目次

略号一覧表 2
2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.2 薬理試験 6
2.4.3 薬物動態試験 12
2.4.4 毒性試験 14
2.4.5 総括及び結論 25
2.4.6 参考文献一覧 31

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明
ALP	Alkaline phosphatase〔アルカリホスファターゼ〕
ALT	Alanine aminotransferase〔アラニンアミノトランスフェラーゼ〕
Ang1	Angiopoietin-1〔アンジオポエチン-1〕
AST	Aspartate aminotransferase〔アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ〕
AUC	Area under the plasma concentration versus time-curve〔血漿中濃度時間曲線下面積〕
$AUC_{0\text{-}inf}$	0 から無限大までの AUC〔－〕
$AUC_{0\text{-}t}$	0 から t 時間までの AUC〔－〕
BA	Bioavailability 〔バイオアベイラビリティ〕
BCRP	Breast cancer resistance protein〔－〕
BDC	Bile duct cannulated〔胆管ろう形成〕
BDI	Bile duct intact〔胆管未処置〕
BSEP	Bile salt export pump〔－〕
Caco-2 細胞	ヒト結腸癌由来の細胞株〔－〕
C_{ave}	Concentration average〔平均曝露量〕
CHO	Chinese Hamster Ovary〔－〕
CK	Creatine kinase〔クレアチンキナーゼ〕
CLint	Intrinsic clearance〔固有クリアランス〕
Cmax	Maximum plasma concentration〔最高血漿中濃度〕
CPN	Chronic Progressive Nephropathy〔慢性進行性腎症〕
CV	変動係数
CYP	Cytochrome P450〔チトクローム P450〕
DAPI	4', 6-diamino-2-phenylindole, ジアミジノフェニルインドール〔DNA 結合性蛍光色素〕
DMSO	Dimethyl sulfoxide〔ジメチルスルホキシド〕
ECG	Electrocardiographic〔心電図〕
ED_{50} 値	50% effetive dose〔50%有効量〕
EtOH	Ethanol〔エタノール〕
FBE	Freebase Equivalent〔フリー体換算〕
GD	Gestation Day〔妊娠日数〕
GGT	γ-Glutamyltransferase〔γ-グルタミルトランスフェラーゼ〕
GI	Gastrointestinal〔消化管〕
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〕
HepG2	ヒト肝細胞癌細胞株
HepG2 hPXR-3A4 細胞	ヒト PXR 受容体及びルシフェラーゼレポーターを含む CYP3A4 応答 DNA 配列を安定的に発現する HepG2 細胞〔－〕
hERG	Human ether-a-go-go related gene〔ヒト遅延整流性カリウムイオンチャンネル遺伝子〕
HGF	Hepatocyte growth factor〔肝細胞増殖因子〕
HMVEC-L	Human Dermal Microvascular Endotherial Cells〔ヒト肺微小血管内皮細胞〕
HPLC	High performance liquid chromatography〔高速液体クロマトグラフィー〕
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration〔50%阻害濃度〕
IHC	immunohistochemical〔免疫組織化学〕
ITD	internal tandem duplication〔遺伝子内縦列重複〕
IV	intraveneously〔静脈内〕
Ki_{app}	みかけの阻害定数〔－〕

略号	略していない表現又は説明
LC/MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry〔液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法〕
LD	Lactation Day〔授乳〕
LDH	Lactate Dehydrogenase〔乳酸デヒドロゲナーゼ〕
LLOQ	limit of quiantitation〔定量下限〕
LSC	Liquid scintillation counter 〔液体シンチレーションカウンター〕
MATE	Multidrug and toxin extrusion〔－〕
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〕
MCV	Mean Corpuscular Volume〔平均赤血球容積〕
MDCK	イヌ腎臓尿細管上皮細胞由来細胞〔－〕
MET	Hepatocyte growth factor receptor〔肝細胞増殖因子の受容体チロシンキナーゼ〕
MM	multiple myeloma〔多発性骨髄腫〕
MPNST	malignat peripheral nerve sheath tumor〔悪性末梢神経鞘腫瘍〕
mRNA	Messenger ribonucleic acid〔メッセンジャーリボ核酸〕
MRP	Multidrug resistance-associated protein〔－〕
MTC	Medullary thyroid carcinoma〔甲状腺髄様癌〕
MTD	Maximum tolerated dose〔最大耐量〕
MVD	mean vascular density〔平均血管密度〕
NA	Not appricable〔該当せず〕
NADPH	Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate〔還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸〕
ND	Not Determined〔未測定〕
NHDF	Normal Human Dermal Fibroblasts〔正常ヒト皮膚線維芽細胞〕
NOAEL	No Observable Adverse Effect Level〔無毒性量〕
NOEL	No observed effect level〔無影響量〕
NSCLC	Non-small-cell lung cancer〔非小細胞肺癌〕
OAT	Organic anion transporter〔－〕
OATP	Organic anion transporting polypeptide〔－〕
OB	Osteoblast〔骨芽細胞〕
OC	Osteoclast〔破骨細胞〕
OCT	Organic cation transporter〔－〕
Papp	Apparent permeability coefficient〔見かけの透過係数〕
PBS	Phosphate Buffered Saline〔リン酸緩衝液〕
PCE	Polychromatic erythrocyte〔多染性赤血球〕
PEG	Polyethylene glycol〔ポリエチレングリコール〕
p-FA	Para-Fluoroaniline〔パラ-フルオロアニリン〕
P-gp	P-glycoprotein〔P-糖蛋白質〕
PINP	type I procollagen N-terminal propeptide〔I 型プロコラーゲン N 末端プロペプチド〕
pMET	リン酸化 MET
pRET	リン酸化 RET
q3d	3 日に 1 回
qd	1 日 1 回
QWBA	Quantitative whole body autoradiography〔定量的全身オートラジオグラフィ〕
RCC	Renal Cell Carcinoma〔腎細胞癌〕

略号	略していない表現又は説明
RO	reverse osmosis〔逆浸透〕
RTK	Receptor tyrosine kinase〔受容体型チロシンキナーゼ〕
SD	Sprague-Dawley〔－〕
SPA	Special Protocol Assessment〔特定計画書の評価〕
SULT	Sulfotransferase〔ヒト硫酸転移酵素〕
$t_{1/2}$	Half-life〔半減期〕
$t_{1/2, z}$	Terminal half-life〔終末相の半減期〕
TGI	Tumor growth inhibition〔腫瘍増殖阻害〕
Tmax	Time to maximum plasma concentration〔最高血漿中濃度到達時間〕
TRACP 5b	Tartrate-resistant Acid phosphatase 5b〔酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ 5b〕
TUNEL	TdT-mediated dUTP nick end labeling〔タネル染色〕
UV-A	Ultraviolet A〔紫外線 A 波〕
VEGFR2	Vascular endothelial growth factor receptor 2〔血管内皮細胞増殖因子受容体 2〕
β-NF	β-naphthoflavone〔β-ナフトフラボン〕

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

XL184 は、主に血管内皮細胞増殖因子受容体 2（VEGFR2、KDR ともいう）、MET 及び AXL を標的とする特徴をもつ新規作用機序を有する受容体型チロシンキナーゼ（RTK）阻害剤である。VEGFR2 及び MET はそれぞれ腫瘍血管新生及び腫瘍細胞の増殖に関与しているばかりでなく、両者を同時に阻害することが腫瘍抑制に非常に効果的であることが知られており、また AXL は MET のシグナルを増強させることが知られている。その他に認められている XL184 の標的には、RET、ROS1 などがあり、これらは腫瘍細胞増殖、腫瘍血管新生、転移及び／又は抗血管新生療法に対する抵抗性に重要な役割を担うことが知られている。XL184 の細胞内薬力学は、細胞を用いた様々な試験において、RTK の標的リン酸化、腫瘍細胞増殖及び腫瘍細胞遊走の阻害を測定することによって評価した。XL184 の in vivo での薬力学は、多様な異種移植片腫瘍モデルにおいて、生化学的解析（腫瘍組織における受容体リン酸化の阻害を評価）及び組織学的解析（腫瘍血管密度、腫瘍の低酸素状態、腫瘍細胞増殖及びアポトーシス）を用いて特徴付けられている。XL184 の in vivo での有効性は、いくつかの腫瘍異種移植片モデルにおいて、様々な XL184 用量及び投与レジメンを用いて評価されている。XL184 の血漿中曝露量は抗腫瘍活性（腫瘍増殖阻害及び腫瘍退縮）に相関した。

XL184 の薬物動態（PK）特性評価では、XL184 の吸収、組織分布、代謝及び排泄に関する非臨床 in vivo 評価を行った。In vitro 評価では、XL184 の細胞透過性、血漿蛋白結合率、薬物トランスポーターとの相互作用、代謝プロファイリング、チトクローム P450（CYP）基質特異性及び CYP 阻害作用と誘導作用の評価を行った。XL184 の血漿中 PK を、マウス、ラット、ウサギ及びイヌを用いた非臨床 PK 試験及び主要な（GLP 適用下）安全性試験において、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法（LC/MS/MS）を用いて評価した。

XL184 の経口投与における毒性を、ラット及びイヌを用いた主要な単回投与並びに 2 週間及び 26 週間反復投与試験、マウスを用いた 4 週間毒性試験、ラットを用いた受胎能試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児毒性試験、ラットを用いた出生前及び出生後毒性試験並びに若齢ラット毒性試験、rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験、ラットにおける 2 年がん原性試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、並びに in vitro 光毒性試験において評価した。GLP 適用下の安全性薬理試験において、心血管、呼吸器及び中枢神経系に対する XL184 の影響を評価した。

XL184 の非臨床試験法は以下の ICH ガイドラインに記載される手法と一致している。S9：抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン 2010[1] ; S2(R1) : 医薬品の遺伝毒性試験及び解釈 2012[2] ; S3A : トキシコキネティクス（毒性試験における全身的曝露の評価）1995[3] ; S7A：安全性薬理試験 2001[4]。XL184 の非臨床試験法は、以下の FDA Guidances for Industry（Drug Interaction Studies - Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations 2012[5]、Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products; Recommended Approaches 2008[6]、Nonclinical Safety Evaluation of Pediatric Drug Products 2006[7]、及び Photosafety Testing 2003[8]）並びに EMA Guideline on the Investigation of Drug Interactions 2012[9]に記載される推奨事項にも一致する。

ヒト血漿中にみられる XL184 の主な代謝物である EXEL-1644 は、血漿蛋白結合、CYP 阻害及び薬物トランスポーターとの相互作用について in vitro で、また、ラットにおける最終的

な 2 週間毒性試験において in vivo で評価した（FDA Guidance for Industry: Safety Testing of Drug Metabolites, 2008[10]）。

実施済の非臨床薬理、PK 及び安全性評価試験は、XL184 の重要な作用機序及び進行腎細胞癌（RCC）患者に投与する場合の臨床的な安全性上の懸念に対して十分に評価・検討しており、XL184 の本疾患に値する医薬品製造販売承認申請を支持すると考える。

2.4.2 薬理試験

XL184 は、腫瘍増殖、血管新生、転移あるいは血管新生阻害剤治療に対する耐性を促進することが知られる MET、AXL 及び VEGFR2 を主な標的とする新規作用機序を有する RTK 阻害剤である。VEGFR2 及び MET はそれぞれ腫瘍血管新生及び腫瘍細胞の増殖に関与しているばかりでなく、両者を同時に阻害することが腫瘍抑制に非常に効果的であることが知られており、また AXL は MET のシグナルを増強させることが知られている。XL184 はその他に RET、ROS1 なども阻害し、腫瘍進展を抑制する。XL184 の腫瘍増殖に対する作用を理解し、副作用の機構と考えられる仕組みを評価するために、XL184 の作用機序を検討する生化学試験、細胞試験及び in vivo 試験を実施している。安全性試験において、神経機能、呼吸機能、心機能への XL184 の影響を評価している。安全性薬理試験を除いて、ここに要約した試験は探索的試験とみなし、GLP 条件下では実施しなかった。

XL184 の主要な標的は MET、VEGFR2 及び AXL であり、in vitro の IC_{50} 値はそれぞれ 1.8、0.035、及び 7 nmol/L である。XL184 は、VEGF 受容体ファミリーキナーゼの他の 2 種類 VEGFR1 及び VEGFR3 も阻害し、IC_{50} 値は 12.2 及び 6.0 nmol/L であった。XL184 の標的としてはさらに、RTK の RET、MER、KIT、TRKB、TYRO3、FLT-3、TIE-2、ROS1 及び RON が挙げられる（4.2.1.1-2）。XL184 は、RET の頻度の高い活性化アイソフォーム M918T を IC_{50} 値 27 nmol/L で阻害し、RET バリアント Y791F を IC_{50} 値 1.17 µmol/L で阻害する。しかし、XL184 は in vitro で、RET バリアント V804L に対しては強力な阻害作用を示さない（4.2.1.1-1）。主要な RTK 標的に対する XL184 の阻害活性は、細胞培養により実施したメカニズム解析試験によって確認した。腫瘍細胞株において、無刺激時の又は増殖因子誘導性の RTK 自己リン酸化に対する XL184 の作用を評価するとともに、VEGFR2 活性の指標として、VEGF 刺激による ERK リン酸化を観察した。無血清増殖条件下の細胞において、XL184 は MET、VEGFR2、AXL 及び RET の自己リン酸化と、VEGF 刺激による ERK リン酸化を強力に阻害し、IC_{50} 値は<3～85 nmol/L であった（4.2.1.1-8, -9）。

