 µg/mL in the S9-activated 4-hour exposure group, and at dose levels ≥ 15 µg/mL in the non-activated 24-hour exposure group.	
Genotoxic Effects:	Entrectinib was positive for the induction of micronuclei in the non-activated 24-hour exposure test system in the *In vitro* Mammalian Cell Micronucleus Assay using HPBL. In addition, subsequent FISH analysis indicated that entrectinib induced primarily centromere-positive MN, indicating the MN were induced by an aneugenic mechanism of action.	

Metabolic Activation	Test Article	Dose level	CBPI	Cytotoxicity [a] (% of control)	% of MNBN cells per Total BN Cells Counted	Results of FISH Analysis			
						C-MN [b]	C+MN [c]	Total MN [d]	%C+MN
24-hr Continuous	DMSO	NA	1.476	NA	0.5	12	10	22	45
Treatment	entrectinib	3 µg/mL	1.446	6	0.8	NA	NA	NA	NA
Without	entrectinib	7.5 µg/mL	1.373	22	0.6	NA	NA	NA	NA
Activation	entrectinib	15 µg/mL	1.224	53	1.6**$	13	55	68	81
	VB	5 ng/mL	1.325	32	1.3**	22	78	100	78
4-hr Treatment	DMSO	NA	1.534	NA	0.4	NA	NA	NA	NA
With 20 hr recovery	entrectinib	7.5 µg/mL	1.471	12	0.4	NA	NA	NA	NA
Without	entrectinib	15 µg/mL	1.373	30	0.5	NA	NA	NA	NA
Activation	entrectinib	25 µg/mL	1.256	52	0.8	NA	NA	NA	NA
	MMC	0.4 µg/mL	1.302	43	3.7**	71	29	100	29

表 2.6.7.8.3-1　ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験と蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション分析試験（続）

被験物質：entrectinib

Metabolic Activation	Test Article	Dose level	CBPI	Cytotoxicity [a] (% of control)	% of MNBN cells per Total BN Cells Counted	Results of FISH Analysis			
4-hr Treatment	DMSO	NA	1.460	NA	0.3	NA	NA	NA	NA
With 20 hr Recovery	entrectinib	7.5 µg/mL	1.398	13	0.4	NA	NA	NA	NA
With	entrectinib	15 µg/mL	1.314	32	0.7	NA	NA	NA	NA
Activation	entrectinib	20 µg/mL	1.228	50	0.6	NA	NA	NA	NA
	CP	2.5 µg/mL	1.260	43	1.3**	NA	NA	NA	NA

BN: binucleated cells, CBPI: cytokinesis-blocked proliferation index; CP: cyclophosphamide; DMSO: dimethyl sulfoxide; MNBN: micronucleated binucleated cells; MMC: Mitomycin C, NA: Not applicable, VB: Vinblastine.

** $p < 0.01$ (Fisher's Exact Test); $ Cochran-Armitage test was positive for a dose response ($p < 0.05$).

[a] Relative to vehicle control

[b] Centromere-negative micronuclei

[c] Centromere-positive micronuclei

[d] Total micronuclei

2.6.7.9　*In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1　ラットを用いた小核試験とコメットアッセイ

表 2.6.7.9.1-1　ラットを用いた小核試験とコメットアッセイ

被験物質：entrectinib

2.6.7.9.1 Genotoxicity: *In vivo*	Report Title: *In Vivo* Micronucleus and Comet Assay in Rats	Test Article: Entrectinib (RXDX-101)
Test for Induction of: Micronuclei and DNA damage	Treatment Schedule: Three dose administrations (Study Days 1, 2, and 3). Second dose ca. 24 hours after first dose; third dose ca. 21 hours after the 2nd dose. EMS administered on Study Days 2 and 3 only.	Study No.: SR-[redacted]-006 (AD94TF.433MICH.BTL) Report No. 1087353
Sex/Species/Strains: Male Hsd: SD rats	Method of Administration: Oral gavage	Location in CTD: 4.2.3.3.2-1
Age at Initiation: 6 weeks	No. of Cells Analyzed/Animal (Micronucleus Assay): 2000	GLP Compliance: Yes
Body Weight at Randomization: 170.0 – 180.4 grams		
Cells Evaluated: Liver (Comet Assay) and bone marrow (Micronucleus Assay)	Number of cells analyzed: 100 cells/animal	First Day of Dosing: [redacted]
Negative Control Article: 0.5% methylcellulose (400 cP) and 1% Tween 80 in deionized water	Vehicle for Positive Control Article: 0.9% saline	Positive Control: Ethyl methanesulfonate (EMS)
Toxic/Cytotoxic Effects:	No mortality occurred at any dose level during the course of the definitive assay. Clinical signs included piloerection observed at 2000 mg/kg/day. All other rats appeared normal throughout the observation period.	
Genotoxic Effects:	Entrectinib was concluded to be negative in the *in vivo* Comet and Micronucleus Assays.	

