

---

第2部 CTDの概要

一般名：アカラブルチニブ

版番号：[REDACTED]

---

---

2.6.6 毒性試験の概要文  
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	6
2.6.6.1 まとめ	7
2.6.6.2 単回投与毒性試験	12
2.6.6.3 反復投与毒性試験	12
2.6.6.3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験	12
2.6.6.3.1.1 試験 2219-053 : ACP-196 のマウスを用いた 28 日間用量設定毒性試験	13
2.6.6.3.1.2 試験 2219-044 : ACP-196 の CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (野生型) マウスを用いた 28 日間用量設定及び 28 日間回復性試験	13
2.6.6.3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験	14
2.6.6.3.2.1 試験 090267 : ORG 300196-0 の雄 Sprague-Dawley ラットを用いた 14 日間探索的毒性試験	15
2.6.6.3.2.2 試験 502513 : ACP-196 の雌雄 Sprague-Dawley ラットを用いた 28 日間強制経口投与毒性及び 4 週間回復性試験	16
2.6.6.3.2.3 試験 2219-049 : ACP-196 の Wistar Han ラットを用いた 28 日間経口投与毒性及び 28 日間回復性試験	18
2.6.6.3.2.4 試験 2219-029 : ACP-196 のラットを用いた 91 日間経口投与毒性及び 28 日間回復性試験	19
2.6.6.3.2.5 試験 2219-084 : ACP-196 のラットを用いた 26 週間経口投与毒性及び 4 週間回復性試験	20
2.6.6.3.3 イヌを用いた反復投与毒性試験	22
2.6.6.3.3.1 試験 502514 : ACP-196 の雄及び雌ビーグル犬を用いた 1 日 1 回 7 日間強制経口投与パイロット毒性試験	23
2.6.6.3.3.2 試験 2219-096 : 雄ビーグル犬に ACP-196 を経口投与したときの体内動態及び薬力学評価	24
2.6.6.3.3.3 試験 502515 : ACP-196 の雌雄ビーグル犬を用いた 28 日間強制経口投与毒性及び 4 週間回復性試験	26
2.6.6.3.3.4 試験 2219-030 : ACP-196 カプセルの犬を用いた 91 日間経口投与毒性及び 28 日間回復性試験	26
2.6.6.3.3.5 試験 2219-098 : ACP-196 カプセルのイヌを用いた 39 週間経口投与毒性及び 4 週間回復性試験	28
2.6.6.4 遺伝毒性試験	28
2.6.6.4.1 <i>In vitro</i> 試験	29
2.6.6.4.1.1 試験 503223 : ACP-196 のネズミチフス菌及び大腸菌を用いる復帰突然変異試験	29
2.6.6.4.1.2 試験 503225 : ACP-196 の培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験	29
2.6.6.4.2 <i>In vivo</i> 試験	30
2.6.6.4.2.1 試験 AD92XN.125M012ICH.BTL : <i>In vivo</i> ラット小核試験	30
2.6.6.5 がん原性試験	30
2.6.6.6 生殖発生毒性試験	31

2.6.6.6.1	受胎能及び胚・胎児発生に関する試験 .....	31
2.6.6.6.1.1	試験 2219-031 : ACP-196 のラットを用いた出生前発生毒性予備試験 .....	31
2.6.6.6.1.2	試験 2219-088 : ACP-196 のラットを用いた受胎能及び胚・胎児発生に関する試験（トキシコキネティクス評価を含む） .....	31
2.6.6.6.1.3	試験 2219-032 : ACP-196 の New Zealand White ウサギを用いた出生前発生毒性予備試験（トキシコキネティクス評価及び非妊娠ウサギ試験を含む） .....	32
2.6.6.6.1.4	試験 2219-075 : ACP-196 のウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（トキシコキネティクス評価を含む） .....	33
2.6.6.6.2	出生前及び出生後の発生に関する試験 .....	34
2.6.6.6.2.1	試験 2219-109 : ACP-196 のラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する予備試験 .....	34
2.6.6.6.2.2	試験 2219-111 : ACP-196 のラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 .....	35
2.6.6.6.3	幼若動物を用いる試験 .....	36
2.6.6.7	局所刺激性試験 .....	36
2.6.6.8	その他の毒性試験 .....	36
2.6.6.8.1	抗原性試験 .....	36
2.6.6.8.2	免疫毒性試験 .....	36
2.6.6.8.3	毒性発現機序解明のための試験 .....	36
2.6.6.8.4	依存性試験 .....	36
2.6.6.8.5	代謝物の試験 .....	37
2.6.6.8.6	ACP-196 の工程由来物質、不純物及び分解生成物の安全性確認のための試験 ..	37
2.6.6.8.6.1	試験 AE25YJ.502005ICH.BTL : 細菌を用いた復帰突然変異試験（不純物A*） .....	39
2.6.6.8.6.2	試験 AE28XD.502005ICH.BTL : 細菌を用いた復帰突然変異試験（不純物B*） .....	40
2.6.6.8.6.3	試験 AE38BU.502008ICH.BTL : 6 穴プレート法による細菌を用いた復帰突然変異試験（不純物C* を含む ACP-196 ロット） .....	40
2.6.6.8.6.4	試験 AE44YR.502005ICH.BTL : 細菌を用いた復帰突然変異試験（不純物B*） .....	40
2.6.6.8.6.5	試験 AE24KN.502ICH.BTL : 細菌を用いた復帰突然変異試験（不純物E* を含む ACP-196 ロット） .....	41
2.6.6.8.6.6	試験 AE24KN.341ICH.BTL : ヒト末梢血リンパ球を用いた <i>in vitro</i> 染色体異常試験（不純物E* を含有する ACP-196 ロット） .....	42
2.6.6.8.6.7	試験 2219-063 : ACP-196（ロット [REDACTED]）の Wistar Han ラットを用いた 14 日間経口投与毒性試験 .....	42
2.6.6.8.7	その他の試験 .....	43
2.6.6.8.7.1	<i>In vitro</i> 試験（光毒性試験及び溶血性試験） .....	43
2.6.6.8.7.1.1	試験 R2013001 : ACP-196 の 3T3 細胞を用いた予備的 <i>in vitro</i> 光毒性試験 .....	43
2.6.6.8.7.1.2	試験 9316-101051 : マウス BALB/c 3T3 細胞株を用いた <i>in vitro</i> 光毒性試験 .....	44
2.6.6.8.7.1.3	試験 503224 : ネズミチフス菌を用いた紫外線照射下における ACP-196 の光変異原性試験 .....	44
2.6.6.8.7.1.4	試験 2219-034 : ACP-196 のヒト全血を用いた <i>in vitro</i> 溶血性試験 .....	44
2.6.6.8.7.2	静脈内投与毒性試験 .....	45

2.6.6.8.7.2.1	試験 2219-027 : ACP-196 のラットを用いた急性静脈内投与毒性試験 .....	45
2.6.6.8.7.2.2	試験 2219-026 : ACP-196 のイヌを用いた急性静脈内投与毒性試験 .....	45
2.6.6.8.7.3	ラットにおける脾臓所見の考察試験 .....	46
2.6.6.8.7.3.1	試験 2219-005 : ACP-196 及びイブルチニブのラットを用いた 14 日及び 28 日間強制経口投与毒性試験 .....	47
2.6.6.8.7.3.2	試験 2219-010 : ACP-196 のラットを用いた 28 日間経口投与毒性及び 28 日間回復性試験 .....	47
2.6.6.8.7.3.3	試験 2219-040 : ACP-196 の Wistar Han ラットを用いた 28 日間経口投与毒性試験 .....	48
2.6.6.8.7.3.4	試験 2219-041 : ACP-196 のラットを用いた 91 日間経口投与毒性及び 28 日間回復性試験 .....	48
2.6.6.8.7.3.5	試験 2219-050 : ACP-196 の Wistar Han ラットを用いた 91 日間経口投与毒性及び 28 日間回復 .....	49
2.6.6.8.7.4	併用投与毒性試験 .....	50
2.6.6.8.7.4.1	試験 2219-020 : イヌを用いた 28 日間の ACP-196 及び ACP-319 併用投与毒性及び 28 日間回復性試験 .....	50
2.6.6.9	考察 .....	51
2.6.6.9.1	総合的リスク評価 .....	52
2.6.6.9.1.1	主要毒性試験における曝露量 .....	52
2.6.6.9.1.2	忍容性 .....	54
2.6.6.9.1.3	リンパ組織への影響 .....	55
2.6.6.9.1.4	ラット脾臓への種特異的影響 .....	56
2.6.6.9.1.5	腎臓への影響 .....	57
2.6.6.9.1.6	肝臓への影響 .....	58
2.6.6.9.1.7	心臓への影響 .....	59
2.6.6.9.1.8	受胎能、胚・胎児発生及び出生前及び出生後の発生への影響 .....	60
2.6.6.9.1.9	遺伝毒性及び光毒性 .....	61
2.6.6.9.1.10	代謝物及び不純物 .....	62
2.6.6.9.2	アカラブルチニブの安全性プロファイル及びリスク評価 .....	62
2.6.6.10	結論 .....	63
2.6.6.11	参考文献 .....	64

