第 2 部　CTD の概要

一般名：アカラブルチニブ

版番号：[redacted]

2.4　非臨床試験の概括評価
カルケンス®カプセル

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

目次 2
略語及び専門用語一覧表 4
非臨床試験計画概略 6
2.4.1　薬理試験 8
2.4.1.1　効力を裏付ける試験 8
2.4.1.2　副次的薬理試験 11
2.4.1.3　安全性薬理試験 11
2.4.2　薬物動態試験 12
2.4.2.1　はじめに 12
2.4.2.2　分析法 12
2.4.2.3　吸収 12
2.4.2.4　分布 12
2.4.2.5　代謝 13
2.4.2.6　代謝酵素 14
2.4.2.7　排泄 15
2.4.2.8　薬物相互作用 15
2.4.2.8.1　CYP 阻害 15
2.4.2.8.2　CYP 誘導 15
2.4.2.8.3　トランスポーター阻害 16
2.4.2.9　アカラブルチニブが被相互作用薬となる可能性 16
2.4.2.9.1　CYP 阻害剤及び誘導剤併用時のアカラブルチニブへの影響 16
2.4.2.9.2　トランスポーター阻害剤併用時のアカラブルチニブへの影響 16
2.4.3　毒性試験 17
2.4.3.1　まとめ 17
2.4.3.2　単回投与毒性試験 17
2.4.3.3　反復投与毒性試験 17
2.4.3.3.1　マウスを用いた試験 18
2.4.3.3.2　ラットを用いた試験 18
2.4.3.3.3　イヌを用いた試験 19
2.4.3.4　トキシコキネティクス 19
2.4.3.5　遺伝毒性試験 20
2.4.3.6　がん原性試験 20
2.4.3.7　生殖発生毒性 20
2.4.3.8　代謝物の試験 21
2.4.3.9　不純物の試験 22
2.4.3.10　光毒性試験 22
2.4.3.11　毒性試験の考察 22

2.4.4 総括及び結論 26
2.4.4.1 作用機序 26
2.4.4.2 副次的及び安全性薬理試験 26
2.4.4.3 薬物動態 27
2.4.4.4 毒性 28
2.4.4.5 結論 30
2.4.5 参考文献 31

表目次

表 1 無毒性量におけるマウス、ラット及びイヌでのアカラブルチニブの曝露量及び曝露量比 28

図目次

図 1 BCR 結合後の B 細胞における BTK 伝達経路 9
図 2 アカラブルチニブの主代謝経路 14

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
ATP	adenosine triphosphate：アデノシン三リン酸
AUC	Area under the plasma concentration time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein
BLK	BLK proto-oncogene, Src family tyrosine kinase： BLK 癌原遺伝子、Src ファミリーチロシンキナーゼ
BTK	Bruton tyrosine kinase：ブルトン型チロシンキナーゼ
BUN	Blood urea nitrogen：血中尿素窒素
CCDS	Company Core Data Sheet：企業中核データシート
CLL	Chronic lymphocytic leukemia：慢性リンパ球性白血病
C_{max}	Maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450：シトクロム P450
DLBCL	diffuse large B-cell lymphoma：びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫
EGFR	epidermal growth factor receptor：上皮成長因子受容体
ERBB2	erb-b2 receptor tyrosine kinase 2：erb-b2 受容体チロシンキナーゼ 2
ERBB4	erb-b2 receptor tyrosine kinase 4：erb-b2 受容体チロシンキナーゼ 4
ERK	Extracellular Signal-regulated Kinase：細胞外シグナル調節キナーゼ
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GPVI	glycoprotein VI：糖蛋白質 VI
GSH	Glutathione：グルタチオン
GST	Glutathione transferases：グルタチオン転移酵素
hERG	human ether-a-go-go-related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HPLC-MS/MS	High performance liquid chromatography tandem mass spectrometry：高速液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析
$[I]_g$	Calculated maximal gastrointestinal concentration：消化管内の最高濃度
Ig	Immunoglobulin：免疫グロブリン
IgG	Immunoglobulin type G：免疫グロブリン G
IgM	Immunoglobulin type M：免疫グロブリン M
IHC	Immunohistochemistry：免疫組織化学
$[I_{in\ free}]$	Inlet maxiximum unbound plasma concentration to liver：非結合形の門脈血漿中最高濃度
$[I_{in\ max}]$	Inlet maximaum plasma concentration to liver：門脈血漿中最高濃度
JAK3	Janus kinase 3：ヤヌスキナーゼ 3
K_i	Inhibition constant：阻害定数
K_I	inhibitory constant for mechanism-based inhibitor： 最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度
K_{inact}	inactivation rate constant：最大不活性化速度定数
KLH	Keyhole limpet hemocyanin：キーホールリンペットヘモシアニン
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein

略語及び専門用語	用語の説明
MCL	mantle cell lymphoma：マントル細胞リンパ腫
MDCK II	Madin-Darby canine kidney II：Madin-Darby イヌ腎臓 II
MDR1	Multidrug resistance protein 1：多剤耐性蛋白質 1（P-糖蛋白質[P-gp]）
MEK5	mitogen-activated protein kinase kinase 5： 分裂促進因子活性化蛋白質キナーゼキナーゼ 5
MTD	Maximum tolerance dose：最大耐量
NFκB	nuclear factor kappa B：核内因子 κB
NK	natural killer ：ナチュラルキラー
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter
PBPK	Physiologically-based pharmacokinetic：生理学的薬物速度論
P-gp	P-glycoprotein：P-糖蛋白質（MDR1）
PI3Kδ	phosphatidylinositol synthase δ ：ホスファチジルイノシトール-3 キナーゼ δ
PSGL	P-selectin glycoprotein ligand：P-セレクチン糖蛋白リガンド
PTK6	protein-tyrosine kinase 6：蛋白チロシンキナーゼ 6
QWBA	Quantitative whole body autoradiography：定量的全身オートラジオグラフィー
QSAR	Quantitative structure activity relationship：定量的構造活性相関
RANKL	tumor necrosis factor superfamily member 11： 腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー11
$t_{½}$	Terminal half-life：終末相の消失半減期
TDAR	T-cell dependent antibody response：T 細胞依存性抗体反応
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス
TLR	Toll-like receptor ：Toll 様受容体
t_{max}	Time to reach maximum concentration：最高血漿中濃度到達時間
UV	Ultraviolet：紫外線
UVA	Ultraviolet A：紫外線 A 波
VWF	von Willebrand factor：フォン・ヴィレブランド因子
XLA	X-linked agammaglobulinemia：X 連鎖性無ガンマグロブリン血症

非臨床試験計画概略

アカラブルチニブ（ACP-196 及び ORG300196-0 とも称す）は、強力かつ選択性の高い経口可能なブルトン型チロシンキナーゼ（BTK）阻害薬である。アカラブルチニブは、モル質量 465.5 g/mol のイミダゾピラジンアナログであり、化学名は 4-{8-Amino-3-[(2*S*)-1-(but-2-ynoyl)pyrrolidin-2-yl]imidazo[1,5-*a*]pyrazin-1-yl}-*N*-(pyridin-2-yl)benzamide である。本薬は 1 つの不斉中心を有し、アカラブルチニブは S-エナンチオマーである。

現在、慢性リンパ球性白血病（CLL）を含む様々な B 細胞性悪性腫瘍の治療薬としてアカラブルチニブの開発を行っている。BTK 阻害はマントル細胞リンパ腫（MCL）及び慢性リンパ性白血病（CLL）を含む B 細胞性悪性腫瘍の治療において標的となることが確認されている（Advani et al 2013、Byrd et al 2014）。本パッケージに含めた非臨床開発データは、ICH S9 2009 ガイドラインの規定を満たし、CLL 患者の治療を効能・効果とするアカラブルチニブの申請を支持するものである。申請用法・用量は、アカラブルチニブ 100 mg 1 日 2 回経口投与であり、病勢進行又は許容できない毒性が発現するまで治療を継続する。

BTK は、B 細胞受容体（BCR）を介した下流のシグナル伝達において主要な構成要素であることから、BTK 阻害は CLL 等の BCR を介した増殖及び生存シグナルを必要とする腫瘍に対する効果的な治療戦略である。*In vitro* における細胞を用いた機能試験で、ヒト初代末梢 B 細胞及び Ramos（B 細胞）を用いて BCR を介した機能を評価した結果、アカラブルチニブの効力が確認された。さらに、標的外の細胞（即ち、T 細胞、ナチュラルキラー［NK］細胞、上皮細胞及び血小板）を用いた機能試験では、アカラブルチニブの B 細胞に対する選択性が確認された。これらの試験の結果から、生化学的試験で確認された標的外結合及びキナーゼに対する活性に基づき定義されたアカラブルチニブの選択性の薬理学的重要性が示された。

アカラブルチニブには薬理学的活性を有する主代謝物 M27（以下 ACP-5862）が存在し、その特性は生化学試験及び細胞を用いた試験で明らかにされている。アカラブルチニブと ACP-5862 のキナーゼに対する効力及び標的外活性を直接比較したところ、ACP-5862 も強力で選択性の高い BTK 阻害薬であることが確認された。*In vitro* における BTK 阻害の最大不活性化速度定数(K_{inact})/ 最大不活性化速度の 50%の速度をもたらす阻害薬の濃度(K_I)比に基づくと、ACP-5862 の効力はアカラブルチニブの約 1/2 であった。全血を含む細胞を用いた試験から得られた IC_{50} 値に基づくと、ACP-5862 の効力はアカラブルチニブの約 1/7 であった。

アカラブルチニブ及び ACP-5862 の副次的薬理特性は、広範な薬理学的標的分子パネル（受容体、チャネル及びトランスポーター）を用いた放射性リガンド結合試験により明らかにされている。この試験で認められた相互作用は、臨床での曝露量に基づけば生理学的に重要ではないと考えられた。

アカラブルチニブの安全性薬理試験として、ラットの神経行動及び呼吸器系に及ぼす影響の評価、*in vitro* ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネル試験及びイヌの心血管系に及ぼす影響の評価を実施した。さらに、アカラブルチニブと ACP-319（ホスファチジルイノシトール-3 キナーゼ δ［PI3Kδ］の選択的阻害薬）の併用を評価する hERG 試験及びイヌ心血管系安全性試験を実施した。コアバッテリー試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を準拠して実施した。

アカラブルチニブの薬物動態評価のため、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト（組織）で *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。アカラブルチニブのトキシコキネティクス（TK）については通常の毒性試験（マウス[1 カ月]、ラット[1、3 及び 6 カ月]、イヌ[1、3 及び 9 カ月]、並びにラッ

ト及びウサギ生殖発生）で実施した。TK 評価は GLP 下で全ての主要毒性試験において実施した。

定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験では、白色及び有色ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブ投与後の放射能の組織分布について検討した。アカラブルチニブ及び ACP-5862 の胎盤通過性及び乳汁移行の評価はラットで実施した。血漿蛋白結合、血球移行、シトクロム P450（CYP）及びヒトグルタチオン転移酵素（GST）による代謝、トランスポーターの関与については *in vitro* で検討した。

動物におけるアカラブルチニブの吸収、分布、代謝及び排泄は、ラット及びイヌに[^{14}C]-アカラブルチニブを投与して検討した。アカラブルチニブは *in vivo* で広範に代謝された。ヒト血漿中の主代謝物は ACP-5862 であり、動物においても ACP-5862 の血漿中曝露が確認された。

In vitro の検討では、ヒト及び動物の肝細胞、ヒトの代謝酵素又トランスポーター発現細胞を用い、ヒトにおける代謝並びに薬物相互作用の相互作用薬／被相互作用薬となる可能性について検討した。

アカラブルチニブを経口投与したときの全身毒性を評価するため、単回及びマウスでは最長 28 日間、ラットでは 6 カ月間及びイヌでは 9 カ月間の反復経口投与毒性試験を実施した。さらに、イヌを用いた 28 日間の ACP-319 との併用投与試験を実施した。アカラブルチニブの受胎能及び胚・胎児発生への影響はラット及びウサギを用いて評価した。出生前及び出生後の発生へのアカラブルチニブの影響についてはラットを用いて評価した。

二次性悪性腫瘍がアカラブルチニブ（臨床的安全性の概要 2.7.4 項参照）及びイブルチニブ（first-in-class の BTK 阻害薬）を投与した患者で認められているため、げっ歯類を用いたがん原性試験は実施していない。得られている非臨床データから、これらの BTK 阻害薬のがん原性リスクは低いと考えられる。アカラブルチニブについても、*in vitro* 又は *in vivo* 試験で遺伝毒性が認められなかったこと、アカラブルチニブの作用機序、並びに一般毒性試験では前がん病変の徴候がみられなかったことに基づき、がん原性の可能性は低いと予測される。この予測と整合して、イブルチニブのトランスジェニックマウス（Tg.rasH2）を用いた 6 カ月間経口投与試験では、臨床曝露量の少なくとも 23 倍の曝露量でもがん原性は認められなかった（Imbruvica: EPAR 2019）。イブルチニブ及びアカラブルチニブの臨床試験及び非臨床試験の結果から、げっ歯類を用いたがん原性試験を実施しても、その結果が患者におけるがん原性のリスク評価に影響は与えないと考えられる。アカラブルチニブを投与した被験者では、原発性悪性腫瘍の発現をモニタリングされる。二次性悪性腫瘍発生のリスクは、企業中核データシート（CCDS）、医薬品リスク管理計画に記載の予定である。

予定している適応症の対象集団は成人であるため、幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。

アカラブルチニブの臨床投与経路は経口であることから、局所刺激性試験は実施しなかった。反復投与毒性試験においてアカラブルチニブが免疫学的影響を示すエビデンスが認められなかったことから、抗原性試験は実施しなかった。アカラブルチニブは低分子薬であり、非臨床安全性試験で免疫原性のエビデンスが認められなかったことから、免疫毒性試験は実施しなかった。

毒性発現機序検討のための試験は実施していない。臨床での曝露量に近似する曝露量で動物において認められた主な所見は、アカラブルチニブの薬理特性に関連するものであった。BTK 阻害薬に共通してみられるラット特有の膵臓所見を検討した試験については、2.4.3.11 項及び毒性試験の概要文 2.6.6.8.7.3 項に記載する。

安全性薬理試験及び反復投与毒性試験において中枢及び末梢神経系への有害作用を示す明らかなエビデンスが認められなかったことから、アカラブルチニブの依存性試験は実施しなかった。