Comet Assay			Study No.: SR-[redacted]-006 (AD94TF.433MICH.BTL)
Treatment (10 mL/kg/day)	Dose (mg/kg/day)	No. of Males	% Tail DNA [a] in Liver Cells (Mean ± SD)
Vehicle [b]	0	5	0.91 ± 0.16
entrectinib	250	5	0.97 ± 0.35
entrectinib	1000	5	1.50 ± 0.80
entrectinib	2000	5	1.41 ± 0.29
Positive Control [c]	200	5	26.36 ± 4.84*

SD: standard deviation, * $p < 0.05$ (pair t-test); statistically significant increase relative to the vehicle control

[a] Mean of 5 animal means

[b] 0.5% methylcellulose (400 cP) and 1% Tween 80 in deionized water

[c] Ethyl methanesulfonate (EMS) positive control was only administered once daily on Study Day 2 and on Study Day 3 at 3 to 4 hours prior to organ collection.

表 2.6.7.9.1-1　ラットを用いた小核試験とコメットアッセイ（続）

被験物質：entrectinib

Micronucleus Assay – Bone Marrow Cells		Test Articles: entrectinib		
Treatment (10 mL/kg/day)	Dose (mg/kg/day)	No. of Males	PCE/Total Erythrocytes (Mean±SD)	Number of MnPCE/PCE scored
Vehicle [b]	0	5	0.521 ± 0.01	1/10000
entrectinib	250	5	0.521 ± 0.01	2/10000
entrectinib	1000	5	0.512 ± 0.00	4/10000
entrectinib	2000	5	0.520 ± 0.01	6/10000
Positive Control [a]	200	5	0.545 ± 0.01	173*/10000

PCE: Polychromatic Erythrocytes, MnPCE: Micronucleated Polychromatic Erythrocytes, SD: standard deviation.

* Statistically significant increase compared to vehicle control, $p < 0.05$ (Kastenbaum-Bowman Tables, binomial distribution)

[a] Ethyl methanesulfonate (EMS) positive control was only administered once daily on Study Day 2 and on Study Day 3 at 3 to 4 hours prior to organ collection.

[b] 0.5% methylcellulose (400 cP) and 1% Tween 80 in deionized water

表 2.6.7.9.1-2　ラットを用いた小核試験における entrectinib 及び M5の TK パラメータの平均値

投与量 (mg/kg/日)	Entrectinib			M5			M5: entrectinib AUC 比
	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	AUC_{0-24h} (μmol/L•h)	T_{max} (h)	C_{max} (μmol/L)	AUC_{0-24h} (μmol/L•h)	
250	1	6.09	114	8	0.599	10.5	0.09
1000	1	11.6	241	1	1.32	29.2	0.12
2000	8	10.8	242	2	1.53	32.8	0.14

T_{max} = 最高血漿中濃度到達時間；C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC =濃度–時間曲線下面積；h = 時間

2.6.7.10　がん原性試験

No carcinogenicity studies were conducted for inclusion in this submission.

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.11.1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する予備試験

表 2.6.7.11.1-1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する予備試験

被験物質：entrectinib

<table>
<tr><th>Species/
Strain</th><th>Method of
administration
(Vehicle/Formulation)</th><th>Dosing
Period</th><th>Doses
(mg/kg)</th><th>No. per
Group</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number
[Report No.]
(Location in CTD)</th></tr>
<tr><td>Rat/Crl:CD(SD)</td><td>Oral Gavage
(0.5% [w/v]
methylcellulose in
deionized
water/suspension)</td><td>GD 6-17</td><td>0
25
50
100
200</td><td>8F</td><td>200 mg/kg/day: Lower mean body weight gains, in the absence of reduced mean food consumption.
≥ 25 mg/kg/day: Lower mean fetal weights, which corresponded to the lower mean gravid uterine weights noted at these dose levels.　However, no external fetal malformations or variations attributable to entrectinib were observed.

Exposure:
<table>
<tr><th>Dose (mg/kg)</th><th>25</th><th>50</th><th>100</th><th>200</th></tr>
<tr><td>GD 17 entrectinib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μmol/L•h)</td><td>19.2</td><td>32.8</td><td>63.6</td><td>113</td></tr>
<tr><td>GD 17 M5</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μmol/L•h)</td><td>0.667</td><td>1.46</td><td>2.97</td><td>8.17</td></tr>
</table></td><td>SR-[redacted]-025
[1087362]
(4.2.3.5.2-1)</td></tr>
</table>

GD: Gestation Day

2.6.7.12　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

No fertility and early embryonic developmental toxicity study was conducted for inclusion in this submission.