## 表目次

表 1	アカラブルチニブの毒性試験一覧 .....	8
表 2	マウスにアカラブルチニブ 30 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日を経口投与したときの TK パラメータ .....	13
表 3	Sprague-Dawley ラット及び Wistar Han ラットにおける TK パラメータ .....	14
表 4	イヌに無毒性量以上の用量を投与したときの TK パラメータ .....	23
表 5	アカラブルチニブの工程由来不純物の規格データ .....	37
表 6	アカラブルチニブの工程由来不純物の QSAR 評価結果 .....	38

表 7 主要毒性試験で得られた曝露量データ及び安全域 ..... 52

## 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
ALT	Alanine aminotransferase : アラニン・アミノトランスフェラーゼ
ALP	Alkaline phosphatase : アルカリホスファターゼ
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 blood concentration-time curve : 血漿中濃度一時間曲線下面積
BCR	B cell receptor : B 細胞受容体
BTK	Bruton's 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 : 慢性リンパ性白血病
C <sub>max</sub>	Maximum drug concentration : 最高血漿中濃度
GALT	Gut-associated lymphoid tissue : 腸管関連リンパ組織
GGT	Gamma-glutamyl transpeptidase : $\gamma$ グルタミントランスペプチダーゼ
GLP	Good Laboratory Practice : 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HNSTD	Highest non-severely toxic dose : 重篤な毒性が発現しない最大投与量
IgG	Immunoglobulin G : 免疫グロブリン G
IgM	Immunoglobulin M : 免疫グロブリン M
IHC	Immunohistochemistry : 免疫組織化学
KLH	Keyhole limpet hemocyanin : キーホールリムペットヘモシアニン
MTD	Maximum tolerance dose : 最大耐量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development : 経済協力開発機構
PCE	Polychromatic erythrocyte : 多染性赤血球
PI3K $\delta$	phosphatidylinositol synthase $\delta$ : ホスファチジルイノシトール-3 キナーゼ $\delta$
QSAR	Quantitative structure activity relationship : 定量的構造活性相関
STD <sub>10</sub>	Severely Toxic Dose in 10% : 10%の動物に重篤な毒性が発現する投与量
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
T <sub>last</sub>	Time of the last point with quantifiable concentration : 定量可能最終時点
UV	Ultraviolet : 紫外線
UVA	Ultraviolet A : 紫外線 A 波
XLA	X-linked agammaglobulinemia : X 連鎖性無ガンマグロブリン血症

## 2.6.6.1 まとめ

アカラブルチニブ（ACP-196）の毒性プログラムでは、非臨床安全性を包括的に評価した（表1）。慢性リンパ性白血病（CLL）患者の治療薬としてのアカラブルチニブの申請を目的とし、ICHガイドラインに従ってすべての毒性試験を実施した。主要毒性試験は、すべて医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。

アカラブルチニブは、選択性が高く、強力で経口投与可能なブルトン型チロシンキナーゼ（BTK）阻害剤である。BTKはTecファミリー（非受容体型蛋白質チロシンキナーゼのサブファミリー）のメンバーであり、B細胞受容体（BCR）を介したシグナルを伝達する（Maas and Hendriks 2001）。BTK阻害は、CLL、mantle細胞リンパ腫及びワルデンストレームマクログロブリン血症における治療標的として確立されており（Advani et al 2013, Tucker and Rule 2015）、その他の様々な疾患においても探索されている（Kokhaei et al 2016）。

アカラブルチニブの毒性プログラムでは、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。これらの動物種は、BTK阻害に関する薬理学的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、当初、アカラブルチニブに起因すると考えられた脾臓に対する影響（後にラットで自然発生する脾臓病変の増悪と判断）について検討を実施した。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脾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いる（薬理試験の概要文2.6.2項参照）。

上記に加え、光毒性試験、及びアカラブルチニブ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を確認する試験を実施した。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。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]の選択的阻害剤）のヒトでの併用試験実施の妥当性を示すため、イヌを用いた併用投与毒性試験を実施した。

アカラブルチニブの毒性パッケージの概要を表1に示す。初期の1試験では、アカラブルチニブをORG 300196-0と呼称していた。すべての主要試験で使用したロット中のアカラブルチニブの純度が、バリデートされた分析法を用いて測定されている（毒性試験概要表2.6.7.4項参照）。

表 1 アカラブルチニブの毒性試験一覧

Study Type and Duration	Test Compound <sup>b</sup>	Route	Species	Study Number	GLP Compliant
<b>IV General Toxicity Studies:</b>					
1 day + 14-day recovery	ACP-196	IV	Rat (Sprague-Dawley)	2219-027	Yes
1 day and 7 days + 14-day recovery	ACP-196	IV	Dog (Beagle)	2219-026	Yes
Repeat-Dose Toxicity, Mouse:					
28 days	ACP-196	oral	Mouse (Crl:CD1)	2219-053	No
28 days + 28-day recovery	ACP-196	oral	Mouse (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic, WT)	2219-044	Yes
<b>Repeat-Dose Toxicity, Rat:</b>					
14-day dose-range finding	ORG 300196-0 <sup>a</sup>	oral	Rat (Sprague-Dawley)	090267	No
28 days + 28-day recovery	ACP-196	oral	Rat (Sprague-Dawley)	502513	Yes
28 days + 28-day recovery	ACP-196	oral	Rat (Wistar Han)	2219-049	Yes
13 weeks + 28-day recovery	ACP-196	oral	Rat (Sprague-Dawley)	2219-029	Yes
6 months + 28-day recovery	ACP-196	oral	Rat (Wistar Han)	2219-084	Yes
<b>Repeat-Dose Toxicity, Dog:</b>					
7-day dose-range finding	ACP-196	oral	Dog (Beagle)	502514	No
7 days PK/PD	ACP-196	oral	Dog (Beagle)	2219-096	No
28 days + 28-day recovery	ACP-196	oral	Dog (Beagle)	502515	Yes
13 weeks + 28-day recovery	ACP-196	oral	Dog (Beagle)	2219-030	Yes
9 months + 28-day recovery	ACP-196	oral	Dog (Beagle)	2219-098	Yes
<b>Genetic Toxicity:</b>					
Bacterial reverse mutation test (Ames test)	ACP-196	<i>in vitro</i>	<i>Salmonella typhimurium</i> and <i>E.Coli</i>	503223	Yes
Chromosomal aberrations test	ACP-196	<i>in vitro</i>	Human lymphocytes	503225	Yes
<i>In vivo</i> bone marrow micronucleus test	ACP-196	oral	Rat (Sprague-Dawley)	AD92XN.125M 012ICH.BTL	Yes
<b>Carcinogenicity:</b>					
None					
<b>Reproductive and Developmental Toxicity:</b>					
Pilot embryofetal development	ACP-196	oral	Rat (Sprague-Dawley)	2219-031	No
Fertility and embryofetal development	ACP-196	oral	Rat (Sprague-Dawley)	2219-088	Yes
Pilot embryofetal development	ACP-196	oral	Rabbit (New Zealand White)	2219-032	No