標準的な一連の遺伝毒性試験を実施し、アカラブルチニブ及び潜在的な不純物の検討を行った。アカラブルチニブの吸収スペクトルは、紫外・可視領域の 290 ～700 nm の間においてのモル吸光係数が 1000 $cm^{-1}M^{-1}$ を超えているため、*in vitro* 光毒性のスクリーニングとして、紫外線照射を含む復帰突然変異試験（Ames 試験）を実施した。

- 検討した全ての動物種で、アカラブルチニブは高いクリアランスを示し、経口投与後の吸収は速やかで、消失半減期は短かった。本薬は BTK との共有結合により BTK を不活性化するため、本薬の薬物動態特性は作用機序に適したものと考えられた。
- 主代謝物 ACP-5862 は活性代謝物であり、ACP-5862 はヒト血漿中でアカラブルチニブ由来物質総量の 10%を超えた唯一の代謝物である。ラット及びイヌにおける ACP-5862 の曝露量はヒトにおける曝露量より高かった。
- アカラブルチニブ及び ACP-5862 の主代謝酵素は CYP3A であった。また、*in vitro* 試験の結果、アカラブルチニブによる breast cancer resistance protein（BCRP）阻害及び ACP-5862 による multidrug and toxin extrusion protein（MATE）1 阻害により薬物相互作用を引き起こす可能性が示唆された。
- アカラブルチニブは許容可能な非臨床安全性プロファイルを示した。毒性プログラムにおいて、ヒトにアカラブルチニブを投与したときの曝露量の約 3 倍以上の急性又は長期曝露を評価した試験で、ラット及びイヌにおける標的臓器が特定された。

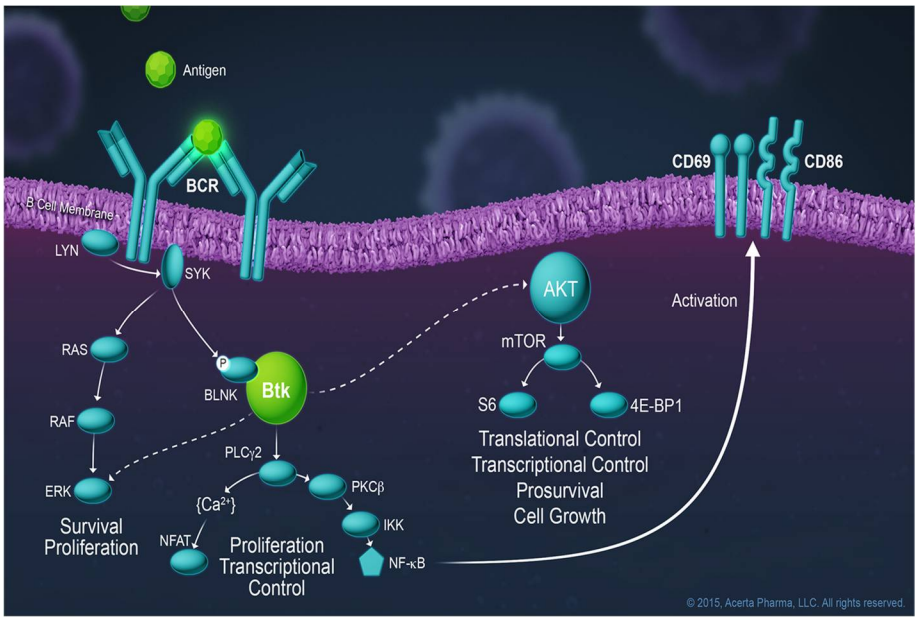
アカラブルチニブの非臨床データは、予定している適応症（CLL 患者の治療）においてアカラブルチニブ 100 mg 1 日 2 回を使用することの妥当性を裏付けるものである。

2.4.1　薬理試験

2.4.1.1　効力を裏付ける試験

アカラブルチニブは、強力かつ選択性の高い経口投与可能な BTK 阻害薬である。BTK は、B 細胞、骨髄球系細胞、肥満細胞及び血小板に発現する Tec ファミリーの非受容体型蛋白チロシンキナーゼである。シグナル伝達経路における BTK の機能が BCR を介して活性化されることは確立しており、これは正常な B 細胞の発生及び機能活性化の一環である（Maas and Hendriks 2001）。遺伝的に BTK を欠損した（X 連鎖性無ガンマグロブリン血症［XLA］）小児患者の B 細胞ではプレ B 細胞の段階で成長が止まり、ガンマグロブリン濃度が著しく低下する（Maas and Hendriks 2001、Winkelstein et al 2008）。BTK を欠損したマウスモデルでは、これより重症度の低い表現型が認められた。マウスでは Tec ファミリーキナーゼのメンバーの間での多重性が高いことが、この差の原因となっている（Maas and Hendriks 2001、de Bruijn et al 2017）。B 細胞活性化における BTK の役割に関する概念図を図 1 に示した。

図 1　　BCR 結合後の B 細胞における BTK 伝達経路



Abbreviations: 4E-BPI = eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1; BCR = B-cell receptor; BLNK = B-cell linker; BTK = Bruton tyrosine kinase; ERK = extracellular signal-regulated kinase 1 and 2; GTPase = guanosine triphosphatase; IKK = IκB kinase; LYN = LYN proto-oncogene, Src family tyrosine kinase; mTOR = mechanistic target of rapamycin; NFAT = nuclear factors of activated T cells; NFκB = nuclear factor κB; PKCβ = protein kinase C beta; PLCγ2 = phosphoinositide phospholipase C gamma 2; RAF = RAF family mitogen-activated protein kinase kinase kinase; RAS = RAS type GTPase; S6 = mitochondrial ribosomal protein S6; SYK = spleen-associated tyrosine kinase

Note: B cell antigen receptor stimulation initiates activation of Src-family kinase LYN, which recruits and phosphorylates SYK, resulting in recruitment of BTK to membrane and association with the BCR signalling complex. Activated BTK initiates signal cascades including: the PLCγ2 pathway, leading to Ca^{++} mobilization; the PKCβ pathway leading to NFκB activation; the AKT/mTOR pathway leading to translational up-regulation of multiple transcripts.　Activation of ERK signalling networks are also enhanced by BTK activity. Downstream functional changes associated with BTK-mediated BCR stimulation include expression of early activation markers CD69 and CD86, cell cycle entry, changes to cell migration/adhesion, and induction of pro-inflammatory and pro-survival gene transcription
(Hendriks et al 2014, Kenny et al 2013).

肥満細胞及び好塩基球（免疫グロブリン［Ig］E による脱顆粒［Ellmeier et al 2011、Hata et al 1998、MacGlashan et al 2011］）、好中球（P-セレクチン糖蛋白リガンド［PSGL-1］を介したテザリング及び遊走［Mueller et al 2010］）、単球／マクロファージ及び樹状細胞（Toll 様受容体［TLR］9 を介したシグナル［Lougaris et al, 2014、Köprülü et al, 2013］）、破骨細胞（腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー11［RANKL］に誘導される破骨細胞の分化［Shinohara et al 2008］）、血小板（糖蛋白質 VI［GPVI］を介した凝集及び血栓形成［Quek et al 1998、Atkinson et al 2003］）等、B 細胞以外の造血器系由来の細胞でも、BTK 活性化の機能的作用が報告されている。マウスの NK 細胞では、TLR3 及び核内因子 κB（NFκB）を介した活性化に対する応答に BTK が関与していると報告されている（Bao et al 2012）。一方、T リンパ球は機能活性化に BTK を必要としない（Smith et al, 1994、Andreotti et al 2010）

BCR 経路の持続的活性化は、様々な B 細胞性悪性腫瘍の増殖及び生存において重要な役割を果たしている（Buggy and Elias 2012）。共有結合型 BTK 阻害薬は、5 つすべての Tec ファミリーキナーゼ並びにヤヌスキナーゼ 3（JAK3）、上皮成長因子受容体（EGFR）、erb-b2 受容体チロシンキナーゼ（ERBB）2、ERBB-4 及び BLK 癌原遺伝子である Src ファミリーチロシンキナーゼ

（BLK）で共通するアデノシン三リン酸（ATP）結合ポケットに位置する Cys481 を標的とする。システイン残基の位置に基づき、これらのキナーゼをまとめて 3F-Cys キナーゼと称す（Barf and Kaptein 2012）。上市されている唯一の BTK 阻害薬であるイブルチニブを投与した患者で、BTK 標的阻害による抗腫瘍効果が認められており、BTK が妥当な治療標的であることが確認されている（Advani et al 2013、Wang et al. 2018）。イブルチニブは BTK を強力に阻害するが、9 個の 3F-Cys キナーゼのうち 8 個のキナーゼも同時に阻害する（選択性は BTK に対する効力と比較して 10 倍未満）（Byrd et al 2016）。アカラブルチニブは強力な BTK 阻害作用を示すだけでなく、他の 3F-Cys キナーゼと比べて BTK への選択性が高く、他のキナーゼとの相互作用はほとんどないことから選択された薬剤である。BTK を発現しない細胞への標的外作用が限定されていることから、アカラブルチニブは患者にとってより良い安全性プロファイルを有する薬剤である可能性が考えられる。

生化学的キノーム・プロファイリングにおいて、アカラブルチニブ及び ACP-5862 のキナーゼ選択性が同程度であることが示された。アカラブルチニブ及び代謝物の BTK 選択性は、いずれもイブルチニブと比較して高かった（薬理試験の概要文 2.6.2.2.2 項参照）。ACP-5862 だけが活性を示したキナーゼ（MEK5 及び PTK6）に対する最大値の 50%の阻害濃度（IC_{50} 値）は、ヒトにおける非結合形 C_{max} の 5.3 倍及び 4.7 倍であった。*In vitro* 試験の結果から、アカラブルチニブ又は ACP-5862 は B 細胞シグナル伝達経路を阻害し、B 細胞活性化の機能マーカーの変化を抑制することが示された。*In vivo* 試験で、マウス、ラット及びイヌへの投与後に BTK 標的占有が認められたことから、これらの非臨床試験系で共有結合により BTK が阻害されることが確認された。

アカラブルチニブは、B 細胞機能試験で強力な活性を示したが、イブルチニブと異なり、T 細胞、上皮細胞、NK 細胞及び血小板の機能に対し強い作用を示さなかった。非悪性細胞種に対する作用は、標的外薬理作用により、有害事象発現につながる可能性があるため望ましいものではない。T 細胞及び上皮細胞をアカラブルチニブで処理したとき、いずれの細胞でも機能の阻害はみられなかった。NK 細胞試験では、自然細胞傷害性及び抗体依存性細胞傷害活性が維持され、1 μM（患者に投与後の定常状態における C_{max} である 0.69 μM を超える濃度）でわずかな阻害（30%以下）が認められたのみであった。細胞に対する効力の結果から、キナーゼ生化学的試験で認められた選択性の結果が妥当であることが確認された。遺伝子組み換え（VWF^{HA1}）マウスを用いた *ex vivo* 血栓形成試験の結果、アカラブルチニブを投与した患者の血小板機能は、健康被験者の血小板機能と同程度であることが示唆された（Byrd et al 2016）。

BCR 依存性正常免疫細胞を用いて、マウスに単回強制経口投与後の *in vivo* におけるアカラブルチニブの薬力学的特性を評価した。*In vivo* での有効性を、疾患モデル（マウス MCL 及び CLL モデル、マウス及びイヌびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫［DLBCL］モデル及びラット炎症性骨吸収モデル）を用いて検討した結果から、選択性の高い BTK 阻害により、マウスの B 細胞性悪性腫瘍モデル及びイヌ患者由来の白血病モデルにおいて意義のある有効性がもたらされることが示された（薬理試験の概要文 2.6.2.2.3 項参照）。

In vivo 有効性試験において、MCL、CLL 及び DLBCL を含む複数の B 細胞性悪性腫瘍非臨床モデルにおける抗腫瘍効果が示された。薬理活性は、用量反応性、標的結合及び BCR 経路阻害に基づいて評価した。ヒト CLL 患者由来の脾臓コロニー形成異種移植モデルを用いて評価を行ったところ、アカラブルチニブの増殖抑制作用と、PLCγ2 及び細胞外シグナル調節キナーゼ（ERK）リン酸化阻害を含む BCR シグナル伝達に関わる BTK 阻害（on-target 阻害）は直接関連していた（Herman et al 2016）。イヌ B 細胞リンパ腫モデルを用いた試験では、アカラブルチニブの高い標的結合及び悪性部位への速やかな組織移行性が示された（Harrington et al 2016）。非臨床薬力学的試験及び疾患モデルで認められたアカラブルチニブの効力は、低選択性の BTK 阻

害薬と同程度以上であり、選択的 BTK 阻害が治療における作用機序に寄与していることが確認された。また、これらの結果から、マウス、ラット及びイヌの非臨床動物種において BTK の生物学的特性を検討することの妥当性が示された。

2.4.1.2 副次的薬理試験

アカラブルチニブ及び ACP-5862 の副次的薬理作用を評価するため、80 種の受容体、イオンチャネル及びトランスポーターを含む多様な標的分子の放射性リガンド結合試験を実施した。標的外相互作用を特定するため、10 μM のアカラブルチニブ又は ACP-5862 を用いてスクリーニングを実施した。特異的リガンド結合を 50%以上阻害する相互作用をその化合物の重要な作用とみなし、用量反応関係によるスクリーニングを実施して K_i 値及び IC_{50} 値を求めた。また、特異的リガンド結合の阻害率が 25～50%であった一部の標的分子についても、用量反応関係の評価の対象とした。

副次的薬理試験でスクリーニングを行ったところ、アカラブルチニブ及び ACP-5862 の標的である BTK 以外の結合相互作用は限られていた（薬理試験の概要文 2.6.2.3 項参照）。アカラブルチニブは A3 に結合し、K_i 値は 0.91 μM とヒトに 100 mg を投与したときの定常状態の非結合形 C_{max}（0.060 μM）の 15 倍であった。ACP-5862 は、パネル中のいずれの標的分子とも結合せず、K_i 値はヒトでの代謝物の推定非結合形 C_{max}（CLL 患者で 18 nM、健康被験者で 13 nM）の 100 倍未満であった。標的外の薬理学的相互作用時の曝露量の倍率が高いことから、ヒトにおいて機能的関連性はないと考えられる。