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

表 2.6.7.13.1-1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

被験物質：entrectinib

2.6.7.13.1 Reproductive and Developmental Toxicity-Study of the Effects on Embryofetal Development	Report Title: RXDX-101: An Oral (Gavage) Study of the Effects on Embryo/Fetal Development in Rats	Test Article: Entrectinib (RXDX-101)
Design similar to ICH 4.1.3 ? Yes Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) Initial Age: 14 weeks Date of First Dose: [redacted]	Duration of Dosing: GD 6-17 Day of Mating/Insemination: GD 0 Day of Laparohysterectomy: GD 20 Method of Administration: Oral gavage Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) methylcellulose in deionized water/suspension	Study No. SR-[redacted]-007 ([redacted]-307502) Report No. 1087361 Location in CTD: 4.2.3.5.2-2 GLP Compliance: Yes

Special Features: Toxicokinetics
No Observed Adverse Effect Level (NOAEL):　F_0 Females: 50 mg/kg/day　F_1 Litters: 12.5 mg/kg/day

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	12.5	50	200
Dams:	Toxicokinetics: entrectinib				
	GD 6				
	T_{max} (hr)	NA	8	8	12
	C_{max} (µmol/L)	NA	0.518	2.43	5.12
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	NA	6.24	33.8	89.5
	GD 17				
	T_{max} (hr)	NA	8	2	12
	C_{max} (µmol/L)	NA	0.820	2.65	6.09
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	NA	10.2	41.5	127
	G 17/6 $AUC_{0\text{-}24h}$ Ratio	NA	1.63	1.23	1.42
	Toxicokinetics: M5				
	GD 6				
	T_{max} (hr)	NA	4	8	12
	C_{max} (µmol/L)	NA	0.00521	0.0789	0.184
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	NA	0.0156	0.851	2.96
	GD 17				
	T_{max} (hr)	NA	4	4	4
	C_{max} (µmol/L)	NA	0.0174	0.0963	0.440
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	NA	0.110	1.46	8.52
	GD 17/6 $AUC_{0\text{-}24h}$ Ratio	NA	7.05	1.72	2.88

表 2.6.7.13.1-1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続）

被験物質：entrectinib

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	12.5	50	200
Dams:	No. Evaluated	25	25	25	25
	No. Pregnant	25	25	24	25
	No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Clinical Observations [a]				
	Daily Examinations				
	Red material around the nose	0/0	0/0	0/0	28/12
	Post-Dosing Observations				
	Red material around the nose	0/0	0/0	0/0	9/8
	Body Weight, g (%) [b]				
	GD 6	285	289 (1.4)	289 (1.4)	287 (0.7)
	GD 9	295	301 (2.0)	303 (2.7)	284 (-3.7)*
	GD 12	311	318 (2.3)	318 (2.3)	296 (-4.8)*
	GD 18	375	379 (1.1)	381 (1.6)	343 (-8.5)**
	GD 20	409	407 (-0.5)	405 (-1.0)	376 (-8.1)**
	Body Weight Change (g)				
	GD 6-9	10	12	14	-4**
	GD 9-12	16	18	15	13
	GD 12-18	65	60	63	46**
	GD 6-18	90	90	92	55**
	GD 18-20	34	28*	24**	33
	Gravid Uterine Weight (g)	87.5	87.4	84.7	66.7**
	Net Body Weight Change (g)	69.7	66.4	66.8	57.7*
	Food Consumption (g/animal/day)				
	GD 6-9	21	23**	23**	16**
	GD 9-12	21	24**	24**	20
	GD 12-18	25	25	25	22**
	GD 6-18	23	24	24*	20**
	GD 18-20	26	25	25	25

-: No noteworthy findings, GD: Gestation day, g: grams, NA: not applicable, Dunnett's Test　* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

[a] Presented as the total occurrence/number of animals.