Study Type and Duration	Test Compound <sup>b</sup>	Route	Species	Study Number	GLP Compliant
Embryofetal development	ACP-196	oral	Rabbit (New Zealand White)	2219-075	Yes
Pilot pre- and postnatal development	ACP-196	oral	Rat (Sprague-Dawley)	2219-109	No
Pre- and Postnatal development	ACP-196	oral	Rat (Sprague-Dawley)	2219-111	Yes
<b>Local Tolerance:</b>					
None					
<b>Other Studies:</b>					
<i>In vitro</i> studies (Phototoxicity and Hemolysis):					
3T3 phototoxicity	ACP-196	<i>in vitro</i>	BALB/c 3T3 fibroblast cells	R2013001	No
3T3 phototoxicity	ACP-196	<i>in vitro</i>	BALB/c 3T3 fibroblast cells	9316-101051	Yes
Bacterial reverse mutation test (Ames test)	ACP-196	<i>in vitro</i>	<i>Salmonella typhimurium</i> with UV	503224	Yes
Hemolysis	ACP-196	<i>in vitro</i>	Human whole blood	2219-034	Yes
<b>Investigative Toxicology Studies:</b>					
General toxicity 14- and 28-day	ACP-196, ibrutinib	oral	Rat (Sprague-Dawley)	2219-005	No
General toxicity 28 days + 28-day recovery	ACP-196	oral	Rat (Sprague-Dawley)	2219-010	Yes
General toxicity 28 days	ACP-196	oral	Rat (Wistar Han)	2219-040	No
General toxicity 13 weeks + 28-day recovery	ACP-196	oral	Rat (Sprague-Dawley)	2219-041	Yes
General toxicity 13 weeks + 28-day recovery	ACP-196	oral	Rat (Wistar Han)	2219-050	Yes
<b>Studies to Qualify Acalabrutinib-Related Substances<sup>b</sup>:</b>					
Bacterial reverse mutation test (Ames test)	不純物A*	<i>in vitro</i>	<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	AE25YJ.502005 ICH.BTL	Yes
Bacterial reverse mutation test (Ames test)	不純物B*	<i>in vitro</i>	<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	AE28XD.50200 5ICH.BTL	Yes
Bacterial reverse mutation test (Ames test)	ACP-196 <sup>c</sup> (with 不純物C* <i>in vitro</i> )	<i>in vitro</i>	<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	AE38BU.50200 8ICH.BTL	Yes
Bacterial reverse mutation test (Ames test)	不純物H*	<i>in vitro</i>	<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	AE44YR.50200 5ICH.BTL	Yes
Bacterial reverse mutation test (Ames test)	ACP-196 <sup>c</sup> (with 不純物E* <i>in vitro</i> )	<i>in vitro</i>	<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	AE24KN.502IC H.BTL	Yes
Chromosomal aberrations test	ACP-196 <sup>c</sup> (with 不純物E* <i>in vitro</i> )		Human peripheral blood lymphocytes	AE24KN.341IC H.BTL	Yes

Study Type and Duration	Test Compound <sup>b</sup>	Route	Species	Study Number	GLP Compliant
General toxicity 14 days	ACP-196 (with 不純物E* oral )		Rat (Wistar Han)	2219-063	Yes
<b>Combination studies:</b>					
28 days + 28-day recovery	ACP-196 + ACP-319 <sup>d</sup>	oral	Dog (Beagle)	2219-020	Yes

GLP=Good Laboratory Practice; IV=intravenous; PD=pharmacodynamics; PK=pharmacokinetics; NA=not applicable; UV=ultraviolet radiation; WT=wild type.

a ORG 300196-0 is the NV Organon code for ACP-196.

b 不純物E\*, 不純物B\*, 不純物C\*, and 不純物H\* are process-related substances in the manufacture of acalabrutinib. 不純物A\* is a process impurity and degradant, which is also found in plasma of humans, dogs, and rats after oral administration of acalabrutinib.

c ACP-196 batches generated for impurity qualification.

d ACP-319 is a selective inhibitor of PI3K $\delta$ .

毒性試験で認められた主な所見を以下に要約する。

- ラット及びイヌでは、予想された BTK 阻害に関連する薬理作用の結果として、脾臓重量の減少、濾胞枯渇及び末梢血中リンパ球及び／又は B 細胞減少等の投与に関連するリンパ組織の変化が認められた。
- 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。無毒性量は、ヒトにアカラブルチニブを投与したときの曝露量 (100 mg の 1 日 2 回投与時の定常状態における血漿中濃度一時間曲線下面積 (AUC<sub>(24h,ss)</sub>)) と比較して、マウス、雌ラット、雄ラット及びイヌでそれぞれ 1.6 倍、0.8 倍、1.9 倍及び 6.3 倍高かった。
- ラットを用いた低用量での試験を複数実施し、脾島及び脾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脾臓所見は、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。
- 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、尿細管の拡張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、最大耐量 (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ラット及びイヌの曝露量は、ヒトにおける AUC<sub>(24h,ss)</sub> と比較して 5.2 倍以上高かった。休薬期間中、血液生化学検査変化はラットでは部分的又は完全に回復し、イヌでは完全に回復した。
- 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<sub>(24h,ss)</sub> と比較して 5.2 倍以上高かった。イヌにおいて、ヒトにおける

る  $AUC_{(24h,ss)}$  と比較して 6.3 倍以上高い曝露量で一過性の血液生化学的変化が認められたが、肝臓において、この変化に関連する病理組織学的変化は認められなかつた。いずれの動物種でも、28 日間の休薬期間中に完全な回復が認められた。

- 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の心臓で所見が認められた。ラットでは、心臓で認められた病理組織学的変化（心筋の複数の部位の出血／炎症／壞死）が途中死亡につながつたと考えられた。このときの曝露量は、ヒトにおける  $AUC_{(24h,ss)}$  と比較して 5.2 倍以上高かつた。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（心内膜の炎症 [心内膜炎] 及び／又は血管周囲の炎症）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、尿毒症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 倍高かつた。心臓の所見は、途中死亡したラット及びイヌでのみ認められたため、その回復性は確認できなかつた。
- 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、雌雄のいずれにおいても受胎能に対する有害な影響は認められなかつた。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 倍高かつた。
- 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つた。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 倍高かつた。
- 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 倍高かつた。
- ラットの出生前及び出生後の発生に関する試験において、100 mg/kg/日以上の用量で、アカラブルチニブに関連する異常分娩又は不完全分娩による母動物の死亡／屠殺が認められた。この用量による曝露量は、ヒトにおける  $AUC_{(24h,ss)}$  の 1.8 倍であった。
- 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つた。
- 長波紫外線 (UVA) の照射による標準的な *in vitro* 光毒性試験において、アカラブルチニブは 70  $\mu$ M を超える濃度で陽性結果を示したが、これはヒトの最高血漿中濃度 ( $C_{max}$ ) 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、紫外線 (UV) 照射下での復帰突然変異試験を実施したところ、結果は陰性であった。
- 製造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。復帰突然変異試験では、不純物H\* が変異原性を示すことが確認されたため、適切に管理されている。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。
- 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の発現や ACP-319 関連所見の増悪は認められなかつた。

以上より、アカラブルチニブの非臨床安全性プロファイルは、予定している適応症患者にアカラブルチニブを使用することの妥当性を裏付けるものである。

## 2.6.6.2 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 GLP 適用の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。これら試験成績は、2.6.6.8.7.2 項で述べる。また、ラット（試験 090267）及びイヌ（試験 2219-096）を用いた反復経口投与毒性試験成績からも急性毒性を評価した。

ラットの経口投与では、最高 500 mg/kg/日を 14 日間反復経口投与した時の忍容性は良好であり、生存中の検査項目に急性毒性変化は認められなかった（試験 090267、2.6.6.3.2.1 参照）。この試験で認められた変化は、アカラブルチニブの薬理作用によると考えられる脾臓の髄外造血増加及び赤血球パラメータの減少に限られていた。

イヌの非 GLP 経口 7 日間投与 PK/PD 試験（試験 2219-096、2.6.6.3.3.2 参照）において、30 mg/kg を超える用量では試験 2 日目から嘔吐がみられ忍容性が認められなかった。90/45 mg/kg/日において心臓、腎臓及び肝臓が主な標的臓器であることの毒性が確認された。

## 2.6.6.3 反復投与毒性試験

マウス、ラット及びイヌを用いて GLP 適用及び GLP 非適用の反復投与一般毒性試験を実施した。これらの試験の一覧を表 1 に示す。

マウスを用いた試験は、ラットで認められた脾臓の所見が 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。

薬物動態及び薬力学的な情報に基づき、毒性試験に用いる 1 種目のげっ歯類及び非げっ歯類としてラット及びイヌを選択した。BTK は B 細胞活性化に寄与することが知られているため、免疫機能の変化を評価する項目を一般毒性試験に追加した。すなわち、ラットでは、フローサイトメトリー解析及び T 細胞依存性抗体反応（TDAR）の評価を実施し、免疫系に対する作用を検討した。イヌでは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（IHC）的検査を実施した。アカラブルチニブの毒性プログラムで認められた変化は大部分が軽微であり、投与に関連する感染又はその他の臨床的に重要な免疫抑制の徴候は認められなかった。

一般毒性試験所見及びトキシコキネティクス（TK）パラメータを動物種毎に以降の項に示す。

### 2.6.6.3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験

マウスを用いた試験を実施し、2 種類目のげっ歯類としてラットにおける所見と比較すると共に、今後実施する可能性があるがん原性試験の用量範囲を検討した。マウスでは、リンパ組織が正常なマウス及び複数の疾患モデルを用い、BTK の役割及びアカラブルチニブの薬理作用を評価した（薬理試験の概要文 2.6.2 項参照）。Crl: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、検討したいずれの用量においても毒性所見やその他の投与に関連する影響は認められなかった。

Crl:CD1 マウス及び CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic（野生型）マウスに 30 あるいは 100 mg/kg/日投与時の血漿 TK パラメータを表 2 に示した。