2.4.1.3 安全性薬理試験

日米 EU 医薬品規制調和国際会議ガイドライン（ICH S7A 2000 及び ICH S7B 2005）に従い、アカラブルチニブの安全性薬理コアバッテリー試験（GLP 適用）を実施し、生命維持に重要な影響を及ぼす器官系に対する作用を評価した。ラットを用いて神経行動作用、体温及び呼吸器系への影響を評価し、hERG 試験及び覚醒イヌを用いたテレメトリー試験（パイロット試験及び GLP 適用試験）において、心血管系パラメータへの影響を評価した。また、アカラブルチニブと ACP-319（ホスファチジルイノシトール-3 キナーゼ δ［P13Kδ］の選択的阻害薬）との併用を評価する試験も実施した。アカラブルチニブの非臨床安全性薬理評価を行ったすべての試験の要約を薬理試験の概要文 2.6.2.4 項及び薬理試験概要表 2.6.3 に示した。

ラットの神経行動作用又は呼吸器系に対する作用の評価において、最高用量の 300 mg/kg でもアカラブルチニブに関連する作用は認められなかった。

hERG を安定的に発現させた HEK-293 細胞において、濃度 10 μM のアカラブルチニブ（ヒトでの非結合形 C_{max} の 294 倍）は hERG を 25%阻害した。

イヌの心血管系安全性試験において、最高用量 30 mg/kg の投与後にアカラブルチニブに関連する作用はみられなかった。

ラット及びイヌに[^{14}C]-アカラブルチニブを投与したマスバランス試験、並びにマウス肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験において、マウス、ラット及びイヌで ACP-5862 が生成されることが確認された（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項参照）。これらの結果から、マウス、ラット及びイヌは代謝物の薬理活性の評価に適したモデルであることが示された。安全性薬理試験では、ACP-5862 は測定されなかったが、ラット及びイヌにおけるマスバランス試験では、ラットにアカラブルチニブを 100 mg/kg（安全性薬理試験の中用量）及びイヌに 30 mg/kg（心血管系安全性試験の高用量）経口投与したときの ACP-5862 の血漿中濃度を定量した。30 mg/kg を投与したときの ACP-5862 の C_{max} は、ヒトにアカラブルチニブを 100 mg 経口投与したときの ACP-5862 の C_{max} と比較

してラットで 5.8 倍及びイヌで 1.7 倍であった。これらのデータは、安全性薬理試験で ACP-5862 を十分に評価できることを示すものである。

2.4.2　薬物動態試験

2.4.2.1　はじめに

アカラブルチニブの薬物動態評価のため、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト（組織）で *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。QWBA を除き、非臨床薬理試験及び毒性試験と同じ動物種及び系統で非臨床薬物動態試験を実施した。ヒトにおける代謝及び薬物相互作用に関する *in vitro* 試験では、ヒト肝細胞及びヒト代謝酵素又はトランスポーターを発現させた細胞を用いた。TK 評価はバリデーション済の定量法を用い、GLP 適用下で実施した。

2.4.2.2　分析法

アカラブルチニブの血漿中濃度は徐蛋白後に高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（HPLC-MS/MS）法により定量した。定量法はマウス、ラット、ウサギ及びイヌの血漿試料を用いてバリデーションを実施した。

アカラブルチニブの保存安定性は、マウス、ラット、ウサギ及びイヌの凍結血漿で検討し、安定性が確認された期間内で試料の分析を行った（薬物動態試験の概要文 2.6.4.2.4 項参照）。

2.4.2.3　吸収

検討した全ての動物種で、アカラブルチニブは高いクリアランスを示し、クリアランス値は肝血流量の 95%～205%であった。アカラブルチニブ経口投与後の終末相の消失半減期（$t_{½}$）は短く、0.93 時間（マウス、絶食）から 5.98 時間（サル、非絶食）の範囲にあった。アカラブルチニブは速やかに吸収され、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルにおいて最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は 0.25～2 時間であった。絶食下のマウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにアカラブルチニブ経口投与時のバイオアベイラビリティは、それぞれ 62%、21%、53%、9.9%及び 25%であった。イヌにおけるバイオアベイラビリティは絶食時（53%）及び非絶食時（58%）で同程度であった。サルにおけるバイオアベイラビリティも絶食時（9.9%）及び非絶食時（6.0%）で同程度であった。

多剤耐性蛋白質 1（MDR1）を発現させた Madin-Darby イヌ腎臓 II（MDCKII）細胞（MDCKII-MDR1 細胞）を用いた膜透過性の検討から、アカラブルチニブは P-糖蛋白質（P-gp 又は MDR1）の基質と考えられた。ラット及びイヌの毒性試験で得られた曝露量（C_{max} 及び血漿中濃度－時間曲線下面積[AUC]）は概ね用量比例的で、時間経過に伴うクリアランスの変化及び蓄積はなく、反復投与に伴う曝露量の変化は認められなかった。

2.4.2.4　分布

アカラブルチニブの血漿蛋白結合率（検討濃度 1、3 及び 10 μM）は、絶食下の雄マウス、雄ラット、雄イヌ、雄サル及びヒト男性の血漿を用い、超遠心法により評価した。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにおける血漿蛋白結合率は濃度非依存的であり、平均値はそれぞれ 75.4%、92.0%、68.4%、94.2%及び 97.5%であった。また、ヒト血清アルブミン及び α1-酸性糖蛋白への結合率はそれぞれ 93.7%及び 41.1%であった。

ACP-5862 のヒト血漿蛋白結合率（検討濃度 1 及び 10 μM）は未変化体より高かった（非結合率は未変化体の約 1/2）。ACP-5862 の血漿蛋白結合率は濃度非依存的であり、マウス、ラット、イヌ及びヒトにおける平均値はそれぞれ 98.6%、99.8%、94.3%及び 98.6%であった。

アカラブルチニブの血液／血漿中濃度比は濃度非依存的であり、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにおける平均値はそれぞれ 1.37、0.87、1.06、0.83 及び 0.79 であった。ACP-5862 の血液／血漿中濃度比も濃度非依存的であり、マウス、ラット、イヌ及びヒトにおける平均値はそれぞれ 0.87、2.54、1.40 及び 0.66 であった。

組織分布は、白色ラット及び有色ラットに[^{14}C]-アカラブルチニブを単回経口投与し、QWBA で評価した。白色ラットにおいて、放射能は組織に広範に分布し、投与後 24 時間までの組織中濃度の低下は速やかであった。最高放射能濃度は投与 0.25 又は 1 時間後に認められ、高い放射能濃度を示した組織は、小腸壁、肝臓、腎臓、血液、副腎、胃壁、脾臓、涙腺及び膵臓であった。脳、脊髄及び眼水晶体における放射能濃度は非常に低く、多くの時点で検出限界未満であった。有色ラットでは、ブドウ膜及び有色皮膚に比較的高い放射能濃度が持続し、メラニン結合が認められた。

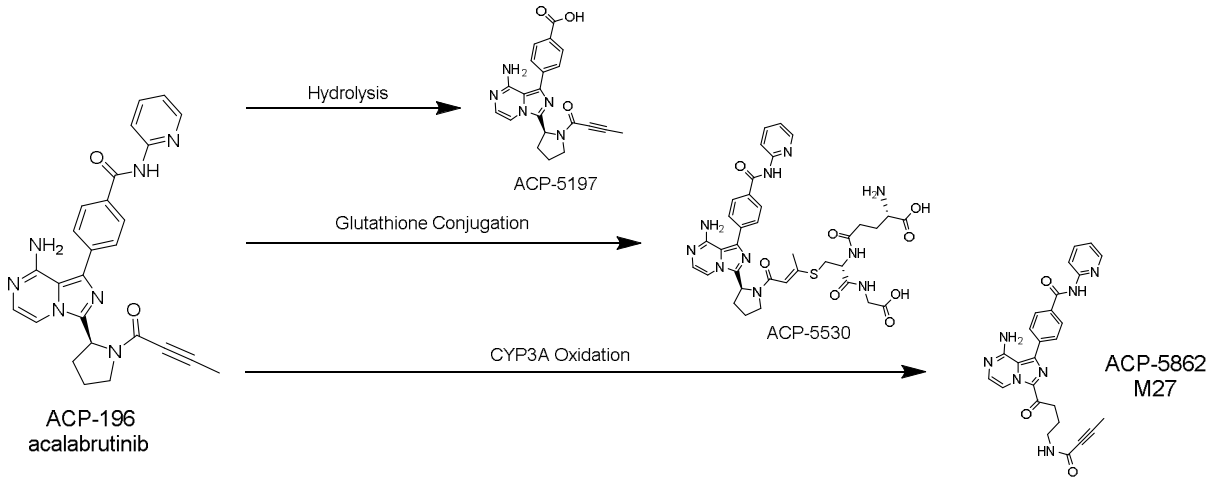
アカラブルチニブの分布容積は、絶食下のマウス、ラット、イヌ及びサルでそれぞれ 1.83～1.99、3.35、1.90 及び 1.32 L/kg であった。

ラットで胎盤通過性及び乳汁移行を評価した。HPLC-MS/MS 法による測定で、妊娠 18 日目の胎児血漿中及び母動物の乳汁中にアカラブルチニブ及び ACP-5682 が認められた。

2.4.2.5　代謝

アカラブルチニブの代謝物は、[^{14}C]-アカラブルチニブを用い、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒト肝細胞における *in vitro* 代謝試験、並びにラット（100 mg/kg）、イヌ（30 mg/kg）及びヒト（100 mg）に単回経口投与した *in vivo* 代謝試験より検討し、30 種類以上の代謝物が特定された（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項の表 14 参照）。3 つの主代謝経路が特定され（図 2）、これらの経路による逐次的代謝又は組み合わせにより、二次代謝物及び三次代謝物が生成すると考えられた。3 つの主代謝経路は、2-アミノピリジン基の消失を伴うアミド加水分解、ヒト GSTM1 及び GSTM2 によるブチンアミド基のグルタチオン（GSH）抱合、及び主にピロリジン環の CYP3A4 による水酸化であった。その他にアルキル基の水和により β-ケトアミドが生成する非酵素的な代謝経路があり、この代謝物は主に糞中の二次代謝物として認められた。

図 2　　アカラブルチニブの主代謝経路



[^{14}C]-アカラブルチニブ投与後の放射能に対する未変化体の $AUC_{(0-t)}$比はラット、イヌ及びヒトでそれぞれ 11.3%、43.9%及び 8.6%であった。ヒト血漿中の主代謝物は ACP-5862 であり、ACP-5862 は CYP3A により生成し、ピロリジン環のキラルメチン炭素の酸化及び開環により直鎖ケトアミドを有する代謝物である。尿糞中代謝物組成の検討から ACP-5862 は全ての動物種で広範に代謝されることが示された。

ACP-5862 はヒト血漿中でアカラブルチニブ由来物質総量の 10%を超えた唯一の代謝物であり、ヒトに[^{14}C]-アカラブルチニブ投与したとき、ACP-5862 は血漿中放射能の 35%を占めた。[^{14}C]-アカラブルチニブをラット（100 mg/kg）及びイヌ（30 mg/kg）に投与後の ACP-5862 の曝露量は、ヒトにおける ACP-5862 の曝露量よりも高かった。また生理学的薬物速度論（PBPK）モデル解析より、アカラブルチニブ投与後に生成した ACP-5862 は BTK 阻害に寄与すると推定された（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。

2.4.2.6　　代謝酵素

アカラブルチニブのヒトにおける主代謝酵素は CYP3A4 である。そのため、臨床薬物相互作用試験として、CYP3A の強い阻害剤イトラコナゾール、CYP3A の強い誘導剤リファンピシン、及び CYP3A 阻害作用のあるグレープフルーツジュース併用による影響を検討した。また、PBPK モデルを用い、CYP3A 阻害剤／誘導剤併用時のアカラブルチニブ及び ACP-5862 の曝露量への影響を推定した（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。

イヌにおける主代謝物は、GSH 抱合体、システイニルグリシン抱合体及びシステイン抱合体であった。ヒト GSTM1 及び GSTM2 の触媒によりグルクロン酸抱合体が生成することを *in vitro* で確認した。また程度は小さいが GSTA1 及び GSTA2 の関与も認められた。しかしながら、アカラブルチニブのアルキン基に GSH が直接反応（非酵素的）する可能性も考えられた。

2-アミノピリジン基のアミド加水分解は代謝経路の 1 経路であるが、加水分解酵素は特定していない。アルキル基の水和により β-ケトアミドが生成する代謝も非酵素的と考えられ、この代謝物は主に二次代謝物として認められた。

2.4.2.7 排泄

[^{14}C]-アカラブルチニブをラット及びイヌに経口投与後の平均放射能回収率はそれぞれ 94%超及び 87%超であり、放射能の排泄は共に投与後 48 時間までにほぼ完了した。投与後 96 時間における糞中放射能排泄率はラット及びイヌでそれぞれ 88%超及び 69%超であった。尿中放射能排泄率はそれぞれ約 3%及び 15%であった。主排泄経路及び排泄率はヒトにおいても同様であり、ヒトにおける放射能総回収率は 95.7%、糞中放射能排泄率は 83.5%、尿中放射能排泄率は 12.0%であった。放射能の排泄は投与後 96 時間以内にほぼ完了した（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。

2.4.2.8 薬物相互作用

アカラブルチニブの薬物相互作用に関する検討を *in vitro* で実施した。また、薬物相互作用の検討に関するガイドライン（EMA 2012、FDA 2017、MHLW 2018）に記載の基準に照らし、アカラブルチニブ 100 mg を患者にカプセル剤で 1 日 2 回空腹投与時の C_{max} を用い、*in vitro* 薬物相互作用試験の結果を評価した。100 mg カプセル剤の溶解度及びバイオアベイラビリティを完全と仮定し、非結合形 C_{max}（0.036 μM）、消化管内の最高濃度（$[I]_g$：860 μM）、門脈血漿中最高濃度（$[I_{in\ max}]$：15.8 μM）、非結合形の門脈血漿中最高濃度（$[I_{in\ free}]$：0.39 μM)）を算出した。

また臨床における ACP-5862 曝露量はアカラブルチニブ曝露量の 25%を超えることから、ACP-5862 の CYP 阻害作用についても *in vitro* で評価した。ACP-5862 の患者における C_{max}（0.84 μM）及び血漿蛋白結合率（98.6%）から、ACP-5862 の非結合形 C_{max}（0.012 μM）を算出した。

2.4.2.8.1 CYP 阻害

各 CYP 分子種に対する可逆的阻害、時間依存的阻害及び代謝依存的阻害作用をアカラブルチニブ及び ACP-5862 についてそれぞれ *in vitro* で検討した。