[b] For all groups, means are shown.　For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses.　Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

表 2.6.7.13.1-1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続）

被験物質：entrectinib

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	12.5	50	200
Dams:	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Mean No. of Corpora Lutea	17.4	17.2	17.5	16.8
	Mean No. of Implantations	15.9	16.0	16.1	15.0
	Mean % Pre-implantation Loss	7.7	6.3	7.6	8.5
Litters:	No. Litters Evaluated	25	25	24	25
	Mean No. of Viable Fetuses	14.8	15.4	15.4	14.4
	Mean No. Resorptions	1.0	0.6	0.7	0.6
	Mean No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean % Postimplantation Loss	6.5	3.8	4.3	4.2
	Mean % Viable Fetuses	93.5	96.2	95.8	95.8
	Mean Fetal Body Weight, g (%) [b]				
	Male	3.9	3.7 (-5.1)*	3.5 (-10.3)**	2.5 (-35.9)**
	Female	3.7	3.5 (-5.4)*	3.3 (-10.8)**	2.4 (-35.1)**
	Combined	3.8	3.6 (-5.3)*	3.4 (-10.5)**	2.5 (-34.2)**
	Mean Sex Ratio (% Males per Litter)	50.8	54.1	48.1	51.9
	Fetal Morphology [c]				
	External Malformations				
	Micromelia	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (1.8)
	Limb hyperextension	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)
	Omphalocele	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.5)
	Gastroschisis	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.6)
	Adactyly	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)
	Localized fetal edema	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.2)
	Filamentous tail	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)
	Visceral Malformations				
	Transposition of the great vessels	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.6)
	Absent cartilaginous rings in the trachea	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.2)
	Retroesophageal aortic arch	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.2)
	Right-sided aortic arch	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.2)

-: No noteworthy findings, g: Grams, Dunnett's Test　* $p < 0.05$　** $p < 0.01$

[b] For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c] Presented as the absolute number (% per litter).

表 2.6.7.13.1-1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続）

被験物質：entrectinib

	Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	12.5	50	200
Litters:	Fetal Morphology [c]				
	Skeletal Malformations				
	Bent limb bone(s)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	50 (15.1)++
	Vertebral anomaly with associated rib anomaly	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (1.2)
	Only 12 pairs of ribs present	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (1.5)
	Rib anomaly	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (0.8)
	Vertebral centra anomaly	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (0.9)
	Skeletal Developmental Variations				
	Cervical centrum no.1 ossified	66 (18.1)	78 (20.3)	39 (10.4)	5 (1.4)++
	14th rudimentary rib(s)	25 (6.7)	34 (9.2)	10 (2.4)	1 (0.3)+
	Bent rib(s)	1 (0.3)	4 (1.2)	32 (9.3)	280 (77.6)++
	Reduced ossification of the skull	1 (0.3)	4 (1.1)	25 (6.6)	127 (35.5)++
	Sternebra(e) nos. 5 and/or 6 unossified	15 (3.9)	13 (3.3)	31 (8.2)	154 (41.8)++
	Sternebra(e) nos. 1, 2, 3 and/or 4 unossified	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.4)	12 (2.9)
	Reduced ossification of the vertebral arches	4 (1.2)	2 (0.6)	31 (8.0)	320 (88.8)++
	Sternebra(e) malaligned (slight or moderate)	1 (0.3)	5 (1.2)	6 (1.6)	19 (5.3)+
	Reduced ossification of the rib(s)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (2.4)	77 (20.6)++
	Reduced ossification of the 13th rib(s)	2 (0.6)	0 (0.0)	5 (1.4)	119 (33.8)++
	Bent scapula(e)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	147 (41.4)++
	Ischium unossified	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)
	Pubis unossified	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (1.3)
	Total % per litter with Malformations	0.5	0.2	0.5	18.2++
	Total % per litter with Variations	33.3	35.4	37.3	98.7++

Proportional (%) data compared using Dunn's Test:　+ $p < 0.05$,　++ $p < 0.01$

[c] Presented as the absolute number (% per litter).

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：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

No pre- and postnatal developmental study has been conducted for inclusion in this submission.

2.6.7.15　新生児を用いた毒性試験

2.6.7.15.1　幼若ラットを用いた6日間忍容性試験

表 2.6.7.15.1-1　幼若ラットを用いた6日間忍容性試験

被験物質：entrectinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. Per Group	NOAEL or MTD (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Juvenile female rat/ Crl:CD(SD) SD	Gavage (0.5% Methylcellulose 400 cP aqueous solution)	Single dose on PND* 7 or 6-day repeat doses from PND 7 to 12	25, 50, 100 for single and repeat doses	18F/ group	- 0, 25, 50, and 75 mg/kg/day were recommended for DRF** tox	All single doses: no changes in clinical signs and body weight Repeat dose: 25 mg/kg/day: no changes in clinical signs and body weight 50 mg/kg/day: clinical signs of slight suspected dehydration (reduced skin turgor) and moderate reductions in body weight gains 100 mg/kg/day: clinical signs of slight to moderate suspected dehydration and cold to touch, and severe body weight loss	SR-[redacted]-015 [1087702] (4.2.3.5.4-1)