表 2 マウスにアカラブルチニブ 30 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日を経口投与したときの TK パラメータ

Dose	Strain <sup>a</sup>	C <sub>max</sub> (ng/mL)	AUC <sub>(0-last)</sub> (ng•h/mL) <sup>b</sup>
30 mg/kg/day	Crl:CD1	2100	1660
	CBYB6F1-Tg(HRAS)2Jic(wild type)	1400	699
100 mg/kg/day	Crl:CD1	8580	7710
	CBYB6F1-Tg(HRAS)2Jic(wild type)	4570	3850

AUC=area under the concentration-time curve; C<sub>max</sub>=maximum observed concentration; h=hour(s);  
TK=toxicokinetic.

a Crl:CD1 results from Day 28 TK evaluation in Study 2219-053. CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (wild type) results from Day 28 TK evaluation in Study 2219-044.

b AUC<sub>(0-last)</sub> was reported for T<sub>last</sub>=12h

### 2.6.6.3.1.1 試験 2219-053 : ACP-196 のマウスを用いた 28 日間用量設定毒性試験

概要表 2.6.7.6 項参照

本 GLP 非適用毒性試験の目的は、Crl:CD1 マウスにアカラブルチニブを 1 日 1 回 28 日間強制経口投与したときの亜慢性毒性を検討することであった。雌雄マウスにアカラブルチニブを 0、10、30 及び 100 mg/kg/日の用量で投与した。

アカラブルチニブの全身曝露量に性差は認められず、曝露量は反復投与後も変化しなかった。AUC<sub>(0-last)</sub> 及び C<sub>max</sub> は、検討した用量範囲においてほぼ用量に比例して増加した。マウスでは、定量可能最終時点 (T<sub>last</sub>) は 1 日目で投与 6 時間後、28 日目では投与 6~12 時間後であった。

Crl:CD1 マウスに 10、30 又は 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 28 日間強制経口投与したときの忍容性は良好であった。すべての動物が計画剖検時まで生存した。一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査項目、血液生化学的検査項目（アミラーゼ又はリパーゼを含む）、剖検所見、器官重量の変化、病理組織学的検査において、アカラブルチニブの投与による影響は認められなかった。無毒性量は最高用量である 100 mg/kg/日と判断された。

無毒性量 (100 mg/kg/日) における AUC<sub>(0-12hr)</sub> 及び C<sub>max</sub> はそれぞれ 7710 ng•h/mL 及び 8580 ng/mL であった。

### 2.6.6.3.1.2 試験 2219-044 : ACP-196 の CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (野生型) マウスを用いた 28 日間用量設定及び 28 日間回復性試験

概要表 2.6.7.7.1 項参照

本 GLP 適用毒性試験の目的は、CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (野生型) マウスにアカラブルチニブを 1 日 1 回 28 日間強制経口投与した後 28 日間の休薬期間を設け、亜慢性毒性を検討すること、及びがん原性試験をデザインするための情報収集を目的としていた。アカラブルチニブは 0、10、30 及び 100 mg/kg/日の用量で投与した。

アカラブルチニブの全身曝露量に性差はなく、曝露量は反復投与後も変化しなかった。投与 1 日目及び 28 日目の AUC<sub>(0-24)</sub> は、10~30 mg/kg/日の用量範囲ではほぼ用量に比例して増加したが、10~100 mg/kg/日の用量範囲での検討では用量比を上回る増加を示した。C<sub>max</sub> は、1 日目は

10～30 mg/kg/日の用量範囲ではほぼ用量に比例して増加し、10～100 mg/kg/日の用量範囲では用量比を上回る増加を示した。28日目の  $C_{max}$  は、検討した用量範囲でほぼ用量に比例して増加した。

CB6F1-Tg(HRAS)2Jic (野生型) マウスにアカラブルチニブを 10、30 又は 100 mg/kg/日の用量で強制経口投与したときの忍容性は良好であった。すべての動物が計画屠殺日まで生存した。本試験では、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査項目、血液生化学的検査項目、肉眼所見、器官重量、病理組織学的検査において、アカラブルチニブの投与に関連する影響は認められなかつた。したがって、本試験の無毒性量は高用量である 100 mg/kg/日と判断された。

無毒性量 (100 mg/kg/日) における  $AUC_{(0-24)}$  は 3860 ng•h/mL、 $C_{max}$  は 4570 ng/mL であった。

### 2.6.6.3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験

2 系統のラットを用いて GLP 適用及び GLP 非適用の反復投与一般毒性試験を実施した。最初の 28 日間試験及び 13 週間試験は Sprague-Dawley ラットを用いて実施した。次に、2 つ目の系統として Wistar Han ラットを用い、種特異的な膵臓所見に関するデータを収集した。Sprague-Dawley 系ラットで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 (Boonate et al 2015、Erickson et al 2017)。最近の報告では、BTK 阻害剤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)。系統、年齢、性別に関する素因の類似性から、本病変はラットにおける背景病変の増悪である可能性が示唆された。2.6.6.8.7.3 項に詳細を示す。

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、重症度グレードも概ね低かった。したがって、Wistar Han ラットをアカラブルチニブの 6 カ月間反復投与毒性試験の動物種として選択した。しかしながら、胚・胎児発生に関する予備試験は Sprague-Dawley ラットを用いて実施したこと、並びに胚・胎児発生に関する試験を実施した施設には Sprague-Dawley ラットの大規模な背景データベースがあったことから、受胎能及び胚・胎児発生に関する試験は Sprague-Dawley ラットを用いて実施した。

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。ヒトにおける最終的な吸収、分布、代謝及び排泄試験で特定されたアカラブルチニブの主代謝物は、Sprague-Dawley ラットでも生成されることが示された。

Sprague-Dawley ラット及び Wistar Han ラットに、30～300 mg/kg/日を投与したときの血漿中 TK パラメータを以下に示す (表 3)。いずれの試験でも  $AUC_{(0-last)}$  値は、外挿した  $AUC_{(0-24)}$  値と同程度であった。種々の動物を用いた曝露量解析の結果は 2.6.6.9.1.1 項に示した。

表 3 Sprague-Dawley ラット及び Wistar Han ラットにおける TK パラメータ

Dose	Gender	Strain <sup>a</sup>	$C_{max}$ (ng/mL)	$AUC_{(0-last)}$ (ng•h/mL)
30 mg/kg/day	Male	Sprague-Dawley	440	792
		Wistar Han	763	1150
	Female	Sprague-Dawley	798	1630
		Wistar Han	1640	2010
100 mg/kg/day	Male	Sprague-Dawley	820	2250
		Wistar Han	2510	4760

Dose	Gender	Strain <sup>a</sup>	C <sub>max</sub> (ng/mL)	AUC <sub>(0-last)</sub> (ng•h/mL)
200 mg/kg/day	Female	Sprague-Dawley	1890	3700
		Wistar Han	3820	8130
300 mg/kg/day	Male	Wistar Han	3110	7930
	Female	Wistar Han	6920	13100
300 mg/kg/day	Male	Sprague-Dawley	1120	18700
		Wistar Han	3070	16200
	Female	Sprague-Dawley	1990	18500
		Wistar Han	6050	26000

AUC=area under the concentration-time curve; C<sub>max</sub>=maximum observed concentration; TK=toxicokinetic.

a Sprague-Dawley parameters from Day 90 TK evaluation in Study 2219-029 (30, 100 mg/kg/day) and Day 1 evaluation in Study 502513 (300 mg/kg/day). Wistar Han TK parameters evaluated in Study 2219-084 Day 1 (300 mg/kg/day) and Day 182 (30, 100, 200 mg/kg/day).