アカラブルチニブは CYP 分子種の中で CYP3A4/5 に最も強い可逆的阻害作用を示したが、血流を介した阻害作用は強くなく（1+ [非結合形 C_{max}]/K_i = 1.001）、CYP3A4/5 阻害による相互作用はないと推測された。しかしながら、アカラブルチニブ 100 mg と CYP3A 基質を併用投与した場合、消化管内 CYP3A の一時的阻害により（1+$[I]_g/K_i$ = 31.2）、CYP3A 基質の曝露量は増加する可能性がある。また、アカラブルチニブは CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5 に対して弱い代謝依存的阻害作用を示し、CYP3A4/5 に対する阻害作用は不可逆的であった。

CYP3A4/5 の K_I 及び K_{inact} を用いた PBPK モデルによるシミュレーションでは、臨床において CYP3A4/5 基質と併用しても CYP3A4/5 基質の曝露量は増加しないと予測された（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。

ACP-5862 は CYP2C9（IC_{50} = 6.7 μM）及び CYP2C19（IC_{50} = 17 μM）に対して可逆的阻害作用を示したが、C_{max} に基づく予測から（1+ [非結合形 C_{max}]/K_i はいずれも 1.02 未満）、CYP2C9 及び CYP2C19 阻害による相互作用はないと推察された。ACP-5862 は CYP2C8 に対して弱い代謝依存的阻害作用を示したが、PBPK モデルによるシミュレーションでは、ヒトにおいて ACP-5862 によって CYP2C8 基質の曝露量は増加しないと予測された（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。

2.4.2.8.2 CYP 誘導

ヒト肝細胞を用いた CYP 誘導試験で、アカラブルチニブは濃度 10 μM で CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA をほとんど又は全く誘導しなかった。CYP1A2 の mRNA はアカラブルチニブ濃度 1 μM（ヒトにアカラブルチニブ 100 mg 経口投与時の C_{max} [=1.45 μM]と同程度）で約 2 倍に増加したが、陽性対照のオメプラゾールに比べて誘導の程度は小さかった。

ACP-5862 は濃度 50 μM でも CYP1A2 及び CYP2B6 の mRNA を誘導しなかった。一方、CYP3A4 の mRNA に対する誘導作用は中程度であり、ACP-5862 濃度 10 μM で CYP3A4 の mRNA は 2.2～3.5 倍（陽性対照リファンピシンの 2.3%～5.7%）に増加したが、10 μM は ACP-5862 の患者における C_{max}（0.84 μM）の約 10 倍である。したがって、アカラブルチニブ及び ACP-5862 による臨床的に意味のある CYP 誘導作用はないと考えられた。

2.4.2.8.3　トランスポーター阻害

アカラブルチニブによる Caco-2 細胞のジゴキシン輸送阻害の IC_{50} 値は 98.3 μM であり、アカラブルチニブによる P-gp 阻害は強い阻害ではなかった。ヒトにアカラブルチニブ 100 mg 経口投与時の C_{max}（1.45 μM）は IC_{50} 値に比べて十分に低く（$C_{max}/IC_{50} = 0.015$）、血流を介した P-gp 阻害はないと考えられ、消化管内 P-gp についても消化管内濃度との比較（$[I]_g/IC_{50} = 8.75$）から相互作用は生じないと考えられた。したがって、アカラブルチニブと P-gp 基質を併用しても、P-gp 基質の薬物動態に影響する可能性は低いと考えられる。

アカラブルチニブによる BCRP 阻害は MDCKII-BCRP 細胞を用いて検討し、IC_{50} 値は 40.9 μM であり、BCRP 阻害作用は強くなかった。C_{max} と IC_{50} 値の比較（$C_{max}/IC_{50} = 0.04$）から血流を介した BCRP 阻害はないと考えられるが、消化管内濃度に基づく推定（$[I]_g/IC_{50} = 21.0$）に基づき、BCRP 基質と併用した場合、BCRP 基質の曝露量は増加する可能性があると考えられた。

アカラブルチニブ及び ACP-5862 は、P-gp、Organic anion transporting polypeptide（OATP）1B1、OATP1B3、Organic anion transporter（OAT）1、OAT3、Organic cation transporter（OCT）2 及び MATE2-K の基質と併用しても、これらの薬物動態に影響しないと考えられた。ACP-5862 は MATE1 を阻害することから（$IC_{50} = 0.2$ μM）、MATE1 基質とは相互作用を引き起こす可能性が示唆された。

2.4.2.9　アカラブルチニブが被相互作用薬となる可能性

2.4.2.9.1　CYP 阻害剤及び誘導剤併用時のアカラブルチニブへの影響

アカラブルチニブの主代謝酵素は CYP3A のため、CYP3A4 の強い阻害剤イトラコナゾール併用時の影響を臨床薬理試験で検討した。その結果、イトラコナゾール併用時のアカラブルチニブの平均 C_{max} 及び AUC は単独投与時に比べそれぞれ 3.7 倍及び 5.1 倍に増加した。また、CYP3A4 の強い誘導剤リファンピシン併用時にアカラブルチニブの曝露量は約 1/5 に低下した。

CYP3A 阻害剤及び誘導剤併用時の影響を予測するため、アカラブルチニブの *in vitro* 及び *in vivo* 試験で得られた薬物動態の結果に基づき、SimCYP®用いて PBPK モデルを構築した。構築した PBPK モデルを用い、アカラブルチニブ及び ACP-5862 の薬物動態に及ぼす種々の典型的阻害剤及び誘導剤併用の影響を予測した（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。アカラブルチニブ及び ACP-5862 はそれぞれ CYP3A4 及び CYP2C8 に対して弱い代謝依存的阻害作用を示したことから、モデルではアカラブルチニブ反復経口投与時にミダゾラム（CYP3A の典型基質）及びロシグリタゾン（CYP2C8 の典型基質）を単回で併用経口投与したときの相互作用について検討した。シミュレーションの結果、アカラブルチニブ及び ACP-5862 の存在下で併用したミダゾラム及びロシグリタゾンの曝露量に変化がないことが示唆された（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。

2.4.2.9.2　トランスポーター阻害剤併用時のアカラブルチニブへの影響

アカラブルチニブは P-gp 及び BCRP の基質であることから、P-gp 及び BCRP 阻害剤と併用時の相互作用について検討した。また、アカラブルチニブの主代謝酵素は CYP3A4 であるため、CYP3A/P-gp 両方の強い阻害剤であるイトラコナゾール併用時のアカラブルチニブへの影響を臨

床薬物相互作用試験で検討した。加えてクラリスロマイシン及びエリスロマイシン（それぞれCYP3A/P-gp の強い及び中程度の阻害剤）併用によるアカラブルチニブへの影響をシミュレーションにより評価した。これらの試験及び PBPK モデル解析よりアカラブルチニブのクリアランスは CYP3A 代謝に依存することが示唆され、またトランスポーターの影響を検討した臨床薬物相互作用試験からは臨床的に意味のある影響はないことが示唆された。

2.4.3 毒性試験

2.4.3.1 まとめ

アカラブルチニブを経口投与したときの全身毒性を評価するため、単回及びマウスでは最長 28 日間、ラットでは 6 カ月間及びイヌでは 9 カ月間の反復経口投与毒性試験を実施した。毒性の回復性（4 週間の回復期間）については各動物種の主要試験で評価した。遺伝毒性試験、及び受胎能及び胚・胎児発生への影響に関する試験も実施した。主要毒性試験はすべて GLP に準拠して実施した。

ラット及びイヌでは BTK 阻害による薬理活性が確認されていること、BTK への共有結合が作用機序であることを示すエビデンスが得られていること、BTK の機能的役割がヒトと類似していること、ヒトへの経口投与後と同様の速やかな吸収及び消失が確認されていること、及びヒトで既知の代謝物がいずれの動物種でも生成されることに基づいて、ラット及びイヌを一般毒性試験の動物種として選択した。非臨床試験動物種におけるアカラブルチニブの薬理作用及び薬物動態については、薬理試験の概要文 2.6.2 項及び薬物動態試験の概要文 2.6.4 項に詳述する。

Sprague-Dawley 及び Wistar Han ラットを用いて複数の毒性試験を実施し、ラットで自然発生する背景病変の増悪とみられる膵臓所見について検討した。更に、マウスを用いた一般毒性試験も実施し、2 種類目のげっ歯類として膵臓への作用を評価すると共に、将来的ながん原性試験で使用する適切な用量範囲を検討した。アカラブルチニブの薬理作用は、複数のマウスモデルで確認されており、マウスは毒性評価の動物種として適切であることが示されている（薬理試験の概要文 2.6.2 項）。

上記に加え、光毒性試験、及びアカラブルチニブの特定の製造工程由来物質、不純物及び分解生成物について安全性確認を行う試験を実施した。また、ヒトへの静脈内投与の妥当性を示すため、ラット及びイヌを用いた予備的な静脈内投与毒性試験及び *in vitro* 血液適合性試験を実施した。イヌを用いたアカラブルチニブの単独投与及び ACP-319 との併用投与毒性試験を実施し、ヒトを対象とする併用投与臨床試験実施の妥当性を検討した。詳細については毒性試験の概要文 2.6.6 項及び毒性試験概要表 2.6.7 項を参照のこと。

2.4.3.2 単回投与毒性試験

単回経口投与毒性試験は実施されていない。臨床経口バイオアベイラビリティ試験計画の妥当性を示すために実施した静脈内投与毒性試験（試験 2219-026 及び 2219-027）において、単回投与毒性を評価した。これらの試験成績の詳細は毒性試験の概要文 2.6.6.8.7.2 項で述べる。

2.4.3.3 反復投与毒性試験

マウスでは最長 28 日間、ラットでは最長 6 カ月間、イヌでは最長 9 カ月間の反復投与試験を実施しアカラブルチニブを評価した。反復毒性試験で特定された組織学的所見については、本概括評価の 2.4.3.11 項に示した。反復投与毒性試験では、マウス及びラットにアカラブルチニブを最大 100 mg/kg/日まで 1 日 1 回強制経口投与したとき、及びイヌに最大 30 mg/kg/日を 1 日 1 回強

制経口投与又はカプセル投与したときの忍容性は良好であった。ラット及びイヌでは、リンパ組織及び／又は臨床病理学的評価で BTK に関わるアカラブルチニブの薬理作用に関連する所見が認められた。アカラブルチニブの標的臓器における解剖学的及び臨床病理学的所見について 2.4.3.11 項に示した。

ラットでは低用量のアカラブルチニブを投与したとき、膵臓において自然発生病変である膵島の出血／炎症／線維化、並びに膵外分泌腺の炎症の増悪が認められた。これらは素因を有する本動物種に BTK 阻害薬を投与したときに報告されている所見であると考えられた（Erickson et al 2017）。

ラット及びイヌにおいて、毒性所見は曝露量がヒトに推奨臨床用量 100 mg 1 日 2 回を投与したときの曝露量を超える場合にのみ認められた。主要毒性試験における主な所見に関連する曝露安全域については、毒性試験の概要文 2.6.6 項の表 5 を参照のこと。

2.4.3.3.1　マウスを用いた試験

マウスを用いた試験は、ラットで認められた膵臓の所見が 2 種類目のげっ歯類でも認められるか否かの確認、並びに今後実施する可能性のあるがん原性試験の用量設定を目的として実施した。CD1 マウス及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic（野生型）マウスのいずれにおいても、100 mg/kg/日までの用量で 1 日 1 回 28 日間経口投与したときの忍容性は良好であった。なお、100 mg/kg/日は、いずれの系統のマウスでも検討した最高用量であり、無毒性量であった。

2.4.3.3.2　ラットを用いた試験

2 系統のラット（Sprague-Dawley ラット及び Wistar Han ラット）を用いて、反復投与毒性試験を実施した。最初の 28 日間試験（試験 502513）における薬理作用に関連した変化として、脾臓重量の減少及び血中 B 細胞数の減少が認められ、休薬期間終了までに部分的又は完全に回復した。アカラブルチニブの薬理作用を評価するため、13 週及び 6 カ月試験において T 細胞依存性抗体反応（TDAR）の測定を行った。初回応答は Sprague-Dawley ラットを用いて 50 日間投与後に評価し、二次（リコール）応答は Wistar Han ラットを用いて一次免疫（試験前）実施後及び 50 日間投与後に評価した。これらの評価から、IgM 又は IgG は一部の評価時点で統計学的有意に低下したが、アカラブルチニブの投与は臨床的に意義のある TDAR の抑制に至らないことが示された。

Sprague-Dawley ラットは膵臓病変が自然発生しやすいと報告されているが、Wistar Han ラットでは本病変の報告は少ない（Boonnate et al 2015、Erickson et al 2017）。アカラブルチニブによる変化をより詳細に検討するため、両系統のラットを用いた考察毒性試験を実施した。Wistar Han ラットを用いた試験の媒体対照群及びアカラブルチニブ投与群で認められた膵臓の所見は、Sprague-Dawley ラットに比べて発現率が低く、重症度も低かった。これらの試験で膵臓所見と系統、年齢及び性別との間に関連性が認められたことから、アカラブルチニブに関連する所見はラットにおける背景病変の増悪であると考えられた。最近の報告では、BTK 阻害薬のクラスエフェクトであるこの膵臓病変の増悪は、ヒトに関連しないと考えられている（Erickson et al 2017）。ラットの 6 カ月間の長期毒性試験は、膵臓病変に対する素因が少ない Wistar Han ラットを用いて実施した。

反復投与毒性試験でアカラブルチニブ 300 mg/kg/日を投与したところ、投与開始後 2 週間以内に一部のラット（主に雌）が途中死亡し、腎臓及び心臓に中等度～顕著な変化が認められた。病理組織学的所見から、重症化／死亡の原因は、尿細管の変性／壊死及び心筋の炎症／壊死と考えられた。これらの途中死亡例及びより長期投与した後の死亡例において、100 mg/kg/日を超える

用量で一貫した曝露量–反応関係が示された。Sprague-Dawley ラット及び Wistar Han ラットでは、100 mg/kg 以下の用量において最長 6 カ月までの忍容性は良好であった。

反復投与毒性試験で認められた標的臓器の所見については、2.4.3.11 項でまとめて示す。

2.4.3.3.3 イヌを用いた試験

ヒトと薬物動態特性が類似しているビーグル犬を用いて、アカラブルチニブの反復経口投与毒性試験を実施した。最初の GLP 適用試験ではアカラブルチニブを強制経口投与したが、以降の GLP 適用試験ではカプセル剤を使用した。イヌを用いた 9 カ月間の長期投与試験では、アカラブルチニブの市販予定製剤を使用し、体重に基づく用量をカプセル封入して投与した。本試験では曝露量の変動が小さく、9 カ月の投与期間を通じて一貫した曝露量が維持された。