XL184 によるキナーゼ阻害の機構をいくつかの標的で検討した。これらの試験により、XL184 の結合は ATP と競合することが明らかになった（4.2.1.1-1）。さらに、MET、VEGFR2 及び TIE 2 のキナーゼドメインを用いた試験において、XL184 のキナーゼドメインとの結合は完全に可逆的であることがわかった。これらのデータは、XL184 が MET の ATP 結合部位を占有することを示した X 線結晶構造解析と一致する（4.2.1.1-6）。XL184 はキナーゼドメインの 2 つのローブ間に結合し、いくつかの水素結合を形成して、広範囲に疎水性接点を作る。XL184 が MET に結合すると活性化ループが再編成され、キナーゼが擬似非活性構造をとる（4.2.1-1-6）。

XL184 の主要代謝物 4 種類〔*N*-オキシド（EXEL-5162）、一水酸化及び硫酸抱合体（EXEL-1646）、アミド結合加水分解体（EXEL-5366）及び EXEL-5366 の 6 脱メチル化及び

硫酸抱合体（EXEL-1644）〕について、特定のキナーゼに対する阻害作用を評価した。主要な癌原蛋白標的である MET 及び RET と、血管新生促進性標的である VEGFR2（KDR）に対する EXEL-5162、EXEL-5366 及び EXEL-1646 の IC_{50} 値から、これらの代謝物が有するキナーゼ阻害作用は親化合物 XL184 の 100 分の 1 未満であることが明らかになった：MET、RET 及び VEGFR2 に対して、EXEL-5162 はそれぞれ 190 nmol/L、>1 µmol/L 及び 140 nmol/L；EXEL-5366 はそれぞれ 5 µmol/L、>1 µmol/L 及び>10 µmol/L；EXEL-1646 はそれぞれ 199 nmol/L、234 nmol/L 及び 308 nmol/L（4.2.1.1-4 及び 4.2.1.1-2）。代謝物 EXEL-1644 については、代謝物濃度 1 µmol/L でのみ一連のキナーゼに対する阻害作用を測定した（4.2.1.1-5）。EXEL-1646 の測定値（MET、RET、AXL 及び FLT4 を>90%阻害）と比較して、EXEL-1644 の阻害作用は弱かった（MET 及び RON をそれぞれ 68%及び 75%阻害、RET 又は AXL に対する著明な阻害作用なし）。EXEL-1644 は、濃度 1 µmol/L で VEGFR2 活性に対する明らかな阻害作用を示さなかった。別の試験において測定した EXEL-1644 による MET 阻害の IC_{50} 値は、3,044 nmol/L であった（4.2.1.1-4）。

XL184 曝露によって生じる標的分子阻害は、腫瘍細胞や間質細胞（内皮細胞、破骨細胞及び骨芽細胞）に多様な細胞表現型変化をもたらす。XL184 は、様々ながん種を代表する腫瘍細胞株の増殖を抑制し、IC_{50} 値は 3 nmol/L～>30,000 nmol/L であった（4.2.1.1-10）。XL184 に高い感受性を示した細胞株には MET 遺伝子のコピー数増加が認められ、細胞生存が MET を介するシグナル伝達に依存することが示されている（4.2.1.1-10；[11]）。XL184 の増殖阻害作用に対する感受性が高かったその他の細胞株には、FLT-3、RET、ROS1 などの MET 以外の標的における活性化突然変異が認められる。XL184 は、クリゾチニブ耐性 ROS1 変異 G2032R 及び L1982F を発現する BaF3 細胞に対しても、増殖阻害活性を示した（4.2.1.1-11）。

XL184 が RTK 標的を阻害すると、これらの標的分子に誘導される細胞機能が妨げられる。肝細胞増殖因子（HGF）は、その受容体である MET の活性化によって、細胞運動と浸潤能を刺激することが知られている。XL184 は、B16F10 黒色腫細胞の HGF 誘発性のトランスウェル遊走を阻止し（IC_{50} 値 53 nmol/L）、同細胞株の HGF 刺激によるマトリゲル浸潤を阻害した（IC_{50} 値 12 nmol/L）（4.2.1.1-12）。これらの in vitro モデルは、in vivo で血管新生に寄与すると考えられる血管内皮細胞機能の諸側面を反映しているため、血管内皮細胞遊走及び管形成に対する XL184 投与の影響も評価した。XL184 は、正常ヒト二倍体線維芽細胞と共培養したヒト微小血管内皮細胞の VEGF 誘導性の管形成を阻害し（IC_{50} 値 7 nmol/L）、VEGF、HGF 及びアンジオポエチン-1 に反応して生じる内皮細胞遊走を減少させた（IC_{50} 値 12～23 nmol/L）（4.2.1.1-13）。

別の細胞機能試験により、in vitro で培養した骨芽細胞（OB）及び破骨細胞（OC）の分化及び機能活性に対する XL184 の影響を評価した。XL184 曝露により、ウシ骨スライス上で培養したヒト骨髄由来 CD34+破骨細胞前駆細胞の分化が用量依存的に阻害された。しかし XL184 は、この系において成熟破骨細胞の機能活性には影響を及ぼさなかった。骨芽細胞機能に対する XL184 の作用については、in vitro で培養した KS483 マウス骨前駆細胞を用いて評価した。これらの試験において XL184 は、骨芽細胞の分化（ALP 発現）及び機能活性（I 型プロコラーゲン N 末端プロペプチドの分泌、カルシウム沈着）に対して、低用量では刺激し、高用量では阻害するという二相性の用量依存性作用を示した（4.2.1.1-15）。

生化学及び細胞試験において、XL184 は、腫瘍細胞増殖及び／又は血管新生を促進する主要な標的 RTK を阻害することが示された。In vivo 特性解析では、最初に、腫瘍及び正常組織の薬力学に注目した。RTK に対する XL184 の薬力学的作用を検討するための実験には、その検討に適した受容体発現量と無刺激時のリン酸化／活性を有する試験系を用いた；受容体リン酸化は、これらの受容体を高度に発現する固形腫瘍の溶解物、又は増殖因子刺激後の正常組織において測定した。全体として in vivo 試験においては、XL184 の血漿中薬物濃度と標的受容体の活性に対する阻害作用との間に、良好な相関が認められた。

XL184 経口投与により、in vivo の H441 非小細胞肺癌（NSCLC）異種移植腫瘍において、MET リン酸化が用量依存的に低下し、用量 100 mg/kg で最大阻害 96%が認められた（4.2.1.1-17）。用量反応関係に基づくと、MET リン酸化を 50%阻害する用量（ED50）の予測値は 9 mg/kg、血漿中 IC_{50} の予測値は 7 µmol/L である。MET リン酸化阻害は投与後 8 時間以上持続した（>50%阻害）。VEGFR2 のリン酸化に対する XL184 投与の影響を、未治療無胸腺ヌードマウスの肺組織において評価した。XL184 は、in vivo のマウス肺において、VEGF 刺激性 VEGFR2 リン酸化を用量依存的に低下させ、最大阻害率は 98%であった。用量反応関係に基づくと、単回投与後のマウス肺における VEGF 刺激性 VEGFR2 リン酸化に対する阻害の ED_{50} 予測値は 26 mg/kg、血漿中 IC_{50} の予測値は 2 µmol/L である（4.2.1.1-18）。VEGF 刺激性 VEGFR2 リン酸化に対する XL184 のほぼ最大の阻害作用が、投与 10 時間後まで持続した。RET の活性化突然変異を有する TT 甲状腺髄様癌（MTC）異種移植腫瘍を用いた用量を振った単回投与試験において、腫瘍の内因性 RET リン酸化に対する XL184 の阻害作用を検討した。RET リン酸化の ED_{50} 予測値は 11 mg/kg、血漿中 IC_{50} の予測値は 7 µmol/L である（4.2.1.1-19）。RET の中等度の阻害（37%～44%）が、投与後 24 時間持続した。

マウスにおける上記のような単回投与試験の結果から、これらの標的分子阻害の ED_{50} 値は、十分に忍容可能な用量の XL184 で達成されることがわかった。XL184 の単回投与後、受容体リン酸化は持続的に阻害された（MET、VEGFR2、RET で 8～24 時間）。この長時間の阻害は概して血漿中曝露量から予測され、血漿中濃度が MET に対しては約 5,000 ng/mL（10 µmol/L）、VEGFR2 に対しては 2,500 ng/mL（5 µmol/L）RET に対しては 7,500 ng/mL（15 µmol/L）、を下回ると、阻害作用が減弱した（4.2.1.1-17、4.2.1.1-19、4.2.1.1-18）。

MDA-MB-231 異種移植腫瘍の組織学的解析においては、XL184 の 1 日 1 回経口投与により、腫瘍の新生血管構造が速やかに破壊され、初回投与後 8～24 時間で血管密度が低下し、腫瘍低酸素領域が増加することが示された（4.2.1.1-23）。腫瘍におけるこの血管破壊効果は、肉眼形態レベルで明らかであり、摘出した腫瘍の表面に広範囲の出血が認められた（4.2.1.1-23）。XL184 投与に反応して腫瘍血管分布が大幅に縮小することから、XL184 は腫瘍血管内皮細胞に著しい作用を及ぼすことが示唆される。内皮細胞のアポトーシスが初回投与後 24 時間に認められ、48 時間まで増加した。XL184 の初回投与 72 時間後（4 回目投与後）には、機能する血管構造が消失し、複数のアポトーシス核を含有する小さな内皮細胞塊に置き換わっていた（4.2.1.1-23）。これらの結果から、XL184 投与は、腫瘍内血管構造の必須の要素である内皮細胞の生存に重大な影響を及ぼすことが示唆される。腫瘍血管内皮細胞に対する作用と一致して、XL184 の 1 日 1 回経口投与により低酸素領域が著しく増加し、72～96 時間後には対照と比較して低酸素組織領域が約 65～70 倍となり、プラトーに達した（4.2.1.1-23）。

MDA-MB-231 腫瘍においては、血管内皮細胞集団の減少に加えて、XL184 投与により腫瘍細胞のアポトーシスが顕著に増加した。溶媒投与対照動物では、検討したすべての時点で、TUNEL 陽性腫瘍細胞数が極めて少なかった。XL184 初回投与からわずか 2 時間後に、TUNEL 陽性腫瘍細胞数の用量依存性の増加が認められ（4.2.1.1-23）、5 回目投与後には 138 倍まで増加した。これらのデータから、XL184 投与によって、急速かつ顕著に腫瘍細胞死が誘導されることが示されており、これは、腫瘍細胞及び腫瘍血管構造に対する XL184 の直接的な作用と一致する。

以上の結果をまとめると、XL184 は腫瘍細胞と腫瘍血管構造の両方を標的とし、それによって腫瘍増殖を抑制する可能性があることが示唆される。いくつかのモデルを用いて、in vivo での腫瘍増殖阻害（TGI）及び腫瘍退縮という点から、XL184 の有効性と効力を検討した。マウス腫瘍試験に用いた細胞株は固形腫瘍を代表するものであり、C6（ラット神経膠腫）、MDA-MB-231（ヒト乳癌）、H441（ヒト肺癌）、TT（ヒト MTC）などであった。担がん動物に連日投与を行い、腫瘍増殖、体重、血漿中曝露量、腫瘍組織像を評価した。

それぞれの腫瘍モデルにおいて、統計学的有意な腫瘍増殖阻害及び／又は腫瘍退縮が認められた。各マウス固形腫瘍モデルにおいて、マウスへの高用量 XL184（30～60 mg/kg）投与により、100%以上の腫瘍増殖阻害が認められた（4.2.1.1-25、4.2.1.1-27、4.2.1.1-26）。これらの効果が認められる高用量においては、わずかな体重減少をもたらすのみで、忍容性は良好であることが判明した。これより低い 1 日量の XL184 によっても腫瘍増殖は抑制されたが、その抑制作用は小さかった。ラットの C6 神経膠腫モデルでは、3 及び 10 mg/kg/day で腫瘍退縮が認められた（4.2.1.1-24）。XL184 の 1 日量がこれより高い場合も有効であったが、忍容されなかった（4.2.1.1-28）。XL184 投与後の腫瘍組織の組織学的評価により、微小血管密度の顕著な低下が明らかとなり、XL184 有効用量での低下率は、MDA-MB231 モデルにおいて 95%であった。腫瘍細胞増殖も同程度の低下が認められた（Ki67 陽性による判定で 69～77%）。XL184 は、多くの腫瘍モデルで腫瘍増殖を抑制すると同時に、B16F10 マウス肺移植モデルにおいて転移の加速も阻止した（4.2.1.1-34）。

C6 及び MDA-MB-231 モデルにおいて、別の XL184 投与スケジュールを評価した。C6 モデルでは、10～100 mg/kg 単回投与によって 14 日後に 90%を超える腫瘍増殖阻害が生じ、MDA-MB-231 モデルでは、XL184 の 100 mg/kg 3 日に 1 回投与によって、96%の腫瘍増殖阻害が誘導された。これらのデータは XL184 の作用が長時間持続することを裏付けており、C6 試験では投与 14 日後に腫瘍血管構造が最大 85%縮小したことから、そのような持続的作用は腫瘍血管構造の退縮を介して生じると考えられる（4.2.1.1-29）。

XL184 の in vitro での細胞増殖阻害活性が弱かったモデルにおいても、抗腫瘍効果が認められた。例えば、乳癌細胞株 MDA-MB-231T の腫瘍増殖は、XL184 投与によって完全に阻害することが可能であるが、in vitro 増殖に対する IC_{50} は 6 µmol/L を超えている（4.2.1.1-10）。したがって、XL184 の有効性が、腫瘍細胞に対する直接の増殖阻害効果のみによるものである可能性は低い。一部のがん種に対しては、浸潤性腫瘍増殖の抑制及び／又は腫瘍血管新生の阻害が有効性をもたらすと考えられる。

XL184 はマウスにおいて概して忍容性が高いと考えられ、著しい体重減少は認められなかった。一般状態観察及び体重減少データから、最大耐量（MTD）はマウスでは≥60 mg/kg/day であった一方、ラットでは 10 mg/kg/day であったことが明らかにされている（4.2.1.1-27 及び