ラットを用いたアカラブルチニブの一般毒性試験で、推奨臨床用量をヒトに投与したときの曝露量を大きく上回る曝露量時に、腎臓、肝臓及び心臓が標的臓器であることが確認された。曝露量は雄と比較して雌で、Sprague-Dawley ラットと比較して Wistar Han ラットで高く、認められた所見の発現頻度も高かった。

一般毒性試験では、300 mg/kg/日の投与開始後 2 週間以内に、一部のラット（主に雌）で途中死亡が認められた。これらの途中死亡は、雌で曝露量が高かったことと関連していると考えられた。Sprague-Dawley ラット及び Wistar Han ラットに 100 mg/kg/日以下の用量を投与したときの忍容性は、最長 6 カ月の投与まで良好であった。

各試験の結果を以下に示す。

#### 2.6.6.3.2.1 試験 090267 : ORG 300196-0 の雄 Sprague-Dawley ラットを用いた 14 日間探索的毒性試験

概要表 2.6.7.6 項参照。

本 GLP 非適用探索的試験の目的は、雄 Sprague-Dawley ラットに ORG 300196-0（アカラブルチニブ）を 0、10、60、180 及び 500 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 14 日間強制経口投与したときの毒性及び TK を評価することであった。

ラットにおける曝露量は、10~60 mg/kg/日の用量範囲では用量比を上回る増加を示し、60、180 及び 500 mg/kg/日の用量ではほぼ用量に比例して増加した。いずれの用量群でも、14 日間投与後の曝露量レベルは 1 日目と同程度であった。蓄積性又は自己誘導はみられなかった。この TK の結果は少數回採血（即ち、投与 0.5、7 及び 24 時間後）に基づくものであり、より頻回に TK 評価用採血を実施したその後のラット試験の TK 評価結果とは比較すべきでない。

雄 Sprague-Dawley ラットにアカラブルチニブを 1 日 1 回 14 日間強制経口投与したとき、すべての用量で、背景値レベルと比べて脾臓における軽微／軽度の髄外造血の亢進が用量依存的に増加した。この所見の程度は低用量及び中用量群では軽度であり、高用量群では発現頻度及び重症度共に増加した（中用量群の数例の雄及び高用量群のほぼすべての雄で中等度であった）。この増加は貧血を示唆しており、500 mg/kg/日を投与したラットにおける赤血球パラメータの軽度の減少と一致していた。その他の変化は自然発生又は体重変化に起因すると考えられ、毒性学的意義のある変化ではないと考えられた。

腎臓、肝臓及び心臓の病理組織学的検査を実施したが、認められた所見は高用量群（500 mg/kg/日）の雄 5 例中 1 例における狭い範囲での肝細胞壊死のみであった。この所見は毒理学的意義のあるものではないと判断されたが、その後の試験で、肝細胞の単細胞壊死が認められ、アカラブルチニブの投与に起因する変化であると判断された。

本試験における無毒性量は、500 mg/kg/日投与時の赤血球パラメータに対する影響に基づいて 180 mg/kg/日と判断された。無毒性量における 14 日目の  $C_{max}$  は 4126  $\mu\text{mol/L}$  (1921 ng/mL)、推定  $AUC_{(0-24)}$  は 22.9  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/L}$  (10660 ng·h/mL) であった。

### 2.6.6.3.2.2 試験 502513 : ACP-196 の雌雄 Sprague-Dawley ラットを用いた 28 日間強制経口投与毒性及び 4 週間回復性試験

概要表 2.6.7.7.2 項参照

本 GLP 適用毒性試験の目的は、Sprague-Dawley ラットにアカラブルチニブを 1 日 1 回 28 日間強制経口投与したときの毒性を評価すること、及び影響の回復性を検討することであった。雌雄ラットにアカラブルチニブを 0、30、100 又は 300 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回投与し、すべての投与群の動物で 28 日間の休薬期間を設定した。

投与 3 週目に、調製過誤のため 100 及び 300 mg/kg/日群のラットに対し、それぞれ目標濃度の 268% 及び 231% となる用量が投与された。これらの規格外の調整液は 21 日目～22 日目に投与された。300 mg/kg/日群で規格外の調製液が投与されたのは雄のみであった。高濃度のアカラブルチニブ（予定用量の 231%、693 mg/kg/日に相当）を投与したことが 22～23 日目に雄 3 例が死亡した原因となった可能性を否定することはできない。

27 日目の  $C_{max}$ 、並びに 1 及び 27 日目の  $AUC$  は、ほぼ用量に比例して増加した。30 及び 100 mg/kg/日群の曝露量は雄より雌の方が高かったが、300 mg/kg/日群では差が認められなかつた。アカラブルチニブの 1 日目の  $C_{max}$  は、用量比を下回る増加を示した。300 mg/kg/日群の  $C_{max}$  で上昇がみられたものの、それ以外は反復投与後もアカラブルチニブの曝露量に変化は認められなかつた。

300 mg/kg/日群で予定外の死亡が認められた。10、12 及び 15 日目に雌 3 例が瀕死屠殺又は死亡し、22 及び 23 日目に雄 3 例が死亡した。途中死亡したラットにおける死亡／状態不良の原因は、心臓の所見（心筋の重度の単核球性炎症／軽度～中等度の凝固性壊死）、肝臓の所見（中等度～重度の肝細胞壊死）及び／又は腎臓の所見（軽度～重度の尿細管壊死／顕著な尿細管の好塩基性変化／中等度～重度の尿細管変性）であった。更に、雄ラットの脾臓で病理組織学的所見（炎症／出血／脾島内部又は周囲の線維化及び／又は漿膜下の単核細胞浸潤／小葉性腺房萎縮）が認められた。その他の病理組織学的所見として、骨髓萎縮、脾臓及び／又はリンパ節のリンパ萎縮が認められ、アカラブルチニブの薬理作用によるものである可能性、またこれらの動物の健康状態不良に起因した可能性も考えられる。

計画剖検日まで生存した動物では、体重、摂餌量、眼科学的検査、エストラジオール及び尿検査において投与に関連する影響は認められなかつた。一般状態悪化に関連する徵候として、円背位及び立毛が主に 300 mg/kg/日投与群の動物で認められ、用量が低下するほど発現頻度も低下した。一般状態の変化はすべての用量群で休薬期間中に消失した。投与期間終了まで生存した動物において、腎臓、肝臓及び脾臓に投与と関連する病理組織学的所見が認められた。

腎臓に認められた投与に関連する病理組織学的所見は以下のとおりである。

- リンパ球性炎症性細胞浸潤の発現頻度及び重症度のわずかな増加（すべての雌）

- 尿細管の好塩基性変化発現頻度及び重症度のわずかな増加（すべての雌雄）
- 尿細管変性（100 及び 300 mg/kg/日の雌雄。これに関連して投与終了時に灰白色巢が認められた）
- 尿細管拡張（100 及び 300 mg/kg/日の雄、300 mg/kg/日の雌。関連して 300 mg/kg/日の雌では腎重量の増加が認められた）
- 300 mg/kg/日群の雌における尿細管壊死及び尿細管線維化

尿細管線維化は、腎臓の不規則な表面と相關していた（28 日間の休薬期間後に 300 mg/kg/日群の雌 1 例に認められた）。投与期間終了時に 300 mg/kg/日群の雌に可逆的でわずかな尿素及びクレアチニン値の上昇が認められ、腎毒性が示唆された。尿検査時に重要な影響は認められなかつた。

尿細管変性、尿細管拡張及び尿細管壊死は完全に回復した。リンパ球性炎症性細胞浸潤は 30 及び 100 mg/kg/日の雌では回復が認められたが、300 mg/kg/日の雌では回復は認められなかつた。尿細管の好塩基性変化は 30 及び 100 mg/kg/日では回復し、300 mg/kg/日の雌では部分的に回復したが、300 mg/kg/日の雄では回復は認められなかつた。

投与に関連する肝臓の病理組織学的所見として、300 mg/kg/日群で肝細胞壊死が認められた。この用量の雌では、びまん性肝細胞肥大、アラニン・アミノトランスフェラーゼ（ALT）及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の増加、並びに総ビリルビンの軽度上昇も認められたが、肝臓重量への影響はなかつた。回復群の動物では肝細胞単細胞壊死及びびまん性肝細胞肥大は認められず、完全回復が示唆された。

すべての用量群で、ランゲルハンス島の内部及び／又は周囲で投与に関連する脾臓の病理組織学的所見（単核球性炎症、褐色マクロファージの凝集、出血／タンパク液、線維化、漿膜下の単核細胞浸潤（ほとんどの場合褐色マクロファージを伴う）、小葉性腺房萎縮及び脾外分泌腺のアポトーシス亢進）が認められた。

脾臓の所見に用量反応性はみられず、血漿中グルコース濃度への影響もなく、その組織学的形態は Sprague-Dawley ラットでの既知の背景病変と類似すると考えられた（Dilberger 1994、Imaoka et al 2007、Imaoka et al 2012）。背景病変と同様に、これらの所見は雌よりも雄で発現頻度及び重症度が高かつた（Imaoka et al 2007）。またアカラブルチニブ投与群の発現頻度及び重症度は、対照群よりも高かつた。

28 日間の休薬期間後、すべての用量群の雄及び 100 及び 300 mg/kg/日群の雌にランゲルハンス島の内部及び周囲の所見が認められた。これらの病理組織学的所見の殆どは、線維化及び褐色マクロファージを主とする残存病変であった。30 mg/kg/日を投与した回復群の雌では脾臓の所見は認められず、この用量群の雌では休薬期間中に所見が完全に回復したことが示された。