7 日間用量設定試験では、30 mg/kg/日までの用量を強制経口投与した。更に、7 日間の薬物動態及び薬力学試験を実施し、カプセル剤を 30 mg/kg/日以上の用量で経口投与した後のアカラブルチニブの用量比例性及び BTK 占有期間を検討した。本試験の結果から、イヌでは 30 mg/kg/日を超える用量に対し忍容性が認められないことが示された。本試験で得られた忍容性及び毒性所見から、ビーグル犬にアカラブルチニブを 30 mg/kg/日を超える用量で投与したときの毒性の標的臓器（腎臓、肝臓）に関する情報が得られ、結果の詳細は毒性試験の概要文 2.6.6.3.3.2 項に記載した。

28 日間及び 13 週の GLP 適用反復投与毒性試験では、免疫学的評価としてフローサイトメトリー解析及びリンパ組織の免疫組織化学的検査（IHC）を実施した。検討した 1 つ以上のリンパ組織に薬理作用に関連する軽微～軽度のリンパ濾胞枯渇が認められ、その発現頻度及び／又は重症度は概ね用量に比例していた。最初の 28 日間試験（試験 502515）では、脾臓重量の減少及び B 細胞数の減少が認められ、休薬により組織の変化は完全に回復し、血液の変化は部分的に回復した。13 週間試験（試験 2219-030）では、30 mg/kg/日を 1 日 1 回投与後にリンパ組織の IHC 評価を実施した。すべての雄イヌ及び雌イヌ 1 例において、膵臓に CD8 及び CD4 及び／又は CD20 の染色強度の低下が認められた。また、一部の動物では、リンパ節における CD4 又は CD20 の染色強度の軽微～軽度の低下も観察された。30 mg/kg/日を投与した雄 1 例では回復期間終了時点で CD20 の軽微な染色強度の低下が認められたことを除き、これらの変化はほとんどのイヌで休薬期間中に完全に回復、あるいは部分的に回復した。これらの所見はアカラブルチニブの薬理作用に関連するもので、毒性ではないと考えられた。

ビーグル犬を用いた 28 日間、13 週間及び 9 カ月間の毒性試験では、無毒性量は検討した最高用量の 30 mg/kg/日と判断された。

反復投与毒性試験で認められた標的臓器の所見については、2.4.3.11 項でまとめて示す。

2.4.3.4 トキシコキネティクス

毒性試験で用いた動物種におけるアカラブルチニブの曝露量及びヒトでの曝露量と比較した安全域は、毒性試験の概要文 2.6.6 の表 5 に示す。毒性所見に関する曝露量に基づく安全域を求めるため、非臨床試験で認められたアカラブルチニブの $AUC_{(0\text{-}last)}$を、ヒトに推奨臨床用量（100 mg 1 日 2 回投与）時の $AUC_{(24h,ss)}$と比較した。安全域は、臨床試験の被験者に推奨臨床用量を投与後の定常状態の曝露量（$AUC_{(24h,ss)}$）に対する TK 評価時の $AUC_{(0\text{-}last)}$の比として算出した。

ラット及びイヌの TK は、反復投与期間中にばらつきが認められた。具体的には、雌ラットの曝露量は雄ラットの約 2 倍であり、マウス及びイヌの曝露量に性差はみられず、すべての試験動物種で曝露量は概ね用量に比例し、反復投与による蓄積は認められなかった。試験でみられた所見に関わる安全域の曝露量比は、総曝露量を用いて求めた。毒性試験で用いた動物種の血漿にお

けるアカラブルチニブの非蛋白結合率は、ヒト血漿における非蛋白結合率と比べて高かった。非結合率を補正因子とした場合、総曝露量を用いた場合と比較してマウス、ラット及びイヌでそれぞれ約 10 倍、3 倍及び 13 倍広い安全域が得られている。

毒性所見がみられた用量は、同じ動物種で薬理作用を示す用量よりもはるかに高かった。例えば、ラットのアジュバント誘発関節炎モデルにおいて、ラット脾細胞の BTK 占有率分析から、1 mg/kg の 9 日間反復投与の投与 3 時間後に標的が飽和することが示された（薬理試験の概要文 2.6.2、試験 RAIA-LA-ACP-1 及び試験 R2017007 参照）。イヌでは、アカラブルチニブ 2.5 mg/kg 単回経口投与後及び 2.5 mg/kg/日を反復投与 7 日目の定常状態でのトラフ時点に末梢血 B 細胞における十分な BTK 標的占有が認められた（Harrington et al 2016 及び薬理試験の概要文 2.6.2 項、試験 R2015001 参照）。

反復投与毒性試験では、用量が高いほど曝露量は高く、ラット及びイヌのいずれにおいても標的臓器の所見の発現率及び／又は重症度が高かった。2 系統のラットを比較したところ、用量補正した Wistar Han ラットでの曝露量は、Sprague-Dawley ラットと比較して高かった。いずれの系統のラットでも、曝露量には約 2 倍の性差（雌＞雄）が認められた。ラットを用いた亜慢性及び慢性毒性試験において、曝露量が高かった雌では、毒性所見の発現頻度も高かった。イヌでは曝露量に性差は認められなかった。

ラット及びイヌを用いて実施した薬物動態試験で、無毒性量（ラットでは 100 mg/kg/日及びイヌでは 30 mg/kg/日）の[^{14}C]-アカラブルチニブを単回経口投与後、ヒトで特定されている ACP-5862 を含む主な代謝物がいずれの動物種でも生成されることが示された。

反復投与毒性試験で認められた動物における曝露安全域から、ヒトに推奨臨床用量 100 mg のアカラブルチニブを 1 日 2 回投与したときの $AUC_{(24h,ss)}$と比較して、雄ラット、雌ラット及びイヌに無毒性量のアカラブルチニブを投与したときの曝露量は、それぞれ 1.9 倍、0.8 倍及び 6.3 倍高いことが示された（毒性試験の概要文 2.6.6 項の表 5 参照）。

2.4.3.5 遺伝毒性試験

標準的な一連の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験を実施し、アカラブルチニブの遺伝毒性を評価した。*In vitro* 試験は外因性代謝系（ラット S9）の存在下及び非存在下で実施した。アカラブルチニブは復帰突然変異試験、末梢血リンパ球における *in vitro* 染色体異常試験、*in vivo* 小核試験（最高 2000 mg/kg を投与）のいずれにおいても陰性であった（毒性試験の概要文 2.6.6.4 項参照）。

2.4.3.6 がん原性試験

アカラブルチニブの投与を受けた患者で二次性悪性腫瘍が確認されたため（臨床的安全性の概要 2.7.4 項参照）、アカラブルチニブのがん原性試験は実施されていない。非臨床がん原性試験を実施しても、患者で既に特定されているがん原性リスクが変化することはないと考えられる（毒性試験の概要文 2.6.6.5 項参照）。二次性悪性腫瘍のリスクは CCDS、医薬品リスク管理計画書に記載する予定である。

2.4.3.7 生殖発生毒性

ラット及びウサギを用いてアカラブルチニブの生殖発生毒性試験を実施した。Sprague-Dawley ラットを用いて、雌雄受胎能と胚・胎児発生に及ぼす影響についての複合試験を実施し、妊娠 New Zealand White ウサギを用いて胚・胎児発生に関する試験を実施した。出生前及び出生後の発生への影響は、Sprague-Dawley ラットを用いて評価した（毒性試験の概要文 2.6.6.6 項参照）。

ラットを用いた生殖発生毒性試験では、雌では 200 mg/kg/日まで及び雄では 300mg/kg まで、雌雄の受胎能、生殖パラメータ、精子評価、子宮パラメータ、性周期、交配率、胎児生存率、胎児体重、又は胚・胎児発生において、アカラブルチニブ投与に関連する影響は認められなかった。これらの用量における曝露量は、臨床試験で患者に 100 mg/kg/日を 1 日 2 回投与したときの $AUC_{(24h,ss)}$のそれぞれ 7.1 倍及び 8.0 倍であった。また、妊娠ラットを用いた試験を実施し、胎盤移行性を評価し、妊娠 18 日目に胎児の血漿中にアカラブルチニブ及び代謝物 ACP-5862 が存在することが示され、子宮内での曝露が確認された（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項、試験 R2017011 参照）。

ウサギでは、100 mg/kg/日で骨格変異（骨化遅延）が、胎児体重の減少及び母動物の一般状態の変化を伴って認められた。妊娠ウサギに 100 mg/kg を投与したときの曝露量は、ヒトにおける $AUC_{(24h,ss)}$の 1.8 倍であった。母体における忍容性が認められなかったため、ウサギにおける更に高用量投与時の胚・胎児への影響については評価することはできなかった。

これまでに実施されたアカラブルチニブの生殖発生毒性試験の結果からは、受胎能及び胚・胎児発生にリスクは特定されなかった。

出生前及び出生後の発生に関する試験において、50 mg/kg/日（ヒトに 100 mg 1 日 2 回投与時の曝露量の 0.57 倍）を投与した母動物の生存率にアカラブルチニブの影響はみられなかった。出生前及び出生後の発生に関する試験では母動物 3 例及び予備試験では母動物 1 例で、100 mg/kg/日以上（ヒトに 100 mg 1 日 2 回投与時の曝露量の約 1.8 倍）の投与後に、アカラブルチニブに関連する異常分娩又は不完全分娩のため予定外の屠殺／死亡が発生した。F1 出生児におけるアカラブルチニブへの子宮内及び経乳汁曝露時の忍容性は良好であり、全身毒性は認められなかった。150 mg/kg/日までの用量では F1 出生児に対するアカラブルチニブ関連の影響はみられなかった。

アカラブルチニブが男性を介して移行し胎児に影響を与える可能性を検討した。このリスク評価は、アカラブルチニブの臨床用量 100 mg を 1 日 2 回投与する際、男性がバリア避妊法を使用する必要性に関して、推奨内容の根拠を得るために実施した。このリスク評価では、Banholzer et al 2016 及び FDA 2015 に記載されている方法を使用した。曝露安全域を確立するため、より保守的なリスク推定値を用いた。この評価に基づき、予想される男性パートナーからの最大移行量で、母動物で完全に吸収され、胎盤移行性は 100%であると仮定した場合、発生途中の胚への曝露量は、胚・胎児発生に関する試験の無毒性量を投与した妊娠ウサギにおける曝露量と比較して 1/2500 以下と考えられた。この結果から、アカラブルチニブが男性を介して移行し胎児に影響を与えるリスクはほとんどないと考えられる。

2.4.3.8 代謝物の試験

アカラブルチニブの代謝物を用いた非臨床安全性試験は実施しなかった。

ヒト・マスバランス試験で、ACP-5862 はヒトにおける血漿中総アカラブルチニブ関連放射能の 10%以上を示す唯一の主要代謝物であった（Podoll et al. 2019）。ラット及びイヌでも、アカラブルチニブを経口投与したときに ACP-5862 の生成が認められた。これらの動物種を用いた薬物動態試験から、ACP-5862 は FDA 2016 に規定されるヒトにおける不均衡性代謝物に該当するものではないことが示された。このことから、本代謝物の安全性確認のため、追加の一般毒性試験は必要ないと考えられた。ACP-5862 はラット肝細胞を用いた *in vitro* 代謝試験で生成が認められ（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項、試験 ESN0330）、ラット S9 を代謝系として用いた *in vitro* 遺伝毒性試験及びラットを用いた *in vivo* 小核試験では遺伝毒性は陰性であった。100 mg/kg/日を投与したラット及び 30 mg/kg/日を投与したイヌにおける ACP-5862 の $AUC_{(0-t)}$は、ヒトにアカラブルチニブ 100 mg を 1 日 2 回投与したときの ACP-5862 の $AUC_{(0-24)}$推定値と比較してそれぞれ 8.7

倍及び 0.77 倍であった。100 mg/kg/日を投与したラット及び 30 mg/kg/日を投与したイヌにおける ACP-5862 の非結合 $AUC_{(0-t)}$は、ヒトにアカラブルチニブ 100 mg を 1 日 2 回投与したときの ACP-5862 の非結合 $AUC_{(0-24)}$推定値と比較してそれぞれ 1.2 倍及び 3.2 倍であった（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項の表 18 参照）。

ACP-5862 の効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験に関する追加情報は薬理試験の概要文 2.6.2 項に示す

2.4.3.9 不純物の試験

非臨床安全性プログラムでは、原薬及び製剤の品質に関するガイダンス（ICH Q3A (R2)、ICH Q3B (R2)）に従って、アカラブルチニブの不純物及び分解生成物の安全性確認を実施した。アカラブルチニブの製造工程由来物質は、変異原性不純物の評価及び管理ガイドライン（ICH M7 ガイドライン）に従って評価した。

毒性試験で使用したアカラブルチニブのロットには、一般毒性プログラム内で安全性確認が適切に行える量の類縁物質（工程由来不純物及び分解生成物）が含まれていた（毒性試験概要表 2.6.7.4 項）。必要に応じ、特定の不純物に関して必要とされる安全性レベルを確保するための非臨床試験を実施し（毒性試験の概要文 2.6.6.8.6 項）、すべての個別規格を設定している不純物の安全性が確認されている。アカラブルチニブの工程由来物質（出発物質 不純物H*）は、QSAR 評価及び Ames 試験において変異原性が陽性であることが確認されたため、不純物H* は ICH M7 ガイドラインに従い [redacted] ppm 以下を規格値として管理する。

2.4.3.10 光毒性試験

マウス線維芽細胞（3T3 細胞）を用いた *in vitro* 試験を実施し、光毒性を評価した。また、光 Ames 試験も実施した。3T3 細胞株を用いた試験の結果は、ヒトでの C_{max} を大幅に超える濃度（推奨臨床用量を患者に投与したときの C_{max} の 29 倍の濃度）においてのみ陽性であった。光 Ames 試験の結果は陰性であった。これらの結果はアカラブルチニブの投与を受けた患者に対する光毒性リスクを示唆するものではない。臨床試験においてアカラブルチニブ投与中の被験者に対し、紫外線 A 波（UVA）からの保護に関する特別な注意喚起は行わなかった。

2.4.3.11 毒性試験の考察

非臨床安全性プログラムでは、アカラブルチニブ及びその主要代謝物 ACP-5862 の毒性を包括的に評価した。本項では、毒性試験で認められた投与に関連する影響を総合的に評価し、曝露量比も合わせて示した（2.4.4.4 項）。ほとんどの *in vitro* 標的外活性評価については、曝露安全域はアカラブルチニブ及び ACP-5862 の非結合 C_{max} の比率として示すことが適切と考えられる。*In vivo* 安全性薬理及び毒性所見については、動物種で認められたアカラブルチニブの総 $AUC_{(0-t)}$（結合＋非結合）を患者にアカラブルチニブの推奨臨床用量 100 mg を 1 日 2 回投与したときの総 $AUC_{(24h,ss)}$と比較した曝露量比を用いて説明する。