*PND: Postnatal day, **DRF: Dose range finding

2.6.7.15.2　幼若ラットを用いた4週間用量設定試験

表 2.6.7.15.2-1　幼若ラットを用いた4週間用量設定試験

被験物質：entrectinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of dosing	Dose (mg/kg/day)	Sex and No. Per Group	NOAEL or MTD (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Juvenile rat/ Crl:CD(SD) SD	Gavage (0.5% Methylcellulose 400 cP aqueous solution)	28 days from PND* 7 to 34	0, 25, 50, 75	6/sex/ group for main study, 27/sex/ group for TK	MTD: < 25 0, 4, 8, and 16 mg/kg/day were recommended for 13 week juvenile toxicity study	Mortalities: 8/12 at 75 mg/kg/day, 3/12 at 50 mg/kg/day, and 1/12 at 25 mg/kg/day 75 mg/kg/day: terminated between PND 15 and 17 50 mg/kg/day: terminated between PND 21 and 22 ≥25 mg/kg/day: adverse clinical signs included decreased activity and suspected dehydration (based on skin turgor), reductions in mean body weights or mean body weight changes, and decrease of food consumption 25 and/or 50 mg/kg/day: abnormal gait, lack of coordination, and partly closed or closed eyes after PND 20 No entrectinib-related gross lesions at necropsy, but reductions in absolute and relative organ weights of all the organs measured	SR-[redacted]-021 [1087703] (4.2.3.5.4-2)

*PND: Postnatal day

2.6.7.15.3　幼若ラットを用いた13週間試験（4週間回復性試験）

表 2.6.7.15.3-1　幼若ラットを用いた13週間試験（4週間回復性試験）

被験物質：entrectinib

2.6.7.15.3 Juvenile Animal Toxicity	Report Title: RXDX-101: Oral (Gavage) 13-Week Toxicity Study in Juvenile Sprague-Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period	Test Article: Entrectinib (RXDX-101)
Species/Strain: Rat / Crl:CD(SD) Initial Age: Postnatal day 7 (PND 7) Date of First Dose: [redacted]	Duration of Dosing: 13 weeks Duration of Recovery: 4 weeks Method of Administration: Oral gavage Vehicle Control Article: 0.5 % (w/v) methylcellulose (MC, 400 cP) in reverse osmosis water	Study No. SR-[redacted]-001 Report No. 1087245 Location in CTD: 4.2.3.5.4-3 GLP Compliance: Yes
Special Features: Oral administration from Postnatal day 7 (PND 7) through PND 97, with a 4-week recovery phase through PND 125. No Observed Adverse Effect Level: lower than 4 mg/kg/day, Maximum Tolerated Dose: 8 mg/kg/day		

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)
Number of Animals for Main group	10	10	10	10	10	10	10	10
Number of Animals for Neurohistopathology	5	5	5	5	5	5	5	5
Number of Animals for Recovery group	20	20	20	20	20	20	20	20
Number of Toxicokinetic Animals	6	24	24	24	6	24	24	24
Dosing Phase								
entrectinib								
PND 7								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	7.48	11.0	21.6	BLQ	6.05	10.8	19.8
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.456	0.614	1.22	BLQ	0.341	0.615	1.24
PND 97								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	2.20	5.78	6.29	BLQ	3.12	8.08	11.1
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.288	0.683	0.822	BLQ	0.398	0.843	1.00
M5　(Metabolite of entrectinib)								
PND 7								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	0.326	0.420	1.08	BLQ	0.297	0.359	0.882
C_{max} (µmol/L)	BLQ	0.0254	0.0370	0.0606	BLQ	0.0242	0.0302	0.0535
PND 97								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µmol/L•h)	BLQ	NC	0.304	0.418	BLQ	NC	0.0623	0.192
C_{max} (µmol/L)	BLQ	BLQ	0.0455	0.0686	BLQ	BLQ	0.0178	0.0307