雌雄ラットで投与に関連する脾臓重量の軽度の減少が認められた。この変化は雄の方が顕著であり、用量依存性が認められた。また、100 及び 300 mg/kg/日投与群の雄では、21/22 日目の投与 3 時間後に B 細胞の絶対数及び相対数のわずかな減少が認められた（明らかな用量反応性は認められなかつた）。雌では、B 細胞の絶対数及び相対数への影響は小さかつた。21/22 日目の投与 3 時間後に、300 mg/kg/日群の雌で赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットのわずかな減少及び網状赤血球数の増加が認められた。これらの変化は投与期間終了時（28 又は 29 日目）までに回復した。28 日間の休薬期間後、雄動物の B 細胞の絶対数及び相対数は対照群と同程度まで増加した。

本試験では無毒性量は確認できなかった。30 mg/kg/日群で認められた被験物質に関連する膵臓及び腎臓の変化は毒性所見と考えられた。ラットにおける重篤な毒性が発現しない最大投与量(HNSTD)は100 mg/kg/日、ラットにおける10%の動物に重篤な毒性が発現する投与量(STD<sub>10</sub>)は300 mg/kg/日群でみられた高い死亡率に基づき100～300 mg/kg/日の間と判断された。

アカラブルチニブのHNSTD (100 mg/kg/日)における27日目のC<sub>max</sub>及びAUC<sub>(0-last)</sub>は、雄ではそれぞれ1340 ng/mL及び4070 ng·h/mL、雌ではそれぞれ2750 ng/mL及び6550 ng·h/mLであった。

### 2.6.6.3.2.3 試験 2219-049 : ACP-196 の Wistar Han ラットを用いた 28 日間経口投与毒性及び 28 日間回復性試験

概要表 2.6.7.7.2 項参照

本GLP適用試験の目的は、Wistar Han ラットにアカラブルチニブを1日1回28日間強制経口投与したときの毒性を検討すること、及び28日間の休薬期間後の回復性、進行又は遅延して発現する影響を検討することであった。雌雄ラットにアカラブルチニブを0、2.5、7.5、30及び100 mg/kg/日の用量で投与した。

アカラブルチニブの全身曝露量 (AUC<sub>(0-24)</sub>) には性差 (雌>雄) が認められた。また、反復投与後もアカラブルチニブの全身曝露量は変化しなかった。

雌における1日目のC<sub>max</sub>は30 mg/kg/日までは、ほぼ用量に比例して増加し、100 mg/kg/日までは用量比を下回る増加を示した。28日目のC<sub>max</sub>は検討した用量範囲において用量比を下回るに増加を示した。検討した用量範囲において、1及び28日目のAUC<sub>(0-24)</sub>はほぼ用量に比例して増加した。

雄における1日目のC<sub>max</sub>は、検討した用量範囲においてほぼ用量に比例して増加した。28日目のC<sub>max</sub>は30 mg/kg/日までの用量ではほぼ用量に比例して増加し、100 mg/kg/日までは用量比を下回る増加を示した。1日目のAUC<sub>(0-24)</sub>は30 mg/kg/日まではほぼ用量に比例して増加し、100 mg/kg/日まで用量比をわずかに下回る増加を示した。28日目のAUC<sub>(0-24)</sub>は、検討した用量範囲を通じてほぼ用量に比例して増加した。

アカラブルチニブ1日1回強制経口投与の忍容性は良好であった。アカラブルチニブ投与に関する死亡は認められなかった。体重、摂餌量、眼科学的検査及び臨床病理学的検査項目（血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固検査、フィブリノゲン及び尿検査項目）にアカラブルチニブ投与に関する影響は認められなかった。

30又は100 mg/kg/日群の動物で有害でないと考えられる流涎の発現増加が認められた。流涎の発現増加は休薬期間まで継続した。投与期間中及び休薬期間中に、アカラブルチニブに関連するその他的一般状態の変化は認められなかった。

アカラブルチニブに関連する器官重量への影響又は肉眼所見は認められなかった。アカラブルチニブ投与に関連する病理組織学的所見は、7.5 mg/kg/日以上の用量群の雄の膵臓に限られていた。この変化は、質的にSprague-Dawley ラットで認められた所見と類似しており、発現頻度及び重症度はWistar Han ラットで低かった。アカラブルチニブ投与に関連する有害でない膵臓の病理組織学的所見として、膵島の出血、炎症、線維化、及び/又は色素沈着が認められた。これらの所見は軽微から軽度であり、膵外又は膵内分泌部の機能障害と関連し得る機能的影響は認められなかったことから、有害ではないと考えられた。

休薬期間後の剖検では、アカラブルチニブ投与に明らかに関連する所見は認められなかった。

無毒性量は最高用量である 100 mg/kg/日と判断された。無毒性量 (100 mg/kg/日) における 28 日目の  $C_{max}$  及び  $AUC_{(0-24)}$  は、雄では 1160 ng/mL 及び 2630 ng•h/mL、雌では 3130 ng/mL 及び 6390 ng•h/mL であった。

#### 2.6.6.3.2.4 試験 2219-029 : ACP-196 のラットを用いた 91 日間経口投与毒性及び 28 日間回復性試験

概要表 2.6.7.7.2 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、Sprague-Dawley ラットにアカラブルチニブを 1 日 1 回 13 週間投与したときの毒性を評価すること、及び 28 日間の休薬期間後の回復性、進行又は遅延して発現する変化を検討することであった。アカラブルチニブは、0、10、30 又は 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。

アカラブルチニブの全身曝露量には性差が認められた (雌 > 雄)。全身曝露量は、10 mg/kg/日群の雌雄の結果を除き、すべての用量及びすべての採血日で雌雄共に反復投与後も変化しないと考えられた。10 mg/kg/日群の雄及び雌では、29 日目及び 90 日目に全身曝露量が約 1/2 に低下する傾向がみられたが、1 及び 56 日目の TK パラメータは類似していた。

1 日目は、雌雄共に検討した用量範囲において  $AUC_{(0-24)}$  及び  $C_{max}$  は用量比を下回る増加を示すと考えられた。90 日目の曝露量は、雌では検討した用量範囲において  $AUC_{(0-24)}$  は用量比を上回る増加を示し、 $C_{max}$  は 30 mg/kg/日まではほぼ用量に比例して増加し、100 mg/kg/日までは用量比を下回る増加であった。雄では、90 日目の  $AUC_{(0-24)}$  は検討した用量範囲において用量比を上回る増加を示したが、 $C_{max}$  は検討した用量範囲においてほぼ用量に比例して増加した。

1 日 1 回強制経口投与したときの忍容性は良好であった。アカラブルチニブ投与に関連する死亡は認められなかった。体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理学的検査項目 (血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査及び尿検査) 及び器官重量にアカラブルチニブ投与に関連した影響は認められなかった。なお、一般状態変化として散発的な流涎等が対照群を含むすべての群で認められたが、発現頻度に明らかな用量依存性は認められず、各群ともに数例のみでの発現であったことから、アカラブルチニブ投与に関連する変化ではないと判断された。

アカラブルチニブ投与に関連する剖検所見として、10 mg/kg/日群の雄 1 例、30 mg/kg/日群の雄 2 例及び雌 1 例、及び 100 mg/kg/日群の雄 2 例に軽微から軽度の臍臓小型化、10 mg/kg/日群の雄 1 例に軽微な茶色化が認められた。投与終了時の剖検時に認められた病理組織学的所見は、10 mg/kg/日以上を投与した雌雄の臍臓でのみ認められ、臍島の出血／色素沈着／炎症／線維化、及び臍外分泌腺の亜急性／慢性炎症であった。しかし、臍島所見のパターンに用量依存性は認められなかった。休薬期間の剖検では、投与に関連した肉眼所見は認められなかった。臍島の出血／色素沈着／炎症／線維化の発現頻度は、雌雄ともに投与終了時の剖検時に認められた頻度と概ね類似しており、すべての用量群の雄及び 30 及び 100 mg/kg/日群の雌で重症度のわずかな減少が認められた。休薬期間中に、亜急性／慢性炎症は完全に回復し、その発現頻度及び重症度は対照群と同程度であった。

臍臓の所見は有害ではないと考えられ、無毒性量は最高用量である 100 mg/kg/日と判断された。

無毒性量 (100 mg/kg/日) における 90 日目の  $AUC_{(0-24)}$  及び  $C_{max}$  は、雄では 2250 ng•h/mL 及び 820 ng/mL、雌では 3700 ng•h/mL 及び 1890 ng/mL であった。これらの曝露量は 28 日間の試験で認められた曝露量よりも若干低かった。