4.2.1.1-24）。マウスとラットのこのような忍容性の差は、これらの動物間で XL184 曝露量の用量補正値に大きな差があるために生じたと考えられる。有効性に関連する曝露量を評価すると、様々なモデル間でも、両動物種間でも、データは比較的一貫していた。

マウス試験の比較から、90%を超える腫瘍増殖阻害のためには、XL184 の定常状態の曝露量（Cave）約 1,500～2,400 ng/mL（3～4.8 µmol/L）が必要であったことがわかる。ラット C6 モデルにおいては、血漿中曝露量約 1,200 ng/mL（2.4 µmol/L）が、完全な腫瘍増殖阻害を伴う。これらの曝露量は、XL184 遊離塩基当量（FBE）60 mg の 1 日 1 回投与を受けた RCC 患者における定常状態の血漿中濃度の平均値（約 1,300 ng/mL）に近い。これらの非臨床有効性モデルにおいて、有効量での最高血漿中濃度は比較的高いが、トラフ濃度はかなり低い場合があり、マウスでは有効性が高い用量で 50 ng/mL（0.1 µmol/L）という低濃度が認められている。XL184 のトラフ値低値は、主にマウス試験で認められる特徴である。XL184 の $t_{1/2}$（終末相消失半減期）は、マウスでは（8 時間）、ラット（21.5 時間）又はヒト（111 時間）よりもかなり短い。しかし、有効性の結果は、マウスでの in vivo 標的調節試験において、主要標的に対する XL184 の長い作用持続時間（8～24 時間）が認められたことと一致しており、有効性を維持するために持続的な高曝露量は必要ないといえる。

VEGF 標的療法の重要な限界の一つは、これらの治療を受ける患者において持続的な臨床効果が得られていないことである。腫瘍は、代替的な血管新生促進シグナル伝達経路のアップレギュレーションや転移の増強などの適応的な機構を介して、血管新生阻害剤治療に耐性を示すようになる場合がある[12]。例えば、腫瘍細胞の VEGF 経路阻害からの逃避は、低酸素に対する反応として発生する場合がある。低酸素条件下では、HIF-1α がアップレギュレートされ、腫瘍細胞における VEGF と MET の両方の発現が増加する[13]-[15]。これらの反応によって、腫瘍細胞は、血管新生の刺激又は低酸素領域を避ける遊走を介して、低酸素環境を代償できるようになると考えられる。実際に、マウス腫瘍モデルにおいて、VEGF 経路阻害に対する耐性の発生に MET 経路が重要な役割を果たすことが、Shojaei らによって最近明らかにされており[16]、スニチニブ、ソラフェニブ、cediranib、VEGFR2 標的抗体、抗マウス VEGF 中和抗体などの VEGF 阻害剤が、浸潤性あるいは転移を増進させ、腫瘍の悪性度を上昇させることが観察されている（4.2.1.1-33；[17]-[19]）。

MET 阻害によって、血管新生阻害剤治療に起因する特定の代償機構が妨げられるか否かを評価するために、マウス肺に移植・増殖させた MDA-MB-231 腫瘍細胞に対する XL184 の作用を、スニチニブ投与と比較した。XL184 投与マウスにおける肺腫瘍量（全肺表面積に対する割合）には、溶媒投与対照マウスと比べて有意差が認められなかった（それぞれ 4.2%対 3.9%）。しかし、スニチニブ投与マウスの肺では、溶媒投与対照又は XL184 投与マウスの肺と比較して、表面の腫瘍量が有意に高かった（12%；3.1 倍の増加）（4.2.1.1-32）。さらに、固定前の肺の解析により、スニチニブ投与マウスの肺湿重量には、溶媒投与対照マウスの肺湿重量と比較して、統計学的有意な増加が認められたが、XL184 投与マウスではそのような増加は認められなかった（4.2.1.1-32）。このモデルでは、XL184 投与によって転移は抑制されなかったが、肺表面の腫瘍量に、溶媒投与対照マウスの肺と比較して有意差は認められなかった。これらの結果から、XL184 の短期投与によって、スニチニブなどの汎 VEGFR 阻害剤に関して仮定されているような、転移を促進する環境は生み出されないことが示唆される[17]。

RIP-Tag2 モデルは、膵β細胞における SV40 Large T 抗原の発現により膵島腫瘍を自然発症するトランスジェニックマウスモデル系である。これらの腫瘍は高度に血管新生しており、多段階腫瘍形成を再現する[20]。XL184 を 3 週間投与した RIP-Tag2 マウスにおいては、対応する溶媒投与対照マウスと比較して、腫瘍サイズが大幅に減少した（4.2.1.1-33）。XL184 投与による効果は、その他 2 種類の血管新生阻害剤治療（抗 VEGF 中和抗体又はスニチニブ）による効果と比較しても顕著であった。同モデルにおいて、いずれの薬剤によっても腫瘍サイズは減少したが、XL184 投与マウスの腫瘍のみが非浸潤性の表現型を有し、平滑な輪郭と、周囲の正常組織において検出される浸潤細胞の大幅な減少を示した（4.2.1.1-33）。溶媒投与対照マウスの腫瘍は浸潤性の表現型を示し、この表現型は抗 VEGF 抗体の投与によって悪化するようであった。腫瘍辺縁に、不整な輪郭と、広範囲にわたる正常組織への腫瘍細胞の播種が特徴的に認められた。溶媒対照群及び抗 VEGF 群で認められた浸潤性の表現型は、腫瘍組織における MET 発現の増加及び上皮間葉転換マーカーの増加を伴った（4.2.1.1-33）。XL184 投与マウスにおいては、肝転移のサイズと数が顕著に減少した（4.2.1.1-33）。重要な点として、同試験で XL184 を投与したマウスは全例が 20 週時点の試験終了まで生存したのに対し、溶媒又は抗 VEGF 抗体投与マウスでこの終点まで生存した例はなかった。したがって MET シグナル伝達経路は、転移及び血管新生の促進に重要な役割を果たすと考えられる[16]。MET 及び VEGFR2 シグナル伝達は、特に血管新生阻害剤治療からの逃避において、相乗的に作用するため、これらのシグナル伝達経路両方を阻害することにより、いずれかの経路を単独で標的にする場合よりも、大きな臨床効果が得られる可能性がある[21]。

MET 経路を介するシグナル伝達は、腫瘍の増殖、生存、転移、さらには血管新生阻害剤治療に対する耐性に関与することが知られており、VEGF と相乗的に作用して血管新生を促進する。MET 及び VEGF 経路は、多くのがん種において調節不全に陥っており、腫瘍血管新生と腫瘍細胞の増殖及び浸潤を引き起こす。MET 及び VEGFR2 シグナル伝達は相乗的に作用するため、MET/VEGF シグナル伝達をどちらも阻害することによって、固形腫瘍患者に大きなベネフィットがもたらされる可能性がある。AXL も XL184 によって阻害され、AXL と MET はいずれも、Von Hippel-Lindau 蛋白不活性化の結果として、RCC 腫瘍においてアップレギュレートされていることが知られる。RCC においては、AXL 及び MET の高発現と、予後不良との関連及び VEGFR 阻害剤耐性の発生との関連が認められている[22]。したがって、進行性 RCC においては、MET、VEGF 及び AXL シグナル伝達経路を同時に標的とすることが、VEGF シグナル伝達経路のみを標的とするよりも有益となる可能性がある。また、MET、AXL、ROS1 及び RET に対する XL184 の阻害活性は、活性化型の受容体がドライバーがん遺伝子として作用する NSCLC のような腫瘍に有用となる可能性がある。In vitro 及び／又は in vivo 薬力学的解析により、様々な腫瘍及び細胞ベースのモデルにおいて、XL184 が MET、VEGFR2、AXL 及び RET 経路を介するシグナル伝達を阻害することが確認されている。担がんマウスに XL184 を in vivo で曝露すると、腫瘍血管構造が著しく崩壊し、腫瘍が退縮し、生存が改善する。したがって XL184 投与は、RCC 患者集団やその他の固形腫瘍患者において、おおいに有用であると考えられる。

2.4.3 薬物動態試験

XL184 の PK をラット及びイヌを用いた試験で LC/MS/MS により評価した。In vitro 試験では、XL184 の細胞透過性、血漿蛋白結合、薬物トランスポーター相互作用、代謝プロファイリング、CYP 基質特異性、CYP 阻害作用及び誘導作用を評価した。In vivo 試験では、XL184 の吸収、組織分布、代謝及び排泄の評価を行った。XL184 の PK 及び代謝の種間差について、ヒト由来生体試料を用いた in vitro 試験系（例、血漿蛋白、肝細胞及び肝ミクロソーム）において更に評価した。GLP 適用下で実施される非臨床安全性試験を支持するトキシコキネティクス（TK）評価において、XL184 についてバリデートされた生体分析法を用いた。

吸収：

イヌにおいて、XL184 のカプセル剤は、懸濁剤と比べて絶対的バイオアベイラビリティ（BA）はほぼ同程度であり（51%～55%）、相対的 BA はやや高い（108%）ことが示された。XL184 のカプセル剤 1 種及び錠剤 2 種の BA 比較試験をイヌを用いて実施した結果、カプセルといずれかの錠剤の血漿中濃度時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}inf}$）比は 1.2 であった。

イヌにみられる XL184 の絶対的 BA の高値は in vitro での MDCK 細胞系における高透過性に相関すると考えられる。イヌにおいて、ペンタガストリン（最終胃液 pH 4.49）又はファモチジン（最終胃液 pH 8.16）の前投与は、前投与なし（最終胃液 pH 7.08）と比べて XL184 の最高血漿中濃度（C_{max}）及び $AUC_{0\text{-}last}$ に影響を及ぼさなかった。

XL184 の N-1 及び N-2 結晶型の含有量の違いによる影響をイヌを用いて検討した結果、$AUC_{0\text{-}last}$ の顕著な差はみられなかった。

薬物動態：

ラットにおける XL184 の単回経口投与後の血漿中曝露量（AUC 値）は、0.1～15 mg/kg の用量範囲で概ね用量に比例して増加した。イヌにおいて、XL184 の血漿中曝露量は、低用量（0.2～5.0 mg/kg）では用量比を下回って増加し、高用量（10～100 mg/kg）では用量比を上回って増加した。ラットにおける 1 日 1 回反復経口投与後の XL184 の血漿中蓄積量は、178 日後に初回投与後 AUC の 4.3 倍以下と中程度であった。イヌでは蓄積がみられなかった（180 日後に 2 倍未満）。XL184（1 又は 5 mg/kg）を単回経口投与した時、ラットにおける血漿中曝露量はイヌよりも 7～9 倍高かった。雌ラットの曝露量は雄ラットよりもやや高かった（2 倍未満）。

分布：

マウス、ラット及びヒト血漿における in vitro での XL184 の血漿蛋白結合率は高かった（>99.7%）。主代謝物 EXEL-1644 の血漿蛋白結合率はマウス、ラット及びヒトにおいてそれぞれ 96.937%～98.793%、99.729%～99.966%及び 99.950%～99.996%であり、結合率は EXEL-1644 濃度の増加に伴い低下した。

雄有色ラットに[^{14}C]XL184 を単回経口投与した時、投与 2 時間後に C_{max} に達した組織の中で高い放射能濃度が示されたのは、肝臓、副腎、白色及び褐色脂肪組織並びに胃であった。その後の時点で C_{max} に達した組織の中で放射能濃度が高かった組織は、投与 4 時間後の時点における小腸、投与 8 時間後の時点におけるハーダー腺及び投与 24 時間後の時点における眼球血管膜及び眼全体であった。中枢神経組織は XL184 最高放射能濃度が全組織中で最も低いことが示された。白色ラットと有色ラットの放射能分布は概して同様であったが、有色ラットの眼組織にみられる放射能濃度は白色ラットよりも大幅に高かった。

代謝：

マウス、ラット及びヒト肝ミクロソームおいて XL184 の代謝率は低かった（4 時間インキュベーション後の XL184 の総代謝率はそれぞれ約 12%、5%及び 24%）。NADPH 共存下のマウス、ラット及びヒト肝ミクロソームにおいて 3 種の代謝物（M1、M4 及び M6）が生成された。代謝物の構造は特定されていないが、LC/MS/MS により、これらの XL184 代謝物が酸化又は脱水素代謝物であることが示唆された。マウス及びラット肝細胞では少量（代謝率 1%未満）のグルクロン酸抱合体も検出されたが、ヒト肝細胞では検出されなかった。探索的解析において XL184 を投与したマウス及びラットにおける本剤の代謝量は低い（マウス及びラットにおいて親化合物の曝露量に比べて 34%及び 10%）と考えられた。

マウス、ラット及びイヌにおいてヒト血漿中に存在する主代謝物（EXEL-5162、EXEL-1646、EXEL-5366 及び EXEL-1644）について評価した時、親化合物である XL184 の AUC は、総薬物関連 AUC のそれぞれ 91%超、88%超及び 93%超であった。これらの動物種において、ヒト血漿中に存在する XL184 の個々の代謝物のうち、総薬物関連 AUC の 10%を占めるものはみられなかった（EXEL-1644 についてはイヌでは測定していない）。

CYP 薬物相互作用：

CYP 分子種特異的中和抗体を用いたヒト肝ミクロソームによる in vitro 代謝試験により、XL184 は CYP3A4 の基質であると示唆された。XL184 は以下の結果から CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP2E1 の基質ではないと考えられた：（1）in vitro CYP 発現ミクロソームで XL184 代謝が認められなかった。（2）これらの CYP 分子種特異抗体によりヒト肝ミクロソームによる XL184 の代謝が阻害されなかった。CYP2C9 に対する中和抗体は、XL184 の N-オキシドの生成をわずかに阻害した（20%未満の生成減少）。