表 2.6.7.15.3-1　幼若ラットを用いた13週間試験（4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)
Number of Animals for Main group	10	10	10	10	10	10	10	10
Number of Animals for Neurohistopathology	5	5	5	5	5	5	5	5
Number of Animals for Recovery group	20	20	20	20	20	20	20	20
Number of Toxicokinetic Animals	6	24	24	24	6	24	24	24
Mortality								
Entrectinib-related death/euthanization	0	0	0	2/59	0	0	0	1/59
Incidental death	0	2/59	0	4/59	1/41	0	0	0
Main group: from PND 7 to 98								
Clinical Observations (Number of Animals Affected)								
Abnormal gait	0	0	0	5	0	0	0	5
Activity Decreased	0	0	0	0	0	0	2	7
Convulsions Non-Sustained	0	0	0	1	0	0	0	0
Tremors	0	0	0	3	0	0	0	0
Dehydrated Suspected	0	4	2	5	0	2	3	6
Hunched Posture	0	1	0	2	0	1	0	0
Skin, Pale	0	0	0	0	0	0	0	1
Skin, Scab	0	0	0	0	0	0	0	2
Fur, Erected	0	10	10	10	0	10	10	8
Fur, Loss	0	0	0	1	0	0	0	0
Fur, Staining, Yellow	0	0	0	0	0	0	0	1
Eye, Partly Closed	0	10	10	10	0	10	10	10
Breathing, Labored	0	0	0	0	0	0	0	1
Prostrate	0	0	0	1	0	0	0	0
Fur, Staining, Orange	0	0	0	0	0	1	0	0
Low Carriage	0	0	0	0	0	0	0	1
Body Weight (%) [a]								
PND 97	543.7 g/day	-8.1	-9.5*	-14.4**	279.6 g/day	-2.5	-3.5	-11.1**
Food Consumption (%) [a]								
PND 21-97	28.4 g	-9.9*	-9.7*	-21.3**	20.3 g	+7.4	-15.3	-24.7*

表 2.6.7.15.3-1　幼若ラットを用いた13週間試験（4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)
Number of Animals for Main group	10	10	10	10	10	10	10	10
Mean day of sexual maturation								
Balano-preputial Separation (day)	43.9	46.7**	48.5**	50.1**	-	-	-	-
Vaginal Patency (day)	-	-	-	-	31.9	33.3**	34.7*	36.8**
Functional Observational Battery PND 70 ± 3								
Palpebral Closure								
Wide open	20	9	0	1	20	20	6	3
Slightly drooping	0	10	15	5	0	0	14	11
Half-closed	0	0	5	13	0	0	0	5
Completely shut	0	0	0	0	0	0	0	0
Mean score	1.0	1.5**	2.3**	2.6**	1.0	1.0	1.7**	2.1**
Water Maze (Between PNDs 80 and 96)								
Time searching for the goal platform (sec.)	26.62	27.47	35.27*	36.58*	30.08	29.45	33.20	42.25**
Relative proportion time spent in the goal quadrant (%)	38.00	35.00	32.70	22.89*	29.00	36.65	30.75	29.95
Hematology PND 98								
RBC (10^6/μL)	8.50	7.87**	8.13	8.01*	8.00	7.83	7.38	7.31
HGB (g/dL)	15.5	14.4**	14.8*	14.6*	14.9	14.3	13.8	13.6
HCT (%)	47.1	44.1*	44.7*	44.3*	44.4	42.9	41.3	40.9
Blood chemistry PND 98								
Urea nitrogen (mg/dL)	12.0	14.0*	14.8**	17.2**	13.7	14.4	15.0	16.7**
Creatinine (mg/dL)	0.23	0.24	0.29**	0.28**	0.30	0.32	0.31	0.28
Triglyceride (mg/dL)	71	44*	38*	48	36	31	29	31
Glucose (mg/dL)	134	118*	119	108**	120	114	119	109
Albumin (g/dL)	3.5	3.1**	3.3	3.2	3.7	3.8	3.6	3.5
Calcium (mg/dL)	9.0	8.4**	8.5*	8.6	8.8	9.0	8.7	8.8
Femur length PND 98								
Right femur length (mm)	40.430	39.820	40.400	39.175	35.700	35.510	35.250	34.090**
Left femur length (mm)	40.380	39.180	40.890	39.138	35.620	35.290	35.230	34.200**

表 2.6.7.15.3-1　幼若ラットを用いた13週間試験（4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)
Number of Animals for Main group	10	10	10	10	10	10	10	10
Organ weight PND 98								
Spleen (No. Examined)	10	10	10	9	10	10	10	10
Absolute (%) [a]	0.9352 g	8.8751	7.2284	7.4042	0.5916 g	2.1467	10.1758	20.1995
% of body weight (%) [a]	0.18091	17.34219*	17.07213*	25.59443*	0.22425	4.42113	14.06043	32.50268**
Histopathology PND 98								
Skin (inguinal) (No. Examined)	10	8	10	8	10	10	10	7
Hyperkeratosis, minimal	0	0	1	0	0	0	1	1
Fibrosis, dermal, minimal	0	2	4	2	1	3	6	1
Hyperplasia, epidermal								
minimal	0	2	4	3	1	3	7	2
mild	0	0	1	0	0	0	0	0
Infiltration, mononuclear cell, dermal, minimal	0	0	1	2	1	1	2	0
Crust, mild	0	0	1	0	0	0	0	0
Spleen (No. Examined)	10	10	10	9	10	10	10	10
Increased hematopoiesis								
minimal	2	4	4	4	1	2	1	2
mild	0	3	0	0	0	0	0	1
Congestion								
minimal	4	4	7	2	3	4	2	6
mild	2	5	1	7	0	0	5	3
Bone marrow (No. Examined)	10	10	10	9	10	10	10	10
Increased cellularity, mild	0	0	0	0	0	0	0	1