### 2.6.6.3.2.5 試験 2219-084 : ACP-196 のラットを用いた 26 週間経口投与毒性及び 4 週間回復性試験

概要表 2.6.7.7.2 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、Wistar Han ラットにアカラブルチニブを 1 日 1 回 6 カ月間強制経口投与したときの毒性を評価すること、及び 28 日間の休薬期間後の回復性、進行又は遅延して発現する変化を検討することであった。雄雌ラットにアカラブルチニブを 30、100 及び 300 mg/kg/日の用量で投与した。Wistar Han ラットを用いた 13 週間の試験（試験 2219-029、2.6.6.3.2.4 項）及びその後の 28 日間の試験（試験 2219-049、2.6.6.3.2.3 項）で使用した高用量の 100 mg/kg/日で毒性所見が認められなかつたこと、試験 502513（2.6.6.3.2.2 項）で調製過誤が認められたことを鑑みて、ラットにおける標的臓器毒性に関する曝露量-反応関係を検討するため、高用量 300 mg/kg/日を再度検討することとした。試験の最初の 2 週間に、アカラブルチニブ 300 mg/kg/日を投与した数例のラットが途中死亡したため、これらの動物の補充を行つた。300 mg/kg/日群では投与を 4 日間中断し、試験 15 日目（雄）又は試験 14 日目（雌及び TK 動物）に対し 200 mg/kg/日の用量で投与を再開した。その他の群では、6 カ月間の投与期間を通して投与を継続し、高用量群では 3 週目から 26 週目まで 200 mg/kg/日の投与を継続した。

死亡率、一般状態、体重及び摂餌量、眼科学的検査、TDAR 分析、並びに臨床及び解剖病理学的検査に基づいて毒性の評価を行つた。

アカラブルチニブの全身曝露量には性差（雌>雄）があると考えられた。雌雄ラットに 30 及び 100 mg/kg/日を反復経口投与しても、アカラブルチニブの全身曝露量は変化しなかつた。用量を 300 mg/kg/日から 200 mg/kg/日に減量したため、高用量群では蓄積比を評価しなかつた。

雌では、1、28 及び 182 日目の  $AUC_{(0-24)}$  は、検討した用量範囲においてほぼ用量に比例して増加し、91 日目の  $AUC_{(0-24)}$  は、用量比を上回る増加を示した。雄では、30~100 mg/kg/日の用量範囲において、1 日目及び 28 日目の  $AUC_{(0-24)}$  はほぼ用量に比例して増加した。1 日目の  $AUC_{(0-24)}$  は、30~300 mg/kg/日の用量範囲で、28 日目は 30~200 mg/kg/日の用量範囲で用量比を上回る増加を示した。第 91 日目の  $AUC_{(0-24)}$  は、検討した用量範囲で用量比を上回る増加を示した。182 日目の  $AUC_{(0-24)}$  は、検討した用量範囲でほぼ用量に比例して増加した。

雌の 1、91 及び 182 日目の  $C_{max}$  は、検討した用量範囲において用量比を下回る増加を示した。28 日目の  $C_{max}$  は、30~100 mg/kg/日の用量範囲ではほぼ用量に比例して増加し、30~200 mg/kg/日の用量範囲では用量比を下回る増加を示した。雄では、検討した用量範囲において、1 及び 182 日目の  $C_{max}$  は用量比を下回る増加を示した。28 日目の  $C_{max}$  は、30~100 mg/kg/日の用量範囲ではほぼ用量に比例して増加し、30~200 mg/kg/日の用量範囲では用量比を下回る増加を示した。91 日目の  $C_{max}$  は用量比を下回る増加を示した。

試験初期の 14 日間に合計 7 例を補充した。具体的には、投与開始前に雄 1 例を補充、300 mg/kg/日群で雌 6 例（主試験 5 例、TK 評価用 1 例）を補充した。動物補充前の一般状態の変化としては、活動性低下、浅速呼吸、運動失調、円背位、皮膚蒼白、接触時冷感、痩せ、異常発声及び/又は接触過敏が認められた。主試験で死亡した雌 5 例で、わずかな体重減少（1 日目と比較して最大 7.2%）が認められた。主試験の 300 mg/kg/日群で死亡した雌 5 例の組織学的評価を行つたところ、死因は尿毒症／急性腎不全及び／又は心筋出血／炎症／壞死であることが示された。

上記の補充期間終了後、200 mg/kg/日への減量した後の投与期間中に、300/200 mg/kg/日群の合計 11 例（主試験の雌 6 例及び TK 評価用動物 5 例 [雄 4 例及び雌 1 例] ）が死亡（10 例）又は瀕死屠殺（1 例）に至つた。試験期間中に死亡したすべての動物が、300 mg/kg/日で投与を開始し

た群の動物であった。瀕死屠殺した動物の臨床病理検査を実施したところ、BUN、クレアチニン、カリウム及びリンの顕著な増加、並びにナトリウム、クロール及び総タンパクの中等度の減少等の、重度の腎機能不全及び損傷を示唆する変化が認められた。これらの所見と関連して、腎臓の病理組織学的病変（尿細管を覆う尿細管上皮細胞の喪失を特徴とする尿細管の変性／壞死及び石灰化）がみられ、毒性変化と判断された。途中死亡後に検査した6例中5例では心筋出血／炎症／壞死も認められ、また一部の動物では大動脈の石灰化も認められた。主試験の死亡動物で認められた病理所見から、死因は尿毒症／急性腎不全及び／又は心筋出血／炎症／壞死であることが示された。これらの所見はアカラブルチニブ投与に起因すると判断された。

すべての投与群で一般状態の変化として流涎が認められた。主試験の投与期間終了まで生存した動物では、投与期間中又は休薬期間中に、体重への影響、摂餌量への影響及び眼科学的検査所見は認められなかった。

生存動物で、血液学的検査及び血液生化学的検査項目においてアカラブルチニブ投与による変化が認められた。血液凝固検査及び尿検査項目では、影響は認められなかった。

300/200 mg/kg/日群の雌で、5週目、13週目及び試験終了時に、リンパ球及び単球の軽微で可逆性の増加が認められた。この所見に関連する病理組織学的所見はみられなかった。

2週目に、100及び300 mg/kg/日を投与した雌及び雄で軽度から中等度の用量反応性及び可逆性のトリグリセリドの減少が認められたが、関連する病理組織学的所見は認められず、非絶食下で血液生化学的検査サンプルを採取したことに起因している可能性が考えられる。また、300 mg/kg/日群の雌で、2週目に複数の肝胆道系マーカー（総ビリルビン、 $\gamma$ -グルタミントランスペプチダーゼ [GGT]、AST、ALT）及び／又は腎マーカー（BUN 及びクレアチニン）（2例）の軽度で一過性の増加が認められたが、これらは当該用量で認められた肝臓及び腎臓の病理組織学的所見に関連する可能性が高いと考えられた。これらの所見は、次の採血期間（5週目）までに消失した。13週目の採血時又は所定の試験終了時の剖検及び休薬期間の剖検前の採血時には、アカラブルチニブ投与に関連する血液生化学的所見は認められなかった。なお、300 mg/kg/日を投与中、あるいは200 mg/kg/日への減量後に死亡した雌の肝臓において、病理組織学的に軽微～軽度の肝細胞変性及び壞死、並びに軽微～軽度の有糸分裂像増加が認められた。

TDAR の二次（リコール）応答の評価では、100 及び 300/200 mg/kg/日群の雄及び 300/200 mg/kg/日群の雌で、抗キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）免疫グロブリン M (IgM) 及び／又は免疫グロブリン G (IgG) の軽度から中等度の減少が認められたが、他の評価項目には関連のある所見は認められなかった。

試験中に死亡又は屠殺した雌4例の腎臓にアカラブルチニブ投与に関連する白色／黄褐色巣が認められ、これに関連して、病理組織学的検査において尿細管の石灰化部位が認められた。

投与終了時及び休薬期間の剖検において、100 及び 300/200 mg/kg/日群雌の腎臓重量の変化が認められたが、雄では腎臓重量の変化は認められなかった。

投与終了時の剖検で、肝臓、腎臓及び脾臓に病理組織学的所見が認められた。100 mg/kg/日群の雌及び300/200 mg/kg/日群の雌雄に、肝細胞の単細胞変性／壞死が認められた。腎臓の病理組織学的所見（100 及び 300/200 mg/kg/日群の尿細管の変性／壞死）は、雌のみに認められた。脾臓の所見は、全用量群の雄のみに認められた（脾島を中心とした有害でない出血／色素沈着／炎症／線維化）。

休薬期間の剖検では、100 mg/kg/日群の雌で認められたすべての病理組織学的所見が回復していた。全用量群の雄及び 300/200 mg/kg/日群の雌で脾臓に所見が認められたが、その頻度及び程度は投与終了時と比べて低かった。

アカラブルチニブを 30 又は 100 mg/kg/日の用量で強制経口投与したときの忍容性は良好であった。しかしながら、300/200 mg/kg/日の用量で投与した場合には忍容性は認められなかった。300 mg/kg/日の投与では 2 週間以内に、200 mg/kg/日への減量後は 66～163 日目の間に途中死亡が認められた。途中死亡したラットの病理解剖所見から、死因は尿毒症／急性腎不全及び／又は心筋壞死であることが示唆され、これらの所見はアカラブルチニブ投与に起因するものと考えられた。