探索的及び最終的な試験において、ヒト肝ミクロソームを用いて XL184 による CYP 阻害を評価した。CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 に対する Ki 値はそれぞれ 4.6、10.4 及び 28.8 μmol/L であった。In vitro での反応速度解析により、XL184 は CYP2C8 の非競合的阻害剤、CYP2C9 及び CYP2C19 の混合型阻害剤、CYP3A4/5 の競合的阻害剤であることが示された。主代謝物である EXEL-1644 も XL184 と同様に CYP2C8 を最も強く阻害した（Ki = 1.1 μmol/L）。

XL184 による CYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP2B6 の mRNA 及び酵素活性の誘導はほとんど認められなかった。CYP3A4 の mRNA 及び酵素活性は、XL184 への曝露後わずかに増加した（陽性対照であるリファンピシンの 40%未満）。別の試験では、XL184（10～30 μmol/L）による mRNA 量の増加が CYP1A1 で最高 20 倍〔陽性対照である β-ナフトフラボン（β-NF）の約 67%～100%〕及び CYP3A4 で最高 7 及び 55 倍（陽性対照であるリファンピシンの約 90%及び 8%）認められた。

薬物トランスポーターとの相互作用：

XL184 及び EXEL-1644 が薬物トランスポーターの基質又は阻害剤となる可能性を in vitro で評価した。XL184 は multidrug resistance-associated protein 2（MRP2）の基質である可能性があるが、organic anion transporter（OAT）1、OAT3、organic cation transporter（OCT）1、OCT2、organic anion transporting polypeptide（OATP）1B1、OATP1B3、breast cancer resistance protein（BCRP）、bile salt export pump（BSEP）又は P-糖蛋白（P-gp）の基質ではないと考えられる。XL184 は、OAT1、OCT1、OCT2、OATP1B、OATP1B3 及び BSEP（IC_{50} 値>15 μmol/L）、並

びに BCRP 及び MRP2（IC_{50} 値>50 μmol/L）の弱い阻害作用を示したが、multidrug and toxin extrusions（MATE）1（IC_{50} 値=5.94 μmol/L）及び MATE2-K（IC_{50} 値=3.12 μmol/L）を阻害した。CHO 細胞を用いた安定発現細胞では、XL184 による OAT3 の強い阻害（5 μmol/L で 50%以上阻害を示したが、濃度依存的ではない）が認められたが、MDCK 細胞を用いた発現細胞では、OAT3 の強い阻害は認められなかった（IC_{50} 値>20 μmol/L）。P-gp については、MDCK-II 細胞を用いた発現系では IC_{50} が 7.0 μmol/L と算出されたが、Caco-2 細胞を用いた試験では、IC_{50} 値は 50 μmol/L 以上であった。

代謝物 EXEL-1644 は OAT3、OATP1B1、OATP1B3、BCRP 及び MRP2 の基質となるが、OAT1、OCT1、OCT2 及び BSEP の基質とならないと考えられる。EXEL-1644 が P-gp の基質となるか否かについては結論が得られなかった。EXEL-1644 は、OAT1、OAT3 及び OATP1B1 に対して強い阻害作用（IC_{50} 値：4.3～6.1 μmol/L）を示したが、BSEP、MRP2、OATP1B3、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害は弱く（IC_{50} 値：16.7～78.5 μmol/L）、BCRP、P-gp、OCT1 及び OCT2 に対しては明らかな阻害を示さなかった（IC_{50} 値>250 μmol/L）。

排泄：

[^{14}C]XL184 を投与したラットにおける薬剤由来の放射能は､雌雄で主に糞中に排泄された。投与 168 時間後までの投与放射能量の平均回収率は、雄では糞中に 85.64%、尿中に 9.06%、ケージ水洗液中に 0.72%であり、雌では糞中に 82.05%、尿中に 11.81%及びケージ洗浄液中に 1.28%であった。投与 168 時間後までの投与放射能量の平均総回収率は、雄で 95.84%及び雌で 96.21%であった。雄及び雌において総放射能量の $AUC_{0\text{-inf}}$ に対する XL184 の $AUC_{0\text{-inf}}$ の割合はそれぞれ 77.5%及び 81%であった。[^{14}C]XL184 を投与した胆管カニューレ挿入ラット及びイヌにおいて、胆汁中に平均で投与量の約 29%及び 15%が回収されたことから、両動物種において吸収された[^{14}C]XL184 由来放射能の排泄に胆汁排泄が主な役割を果たしていることが示唆された。

2.4.4 毒性試験

XL184 の経口投与における毒性を、ラット及びイヌを用いた主要な（GLP 適用）単回投与試験並びに 2 週間及び 26 週間反復投与試験、マウスを用いた 4 週間毒性試験、ラットを用いた受胎能試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験、ラットを用いた出生前及び出生後毒性試験並びに幼若ラット毒性試験、rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験、ラットを用いた 2 年間がん原性試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、並びに in vitro 光毒性試験において評価した。これらの試験で特定された XL184 に関連する毒性の標的臓器は、消化管、骨髄、リンパ系組織、生殖器組織、内分泌組織、腎臓及び皮膚であった。骨、中枢神経系組織及び肝臓／胆嚢にも病理組織学的変化もみられた。XL184 投与に関連する毒性所見は、（1）概して用量依存的であり、（2）標的臓器の病理組織学的所見を反映する一般状態及び／又は臨床病理学的パラメータの変化としばしば相関し、（3）投与中止後は概して回復性を示し、（4）しばしばげっ歯類及び非げっ歯類の両方にみられた。主要な生殖及び発生毒性試験において、XL184 投与は雌雄ラットの受胎能の低下、ラットにおける胚・胎児毒性、ウサギにおける胎児軟組織異常（小脾臓、肺葉の欠損）及びラットにおける胚毒性用量における胎児骨格異常（口蓋裂並びに尾の捻転又は痕跡尾）をもたらす一方で、ウサギにおいて胎児の外表又は骨格の異常はみられなかった。XL184 は、遺伝毒性及

び光毒性試験において陰性であった。XL184 を rasH2 トランスジェニックマウスに 1 日 1 回 26 週間投与しても、XL184 に関連する腫瘍性の病理組織学的所見は認められなかった。XL184 の 2 年間がん原性試験（4.2.3.4.1-1）で、副腎髄質に良性褐色細胞腫単独あるいは悪性褐色細胞腫と混在して出現する頻度の上昇が認められた。最後に、主代謝物 EXEL-1644 をラットに 1 日 1 回 2 週間皮下投与した時の NOAEL は 30 mg/kg/day と考えられ、この用量の投与 15 日目における $AUC_{0\text{-}24}$ 値は 576,000 ng·hr/mL（雌雄合算）で、臨床試験で 100 mg 以上の XL184 を投与した時の曝露量（42,400 ng·hr/mL）の約 14 倍であった（5.3.3.4-3）。

XL184 原薬に存在する不純物の安全性について、特定された不純物であるオルソ-フルオロ XL184 を 0.21%（面積百分率）の濃度で含有するロット P172-27-1 の XL184 を用いた GLP 適用の非臨床安全性試験において評価した（4.2.3.2-5）。ラットを用いた XL184 の GLP 適用 2 週間反復投与毒性試験において、NOAEL は 1 mg/kg/day だった。XL184 原薬中の不純物が遺伝毒性を示す可能性（GTI）について、FDA ガイダンス[6]に概略されるプロセスに従った in silico 試験により確認・評価した。アラート構造を持つ不純物は GLP 適用の Salmonella/E. coli を用いた復帰突然変異（エームス）試験で評価した。その結果、XL184-1-1、XL184-1-4、4-フルオロアニリン及び 4-アミノフェノールの 4 種は GTI と確認された（4.2.3.7.6-1、4.2.3.7.6-2、4.2.3.7.5-3, [23]）。不純物 XL184-1-2（BMS908148）及び XL184-2-2（BMS908146）は非遺伝毒性であった（4.2.3.7.6-3、4.2.3.7.6-4）。工程不純物である EXEL-01229114 及び EXEL-04621743 はいずれも S. typhimurium/E. coli を用いた復帰突然変異試験において陽性であった（4.2.3.7.6-5）。XL184 製剤における GTI 量の管理及び提案される規格限度値の根拠に関するデータは 3.2.P.5.6 項に示す。別の in silico 試験において、リンゴ酸の 2 種の不純物は遺伝毒性のアラート構造を持たないことが示された（3.2.S.3.2）。

本項では、XL184 の非臨床安全性試験の結果を、毒性の種類毎に考察する。

心血管毒性：

XL184 の非臨床安全性試験において、心血管機能又は組織に対する毒性作用は主な所見ではなかった。XL184（150 又は 1000 mg/kg）を単回経口投与したイヌの覚醒下テレメトリー試験において、収縮期血圧、心拍数、又は左室圧に生物学的に意義のある影響はみられなかった（4.2.1.3-6）。150 mg/kg の用量では、拡張期及び平均血圧にも影響はみられなかった。1000 mg/kg の用量では拡張期血圧の一過性の上昇（約 22%）のみがみられ、それにより平均動脈圧が上昇した（約 13%）。この所見は 60 mg（FBE）の XL184 を 1 日 1 回投与した日本人がん患者における定常状態の血漿中曝露量よりも約 2～4 倍高い血漿中曝露量（4.2.3.1-4 の PK データ）においてみられた。XL184 を 150 又は 1000 mg/kg の用量で投与した時の心電図パラメータ（QT 及び QTc 間隔など）にも影響はみられなかった。

XL184 及びその主代謝物は、in vitro で直接的で強い hERG チャネル阻害剤ではない（IC_{50} >30 μM ; 4.2.1.3-1 及び 4.2.1.3-2）が、XL184（10～30 μM）は形質転換された哺乳類細胞において軽度ながら有意な hERG 輸送阻害及び hERG チャネル活性の直接的な阻害（30 μM）を示した（4.2.1.3-3）。

消化管毒性：

XL184 投与に関連する消化器系の機能及び／又は消化管組織構造に対する毒性作用は主に非臨床毒性試験で認められる所見であり、それらは概して、ラット及びイヌを用いた急性又は亜慢性（14 日間以下）毒性試験における全身毒性曝露量のみでみられた。しかし、XL184

を 50 mg/kg の用量で 4 週間又は 15 mg/kg の用量で 26 週間 1 日 1 回投与した rasH2 野生型マウスの腺胃において、中等度～重度と考えられる上皮過形成変化がみられている（4.2.3.2-1、4.2.3.4.2-1）。XL184 を、全身毒性を示す／致死的な単回経口投与量（300 mg/kg 以上）で投与したラットにおいて、病理組織学的検査で消化管組織に著しい損傷が認められた（4.2.3.1-2）。腺胃（粘膜主及び壁細胞の変性及び壊死）、十二指腸及び空腸（腸絨毛細胞の空胞化）、十二指腸、空腸及び回腸（粘膜固有層における単細胞壊死、並びに回腸パイエル板リンパ球壊死及び／又は枯渇）において投与に関連する病変がみられた。これらの病理組織学的変化は、体液及び電解質の大幅な減少及び炎症部位が原因と考えられた。これらは投与中止で消失する可逆性の変化であり、低用量の XL184 ではみられなかった（4.2.3.2-4）。6 ヵ月間慢性投与毒性試験において評価した最高用量（1 mg/kg/day）の XL184 を 1 日 1 回投与したラットにおいて、病理組織学的に消化管毒性は認められなかった〔$AUC_{0\text{-}24}$=29,736 ng·hr/mL（雄）及び 44,086 ng·hr/mL（雌）〕。これらの用量における血漿中曝露量（AUC）は、60 mg（FBE）の XL184 を 1 日 1 回投与した日本人がん患者における定常状態で推定された血漿中曝露量（5.3.5.4-1）のそれぞれ約 0.7 倍以上及び 1.1 倍以上であった。

著しい全身毒性（自発運動低下、食欲不振、重度脱水、摂餌量及び体重減少）及び瀕死状態による切迫殺をもたらす用量（100～1000 mg/kg/day で 5～7 日間）の XL184 を亜慢性的に投与したイヌにおいても、顕著な消化管関連毒性がみられた（4.2.3.2-8）。これらのイヌにおいて、個々の臨床病理学的パラメータの変化（総蛋白量、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの増加、並びにナトリウム及び塩化物の減少）は腸組織損傷及び関連する体液減少（嘔吐及び／又は下痢）を介した全身性の脱水状態を反映した。病理組織学的に、消化管全体に、パイエル板のリンパ球枯渇／壊死を特徴とする腸症とそれに伴うパイエル板全体の上皮壊死がみられた。100 mg/kg/day の用量を 5 日間投与後に投与を中止した時、消化管における病理組織学的変化は回復した。最長 6 ヵ月間の慢性毒性試験において評価した最高用量で XL184 を 1 日 1 回投与したイヌ〔$AUC_{0\text{-}24}$ = 18,800 ng·hr/mL（雄）及び 24,800 ng·hr/mL（雌）〕において、病理組織学的に消化管毒性はみられなかった。これらの用量における血漿中曝露量（AUC）は、60 mg（FBE）の XL184 を 1 日 1 回投与した日本人がん患者において定常状態で推定された血漿中曝露量（5.3.5.4-1）のそれぞれ約 0.5 倍以上及び 0.6 倍以上であった。

消化管組織壊死及び消化管穿孔は、VEGF 阻害に関連する局所灌流の減少による局所的虚血が原因である可能性がある。更に、悪心、嘔吐及び下痢などの臨床的有害事象は、粘膜損傷後の粘膜恒常性維持及び粘膜上皮形成において VEGF が果たす役割を反映している可能性がある。ラット及びイヌを用いた XL184 の慢性毒性試験において評価した最高用量で消化管毒性はみられなかったが、この時の XL184 全身血漿中曝露量は、臨床において 60 mg の XL184 FBE を 1 日 1 回投与した時に消化管毒性をもたらした血漿中曝露量（5.3.5.4-1）よりも若干低い（約 0.5～1.1 倍）のみであった。このため、ヒトは、長期投与後のラット又はイヌよりも XL184 に介在される消化管毒性に感受性が高い可能性がある。