表 2.6.7.15.3-1　幼若ラットを用いた13週間試験（4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)
Number of Animals for Recovery group	20	20	20	20	20	20	20	20
Recovery group Body Weight (%) [a] PND 126	598.5 g	-7.2	-13.9**	-23.0**	286.4 g	+1.4	+0.0	-6.6
Food Consumption (%) [a] PND 98-126	32.8 g/day	+13.3	-18.7	-29.8**	23.1 g/day	+7.3	-2.7	-33.0**
Functional observation battery (FOB) PND 111±3								
Piloerection	0	3	2	3	0	0	1	2
Forelimb Grip Test Maximum (g)	1103.0	970.0	1087.0	721.0**	686.5	800.5	727.0	662.5
Average (g)	945.8	836.0	895.8	579.3**	580.0	689.3	562.0	610.5
Hindlimb Grip Test Maximum (g)	907.5	849.5	877.5	795.0	757.5	617.5*	678.0	584.5**
Average (g)	854.5	779.0	808.0	727.0	677.0	569.3	608.0	548.5
Landing Foot Splay Average (cm)	7.91	7.64	6.15*	6.11*	6.23	5.84	5.27	7.06
Water Maze (Between PNDs 118 and 125)								
Time searching for the goal platform (sec.)	26.20	32.15	30.07	35.59	28.50	27.70	38.03	45.20**
Relative proportion time spent in the goal quadrant (%)	36.60	29.60	30.40	29.40	40.10	32.70	25.80**	22.60***
Hematology PND 128								
RBC (10^6/μL)	8.70	8.54	8.25	8.58	7.99	7.93	7.74	7.75
HGB (g/dL)	15.3	15.0	14.3*	14.5	14.7	13.9	14.1	14.0
HCT (%)	47.7	46.8	44.0**	45.4	44.8	42.6	42.3	42.8
Blood chemistry PND 128								
Urea nitrogen (mg/dL)	14.9	15.9	18.4	18.2	18.2	17.8	18.1	19.6
Creatinine (mg/dL)	0.29	0.31	0.41**	0.39**	0.38	0.38	0.39	0.41
Triglyceride (mg/dL)	88	61	51**	45**	55	49	36**	31**

表 2.6.7.15.3-1　幼若ラットを用いた13週間試験（4週間回復性試験）（続）

被験物質：entrectinib

Sex	Male				Female			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)	0 (Control)	4 (Low)	8 (Mid)	16 (High)
Number of Animals for Recovery group	20	20	20	20	20	20	20	20
Femur length PND 127								
Right femur length (mm)	41.613	41.500	41.073	40.523	36.280	35.607	36.253	35.314
Left femur length (mm)	41.760	41.608	41.160	40.577*	36.320	35.580	36.213	35.250
Organ weight PND 128 ± 2								
Spleen (No. Examined)	15	13	15	12	15	15	15	14
Absolute (%) [a]	0.9481 g	8.7562	9.4501	9.8386	0.5384 g	20.1337*	27.8975**	17.0001*
% of body weight (%) [a]	0.16087	16.58783	33.00504**	40.10164**	0.19905	15.69086	28.47745**	26.37382**
Histopathology PND 128 ± 2								
Spleen (No. Examined)	15	13	15	13	15	15	15	14
Increased hematopoiesis								
minimal	1	5	1	3	1	1	0	0
mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Congestion								
minimal	5	5	11	4	2	6	5	5
mild	0	8	4	9	0	8	6	6

$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the plasma concentration–time curve from 0 to 24 hours; C_{max} = maximum (peak) plasma concentration;
GLP = Good Laboratory Practice; BLQ: below the quantification limits
* = Statistically significant from Control ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) based on actual data (not on percent difference).
[a] For controls, group means are shown.　For treated groups, percent differences from controls are shown.