リンパ組織

リンパ球分画における変化は、BTK の生物学特性から予想されるものであった。リンパ組織の変化は想定されるアカラブルチニブの作用に起因するものであり、概ね軽微～軽度で、生存中の所見を伴わず、休薬期間中に部分的又は完全に回復したことから、有害ではないと考えられた。アカラブルチニブの一般毒性試験で免疫抑制は認められず、ラットを用いた最長 6 カ月間の試験及びイヌを用いた 9 カ月間試験において、感染への対応又は予防のための処置を必要としなかった。

ラットでは、アカラブルチニブの TDAR に対する影響を、亜慢性投与（50 日間投与後）の時点で評価した。13 週間試験でキーホールリンペットヘモシアニン（KLH）接種に対する一次応答を評価し（試験 2219-041）、6 カ月試験で KLH チャレンジに対するリコール応答を評価した（試験 2219-084）。ラットを用いた TDAR 評価で得られた所見から、初回及びリコール抗体応答に対する BTK 阻害作用が確認された。この作用は B 細胞活性化における BTK の役割と一致するものではあったが、ラットでは抗 KLH IgM 及び IgG 項目に固有のばらつきが認められることを考慮すると、認められた減少の程度は臨床的に意義のあるものではないと考えられた。

イヌを用いた 9 カ月間毒性試験では、投与期間を通じて高い曝露量が維持されたものの、投与終了時にリンパ組織の標準的な検査を実施したところ、アカラブルチニブ投与に関連する変化は認められなかった（試験 2219-098）。より短期間の試験では、概ね軽微から軽度の病理組織学的変化が認められたため、9 カ月試験では末梢血中のリンパ球サブセットの変化を検出するために特別な方法を採用しなかった。更に、B 細胞増殖時に BTK が活性化されることから、メモリーB 細胞を含め、正常な成熟 B 細胞群に対する影響は軽微であると予想される。遺伝的欠損により B 細胞の発達に異常が生じると、前駆 B 細胞の段階で成長が停止するため、免疫グロブリンに顕著な影響がみられるが、リンパ球群が正常に発達した成体動物では、BTK の薬理学的阻害の影響は軽微であると考えられる（Benson et al 2014）。

膵臓（ラットの種特異的作用）

週齢、性及び系統により発現するラットで既知の背景病変と同様の組織学的特徴を有する膵臓所見（Imaoka et al 2007）について検討のためにいくつかの毒性試験を実施した。自然発生病変は、高齢ラット、雄及び肥満を呈しやすい系統により多くみられる（Dillberger 1994）。

雌雄 Sprague-Dawley ラット及び雄 Wistar Han ラットに、14 日以上にわたってアカラブルチニブを投与したとき、膵臓の病理組織学的所見として、膵島の出血／色素沈着／炎症／線維化／並びに膵外分泌腺の亜急性／慢性炎症が認められた。アカラブルチニブを投与したラットで認められた膵島の所見は、自然発症の背景病変と同様の性及び系統で発症する傾向が認められた。同様の所見がイブルチニブを投与したラットでも認められた（試験 2219-005）。膵臓所見は、10 mg/kg/日以下の用量では用量依存性を示し、10 mg/kg/日を超える用量では発現頻度又は重症度の増加は認められなかった。これらの結果から、BTK 阻害の直接的な薬理作用による影響である可能性が示唆された。病理組織学的変化は、膵臓機能の血液生化学的マーカー（グルコース、リパーゼ、アミラーゼ）の変化を伴っていなかった。休薬期間を設定したすべての試験で、部分的又は完全な回復が認められた。

発現機序は未だ不明であるが、これら膵臓病変はラットにおける BTK 阻害作用のクラスエフェクトであると考えられる。Sprague-Dawley ラットに構造的に異なる様々な BTK 阻害薬を投与したところ、自然発症膵臓病変の増悪が報告されている（Erickson et al 2017）。他の動物種にアカラブルチニブを投与したときには、膵臓所見は認められていない（毒性試験の概要文 2.6.6.3.1 項［マウス］及び 2.6.6.3.3 項［イヌ］参照）。

ヒトでは、遺伝的に BTK 活性が欠損していても、膵臓に関連する有害事象又は病理所見の発現は増加しない。XLA 発端者から得られた報告によると、膵臓機能不全は BTK 欠損症に共通する所見としては挙げられていない。生まれつき XLA を有する男児は、免疫グロブリン産生不全に対し医学的処置を行えば、正常に成長し、比較的普通の生活を送ることができる（Howard et al 2006、Winkelstein et al 2008）。BTK 欠損症において膵臓機能不全の発現率は上昇しないことから、BTK を選択的に阻害しても、ヒト膵臓に対する有害な病理組織学的又は機能的変化は生じないと考えられる。

以上のことから、ラットにおける膵臓病変は、この動物種における背景病変の増悪に起因すると考えられるBTK阻害剤の種特異的クラスエフェクトと考えられる。更に、XLA患者に関する公表データに基づくと、BTK阻害薬を投与されたラットに認められた膵臓病変が、本クラスの薬剤の投与を受けたヒト被験者の安全性評価において意義を持つ可能性は低いと考えられた。アカラブルチニブの一般毒性及び検討試験の結果は、この結論と一致している。

腎臓

ラット及びイヌにアカラブルチニブを投与したときに、腎臓に用量及び曝露量依存的な変化（主に尿細管の変性／壊死、並びに様々な程度の石灰化及び炎症）が認められ、28日間の休薬回復期間中に部分的又は完全に回復した。

ラットでは雄に比べて雌での腎臓所見の発現率及び重症度が高かったが、これは用量で補正した曝露量が雄より雌で高かったことによると考えられた。ラットで認められた腎臓所見は、30 mg/kg/日投与開始後2週間以内に死亡した動物と200 mg/kg/日の長期間投与後に死亡した動物で類似していた。忍容性が良好である100 mg/kg/日を投与した雌で認められた病理組織学的腎臓所見は、高用量群の雌で認められた様々な所見の重症度が軽減されたものと解釈された（試験2219-084）。

28日及び6カ月試験のいずれにおいても100 mg/kg/日群の雌ラットで認められた腎臓所見は、完全に回復した。高用量群のラットでは、28日間の休薬期間中に腎臓の所見が部分的に回復した。

イヌに無毒性量（30 mg/kg/日）を超える用量のアカラブルチニブを投与する28日間、13週間及び9カ月間反復投与一般毒性試験は実施されていない。一方、イヌに30 mg/kg/日を超える用量を投与した薬物動態及び薬力学試験（試験2219-096）で腎毒性が認められた。なお、試験2219-096は、非耐用量を投与した唯一のイヌ試験である。腎臓への影響は短期間（7日以内）の投与後に認められた。試験中に予定外に途中死亡したイヌ2例でのみ組織検査を実施した。これら2例の重症化／死亡の原因は、腎尿細管変性、壊死及び石灰化と考えられた。30 mg/kg/日を超える全用量群で、8日目に腎毒性に関連する血清クレアチニン及びBUNの上昇、並びに他の血清生化学的変化が認められた。これらの腎機能障害の血清生化学マーカーは14日間の所定の休薬期間終了までに部分的又は完全に回復した。

ラット及びイヌで認められた腎臓所見の発生機序は不明である。観察された病理組織学的変化は、すべての動物種を通じて一貫していた。腎臓の臨床病理学的所見は最高用量（ラットでは300 mg/kg/日及び300/200 mg/kg/日、イヌでは90/45 mg/kg/日及び60 mg/kg/日）のみで認められたが、尿細管の変性／壊死によるネフロンの喪失は機能障害に関連する病理学的所見であった。これらの用量は、ラット及びイヌで十分なBTK占有が得られた用量よりもはるかに高い用量であった（薬物動態試験の概要文2.6.4項参照）。低用量では亜慢性又は慢性投与でも腎所見は認められなかったことから、BTK標的飽和によってこれらの所見が生じる可能性は低いと考えられた。

肝臓

ラットを用いた試験では、100 mg/kg/日以上の投与で、肝細胞の単細胞壊死の病理組織学的所見を含むアカラブルチニブに関連する所見が認められた。イヌでは、30 mg/kg/日以上でトランスアミナーゼ上昇が認められたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。全般的にこれらの肝臓所見は、用量依存性を示し、休薬期間中に完全に回復した。

ラットに最大耐量（MTD）を超える用量を投与したときに、肝細胞の単細胞壊死の中等度の病理組織学的所見が認められた。血液生化学的検査値の変化として、300 mg/kg/日の投与2週間後

に肝胆道系マーカーにわずかな増加が認められた（試験 2219-084）。3 週目から 26 週目まで減量した用量の 200 mg/kg を投与したラットでは、肝機能障害に関連する血液生化学的所見は認められなかった。6 カ月間の投与後にのみ 100 mg/kg/日を投与したラットで軽微から軽度の肝細胞の単細胞変性／壊死が認められ、より短期間の試験では同用量で肝臓の所見は認められなかった（試験 502513、試験 2219-049、試験 2219-029）。

ラットにおける結果とは対照的に、イヌを用いたアカラブルチニブ単独投与試験では、いずれの用量でも肝臓に病理組織学的な変化は認められなかった。一過性の血清トランスアミナーゼ上昇（一部、ビリルビン上昇を伴う）が、薬物動態及び薬力学試験（試験 2219-096）の 30 mg/kg/日以上の数例、13 週間試験（試験 2219-030）の 30 mg/kg/日群の 2 例に認められた。9 カ月試験では、30 mg/kg/日群のイヌで肝臓への影響を示唆するアカラブルチニブに関連する所見は認められなかった（試験 2219-098）。

アカラブルチニブによる肝臓の所見の発症機序は不明である。ラット及びイヌで肝臓所見が認められた用量は、十分な BTK 占有が得られた用量よりもはるかに高い用量であった。低用量では亜慢性又は慢性投与でも肝臓に変化は認められなかったことから、薬力学的作用（BTK 阻害）に関わる変化によって肝臓の所見が生じる可能性は低いと考えられる。

心臓

アカラブルチニブのヒト hERG 試験及びイヌを用いた心血管系安全性評価で、安全性の懸念は確認されなかった（薬理試験の概要文 2.6.2 項参照）。イヌを用いた 9 カ月間までの一般毒性試験では、心電図検査値にアカラブルチニブ投与に起因する異常は認められなかった。

アカラブルチニブ投与による心臓の病理組織学的変化は、ラットでは 200 mg/kg/日以上の用量群及びイヌでは 90/45 mg/kg/日以上の用量群で途中死亡した動物でのみ認められた。MTD 以下のアカラブルチニブの用量では、心臓の所見は認められなかった。心臓の所見は途中死亡した動物でのみ認められたため、回復性に関する情報は得られていない。

28 日間の試験で、途中死亡した 6 例中 5 例のラットに単核炎症及び軽微～中等度の心筋凝固壊死が認められた（試験 502513）。6 カ月試験の途中死亡した雌ラットで、軽微～中等度の出血／炎症／壊死及び血管の石灰化を含む同様の所見が認められた（試験 2219-084）。ラットの心臓所見は、MTD を超える用量（300 mg/kg/日又は 300/200 mg/kg/日）でのみ発現し、アカラブルチニブの直接影響であると考えられた。剖検まで生存した雌雄ラットに投与に関連する心臓の所見は認められなかった。途中死亡したラットで、死亡に寄与した心臓への影響は概して腎臓毒性と共に認められた。心臓及び腎臓への影響が死亡にどの程度寄与したかは不明であるが、いずれの所見も途中死亡に寄与したと考えられた。

イヌでは、薬物動態／薬力学試験で高用量を投与し、重度の腎毒性及び関連する尿毒症により途中死亡したイヌ 2 例でのみ心臓の所見が認められた。心臓の病理組織学的検査では、両方のイヌで血管周囲／血管炎症が認められ、そのうち 1 例で心内膜の炎症（心内膜炎）が認められた（試験 2219-096）。本試験では標準的な病理組織学的検査が実施されず、限られた範囲での評価であったが、これら 2 例の心臓に認められた病理学的特徴は、急性腎不全のイヌで一般的に報告される病理学的異常の特徴と完全に一致していた（Van Vleet and Ferrans 2007、Podoll et al. 2019、Robinson and Robinson 2016）。

ラット及びイヌで心臓所見が認められた用量は、十分な BTK 占有が得られた用量よりもはるかに高い用量であった（薬理試験の概要文 2.6.2 項参照）。低用量では亜慢性又は慢性投与でも心臓所見は認められなかったことから、BTK 標的飽和に伴う変化によって心臓の所見が生じる可能性は低いと考えられる。

2.4.4 総括及び結論

2.4.4.1 作用機序

アカラブルチニブは、強力かつ選択性の高い共有結合型の BTK 阻害薬であり、標的である BTK 以外への活性はほとんどない。*In vitro* 機能試験の結果から、代謝物 ACP-5862 も共有結合により BTK を阻害することが示された。標的外活性が代謝物と未変化体で非常に類似していることから、予期しない薬理活性が生じるリスクは低いと考えられる。

アカラブルチニブの薬力学を解釈するには、共有結合により BTK を阻害する活性代謝物の生成を考慮する必要がある。臨床試験で被験者に推奨治療量 100 mg のアカラブルチニブを投与したところ、投与間隔を通じて十分な BTK 占有が維持された（臨床薬理試験 2.7.2 項参照）。健康被験者では、ACP-5862 の曝露量はアカラブルチニブの約 2.7 倍であった。相対的曝露量、相対的活性及び血漿蛋白結合による補正を考えると、ACP-5862 は投与間隔を通じて BTK 阻害に寄与していると考えられる。

標的結合を評価するため BTK 占有率試験を実施したところ、アカラブルチニブと代謝物の BTK 活性部位に違いは認められなかった。アカラブルチニブの効力及び BTK 機能の回復を評価したマウスの試験と同様に、MCL 患者でも（ACE-LY-004 試験）、高い BTK 占有率と、定常状態時の末梢血 B 細胞における BCR を介した機能変化（CD69、CD86 アップレギュレーション）の抑制との間に関連性が認められた（薬理試験の概要文 2.6.2 項参照）。