皮膚毒性：

XL184 に関連する皮膚及び被毛の外観に対する影響は、臨床試験の方が非臨床試験よりも顕著かつ頻度が高い。XL184 を投与した被験者において、手掌・足底発赤知覚不全症候群

（PPES、別名：手足症候群）、皮疹（水疱、紅斑性皮疹、斑状皮疹、皮膚剥奪、ざ瘡様皮膚炎、及び丘疹性皮疹など）、そう痒症、皮膚乾燥、紅斑、色素性変化及び脱毛が報告されている[24], [25]。XL184 を 20 mg/kg/day の用量で最長 6 ヵ月間投与したイヌにおいて、皮膚の変色（灰色）、被毛の変色（白色）、被毛疎、皮膚弾力性の低下及び皮膚の痂皮がみられた（4.2.3.2-10）。被毛及び皮膚の変色は、ヒトの白斑に類似する軽度～重度の色素沈着減少と記載され、鼻孔、口唇及び眼瞼辺縁にまで伸展していた。皮膚の灰色変色は 28 日間の休薬回復期後にも解消されず、これに伴う病理組織学的所見はみられなかった。このため、本所見の毒性学的意義は不明である。XL184 を長期投与されたこれらの雌雄では、極微～軽度の過角化、表皮過形成及び表皮の滲出物などの可逆的な病理組織学的皮膚所見もみられた。XL184 を 2 mg/kg/day の用量で投与した幼若ラットにおいても、出生後日数（PND）12～35 日に皮膚病変（皮下付属器及び脂肪組織の萎縮）がみられた（4.2.3.5.3-2）。XL184 は in vitro で光毒性誘発作用を示していないため、これらの皮膚反応は薬剤に直接的に関連すると考えられる（4.2.3.7.7-1）。VEGF は、創傷治癒及び外科的癒着形成などの生理学的プロセスにおける血管新生促進性刺激に重要な役割を果たす。このため、XL184 及びその他の VEGFR 経路を標的とする低分子 RTK 阻害剤により、創傷治癒の合併症が発現する可能性がある。XL184 が創傷治癒に与える影響に関しては正式な非臨床試験は実施していない。

筋骨格系毒性：

成獣ラット及びイヌを用いた主要な 2 週間反復投与毒性試験及び幼若ラット毒性試験において、XL184 投与に関連する毒性のエビデンスが筋骨格系にみられた。XL184 投与ラット（5 mg/kg/day で 14 日間）にみられる骨病変（大腿骨骨端軟骨の肥厚）は、重症度が低く、投与中止すると回復したことから、毒性とはみなされなかった（4.2.3.2-5）。XL184 を投与したイヌの骨における病理組織学的所見（遠位骨幹端の一次海綿骨の萎縮に伴う成長停止）は、本組織における XL184 の直接的な影響ではなく、全身毒性を示す用量（100 mg/kg/day 以上で 5 日間）で発現した食欲不振、脱水及び／又はストレスに関連する二次的変化と考えられた（4.2.3.2-8）。しかし、骨端発育板の肥大軟骨細胞は VEGF を発現し[26]、非臨床モデルにおいて VEGF シグナル伝達を阻害すると、肥大部位の拡大による骨端発育板の肥厚が認められる[27], [28]。ラットを用いた XL184 の受胎能試験（4.2.3.5.1-1）において、全身毒性を示す用量（2.5 mg/kg/day 以上）で投与した雄では、歯の外観に関連する臨床的所見（極度に白い、欠失、極度に長い、不正咬合、切断又は上方に湾曲）がみられた。幼若ラット毒性試験においても同様の歯の変化がみられた（4.2.3.5.4-1、4.2.3.5.4-2）。XL184 の骨形成に対する影響との関連においてこれらの歯の所見の臨床的意義は明らかにされていないが、VEGFR2 阻害剤である AZD2171 及びパゾパニブを用いた非臨床試験においても、同様の骨及び歯の病理組織学的変化が認められている（[29]；パゾパニブ添付文書）。XL184 を妊娠ラット又はウサギに投与した時、胎児の骨格異常の発現率は対照群と比べて高値とはならなかった（4.2.3.5.2-2、4.2.3.5.2-4）。しかし、これらの臨床試験では母動物の毒性を最小限にするために、最高全身曝露量は 60 mg の XL184（FBE）を 1 日 1 回投与した日本人がん患者における定常状態での全身曝露量（5.3.5.4-1）の 0.2 倍未満であった。若齢マウスにおいて、VEGF 阻害剤は、長期骨発育の基本的機序である軟骨性骨生成を抑制する[30]。また、MET 及び VEGF シグナル伝達経路はいずれも、発育中の骨における破骨細胞及び骨芽細胞機能に重要な役割を果たすと考えられる[31]。マウスにおける短期間の XL184 投与でも、破骨細胞

数の減少及び骨芽細胞の増加など、骨微小環境に対する影響があることが示されている[32]。このように、MET 及び VEGF 経路の両方を阻害する XL184 の投与により、新生児における骨発育が変化する可能性がある。幼若ラットにおける XL184 の非臨床毒性試験では、骨発育に対する XL184 の毒性影響が示された。XL184 を 1 又は 2 mg/kg の用量で PND 12 ラットに 1 日 1 回 PND35 まで投与すると骨の骨端軟骨肥大及び皮質骨の減少がみられ、XL184 を 1 又は 2 mg/kg の用量で PND 12 又は PND21 のラットに 1 日 1 回 PND35 又は PND 70 まで投与すると骨密度の低下がみられた（4.2.3.5.4-2、4.2.3.5.3-2）。しかし、XL184 を投与した幼若ラットにみられたこれらの骨に対する影響は、投与中止で回復傾向となることが示唆された。

肝毒性：

ラット及びイヌを用いて実施した非臨床安全性試験又は固形腫瘍患者の臨床試験において、XL184 投与により顕著な肝毒性作用は示されなかった。非臨床試験において、投与に関連する肝毒性は一般に、肝組織の血清生化学的パラメータ値の増加及び／又は病理組織学的変化を特徴とした。これらの所見は総じて、投与に関連する全身毒性を示す非特異的変化とみなされ、ほとんどの場合、XL184 の投与中止によって改善した。XL184 を 5、15、又は 50 mg/kg の用量で 1 日 1 回 4 週間投与した rasH2 野生型マウスにおいて、用量依存的に ALT が増加した（最大 4.3 倍）が、肝組織にはこれに伴う病理組織学的所見はみられなかった（4.2.3.2-1）。XL184（100～900 mg/kg）をラットに単回経口投与した 3 日後にも、ALT、AST、GGT、ALP、コレステロール及び総ビリルビンに用量依存的な増加がみられたが、これに伴う肝臓の病理組織学的変化はなかった。これらの変化は、ALT の軽微な増加を除いて、投与 15 日後までに改善した（4.2.3.1-2）。XL184 を 400、1000、又は 2000 mg/kg の用量で単回投与したイヌにおいて、コレステロール、AST 及び ALT 値の非用量依存的な増加がみられた（4.2.3.1-4）。2000 mg/kg の用量における肝臓の病理組織学的所見（グリコーゲンの減少）は、XL184 に関連する消化管組織への有害な作用に伴う動物の栄養状態不良を反映していると考えられた。主要な反復投与毒性試験において、XL184（1～15 mg/kg/day で 14 日間）を投与したラットは ALT 及び AST 値の用量依存的な増加を示した（4.2.3.2-4）。ラット及びイヌを用いた慢性毒性試験における XL184 投与に関連する肝障害の唯一のエビデンスは、ラット（0.1～1.0 mg/kg/day で 180 日間）における ALT 値の用量依存的（最大 2 倍）な軽度の増加であり、これに伴う病理組織学的所見はみられなかった。

内分泌組織毒性：

XL184 投与に関連する内分泌組織毒性は、非臨床試験の動物種では主に副腎、固形腫瘍患者では膵臓及び甲状腺において誘起された。非臨床試験における膵臓及び下垂体の XL184 に関連する毒性は、一般的な全身毒性に伴うものであると考えられた。XL184 を 2 mg/kg の用量で 1 日 1 回約 4 週間（PND12～35）投与した幼若ラットにおいて、副腎に組織病変（空胞化、うっ血、出血）がみられた（4.2.3.5.3-2）。XL184 を全身毒性用量（300 mg/kg 以上）で成獣ラットに単回経口投与すると、肉眼的変化（皮質領域の肥大及びびまん性の赤色化）がみられ、これらの変化は病理組織学的所見（副腎皮質細胞の空胞化、凝固性壊死、化膿性炎症及び出血）を伴った。XL184 の急性致死用量（900 mg/kg）を投与したラットにおける膵臓腺房細胞の空胞化は投与に関連する一般的な全身毒性に伴う二次的変化と考えられた（4.2.3.1-2）。XL184 用量範囲設定反復投与毒性試験のラット（用量範囲：3～30 mg/kg/day で 8 日間）において副腎組織（うっ血の病理組織学的所見）及び膵臓（アミラーゼ及びリパ

ーゼ値の増加）に対する毒性もみられた（4.2.3.2-3）。ラットを用いた主要な 2 週間毒性試験（4.2.3.2-4）において、全身毒性用量（15 mg/kg/day で 14 日間）の XL184 を投与した時にのみ、副腎組織（皮質及び髄質の壊死、並びに皮質の血管拡張）及び膵臓（腺房細胞の変性及び壊死）の病理組織学的変化がみられた。この用量では副腎重量の増加及び副腎の肉眼的変化（肥大、斑点及び発赤）もみられた。XL184 投与ラット（5 又は 15 mg/kg/day で 14 日間）における下垂体の組織形態学的変化（好塩基細胞の肥大及び空胞化）は、XL184 に起因する副腎組織への直接的な毒性を原因とする下垂体－副腎内分泌バランスの乱れを反映した、毒性ではない二次的な変化と考えられた。本試験において、4 週間の休薬期間後に、副腎及び下垂体組織の病変は完全には解消されなかったが、膵臓の病変は認められなかった。副腎及び下垂体組織所見を呈したラットにおける 15 mg/kg/day での血漿中曝露量（AUC）は 60 mg の XL184（FBE）を 1 日 1 回投与した日本人がん患者における定常状態で推定された血漿中曝露量（5.3.5.4-1）の約 10 倍以上高かった。イヌを用いた主要な反復投与毒性試験（4.2.3.2-8）では、内分泌組織毒性は膵臓（酵素原顆粒の空胞化及び減少）において、全身毒性用量（100 mg/kg/day 以上で 5 日間）を投与した場合にのみみられた。この膵臓組織病変は、一般的な全身毒性に伴う二次的影響と考えられ、毒性ではないと考えられた。最長 6 ヵ月間の慢性毒性試験において XL184 をラット又はイヌに 1 日 1 回、60 mg の XL184（FBE）を 1 日 1 回投与した日本人がん患者において定常状態で推定された血漿中曝露量（5.3.5.4-1）の約 0.2 ～ 1 倍の血漿中曝露量で投与した時、内分泌組織毒性はみられなかった。

腎毒性：

XL184 投与後の腎臓系機能に対する毒性作用が非臨床（ラットにおける非臨床病理及び病理組織学的所見）及び臨床（蛋白尿）の両方で明らかにされた。XL184 の主要なラット単回投与毒性試験（4.2.3.1-2）において、全身毒性及び／又は致死的用量でのみ腎機能不全がみられた。900 mg/kg/day の用量を投与したラットにおいて腎組織の病理組織学的変化（尿細管上皮細胞の空胞化）が認められ、血清尿素窒素の増加を伴なった。また、XL184 の主要な 2 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-4）において、15 mg/kg/day で 14 日間投与したラットの腎組織でみられた病理組織学的所見（可逆的な尿細管変性及び糸球体膜肥厚）は、本用量において臨床検査値の異常（尿蛋白及び潜血の増加、総血清尿素窒素の増加、蛋白及びアルブミンの減少）を伴った。

これらの所見は XL184 の腎組織に対する直接的な有害作用を反映している可能性はあるが、一般的な全身毒性並びに消化管に関連する体液減少と脱水に伴う二次的変化と判断された。ラットを用いた 2 本目の主要な 2 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-5）において、より低量で一般に忍容性が良好である用量（5 mg/kg/day で 14 日間）でも腎毒性変化がみられた。腎臓に関連する所見には、腎臓重量（軽微な増加）、尿検査パラメータの変化（尿量の軽微な低下、尿比重の極微な増加）及び病理組織学的変化（雌雄ともに極微～中等度の糸球体基底膜の肥厚及び尿細管変性）などが含まれた。雌において回復期後にみられた腎好塩基性尿細管の発現率及び重症度の軽度な増加は、投与期終了時にみられた尿細管変性に対する再生反応と考えられた。それ以外の XL184 に関連する腎病変は可逆的と考えられた。XL184 を長期に投与した（1 mg/kg/day で 180 日間）ラットにおいて、投与に関連する唯一の病理組織学的所見は腎組織にみられた。雌雄ともに慢性進行性腎症（CPN）の重症度及び／又は発現率が軽度に増加したが、投与中止により改善した。2 週間及び 6 ヵ月間毒性試験のラットにお

いてこれらの腎毒性用量での血漿中曝露量は、60 mg の XL184（FBE）を 1 日 1 回投与した日本人患者において定常状態で推定される血漿中曝露（5.3.5.4-1）量の約 0.8～1.4 倍である。XL184 の 1 mg/kg の用量を 1 日 1 回約 8 週間（PND12～70）投与した幼若ラットにおいても、糸球体腎炎及び CPN がみられた（4.2.3.5.3-2）。ラットにおいて多くの生体異物が CPN の進行を加速することが示されている。本試験において、XL184 投与ラットにおける CPN の発現率及び／又は重症度の増加は毒性ではない事象と考えられた。その理由は、CPN が加速することのより長期の試験における動物の生存可能性への影響が主要な懸念点であるからである。最長 6 ヵ月間の慢性毒性試験において、XL184 を 1 日 1 回投与したイヌに腎毒性はみられなかった。