2.6.7.16　局所刺激性試験

表 2.6.7.16-1　局所刺激性試験

被験物質：entrectinib

Species and Strain	Method of Administration	Dose	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Rabbit/ New Zealand White	Topical/skin	500 mg/animal, as a single 4 hour treatment	3F/group	No irritating effect on the intact skin	0326-[redacted] [1087357] (4.2.3.6-1)
Rabbit/ New Zealand White	Topical/eye	100 mg/right eye of animal, as a single 1 hour application	3F/group	Transient irritant reaction that was absent after 7 days	0327-[redacted] [1087358] (4.2.3.6-2)

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.1　光毒性試験

表 2.6.7.17.1-1　光毒性試験

被験物質：entrectinib

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Noteworthy findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Phototoxicity						
In vitro study	BALB/c 3T3 mouse fibroblast	*In vitro*	Total 2 h (UVR: approx. 30 min.)	0.178 – 10.0 µg/mL	Entrectinib showed phototoxic potential (criteria: PIF >5, MPE >0.15) Assay 1: PIF: 5.538, MPE: 0.212 Assay 2: PIF: 6.472, MPE: 0.262	20063920 [1087359] (4.2.3.7.1-1)

UVR: Ultraviolet radiation, PIF: photoirritancy factor, MPE: mean photo effect

表 2.6.7.17.1-1　光毒性試験（続）

被験物質：entrectinib

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Noteworthy findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
In vivo study	Rat/ Crl:LE (Long-Evans, 5F/dose for main study + 3F/dose for TK)	Oral gavage	3 days	0, 50, 100, 200	Little or no phototoxicity based on lack of conclusive skin reactions or ophthalmological and ocular histopathological evaluations. On the other hand, neutrophil infiltrates of corneal stroma and single cell necrosis of the corneal epithelium were observed with and without UV irradiation. These finding were differed from the xenobiotic-induced ocular phototoxic microscopic changes. Therefore, microscopic findings observed in the cornea were indicative of entrectinib-related effect, but not phototoxic-related effect.	SR-[redacted]-001 [1087360] (4.2.3.7.1-2)

UV: Ultra violet.

表 2.6.7.17.1-2　光毒性試験： Long-Evans 雌ラットにおける entrectinib の平均血漿中濃度（C5h）

投与量(mg/kg/日)	動物数	平均 Entrectinib 濃度 (μmol/L)
0	3	BLQ
50	3	3.4
100	3	4.2
200	3	5.3

BLQ = 定量限界未満，C_{5h} = 最終投与5時間後における血漿中濃度

2.6.7.17.2　不純物の毒性試験

表 2.6.7.17.2-1　不純物の毒性試験

被験物質：不純物

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Noteworthy findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Impurities						
4-Week oral toxicity of ＊不純物G	Rat/SD (10/sex/dose)	PO	4 weeks	0, 0.33, 1.0	No effects were observed at any dose. NOAEL=1.0 mg/kg/day	SR-[redacted]-013 [1087339] (4.2.3.7.6-1)
Bacterial reverse mutation: ＊不純物A	*Salmonella typhimurium* and *E. coli*	*In vitro**	NA	Up to 1000 µg/well	Negative	SR-[redacted]-011 [1087355] (4.2.3.7.6-2)
Bacterial reverse mutation: ＊不純物B	*Salmonella typhimurium* and *E. coli*	*In vitro**	NA	Up to 1000 µg/well	Negative	SR-[redacted]-002 [1087356] (4.2.3.7.6-3)
Bacterial reverse mutation: ＊不純物C	*Salmonella typhimurium* and *E. coli*	*In vitro**	NA	Up to 1000 µg/well	Negative	SR-[redacted]-010 [1087354] (4.2.3.7.6-4)
Bacterial reverse mutation: ＊不純物D	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	Up to 5000 µg/plate	Negative	8393492 [1085144] (4.2.3.7.6-5)
Bacterial reverse mutation: ＊不純物E	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	Up to 5000 µg/plate	Negative	8395985 [1085149] (4.2.3.7.6-6)
Bacterial reverse mutation: ＊不純物F	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	NA	Up to 5000 µg/plate	Negative	8395986 [1085150] (4.2.3.7.6-7)

* = modified plate incorporation method in 6-well plates.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.3　ビーグル犬を用いた中枢神経系及び QT 延長に関する探索的試験

表 2.6.7.17.3-1 ビーグル犬を用いた中枢神経系及び QT 延長に関する探索的試験

被験物質：entrectinib

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Noteworthy findings	Study Number [Report No.] (Location in CTD)
Investigative						
Exploratory study for CNS and QT prolongation (non-GLP)	Dog/Beagle (4F/dose)	PO	7 days	80, 120	≥80 mg/kg/day: soft stool, diarrhea, slight ↓ body weight 120 mg/kg/day: sporadic emesis, ↓ food intake, 120 mg/kg/day: CNS effects in 2/4 animals (C_{max}>4.2 µmol/L, AUC_{0-24h} >90 µmol/L•h), 120 mg/kg/day: Moderate increases in QT and QTc (C_{max} =7.08 µmol/L, AUC_{0-24h} =144 µmol/L•h) on Days 8 and 9 in 1 animal.	0218-[redacted] [1087338] (4.2.3.7.7-1)