MCL、CLL 及び DLBCL を含む B 細胞性腫瘍異種移植マウスモデル、並びにイヌ自然発症 B 細胞リンパ腫モデルを用いた試験で、アカラブルチニブの *in vivo* における有効性が確認された。また、これらの試験では、主な非臨床試験動物種において、関連する BTK の生物学的特性が確認された。非臨床薬力学及び有効性モデルでみられた *in vivo* におけるアカラブルチニブの効力は、低選択性の BTK 阻害薬と同程度以上であったことから、選択的 BTK 阻害が治療における作用機序であることが確認された。

2.4.4.2 副次的及び安全性薬理試験

In vivo 受容体結合試験の結果、アカラブルチニブ及び ACP-5862 は A3 アデノシン受容体と相互作用し、その K_i 値はヒトに投与したときの定常状態におけるアカラブルチニブ及び代謝物の非結合形 C_{max} と比較して未変化体では 15 倍、代謝物では 267 倍であった。

ラットに最高用量 300 mg/kg のアカラブルチニブを投与しても、神経行動学的作用、直腸温及び呼吸器系パラメータに対する作用は認められなかった。これらの試験で TK 評価は実施しなかったが、雄 Sprague-Dawley ラットを用いた毒性試験のデータを用いて比較することは可能である。雄ラットにアカラブルチニブ 300 mg/kg を経口投与した後、1 日目の C_{max} はヒトに治療量を投与したときの定常状態の C_{max} の 1.0 倍以上であった。アカラブルチニブの総 $AUC_{(0\text{-}t)}$は、ヒトでの総 $AUC_{(24h,ss)}$と比較して 7.7 倍であった（毒性試験概要表 2.6.7.7.2 項参照）。この結果から、臨床用量で神経行動、体温又は呼吸器系への影響が生じる可能性は低いと考えられる。

hERG 及びイヌ心血管系安全性試験の結果は、健康被験者に治療量（100 mg）及び治療量を超える高用量（400 mg）のアカラブルチニブを投与したときに QTc 間隔延長に対して重要な作用を示さないことが確認された QT 評価試験（ACE-HV-005 試験、臨床薬理試験 2.7.2 項参照）の結果と合致している。イヌ心血管系安全性試験において、最高用量の 30 mg/kg の用量でも、アカラブルチニブ投与に関連する作用は認められなかった。また、イヌの 28 日間、13 週間及び 9 カ月間の一般毒性試験で心電図パラメータに対する薬剤関連の影響は認めらなかった（毒性試験の概要文 2.6.6 項参照）。イヌの 9 か月試験（試験 2219-098 参照）で、イヌに 30 mg/kg を投与したとき

の C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は、ヒトに治療量を投与したときの定常状態の C_{max} 及び $AUC_{(24h,ss)}$のそれぞれ 4.4 倍以上及び 6.4 倍であった。

[14C]-アカラブルチニブを投与したマスバランス試験において、ラットにアカラブルチニブを 100 mg/kg の用量で、イヌに 30 mg/kg の用量で投与したとき、総 ACP-5862 の C_{max} は、健康被験者にアカラブルチニブを 100 mg の用量で経口投与したときの ACP-5862 の C_{max} の幾何平均値と比較してラットで 5.8 倍及びイヌで 1.7 倍であった。これらの用量を投与したときの総 $AUC_{(0-t)}$ は、アカラブルチニブ 100 mg を 1 日 2 回投与したときの ACP-5862 の総 $AUC_{(0-24)}$の推定値と比較してラットで 5.8 倍及びイヌで 0.8 倍高かった（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項の表 19 参照）。これらのことから、アカラブルチニブ及びその主代謝物 ACP-5862 のいずれについても、アカラブルチニブを用いた安全性薬理試験で重要臓器系への影響を十分に評価できたと考えられる。

2.4.4.3 薬物動態

非臨床薬物動態試験は毒性試験と同じ動物種で実施し、また一部を除き、ラット及びイヌの系統は毒性試験と同じ系統を用いた。検討した全動物種でアカラブルチニブは高いクリアランスを示した。また、検討した全動物種及びヒトにおいて吸収は速やかであり、経口投与後の $t_{½}$は短かった。これらの薬物動態特性は、BTK に共有結合して作用を発現する BTK 阻害剤に適していると考えられる。

経口投与時の絶食下におけるバイオアベイラビリティは 9.9%（サル）～62%（マウス）であった。サル及びイヌのバイオアベイラビリティは絶食下及び非絶食下で同程度であった。ヒトにおける絶対バイオアベイラビリティは 25%であった。

血漿蛋白結合率は濃度に依存せず、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにおける平均値はそれぞれ 75.4%、92.0%、68.4%、94.2%及び 97.5%であった。ヒトにおける血漿中の主代謝物は ACP-5862 であり、ACP-5862 のヒト血漿蛋白との非結合率は未変化体の約 1/2 であった。

[^{14}C]-アカラブルチニブをラットに投与後、放射能は組織に広範に分布し、最高放射能濃度は投与 0.25 又は 1 時間後に認められた。組織中放射能濃度は投与後 24 時間以内に速やかに低下した。また、アカラブルチニブ及び ACP-5862 の胎盤通過及び乳汁移行が認められた。

[^{14}C]-アカラブルチニブをラット、イヌ及び健康被験者に経口投与した試験から多くの代謝物が特定された。3 つの主代謝経路が特定され、アミド加水分解、GSH 抱合及び主にピロリジン環の水酸化であった。ACE-CL-001 試験において患者の血漿中代謝物を分析したところ、健康被験者と同様の代謝物組成であった。

[^{14}C]-アカラブルチニブをラット及びイヌに経口投与後の放射能の糞中排泄率はそれぞれ 88%超及び 69%超であり、尿中排泄は共に少なかった。ヒトにおいても同様であり、放射能の総回収率は 95.7%、糞中排泄率は 83.5%、尿中排泄率は 12.0%であった。放射能の排泄は投与後 96 時間以内にほぼ完了した。

アカラブルチニブによる CYP3A4/5 の可逆的阻害作用は強いものではなく、臨床用量における C_{max} から CYP3A4 阻害による相互作用は生じないと予測された。また、アカラブルチニブは CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4/5 に対して弱い代謝依存的阻害作用を示したが、PBPK モデル解析では、臨床でこれら CYP 分子種の基質となる薬物と併用しても併用薬の曝露量には影響しないと予測された。ACP-5862 は CYP3A による酸化で生成し、ラット血漿中でも高い曝露が確認され、ヒト特異的な代謝物ではなかった。

アカラブルチニブの臨床用量で ACP-5862 はいずれの CYP 分子種にも有意な阻害又は誘導作用を示さないと予測された。また、ACP-5862 は UGT1A1 及び UGT2B7 基質の薬物動態に影響しないと考えられた。

アカラブルチニブは P-gp 及び BCRP の基質であったが、これらトランスポーターを介した臨床的に有意な相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。また、アカラブルチニブによる BCRP 阻害作用が認められ、BCRP 基質を経口で併用した場合、消化管内の BCRP 阻害により BCRP 基質の曝露量は増加する可能性があると考えられた。ACP-5862 は腎の MATE1 阻害により MATE1 基質の曝露量を増加させる可能性が示唆された。

2.4.4.4 毒性

主要毒性試験で認められた主な所見、試験動物種における曝露量及びヒトでの曝露量と比較した安全域は、毒性試験の概要文 2.6.6 項の表 5 に示す。マウス及びラットにアカラブルチニブを 100 mg/kg/日以下の用量で投与したとき、及びイヌにアカラブルチニブを 30 mg/kg/日以下の用量で投与したときの忍容性は良好であった。反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量は、ヒトに推奨臨床用量の 100 mg 1 日 2 回を投与したときのアカラブルチニブの曝露量（$AUC_{(24h,ss)}$）と比較して、マウス、雄ラット、雌ラット及びイヌでそれぞれ 1.6 倍、1.9 倍、0.8 倍及び 6.3 倍高かった（表 1）。

表 1 無毒性量におけるマウス、ラット及びイヌでのアカラブルチニブの曝露量及び曝露量比

Study Number[a]	Dosing Duration	Species	Sex	NOAEL (mg/kg/day)	$AUC_{(0-t)}$ (ng•h/mL)	Exposure Multiple[b]
2219-044	28 days	Mouse	M+F	100	3860	1.6
2219-084	6 months	Rat	M	100	4760	1.9
			F	30	2010	0.8
2219-098	9 months	Dog	M+F	30	15700	6.3

Abbreviations: AUC=area under the concentration-time curve; NOAEL=no observed adverse effect level

a NOAEL results from the longest-duration general toxicity studies are presented for each test species.

b Exposure multiple=$AUC_{(0-t)}$ of last TK timepoint, divided by clinical $AUC_{(24h,ss)}$ (2480 ng.h/mL) at dosage of 100 mg BID.

マウス及びラットを用いた試験ではアカラブルチニブを強制経口投与し、イヌを用いた長期試験では市販予定のアカラブルチニブ製剤を投与した。

一般毒性試験で認められたリンパ組織、末梢血中リンパ球検査値及び／又は TDAR の投与に関連する変化は、BTK 阻害に関わる有害ではない薬理作用であると考えられた。アカラブルチニブの臨床試験で血清免疫グロブリンのモニタリングを行った。アカラブルチニブを最長 15 カ月間投与した再発又は難治性 CLL 患者コホート（61 例）では、血清 IgM 及び IgG に意義のある変化は認められなかった（Byrd et al 2016）。生まれつき BTK が欠損した子供では、B 細胞の発生が遮断されることで、抗体産生が著しく低下し、感染リスクが高まる（Maas and Hendriks 2001、Howard et al 2006、Winkelstein et al 2008、Wang et al. 2018）。一方で、成体マウスの成熟した免疫系では、BTK 活性の薬理学的阻害による影響は小さい（Benson et al 2014）。このことから、完全に成熟した免疫系では BTK 阻害は顕著な影響をもたらさないと考えられた。

ラットを用いた複数の低用量での試験を実施し、膵島及び膵外分泌腺における病変の発生頻度及び重症度のアカラブルチニブによる増加について検討した。ラットで認められた膵臓所見は、

素因を有する動物種に自然発生する背景病変の有害ではない増悪であり、ヒトにおけるリスクには関連しないと考えられた。臨床試験においてアカラブルチニブの投与を受けた被験者では、グルコース、リパーゼ及びアミラーゼをモニタリングするための臨床検査を実施した。臨床試験では膵臓機能に関連する臨床的に重要な有害事象は報告されていない（臨床的安全性の概要 2.7.4 項参照）。

ラット及びイヌで認められた腎臓の所見は、尿細管の好塩基性変化、尿細管の変性／壊死、炎症性浸潤及び石灰化であった。雌ラットに 100 mg/kg/日（6 カ月試験で腎臓に毒性所見がみられた最低用量）を投与したときのアカラブルチニブの曝露量は、推奨臨床用量の曝露量と比較して 3.3 倍高かった。いずれの動物種でも、MTD を超える用量を投与した場合にのみ、血清クレアチニン及び血中尿素窒素（BUN）の増加が認められた。これらの所見が認められた曝露量は、ヒトにおける $AUC_{(24h,ss)}$と比較して 5.2 倍以上高かった。アカラブルチニブを投与した被験者では、クレアチニン測定を含むモニタリングを実施した。安全性の併合解析を実施した結果、血液腫瘍患者で腎機能に関連する臨床的に重要な安全性所見は特定されなかった（臨床的安全性の概要 2.7.4 項参照）。

ラットで認められた肝臓の所見は、肝細胞の単細胞変性／壊死であった。雌ラットに 100 mg/kg/日（6 カ月試験で肝臓に毒性所見がみられた最低用量）を投与したときのアカラブルチニブの曝露量は、推奨臨床用量の曝露量と比較して 3.3 倍高かった。MTD を超える用量を投与したラットでトランスアミナーゼ上昇が認められた。この時の曝露量は、ヒトにおける $AUC_{(24h,ss)}$と比較して 5.2 倍以上高かった。イヌでは、肝臓において一過性の血液生化学的変化が時折認められたが、この変化に関連する病理組織学的所見は認められなかった。一方、9 カ月試験のイヌでは、ヒトにおける $AUC_{(24h,ss)}$と比較して 6.3 倍以上高い曝露量でも肝臓所見は認められなかった。アカラブルチニブを投与した被験者では、肝機能検査を含むモニタリングを実施した。トランスアミナーゼ上昇が報告されたが、併合した安全性評価全体を通して、これらの血液腫瘍患者において重篤な薬剤性肝障害は確認されなかった（臨床的安全性の概要 2.7.4 項参照）。

ラット及びイヌにおいて、MTD を超える用量を投与し途中死亡した動物で心臓の所見が認められた。ラットでは、心臓に認められた変化（心筋の複数の部位の出血／炎症／壊死）が途中死亡につながったと考えられた。ラットで心臓の所見が認められた最低用量は、ヒトにおける $AUC_{(24h,ss)}$と比較して 5.2 倍以上高かった。イヌでは、重度の腎毒性で死亡した動物でのみ心臓の病理組織学的所見が認められたが、アカラブルチニブの直接的な作用でなく、尿毒性に続発した可能性が高いと考えられた。その時の曝露量はヒトにおける $AUC_{(24h,ss)}$と比較して 19 倍高かった。

ラットにおけるアカラブルチニブに関連する心臓所見の発症機序は不明である。BTK の発現は一般的に造血由来細胞に限定されていると考えられるが、心筋細胞における BTK mRNA 発現の報告もある（McMullen et al 2014）。心筋細胞の生物学的機能における BTK の役割は不明である。アカラブルチニブの臨床開発の中で、QT/QTc 評価試験（ACE-HV-005 試験）及び治療用量を長期間投与したときの心機能の広範なモニタリング（ACE-CL-001 試験、心臓サブスタディ）を実施した。QT/QTc 評価試験では、治療用量（100 mg）及び治療用量を超える高用量（400 mg）のアカラブルチニブとプラセボ及び陽性対照（モキシフロキサシン）とを比較したが、アカラブルチニブによる影響はみられなかった（臨床薬理試験 2.7.2 項、ACE-HV005 試験）。

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験で、雌ラットには 200 mg/kg/日まで、雄ラットには 300 mg/kg/日まで投与したが、雌及び雄のいずれでも受胎能に対する有害な作用は認められなかった。これらの用量で投与したときのアカラブルチニブの曝露量は、ヒトにおける $AUC_{(24h,ss)}$と比較してそれぞれ 7.1 倍及び 8.0 倍高かった。妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関