造血及び免疫組織毒性：

XL184 を投与したマウス、ラット及びイヌにおいては、骨髄及びリンパ器官の病理組織学的所見を特徴とし、血液学的パラメータの変化を伴う造血及び免疫組織毒性は、高頻度に認められる所見である。rasH2 野生型マウスにおいて、XL184 を 5 mg/kg/day 以上の用量で 1 日 1 回 4 週間投与した時、骨髄の細胞減少がみられた（4.2.3.2-1）。XL184（用量範囲：5～15 mg/kg/day）を 1 日 1 回 14 日間投与したラットでは、骨髄（大腿骨及び胸骨骨髄枯渇）及びリンパ系組織（胸腺、脾臓及び回腸のリンパ球壊死）に用量依存的かつ可逆的な病理組織学的変化及びこれに伴う用量依存的な血液学的パラメータの変化〔絶対網状赤血球数、血小板数、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット、並びに白血球数（主にリンパ球及び好中球）の有意な減少〕が示された（4.2.3.2-4）。ラットにおいて 15 mg/kg/day で投与した時の脾臓及び胸腺重量の減少（絶対重量及び脳重量又は体重に比した相対重量）も、白血球数減少及びリンパ系組織の病理組織学的変化を伴った。XL184 の幼若ラット毒性試験において、新生児に約 4 週間（PND12～35）投与した時、1 mg/kg で 1 日 1 回投与すると骨髄の細胞減少が、2 mg/kg で 1 日 1 回投与すると胸腺リンパ球枯渇／壊死がみられた（4.2.3.5.3-2）。本試験では、2 mg/kg で 1 日 1 回約 8 週間（PND12～70）投与した新生児においてリンパ球枯渇及び脾臓における髄外造血の減少もみられた。

XL184（用量範囲：100～1000 mg/kg/day）をイヌに 1 日 1 回 5 日間投与した時、骨髄（細胞減少）及びリンパ系組織（脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節における枯渇／壊死、消化管のパイエル板におけるリンパ球枯渇／壊死を伴う腸症）に病理組織学的変化がみられ、これらは完全（100 mg/kg/day）又は部分的（300 mg/kg/day 以上）に可逆的であった（4.2.3.2-8）。これらの解剖学的変化に伴う血液学的パラメータの変化（絶対網状赤血球数及び絶対リンパ球数の減少、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの増加）は、XL184 を投与したイヌにみられる食欲不振、脱水及びストレスに関連する非特異的な影響を示している可能性がある。XL184 を最長 6 ヵ月間投与したラット及びイヌにおいて、投与に関連する造血及び免疫組織毒性は、20 mg/kg/day を投与した数例のイヌにおける中等度の胸腺リンパ球枯渇及び網状赤血球数減少のみであった。この用量における血漿中曝露量は、60 mg（FBE）の XL184 を 1 日 1 回投与した日本人がん患者における定常状態で推定された血漿中曝露量（5.3.5.4-1）の約 0.7 倍である。しかし、20 mg/kg/day の用量は途中死亡及びその他の全身毒性の一般状態変化（例：糞の硬度、被毛及び皮膚の外観の変化）をもたらした。このため、これらの所見は、XL184 を投与したイヌにおける全般的な健康状態不良に関連する間接的な影響である可能性がある。

神経系及び呼吸器組織毒性：

ラット又はイヌを用いたXL184の単回又は反復投与毒性試験において、神経系及び呼吸器組織では投与に関連する特異的な毒性変化を呈さなかった。また、XL184（それぞれ300及び900 mg/kg）をラットに単回経口投与した安全性薬理試験においても、神経行動又は呼吸機能に毒性変化は見られなかった。これらの用量における推定血漿中曝露量は、60 mg（FBE）のXL184を1日1回投与した日本人がん患者において定常状態で推定された血漿中曝露量の約11倍以上である（4.2.1.3-4、4.2.1.3-5）。XL184を投与したイヌにおける中枢神経系組織の病理組織学的所見は、全身毒性用量（100 mg/kg/dayで7日間又は1000 mg/kg/dayで5日間）のみでみられた病変（脳及び脊髄の単核細胞の血管周囲浸潤を伴うグリオーシス）に限られた。この病変は、食欲不振、脱水及び／又はストレスの所見に関連する二次的変化と考えられた（4.2.3.2-8）。XL184の全身毒性用量（100 mg/kg/dayで7日間、300 mg/kg/dayで6日間）を投与したイヌにみられた眼病変（角膜炎）も二次的な所見と判断した。ラット（5又は15 mg/kg/dayで14日間投与）にみられた下垂体の病理組織学的変化（下垂体前葉の好塩基性細胞の肥大及び空胞化）は、XL184に関連する直接的な副腎組織毒性を原因とする下垂体－副腎内分泌バランスの乱れを反映する、毒性ではない二次的変化と判断した。

ラットを用いたXL184の単回投与毒性試験において、XL184投与に伴う肺組織病変が認められたが、頻度が低く、非特異的であると考えられ（例：肺胞中隔及び内腔における好中球及びマクロファージの蓄積）、全身毒性用量においてのみ発現する二次的変化と判断した。

尿生殖器及び生殖器組織毒性：

XL184を投与したマウス、ラット及びイヌにおける尿生殖器系の毒性は、雌雄の生殖組織における用量依存的な病理組織学的所見、それに伴う精巣及び卵巣重量の変化及び雌雄ラットにおける受胎能の低下を特徴とした。rasH2野生型マウスにおいて、XL184を5 mg/kg以上の用量で1日1回4週間投与すると、精巣及び卵巣重量の用量依存的な減少と、それに伴う病理組織学的所見（精細管の変性／萎縮及び卵巣形成不全）がみられた（4.2.3.2-1）。XL184の急性毒性／致死的用量（900 mg/kg）をラットに単回経口投与すると、雄性生殖組織に、精巣生殖細胞、並びに前立腺及び精嚢上皮細胞の変性及び壊死などの組織学的変化がみられた（4.2.3.1-2）。雌ラットでは、低用量の短期間投与後に卵巣の卵胞壊死がみられた（1 mg/kg/day以上で8日間；4.2.3.2-3）。げっ歯類の受胎能試験において、XL184を全身毒性／致死的用量（2.5 mg/kg以上）で1日1回最長70日間投与した時、雄において生殖組織重量の減少（精巣、精巣上体、前立腺、精嚢）がみられ、それに伴い精子数及び濃度が低下し、雄の受胎能が有意に低下した（4.2.3.5.1-1）。60 mg（FBE）のXL184を1日1回投与した日本人がん患者において定常状態で推定した血漿中曝露量の0.5倍となる血漿中曝露量をもたらす1.0 mg/kg/dayの用量（$AUC_{0\text{-}24}$ =20,700 ng·hr/mL）において、雄の生殖能及び受胎能に毒性変化はみられなかった。XL184を2.5 mg/kg/day以上の用量で投与した雌ラットは、用量依存的な発情間期の延長、及び受胎能の有意な低下を示した。胚・胎児生存も、血漿中曝露量が、60 mg（FBE）のXL184を1日1回投与した日本人がん患者において定常状態で推定した血漿中曝露量の0.5倍以上となる1.0 mg/kg/day以上の用量（$AUC_{0\text{-}24} \geq$ 19,300 ng·hr/mL）において、有意に低下した。これらの結果は、雌の生殖周期（例、粘膜の完全性）及び卵巣の黄体の血管新生に重要な生理学的役割を果たすVEGFシグナル伝達の阻害と一致する[33]。XL184を1 mg/kg/day以上の用量で約4週間（PND 12～35）投与した幼若ラットにおいて、XL184

に関連する未成熟な尿生殖組織（精巣、卵巣、子宮及び膣）がみられた（4.2.3.5.3-2）。しかし、ラットを用いた XL184 の慢性毒性試験（4.2.3.2-6）では、1.0 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 6 ヵ月間投与〔AUC_{0-24} = 29,736 ng·hr/mL（雄）及び 44,086 ng·hr/mL（雌）〕した後に雄又は雌の生殖組織に病理組織学的変化はみられなかった。

2 本の独立した慢性毒性試験で XL184 を投与した雌雄のイヌにおいて、投与に関連する直接的な毒性所見は生殖組織への影響（用量依存的な器官重量の減少とそれに伴う病理組織学的変化）であった。1.0 mg/kg/day 以上の用量において、精巣の絶対重量の減少（対照群の値より 18～33%低値）に伴い、極微～中等度の両側精巣の精子形成減少の病理組織学的な所見がみられた。いずれの所見も回復群で完全には改善しなかった。精巣上体組織では、両側性乏精子症とそれに伴う生殖細胞残屑が病理組織学的に認められた。0.2 mg/kg/day 以上の用量では、絶対卵巣重量の減少（対照群の値より 34%～54%低値）とそれに伴う組織学的所見（黄体のない卵巣）がみられた。これらの卵巣重量減少又は卵巣の病理組織学的変化は、主試験群における発現率又は重症度に基づき用量依存的ではないと判断された。いずれの所見も 5.0 mg/kg/day の用量で投与した回復群のイヌではみられず、投与中止による回復性が示唆された。これらの生殖組織所見は本試験で用いられた若齢成獣（約 12 ヵ月齢）の実験室交配ビーグル犬における不完全な性的成熟を反映するものであり、溶媒対照群において同等の所見がみられないことは、投与群の規模が小さいことを反映していると推定された（4.2.3.2-9）。その後、イヌを用いた 2 本目の XL184 慢性毒性試験がより高い初期用量（30 mg/kg/day）で実施され、非げっ歯類モデルにおける慢性毒性を更に詳細に評価した（4.2.3.2-10）。この初期用量 30 mg/kg/day では、10 日目の投与後の一般状態に顕著な毒性変化がみられたため、用量を 20 mg/kg/day に減量し、この用量で 18 週間（雄）又は 19 週間（雌）試験を継続した。20 mg/kg/day の用量で 2～6 ヵ月間投与後に雄 6 例中 2 例及び雌 6 例中 2 例が瀕死状態となり安楽殺する必要が生じたが、これらのイヌにおいて被験物質に関連する主な所見は生殖組織にみられた。病理組織学的所見としては、雄の両側精巣の精子形成減少及び雄精巣上体の乏精子症、雌における卵巣の黄体欠如、並びに乳腺及び子宮における腺組織の減少が認められた。これらの病理組織学的所見は溶媒対照群にはみられず、投与後 28 日間の休薬期間後に雌では改善したが、雄では改善しなかった。精巣及び卵巣重量も 18～26 週目の投与期の終了時に減少し（溶媒対照群の値よりもそれぞれ 58%及び 54%低値）、4 週間の休薬回復期後にも低いままであった（溶媒対照群の値よりもそれぞれ 63%及び 18%低値）。本試験の生殖組織における組織学的所見及び器官重量減少は、XL184 の低用量範囲（0.2～5 mg/kg）を投与したイヌを用いた 6 ヵ月間毒性試験においてみられた器官重量減少と一致しているため、生殖組織はイヌにおける長期投与後の XL184 関連毒性の主要標的と考えられる。VEGF 阻害剤である AZD2171 及びパゾパニブに関する非臨床慢性毒性試験においても卵巣萎縮（黄体数の減少）及び精巣萎縮（精子形成減少）がみられているため、これらの生殖組織の変化は、VEGF が誘発する血管新生の XL184 に関連する阻害を反映していると考えられる（[29]；パゾパニブ添付文書）。さらに、2 本のイヌにおける 6 ヵ月間慢性毒性試験で認められた生殖組織変化から総合的に判断した NOAEL での曝露量はラットに比べてはるかに低かった〔0.2 mg/kg/day で AUC_{0-48} = 285 ng·hr/mL（雄）及び 0.2 mg/kg/day 未満で 323 ng·hr/mL 未満（雌）〕ことに基づいて、イヌでは XL184 が引き起こす生殖組織毒性に対する感受性がラットよりはるかに高い可能性がある。これらの用量における血漿中曝露量（AUC）は 60 mg（FBE）

の XL184 を 1 日 1 回投与した日本人がん患者において定常状態で推定された血漿中曝露量の 1%未満である。XL184 を臨床血漿中曝露を少し下回る量を投与した雌雄ラットの受胎能及び雌雄のイヌの生殖組織に及ぼしたこれらの影響に基づいて、固形腫瘍患者における XL184 投与は受胎能低下をもたらす可能性がある。

主要な発生毒性試験において、器官発生期（GD 6～17）の妊娠ラットに XL184 を投与した結果、低用量／曝露量〔NOEL：0.01 mg/kg/day（$AUC_{0\text{-}48}$.= 168 ng·hr/mL）；60 mg（FBE）の XL184 を 1 日 1 回投与した時に定常状態で推定された臨床的血漿中曝露量の 1%未満〕において胚・胎児生存率の低下は認められず、評価した最高用量〔NOEL：0.1 mg/kg/day（$AUC_{0\text{-}48}$ = 1,490 ng·hr/mL）〕において胚・胎児発育、胎児の外表、軟組織又は骨格の変異又は異常に影響はみられなかった（4.2.3.5.2-2）。ラットにおける予備発生毒性試験において、0.6 mg/kg/day の用量で胚・胎児生存率及び発生の両方に毒性影響がみられた（16.6%に着床後死亡並びに胎児浮腫、口蓋裂／口唇裂、皮膚形成不全、屈曲尾又は痕跡尾などの投与に関連する外表の異常；4.2.3.5.2-1）。器官発生期（GD 7～21）の妊娠ウサギに XL184 を投与した結果、評価した最高用量〔NOEL：3.0 mg/kg/day（$AUC_{0\text{-}48}$ = 4,240 ng·hr/mL）、60 mg の XL184（FBE）を 1 日 1 回投与した時に定常状態で推定された臨床的血漿中曝露量の約 0.1 倍〕において胚・胎児生存率又は発育、若しくは胎児の外表又は骨格の変異又は異常に影響はみられなかったが、この用量において胎児の内臓の異常（膵臓サイズの縮小；肺中葉の矮小化又は欠損）がみられた（4.2.3.5.2-4）。これらの発生毒性試験で評価した XL184 の低用量範囲は、予備試験の高用量群でみられた母動物の毒性を回避するために必要と判断された（4.2.3.5.2-1、4.2.3.5.2-3）。XL184 の発生毒性試験の結果及び新生児マウスの発育及び生存に対する VEGF の必須の役割に基づいて[27]、XL184 は妊娠女性に投与すると胎児に害をもたらす可能性がある。XL184 はラット及びウサギにおいて、母動物の曝露量が XL184 の推奨用量である 60 mg（FBE）の 1 日 1 回投与におけるヒト曝露量より大幅に低くても、胚・胎児毒性を引き起こした。主要な発生毒性試験において、XL184 投与が胎児の骨格に異常を誘発しなかったことは、ラット及びイヌを用いた非臨床安全性試験において骨にみられた毒性影響は極めて小さく、概して非特異的だったことと一致した。しかし、ラットを用いた予備試験では XL184 が胚毒性を示す高い用量において、胎児の骨格異常（口蓋裂及び屈曲尾／痕跡尾）がみられた。ウサギでは胎児の軟組織異常（肺中葉の矮小化又は欠損及び脾臓サイズの縮小）もみられたが、これらも胚毒性を示す用量であった。脾臓サイズ縮小の所見は、XL184 の非臨床安全性試験において XL184 の毒性が頻繁にみられたリンパ系組織における一般的な薬剤関連の影響を反映していると考えられる。

出生前後発生毒性試験（4.2.3.5.3-2）において、XL184（0、0.03、0.1 又は 0.3 mg/kg/day）を 1 日 1 回、強制経口投与で妊娠後期〔妊娠日数（GD）10 日〕から離乳〔授乳日数（LD）20 日〕まで投与した F1 子孫又は交配日指定妊娠及び授乳（F0）ラットについて、被験物質に関連した毒性変化はみられなかった。XL184 を 2 mg/kg/day の用量で幼若ラット群に経口投与した時、投与期：PND 12～35 又は 12～70 では、途中死亡、体重減少、摂餌量減少、及び複数の組織（骨、リンパ系組織、消化管、卵巣、精巣、子宮、肝臓、腎臓）における病理組織学的変化が、投与期：PND 12～35 では、器官重量（脾臓、子宮、卵巣、精巣）減少がみられた（4.2.3.5.3-2）。XL184 を 2 mg/kg/day の用量でやや日齢の進んだ幼若ラット群（投与期：PND 21～35 又は 12～70）に投与した時、死亡はみられなかったが、それ以外は PND 12

の群でみられた被験物質関連毒性と同様であった（4.2.3.5.4-2）。これらの結果から、2 mg/kg/day の用量で被験物質に関連する死亡がみられた PND 12 の群の幼若ラット（2 歳超の小児集団に相当）は、2 mg/kg/day の用量で途中死亡がみられなかった幼若ラット PND21 の群よりも XL184 に関連する毒性に感受性が高い可能性が示唆される。

遺伝毒性：

XL184 のヒトにおける遺伝毒性リスクは極めて小さいと考えられる。XL184 は主要な S. typhimurium/E. coli を用いた細菌復帰突然変異試験（4.2.3.3.1-2）、ヒト末梢血リンパ球を用いた主要な in vitro 染色体異常試験（4.2.3.3.1-4）及び主要な in vivo マウス骨髄小核試験（4.2.3.3.2-1）において陰性であることが示された。XL184 は予備（GLP 非適用）マウスリンフォーマ試験及び細菌を用いる復帰突然変異試験（4.2.3.3.1-1 及び 4.2.3.3.1-3）においても陰性であった。XL184 に存在する可能性のある 4 種の遺伝毒性不純物 XL184-1-1、XL184-1-4、4-フルオロアニリン及び 4-アミノフェノールについて、規格限度値及び許容 1 日曝露量が提案されている（4.2.3.7.6-1、4.2.3.7.6-2、4.2.3.7.5-3、[23]）。XL184 を投与した被験者の血漿試料において、XL184 の 2 種の硫酸抱合体（EXEL-1644 及び EXEL-1646）が、親化合物 XL184 の推定定常状態曝露量の 10%以上の曝露量で同定された（5.3.3.4-3）。両方の硫酸抱合体及び 3 つ目の非抱合体（EXEL-5162）は S. typhimurium/E. coli を用いた細菌復帰突然変異試験において陰性であることが示された（4.2.3.7.5-4 及び 4.2.3.7.5-2）。代謝物であり工程不純物でもあるパラ-フルオロアニリン（p-FA）は、代謝活性化の条件下で試験株 TA98 においてのみ陽性変異原であった（4.2.3.7.5-3）。しかし、p-FA の血漿中濃度は、140 mg の XL184（FBE）を投与した被験者においても定量限界未満（2 ng/mL 未満）である（5.3.3.4-3）。XL184 は rasH2 トランスジェニックマウスを用いたがん原性試験においても陰性であった（4.2.3.4.2-1）。最大 15.0 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 26 週間強制経口投与した時、XL184 に起因した腫瘍性の病理組織学的変化はみられず、このときの血漿中曝露量は 60 mg（FBE）の XL184 を 1 日 1 回投与した日本人がん患者の定常状態での血漿中曝露量の 2.4 倍と見積もられる。ラットを用いた XL184 の 2 年間がん原性試験（4.2.3.4.1-1）で、XL184 投与によって良性褐色細胞腫が単独あるいは悪性褐色細胞腫と混在して副腎髄質に出現する頻度の上昇が、雄は 0.1 mg/kg/day 以上、雌は 0.3 mg/kg/day 以上の用量で認められた。発がん性陽性を示す最低用量（0.1 mg/kg/day）における曝露量は、60 mg の XL184（FBE）を 1 日 1 回投与した RCC 患者における定常状態での血漿中曝露量の 0.07 倍と推定される。

XL184 の非臨床安全性評価の結果を要約すると、経口投与後の毒性変化は概して用量依存的であり、臨床でモニタリング可能であり、投与中止によって回復するものであることが示唆される。しかし、60 mg（FBE）の XL184 を 1 日 1 回投与した日本人がん患者における定常状態での血漿中曝露量の 0.1 倍程度の血漿中曝露量でみられた毒性変化を考慮すると、投与に際しては、本剤が男性及び女性の受胎能に毒性影響を及ぼす可能性があること、また妊娠した被験者（又は妊娠を検討している被験者）は本剤が胚・胎児生存率及び発育に有害な影響を及ぼす可能性があることを認識する必要がある。

2.4.5 総括及び結論

XL184 は、主に VEGFR2、MET 及び AXL を標的とする新規作用機序を有する阻害剤である。これらの RTK は腫瘍血管新生、腫瘍細胞の増殖及び浸潤に関与しており、これらを同時に阻害することが腫瘍抑制に非常に効果的であることが期待されている。その他に認められている XL184 の標的には、RET、ROS1、TYRO3、MER、VEGFR1、VEGFR3、KIT 及び FLT-3 がある。XL184 の作用機序は他の RTK を標的とする薬剤と同様に、ATP 結合部位などのキナーゼドメインの領域に可逆的に結合し、それによって触媒活性を阻害する。XL184 は細胞アッセイにおいて良好な力価を示し、標的リン酸化の阻害の IC_{50} 値は 3 nM 未満～85 nM の範囲である。in vitro での腫瘍細胞増殖阻害の IC_{50} 値は 3 nM～30,000 nM 超の範囲であるが、XL184 の標的によるシグナル伝達に依存することが知られている腫瘍細胞株は、増殖 IC_{50} 値が 1～200 nM の範囲である。HGF に誘発される遊走や浸潤の阻害、VEGF に誘発される内皮細胞管形成を測定するアッセイにおいても同等の XL184 の力価が認められた。

XL184 の投与は最高用量において in vivo で MET 及び VEGFR2 のリン酸化を 96%～98%阻害した。受容体リン酸化の阻害は比較的長く、MET 及び VEGFR2 の阻害は XL184 の単回投与後 8～10 時間持続した。組織学的解析では、ヒト乳癌異種移植片腫瘍において XL184 への曝露により最初の 8～24 時間以内に腫瘍新生血管系の急速な破壊がもたらされ、血管密度の低下及び低酸素の増加がみられた。切除した腫瘍表面の大規模な出血により、血管破裂が明らかであった。投与開始 72～96 時間後には、腫瘍の低酸素及び腫瘍細胞のアポトーシスの顕著な増加もみられた（4.2.1.1-23）。

XL184 は複数の腫瘍モデルにおいて強い抗腫瘍活性を示し、最高用量において固形腫瘍の大幅な退縮が認められた。腫瘍増殖の阻害は腫瘍壊死の増加、並びに腫瘍血管新生及び細胞増殖の抑制と良好に相関した。XL184 はマウスにおいて 60 mg/kg/day で忍容性が良好であったが、ラットにおける MTD は 10 mg/kg/day であり、これはおそらくラットではマウスよりも血漿中曝露量（用量補正値）が高いためと考えられる。90%を超える腫瘍増殖阻害は XL184 曝露量（Cave）が約 1200～2400 ng/mL の範囲である時に達成される。この曝露量は、60 mg の XL184（FBE）を 1 日 1 回投与した RCC 患者における定常状態での血漿中曝露量と同等である。

MET の阻害が抗血管新生療法によるある種の補償機序の作用を打ち消す可能性があるかどうかを評価するため、肺転移マウスモデル及び多段階腫瘍発現の RIP-Tag2 マウスモデルにおいて、XL184 の効果を VEGF 経路阻害剤と比較した。乳癌細胞の尾静脈移植後に XL184 を投与した結果、肺腫瘍量に対照動物と比べて有意差はみられなかった。しかし、スニチニブ（汎 VEGFR 阻害剤）の投与では肺腫瘍量が有意に高かった（腫瘍表面積の 3.1 倍増加）。RIP-Tag2 マウスの XL184 投与により、抗 VEGF 中和抗体の投与と比べて腫瘍径及び転移数が減少し、腫瘍の浸潤が抑制された。同様に XL184 投与動物では生存率も有意に増加した。このように、MET 及び VEGF シグナル伝達経路の両方を阻害することによって、いずれかの経路を個別に標的化するよりも臨床的ベネフィットが有意に大きくなる可能性がある。

GLP 適用の安全性薬理試験において、ラットの神経行動又は呼吸器系機能、若しくはテレメトリー試験のイヌの心血管系又は心電図パラメータ（補正 QT 間隔）に対し、臨床的有効血漿中濃度と比べて 9 倍（ラット）及び 4 倍（イヌ）高い曝露量で有意な毒性影響はみられなかった。

ラットにおいてXL184の単回経口投与後の血漿中曝露量（AUC値）は、0.1～15 mg/kgの用量範囲で概ね用量に比例して増加した。イヌにおいて、XL184の血漿中曝露量は低用量（0.2～5.0 mg/kg）では用量比を下回って増加し、高用量（10～100 mg/kg）では用量比を上回って増加した。XL184の1日1回反復経口投与後の血漿中蓄積量は、ラットにおいて中程度（投与178日後に4.3倍以下）であったが、イヌでは蓄積がみられなかった（投与180日後に2倍未満）。XL184（1又は5 mg/kg）を単回経口投与した時の曝露量は、ラットの方がイヌよりも7～9倍高かった。雌ラットの曝露量は、雄ラットよりもやや高かった（2倍未満）。

イヌにおいて、XL184のカプセル剤の相対的BAは懸濁剤とほぼ同程度であった。イヌにおいて胃pHの調整はXL184の血漿中曝露量に影響を及ぼさなかった。イヌにおいて、N-1及びN-2結晶型の含有量の違う製剤の影響を検討した結果、全身曝露量に顕著な差はみられなかった。

In vitroでのXL184の血漿蛋白結合率は、マウス、ラット及びヒト血漿において高かった（99.7%超）。[^{14}C]XL184を単回経口投与した雄有色ラットにおいて、投与2時間後にC_{max}に達した組織の中で高い放射能濃度が認められたのは、肝臓、副腎、白色及び褐色脂肪細胞並びに胃であった。対照的に、眼球血管膜組織はより遅い時点（投与24時間後）に最高放射能濃度を示した。中枢神経組織は最高放射能濃度が全ての組織の中で最も低いことが示された。

In vitroでのマウス、ラット及びヒト肝ミクロソーム中（4時間のインキュベーション後のXL184の総代謝率はそれぞれ約12%、5%及び24%）並びにマウス及びラットに投与後（マウス及びラット血漿中の親化合物曝露量に比べた代謝物総曝露量はそれぞれ34%及び10%であった）のXL184の代謝量は低かった。

ヒト血漿中に存在する主な代謝物（EXEL-5162、EXEL-1646、EXEL-5366及びEXEL-1644）について評価した時、マウス、ラット及びイヌにおける親化合物XL184のAUCは総薬物関連AUCのそれぞれ91%超、88%超及び93%超であった。

XL184はin vitroでCYP3A4の基質となると考えられた（ヒト肝ミクロソームにおいてCYP3A4に対する中和抗体によりXL184の代謝が阻害される）。

XL184はin vitroでCYP阻害作用を示した（CYP2C8、CYP2C9及びCYP2C19関連酵素活性のKi値はそれぞれ4.6、10.4及び28.8 µmol/L）。主代謝物であるEXEL-1644もin vitroでCYP2C8を最も強く阻害した。