する試験では 200 mg/kg/日まで投与したが、妊娠、母体パラメータ、胎児の発育、発生及び生存に有害な影響は認められなかった。このときの曝露量はヒトにおける $AUC_{(24h,ss)}$と比較して 7.1 倍高かった。妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、100 mg/kg/日（母体毒性が認められた用量）を投与した一部の同腹子において、胎児体重減少や骨化遅延が認められた。この用量でのアカラブルチニブの曝露量はヒトにおける $AUC_{(24h,ss)}$と比較して約 1.8 倍高かった。出生前及び出生後の発生試験では、100 mg/kg/日（ヒトにおける総 $AUC_{(24h,ss)}$と比較して約 1.8 倍の曝露量に相当）を投与した母動物において、アカラブルチニブに関連する異常分娩が低頻度で発生した。本試験では、150 mg/kg/日まで出生児に対するアカラブルチニブの影響はみられなかった。

生殖毒性試験の結果は、薬理試験の概要文 2.6.2 項で述べたアカラブルチニブの高い BTK 選択性と合致している。胚・胎児発生に関する試験の結果及びウサギにおける無毒性量及びヒトに推奨治療用量の 100 mg を 1 日 2 回投与したときの曝露量を鑑みると、雄を介したアカラブルチニブの移行のリスクを示唆するものではない。

一連の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において、アカラブルチニブは遺伝毒性を示さなかった。

UVA の照射による *in vitro* 光毒性試験において、アカラブルチニブは 70 µM を超える濃度で陽性結果を示したが、これはヒトの C_{max} の約 29 倍の濃度であった。また、光毒性のスクリーニングとして、UV 照射下での Ames 試験を実施したところ、結果は陰性であった。アカラブルチニブ投与中の被験者に対し、UVA からの保護に関する特別な注意喚起は行っていない。併合した安全性評価において、血液腫瘍患者で光毒性に関連する臨床的に重要な安全性所見は特定されなかった（臨床的安全性の概要 2.7.4 項参照）。

イヌにアカラブルチニブと ACP-319 を併用投与したが、この試験では重要な新たな毒性や ACP-319 関連所見の増悪は認められなかった。

市販品の出荷試験法を用いて特定の不純物の含有が確認されたアカラブルチニブのロットを用い、すべての重要なアカラブルチニブ関連物質（工程由来不純物及び分解生成物）の安全性が確認されている（第 3 部 品質に関する文書 3.2.S.4.5）。工程由来物質及び不純物のうち、出発物質である 不純物H* のみが変異原性を示す可能性のある物質として特定された。 不純物H* は、ICH M7 ガイドラインに基づくクラス 2 の遺伝毒性不純物に該当し、本ガイドラインに従い、血液腫瘍患者の推定治療期間を考慮して [redacted] ppm 以下に管理されている。その他の不純物の変異原性評価の結果はすべて陰性であった。

非臨床毒性プログラムを通じて、アカラブルチニブの毒性プロファイルが明らかとなり、リスクも特定されている。毒性試験に用いた動物種で、臨床での $AUC_{(24h,ss)}$と比較して明らかに高い曝露量で腎臓、肝臓及び心臓に毒性所見が認められた。非臨床安全性評価では、ヒトに推奨治療用量 100 mg 1 日 2 回を投与したときの $AUC_{(24h,ss)}$に相当する曝露量で、標的臓器に対する毒性、胚・胎児発生毒性又は生殖毒性は確認されなかった。

2.4.4.5 結論

本概括評価に示す非臨床データは、アカラブルチニブのリスク評価について十分な根拠を示すものである。これらの結果は、CLL 患者の治療において予定する用量・用法であるアカラブルチニブ 100 mg 1 日 2 回を使用することの妥当性を裏付けるものである。

2.4.5 参考文献

Advani et al 2013

Advani RH, Buggy JJ, Sharman JP, Smith SM, Boyd TE, Grant B, et al. Bruton tyrosine kinase inhibitor ibrutinib (PCI-32765) has significant activity in patients with relapsed/refractory B-cell malignancies. J Clin Oncol 2013; 31:88-94.

Andreotti et al 2010

Andreotti AH, Schwartzberg PL, Joseph RE, Berg LJ. T-cell signaling regulated by the Tec family kinase, Itk. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2010; 2(7):a002287.

Atkinson et al 2003

Atkinson BT, Ellmeier W, Watson SP. Tec regulates platelet activation by GPVI in the absence of Btk. Blood. 2003;102(10):3592-9.

Banholzer et al 2016

Banholzer ML, Wandel C, Barrow P, Mannino M, Schmitt G, Guerard M, et al. Clinical trial considerations on male contraception and collection of pregnancy information from female partner: update. Clin Trans Med 2016; 5:23.

Bao et al 2012

Bao Y, Zheng J, Han C, Jin J, Han H, Liu Y, et al. Tyrosine kinase Btk is required for NK cell activation. J Biol Chem. 2012; 287(28):23769-78.

Barf and Kaptein 2012

Barf T and Kaptein A. Irreversible protein kinase inhibitors: balancing the benefits and risks. J Med Chem 2012; 55:6243-62.

Benson et al 2014

Benson MJ, Rodriguez V, von Schack D, Keegan S, Cook TA, Edmonds J, et al. Modeling the clinical phenotype of BTK inhibition in the mature murine immune system. J Immunol 2014; 193:185-97.

Boonnate et al 2015

Boonnate P, Waraasawapati S, Hipkaeo W, Pethlert S, Sharma A, Selmi C, et al. Monosodium glutamate dietary consumption decreases pancreatic β-cell mass in adult Wistar rats. PLOS One 2015; 10:e0131595.

Buggy and Elias 2012

Buggy JJ and Elias L. Bruton tyrosine kinase (BTK) and its role in B-cell malignancy. Int Rev Immunol. 2012; (2):119-32.

Byrd et al 2014

Byrd JC, Brown JR, O'Brien S, Barrientos JC, Kay NE, Reddy NM, et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. N Eng J Med 2014; 371:213-23.

Byrd et al 2016

Byrd JC, Harrington BK, O'Brien S, Jones JA, Schuh A, Devereux S, et al. Acalabrutinib (ACP-196) in relapsed chronic lymphocytic leukemia. N Eng J Med 2016; 374:323-32

de Bruijn et al 2017

de Bruijn MJ, Rip J, van der Ploeg EK, van Greuningen LW, Ta VT, Kil LP, et al. Distinct and overlapping functions of TEC kinase and BTK in B Cell receptor signaling. J Immunol. 2017; 198(8):3058-3068.

Dillberger 1994

Dillberger JE. Age-related pancreatic islet changes in Sprague-Dawley rats. Tox Path 1994; 22: 48-55.

Ellmeier et al 2011

Ellmeier W, Abramova A, Schebesta A. Tec family kinases: regulation of FcεRI-mediated mast-cell activation. FEBS J. 2011; 278(12):1990-2000.

Erickson et al 2017

Erickson RI, Schutt LK, Tarrant JM, McDowell M, Liu L, Johnson AR, et al. Bruton's Tyrosine Kinase small molecule inhibitors induce a distinct pancreatic toxicity in rats. J Pharmacol Exp Ther 2017; 360:226-38.

EMA 2012

European Medicines Agency (EMA). Guideline on the investigation of drug interactions [document on the internet]. Committee on Human Medicines Products (CPMP/EWP/560/95/Rev. 1 Corr.*); 2012, [cited 12 April 2017]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2012/07/WC500129606.pdf .

FDA 2012

Food and Drug Administration (FDA). Guidance for industry. Drug interaction studies – study design, data analysis, implications for dosing, and labeling recommendations [draft document on the internet]. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration; 2012 [cited 12 April 2017]. Available from https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm292362.pdf.

FDA 2015

Food and Drug Administration (FDA) 17325 (draft guidance for industry). Assessment of male-mediated developmental risk for pharmaceuticals [document on the internet]. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration; 2015 [cited 19 November 2015].

FDA 2016

Food and Drug Administration (FDA). Guidance for industry. Safety testing of drug metabolites. [document on the internet]. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration; 2016, revision 1 [cited 12 April 2017].

FDA 2017

Food and Drug Administration (FDA). Guidance for industry. In vitro metabolism- and transporter-mediated drug-drug interaction studies [draft document on the internet]. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration; October 2017 [cited 25 June 2019]. Available from https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/vitro-metabolism-and-transporter-mediated-drug-drug-interaction-studies-guidance-industry

Harrington et al 2016

Harrington BK, Gardner HL, Izumi R, Hamdy A, Rothbaum W, Coombes KR, et al. Preclinical Evaluation of the Novel BTK Inhibitor Acalabrutinib in Canine Models of B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. PLoS One. 2016;11(7):e0159607.

Hata et al 1998

Hata D, Kitaura J, Hartman SE, Kawakami Y, Yokota T, Kawakami T. Bruton's tyrosine kinase-mediated interleukin-2 gene activation in mast cells. Dependence on the c-Jun N-terminal kinase activation pathway. J Biol Chem. 1998; 273(18):10979-87.

Hendriks et al 2014

Hendriks RW, Yuvaraj S, Kil LP. Targeting Bruton's tyrosine kinase in B cell malignancies. Nat Rev Cancer. 2014; 14(4):219-32.

Herman et al 2016

Herman SE, Montraveta A, Niemann CU, Mora-Jensen H, Gulrajani M, Krantz F, et al. The Bruton tyrosine kinase (BTK) inhibitor acalabrutinib demonstrates potent on-target effects and efficacy in two mouse models of chronic lymphocytic leukemia. Clin Cancer Res. 2016 Nov 30; doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0463.

Howard et al 2006

Howard V, Greene JM, Pahwa S, Winkelstein JA, Boyle JM, Kocak M, et al. The health status and quality of life of adults with X-linked agammaglobulinemia. Clin Immunol 2006; 118:201-8.

ICH S7A 2000

International Conference on Harmonisation (ICH). Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals S7A; 2000, [cited 18 April 2017]. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S7A/Step4/S7A_Guideline.pdf.

ICH S7B 2005

International Conference on Harmonisation (ICH). The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) S7B; 2005, [cited 18 April 2017]. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S7B/Step4/S7B_Guideline.pdf.

ICH S9 2009

International Conference on Harmonisation (ICH). Tripartite guideline: Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals S9; 2009, [cited 05 April 2017]. Available from: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S9/Step4/S9_Step4_Guideline.pdf.

Imbruvica: EPAR 2019

Imbruvica: EPAR-product information; Published first 2014, Last updated 2019.

Imaoka et al 2007

Imaoka M, Satoh H, Furuhama K. Age- and sex-related differences in spontaneous hemorrhage and fibrosis of the pancreatic islets in Sprague-Dawley rats. Tox Path 2007; 35:388-94.

Kenny et al 2013

Kenny EF, Quinn SR, Doyle SL, Vink PM, van Eenennaam H, O'Neill LA. Bruton's tyrosine kinase mediates the synergistic signalling between TLR9 and the B cell receptor by regulating calcium and calmodulin. PLoS One. 2013; 8(8):e74103.

Köprülü et al, 2013

Köprülü AD, Kastner R, Wienerroither S, Lassnig C, Putz EM, Majer O, et al. The tyrosine kinase Btk regulates the macrophage response to Listeria monocytogenes infection. PLoS One. 2013; 8(3):e60476.

Lougaris et al, 2014

Lougaris V, Baronio M, Vitali M, Tampella G, Cattalini M, Tassone L, et al. Bruton tyrosine kinase mediates TLR9-dependent humandendritic cell activation. J Allergy Clin Immunol. 2014; 133(6):1644-50.e4.

Maas and Hendriks 2001

Maas A and Hendriks RW. Role of Bruton’s tyrosine kinase in B cell development. Dev Immunol 2001; 8:171-81.

MacGlashan et al 2011

MacGlashan D Jr, Honigberg LA, Smith A, Buggy J, Schroeder JT. Inhibition of IgE mediated secretion from human basophils with a highly selective Bruton's tyrosine kinase, Btk, inhibitor. Int Immunopharmacol. 2011;11(4):475–9.

McMullen et al 2014

McMullen JR, Boey EJ, Ooi JY, Seymour JF, Keating MJ, Tam CS. Ibrutinib increases the risk of atrial fibrillation, potentially through inhibition of cardiac PI3K-Akt signaling. Blood. 2014; 124(25):3829-30.

Mueller et al 2010

Mueller H, Stadtmann A, Van Aken H, Hirsch E, Wang D, Ley K, Zarbock A. Tyrosine kinase Btk regulates E-selectin-mediated integrin activation and neutrophil recruitment by controlling phospholipase C (PLC) gamma2 and PI3Kgamma pathways. Blood. 2010; 115(15):3118-27.

Podoll et al. 2019

Podoll T, Pearson PG, Evarts J, et al. Bioavailability, biotransformation, and excretion of the covalent bruton tyrosine kinase inhibitor acalabrutinib in rats, dogs and humans. Drug metabolism and disposition. 2019 Feb; 47 (2): 145-154.

Quek et al 1998

Quek LS, Bolen J, Watson SP. A role for Bruton's tyrosine kinase (Btk) in platelet activation by collagen. Curr Biol. 1998; 8(20):1137-40.

Robinson and Robinson 2016

Robinson NA and Robinson WF. Cardiovascular system. In: Maxie MG, editor. Jubb, Kennedy, and Palmer‘s pathology of domestic animals, 6th edition, Vol 3. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier; 2016: p. 1-101.

Shinohara et al 2008

Shinohara, M, Koga T, Okamoto K, Sakaguchi S, Arai K, Yasuda H, et al. Tyrosine kinases Btk and Tec regulate osteoclast differentiation by linking RANK and ITAM signals. Cell 2008; 132(5):794-806.

Smith et al, 1994

Smith CI, Baskin B, Humire-Greiff P, Zhou JN, Olsson PG, Maniar HS, et al. Expression of Bruton's agammaglobulinemia tyrosine kinase gene, BTK, is selectively down-regulated in T lymphocytes and plasma cells. J Immunol. 1994; 152(2):557-65.

Van Vleet and Ferrans 2007

Van Vleet JF and Ferrans VJ. Cardiovascular system. In: McGavin MD and Zachary J, editors. Pathological basis of veterinary disease, 4th edition. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier; 2007: p. 559-611.

Wang et al. 2018

Wang M, Rule S, Zinzani PL, et al. Acalabrutinib in relapsed or refractory mantle cell lymphoma (ACE-LY-004), a single-arm, multicentre, phase 2 trial. Lanclet. 2018;391:659–67.

Winkelstein et al 2008

Winkelstein JA, Conley ME, James C, Howard V, Boyle J. Status of adults with x-linked agammaglobulinemia. Medicine (Baltimore) 2008; 87:253-8.