XL184によるCYP1A2、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19及びCYP2B6のmRNA及び酵素活性の誘導はほとんど認められなかった。CYP3A4のmRNA及び特異的酵素活性は、XL184への曝露後わずかに増加した（陽性対照であるリファンピシンの40%未満）。別の試験では、XL184（10～30 µmol/L）によるmRNA量の増加がCYP1A1で最高20倍（陽性対照であるβ-NFの約67%～100%）及びCYP3A4で最高7及び55倍（陽性対照であるリファンピシンの約90%及び8%）認められた。

XL184はMRP2の基質である可能性があるが、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3、BCRP、BSEP又はP-gpの基質ではないことが示された。XL184はOAT1、OCT1、OCT2、OATP1B、OATP1B3及びBSEP（IC_{50}値>15 µmol/L）及びBCRP及びMRP2（IC_{50}値>50 µmol/L）に対する阻害作用は弱かったが、MATE1及びMATE2-Kには阻害作用（IC_{50}値5.94及び3.12 µmol/L）を示した。XL184は、CHO由来発現細胞中ではOAT3の阻害（5 µmol/L

で 50%以上阻害を示したが、濃度依存的ではない）を示したが、MDCK 由来発現細胞中では阻害作用を示さなかった（IC_{50} 値>20 μmol/L）。P-gp についての IC_{50} 値は MDCK-II 細胞を用いた試験では 7.0 μmol/L 及び Caco-2 細胞を用いた試験では 50 μmol/L 超であった。代謝物 EXEL-1644 は OAT3、OATP1B1、OATP1B3、BCRP 及び MRP2 の基質であるが、OAT1、OCT1、OCT2 又は BSEP の基質ではないと考えられた。EXEL-1644 が P-gp の基質であるかについて決定的な結果は得られていない。EXEL-1644 は OAT1、OAT3 及び OATP1B1 に対して強い阻害（IC_{50} 値：4.3～6.1 μmol/L）並びに BSEP、MRP2、OATP1B3、MATE1 及び MATE2-K に対して弱い（IC_{50} 値の範囲：16.7～78.5 μmol/L）が認められたが、BCRP、P-gp、OCT1 及び OCT2 に対する顕著な阻害は示さなかった。

[^{14}C]XL184 を投与した雌雄ラットにおける薬剤由来放射能は、主に糞中に排泄された（雄 85.64%、雌 82.05%）。尿排泄率は、雄で 9.06%及び雌で 11.81%であった。

XL184 の経口投与による毒性を、ラット及びイヌを用いた主要な（GLP 適用）単回投与試験並びに 2 週間及び 26 週間反復投与試験、マウスを用いた 4 週間毒性試験、ラットの受胎能試験、ラット及びウサギを用いた胚毒性／催奇形性試験、ラットにおける出生前後発生毒性試験並びに幼若ラット毒性試験、rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験並びに in vitro 光毒性試験において評価した。これらの試験で特定された XL184 に関連する毒性の標的組織は、消化管、骨髄、リンパ系組織、生殖器組織、内分泌組織、腎臓、皮膚及び肝臓／胆嚢であった。XL184 投与に関連した毒性所見は、（1）概して用量依存的であり、（2）しばしば関連標的組織の病理組織学的所見を反映する一般状態及び／又は臨床病理学的パラメータの変化に関連し、（3）概して投与中止で回復し、（4）しばしばげっ歯類及び非げっ歯類動物種の両方にみられた。

XL184 の非臨床安全性試験において心血管機能又は組織に対する毒性影響は主要所見ではなかった。イヌの覚醒下テレメトリー試験において、臨床で有効な定常状態の血漿中濃度の約 10 倍高い血漿中曝露量で、収縮期血圧、心拍数、左室圧又は心電図パラメータ（QT 及び QTc 間隔など）に対し、生物学的に重要な影響はみられなかった。XL184 を臨床で有効な定常状態の血漿中濃度の約 0.4～0.6 倍の血漿中曝露量で、ラット及びイヌに 1 日 1 回最長 6 ヵ月間投与した時に、心血管組織投与に起因する病理組織学的所見はみられなかった。また、これらの慢性毒性試験において心血管以外の組織に病理組織学的又は肉眼的に血栓塞栓性病変はみられなかった。XL184 の臨床試験で報告された有害事象は、高血圧、出血、心筋梗塞、深部静脈血栓症及び肺塞栓症であった。

マウス、ラット及びイヌを用いた非臨床安全性試験において、XL184 による毒性の主要部位は消化管組織であった。XL184 を 50 mg/kg で 4 週間又は 15 mg/kg で 26 週間、rasH2 野生型マウスに 1 日 1 回投与した時、腺胃に中等度～重度かつ可逆的と考えられる上皮過形成性変化がみられた。XL184 の全身毒性／致死用量（300 mg/kg 以上）を単回経口投与、又は反復（15 mg/kg/day で 14 日間）経口投与したラットにおいて、腺胃（粘膜主細胞及び壁細胞の変性及び壊死）、十二指腸、空腸及び回腸（腸絨毛細胞の空胞化、粘膜固有層の単細胞壊死及び／又は回腸パイエル板リンパ球壊死及び／又は枯渇）に病理組織学的に広範な消化管組織障害がみられた。XL184（100～1000 mg/kg/day で 5～7 日間）を投与したイヌにおいて、病理組織学的に顕著な消化管関連毒性（消化管全体のパイエル板におけるリンパ球枯渇／壊死を特徴とする腸症）が重大な全身毒性（嘔吐、自発運動低下、食欲不振、重度脱水、体重

減少及び安楽殺を要する瀕死状態）をもたらした。消化管の病理組織学的所見は投与中止で回復し、低用量の XL184 ではみられなかった。ラット及びイヌを用いた XL184 の 6 ヵ月間慢性毒性試験では評価した最高用量（それぞれ 1 及び 20 mg/kg/day）において病理組織学的に消化管毒性はみられなかったが、これらの用量における血漿中曝露量は、60 mg（FBE）の XL184 を 1 日 1 回投与した日本人がん患者において定常状態から推定された血漿中曝露量の 0.7 倍及び 1.1 倍にすぎなかった。XL184 又は VEGFR 経路を標的とするその他の RTK 低分子阻害剤（スニチニブ、ソラフェニブ、アキシチニブ及びバンデタニブ）を投与した固形腫瘍患者において、消化管毒性（例：悪心、下痢、嘔吐、粘膜炎、消化管穿孔、胃腸管瘻、胃腸潰瘍）が臨床試験又は実臨床における有害事象として報告されており、粘膜恒常性及び粘膜損傷後の粘膜上皮形成の維持において VEGF が果たす役割を反映していると考えられる。

XL184 を投与したマウス、ラット及びイヌにおいては、骨髄（枯渇及び細胞減少）及びリンパ系器官（胸腺、脾臓、及び消化管のリンパ球枯渇／壊死）における用量依存的及び概して完全に可逆的な病理組織学的所見と、これに伴う血液学的パラメータの変化〔絶対網状赤血球数、血小板数、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット、並びに白血球数（主にリンパ球及び好中球）の有意な低下〕に関連する造血及び免疫組織毒性が高頻度の所見が特徴だった。ラット及びイヌを用いた 6 ヵ月間慢性毒性試験において、投与に関連する造血及び免疫組織毒性は、全身毒性用量である 20 mg/kg/day を投与した数例のイヌにおける中等度の胸腺リンパ球枯渇及び網状赤血球数減少のみであった。この用量における血漿中濃度は、臨床的に有効な定常状態での曝露量における血漿中濃度の約 0.5 倍である。

非臨床試験の動物種における XL184 投与に伴う内分泌組織毒性は、主に副腎にみられ、ラット（15 mg/kg/day で 14 日間投与）では病理組織学的に皮質及び髄質の壊死、並びに皮質血管拡張を特徴とした。副腎の病変は用量依存的であり、臨床的に有効な定常状態での曝露量における血漿中濃度の約 10 倍高い血漿中濃度でみられた。臨床的に、ACTH 刺激試験において投与に関連した変化が概してみられなかったことに基づいて、XL184 投与患者において副腎機能に対する有害な影響はみられなかった。非臨床試験でみられた膵臓（アミラーゼ及びリパーゼ値の上昇、腺房細胞の変性及び壊死）及び下垂体（非臨床試験における好塩基細胞の肥大及び空胞化）に対する XL184 関連毒性はいずれも一般的な全身毒性又は副腎毒性に対する二次的変化と考えられた。XL184 の臨床試験でもみられた、他の RTK 阻害剤についても臨床で報告された内分泌組織毒性として、甲状腺〔無症候性の甲状腺機能検査（TFT）値異常、疲労、無力、体重減少〕及び膵臓（アミラーゼ及びリパーゼ値の上昇、稀な症例で顕性膵炎）に対する有害影響が認められた。

非臨床及び臨床の両方において XL184 投与後に腎臓系の毒性がみられた。ラット（5 mg/kg/day 以上で 14 日間）における腎毒性変化は、腎臓重量（軽微な増加）、尿検査パラメータの変化（尿量の軽微な減少、尿比重の極微な増加）及び病理組織学的変化（雌雄における極微～中等度の糸球体基底膜の肥厚及び尿細管変性）に対する用量依存的で可逆的な影響であった。XL184 を長期投与したラット（1 mg/kg/day で 180 日間）において、投与に関連する唯一の病理組織学的所見は腎組織にみられた。雌雄において慢性進行性腎症（CPN）の重症度及び／又は発現率の軽微な増加がみられたが、これは投与中止によって改善した。ラットの 2 週間及び 6 ヵ月間毒性試験のこれらの腎毒性用量における血漿中曝露量は、60 mg の XL184（FBE）を 1 日 1 回投与した日本人がん患者において定常状態で推定された血漿中

曝露量の約 0.8～1.4 倍である。多くの生体異物がラットにおける CPN の進行を早めることが示されているが、CPN の臨床的な重要性は明らかにされていない。最長 6 ヵ月間の慢性毒性試験において XL184 を 1 日 1 回投与したイヌに腎毒性はみられなかった。VEGFR 経路を標的とする RTK 阻害剤に関連する腎毒性は、メカニズム的に糸球体内皮損傷が原因と考えられる。

XL184 を投与したラット及びイヌにおける尿生殖器系毒性は、臨床的に有効な定常状態での曝露量における血漿中濃度の 1%未満の濃度で投与した雄（例：両側精巣の精子形成減少）及び雌（例：卵巣の黄体欠如）のイヌにおける生殖組織の用量依存的かつ概して可逆的な病理組織学的所見、それに伴う精巣及び卵巣重量の変化及び 60 mg の XL184（FBE）を 1 日 1 回投与した日本人がん患者において定常状態で推定された血漿中曝露量の 0.5 倍以上の血漿中曝露量における雌ラットの受胎能低下を特徴とした。これらの所見は、雌の生殖周期において重要な生理学的役割（例：粘膜の完全性及び血管新生）を担っている VEGF シグナル伝達の阻害と一致する。XL184 投与は、進行 RCC 患者において受胎能低下の重大なリスクを引き起こすと考えられる。

発生毒性試験において、器官形成期の妊娠ラットへの XL184 投与により、60 mg の XL184（FBE）を 1 日 1 回投与した日本人がん患者において定常状態での血漿中曝露量の 0.2 倍以下と推定される血漿中曝露量で、胚毒性及び胎児毒性がみられた。器官形成期の妊娠ウサギへの XL184 投与により、臨床における定常状態での血漿中曝露量の約 0.1 倍の血漿中曝露量において、胎児の内臓異常（脾臓サイズの縮小、肺中葉の矮小化及び欠損）がみられたが、評価を行った最高用量において、胚・胎児生存率及び成長に対する影響、若しくは胎児の外表又は骨格の変異又は異常はみられなかった。このように、XL184 は、推奨される 60 mg での XL184（FBE）の 1 日 1 回投与時のヒトにおける曝露量よりも著しく低い母動物の曝露量において、ラット及びウサギに胚・胎児毒性を引き起こした。XL184 の作用機序及び動物における所見に基づいて、XL184 は妊娠女性に投与した時、胎児に有害である可能性がある。

ラット及びイヌで実施した非臨床安全性試験における XL184 に関連する肝毒性所見は、概して投与に伴う全身毒性を反映した非特異的な変化と考えられた。肝毒性所見は、用量依存的で、概して完全に可逆的な肝血清生化学的パラメータの変化（例：ALT、AST、GGT、ALP、コレステロール及び／又は総ビリルビンの増加）及び／又は肝病理組織学的所見（例：肝細胞の肥大及び空胞化、胆管の腫脹）を特徴とした。慢性毒性試験において XL184 投与に関連する肝障害の唯一の変化は、ラット（0.1～1.0 mg/kg/day で 180 日間）における極微な用量依存的な ALT 上昇（最大 2 倍）であり、それに伴う病理組織学的所見はみられなかった。

皮膚毒性は XL184 を長期的に投与したイヌ（20 mg/kg/day で最長 6 ヵ月間）にのみみられた。皮膚毒性のうち、軽度～重度の色素脱失であり、ヒトにおける白斑皮膚に類似すると記載された皮膚（灰色）及び被毛（白色）の変色は、鼻孔、口唇及び眼瞼辺縁にまで伸展した。この所見には病理組織学的に関連する所見はなく、28 日間の休薬期間後にも完全には消失しなかった。XL184 を長期的に投与された雌雄のイヌでは、極微～軽度の角質増殖、表皮過形成及び表皮上の滲出物などの可逆的な病理組織学的皮膚所見も報告された。これらの皮膚反応は、XL184 が in vitro で光毒性作用を示さなかったことから、薬剤に関連する直接的な影響であると考えられる。