体重、摂餌量、眼科学的検査所見、血液凝固検査又は尿検査項目に影響は認められなかった。血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼所見、器官重量、並びに病理組織学的所見ではアカラブルチニブ投与に関連する所見が認められた。100 mg/kg/日群の雌及び 300/200 mg/kg/日群の雌雄の肝臓に認められた病理組織学的病変（肝細胞の単細胞変性／壞死）、並びに 100 mg/kg/日群及び 300/200 mg/kg/日（雌のみ）の腎臓に認められた病理組織学的病変（尿細管変性／壞死）は有害と判断された。したがって、無毒性量は雄では 100 mg/kg/日、雌で 30 mg/kg/日と判断された。

雄に無毒性量を投与したときの 182 日目の  $AUC_{(0-24)}$  及び  $C_{max}$  は 4760 ng•h/mL 及び 2510 ng/mL であった。雌に無毒性量を投与したときの 182 日目の  $AUC_{(0-24)}$  及び  $C_{max}$  は 2010 ng•h/mL 及び 1640 ng/mL であった。

### 2.6.6.3.3 イヌを用いた反復投与毒性試験

ビーグル犬を用いたアカラブルチニブの GLP 適用及び非適用の反復経口投与試験を 5 試験実施した。薬理学的及び薬物動態的特性がヒトと類似していることから、毒性試験の非げっ歯類動物種としてイヌを選択した。自然発生リンパ腫を有するイヌを用いた有効性試験により、アカラブルチニブと他の BTK 阻害剤の薬理学的意義が証明されている（Honiberg et al 2010, Harrington et al 2016）。

イヌでは曝露量に顕著な個体間変動が認められた（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項）。変動の大きさを考慮し、より適切に曝露量を評価するため、13 週間の反復投与毒性試験では 1 群あたりのイヌの例数を増やした。またイヌでは、アカラブルチニブの吸収に胃の状態に起因すると考えられる変動が認められたことから、以降のすべてのイヌの薬物動態試験では、曝露量のばらつきを低減するため摂餌調整を行い、アカラブルチニブの経口投与時間に応じて摂餌のタイミングを規定することとした。イヌを用いた 9 カ月間の慢性毒性試験では、投与期間を通じて摂餌のタイミングを規定して投与を行った（試験 2219-098、2.6.6.3.3.5 項）。その結果、得られた TK データは、イヌを用いた初期の反復投与毒性試験と比較して変動が少なく、高い曝露量が維持されていた。

ビーグル犬を用いた試験でアカラブルチニブを 30～90 mg/kg/日の用量で投与したときの血漿中アカラブルチニブの TK パラメータ ( $C_{max}$  及び  $AUC_{(0-last)}$ ) を表 4 に示す。

表 4 イヌに無毒性量以上の用量を投与したときの TK パラメータ

Dose <sup>a</sup>	Gender/Method of Administration	C <sub>max</sub> (ng/mL)	AUC <sub>(0-last)</sub> (ng•h/mL)
30 mg/kg/day	Male (oral gavage)	6910	15300
	Female (oral gavage)	7320	16600
	Male + Female (capsule, QD)	3690	8580
	Male + Female (capsule, BID administration of 15 mg/kg/day)	2470	9700
	Male + Female (capsule, QD, with conditioning regimen)	4950	15700
45 mg/kg/day	Male (capsule)	5125	20400
60 mg/kg/day	Male (capsule)	5580	23275
90 mg/kg/day	Male (capsule)	14250	48200

AUC=area under the concentration-time curve; BID=twice daily; C<sub>max</sub>=maximum observed concentration; QD=once daily; TK=toxicokinetic.

a Oral gavage results from Day 28 TK evaluation in Study 502515, which measured acalabrutinib in whole blood. All other results were from acalabrutinib plasma analyses. Results of 30 mg/kg/day capsule QD regimen are from Day 90 TK evaluation in Study 2219-030. Results from 30 mg/kg/day capsule BID regimen are from Day 28 TK evaluation in Study 2219-020. Results from conditioned dogs were from Day 269 in Study 2219-098. Higher dose capsule results from Study 2219-096 (45 mg/kg/day, Day 7; 60 and 90 mg/kg/day, Day 1). The 90 mg/kg/day results do not include 2 dogs that observed very low exposures following oral capsule administration on Day 1.

7日間用量設定試験を実施し、30 mg/kg/日までの用量で強制経口投与した（試験 502514、2.6.6.3.3.1 項）。更に、7日間の薬物動態／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（試験 2219-096、2.6.6.3.3.2 項）。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。試験 2219-096 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たため、本概要では試験 2219-096 の結果をイヌの毒性試験の項に記載する。

イヌを用いた 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。ビーグル犬に無毒性量（30 mg/kg/日）のアカラブルチニブを 9 カ月間投与したときの曝露量は、推奨臨床用量を投与したときの AUC<sub>(24h,ss)</sub> の約 6.3 倍であった（試験 2219-098、臨床薬理試験 2.7.2 項）。

#### 2.6.6.3.3.1 試験 502514 : ACP-196 の雄及び雌ビーグル犬を用いた 1 日 1 回 7 日間強制経口投与パイロット毒性試験

概要表 2.6.7.6 項参照

本 GLP 非適用毒性試験の目的は、各群雌雄 1 例のビーグル犬に 10 あるいは 30 mg/kg/日を 1 日 1 回 7 日間強制経口投与したときの毒性を評価することであった。

本試験では、トキシコキネティクスは検討しなかった。

一般状態の変化、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査項目又は病理組織学的検査において、投与に関連する所見は認められなかった。本試験の結果に基づき、イヌを用いた28日間毒性試験の推奨用量は10及び30mg/kg/日と判断された。

### 2.6.6.3.3.2 試験 2219-096：雄ビーグル犬に ACP-196 を経口投与したときの体内動態及び薬力学評価

概要表 2.6.7.6 項参照

本GLP非適用試験の目的は、既投与雄ビーグル犬（1群あたり4例）にアカラブルチニブのカプセル剤を7日間経口投与したときの体内動態及び薬力学を検討し、BTK再生成の動態を観察することであった。30、60又は90mg/kg/日を1日1回投与した。中用量群及び高用量群で毒性が認められたことから、本試験の目的を拡大し、アカラブルチニブの忍容性の評価並びに高用量群で試験中（8日目）に死亡した2例から採取した組織の検査を実施した。

60及び90mg/kg/日の用量で忍容性が認められなかったため、3日目に90mg/kg/日を45mg/kg/日に減量し、60mg/kg/日群の動物に対しては4日目から空カプセルを投与した。1日目に60mg/kg/日及び90mg/kg/日を単回投与した際のTKパラメータが得られている。

アカラブルチニブを30mg/kg/日の用量で単回又は1日1回反復投与したとき、曝露量に大きなばらつきが認められ、その原因是個体内及び個体間変動であると考えられた。30～90mg/kg/日の用量範囲において、曝露量に明らかな増加傾向は認められなかった。90mg/kg/日投与群の2例で投与1日目に非常に高い曝露量が認められた。これらの動物は6日目に投与を中止し、8日目に途中死亡したため、その他の薬物動態評価用サンプルは採取しなかった。90mg/kg/日群の他の2例のイヌでは、1日目の曝露量が低く、45mg/kg/日への減量後（7日目）に、これらの動物から薬物動態評価用サンプルを採取した。クリアランス（CL/F）及び分布容積（V<sub>d</sub>/F）はばらつきが大きかったが、終末相の半減期（t<sub>1/2</sub>）は個体間及び検討した用量範囲内で同程度であった（範囲：2.08～3.77時間）。

雄イヌにアカラブルチニブを30mg/kg/日の用量で7日間経口投与したときの忍容性は良好であり、毒性変化は認められなかった。30mg/kg/日を超える用量での忍容性は不良であった。60mg/kg/日群のすべてのイヌ及び90/45mg/kg/日群の2例のイヌで、一般状態の変化として、主に夜間（投与数時間後）の嘔吐が認められた。この症状を呈した90/45mg/kg/日群の2例では、6日目に投与を中止し対症療法（皮下輸液、ウェットフード及びエンロフロキサシン注射）を開始したものの、健康状態は悪化し続けた。このうち1例が8日目に死亡し、もう1例は脱水、低体温、部分的閉眼、治療に対する反応不良及び全般的な状態不良により瀕死屠殺した。これらの2例のイヌには、90mg/kg/日を2回投与した後、45mg/kg/日を4回投与していた（6日間連続投与）。

すべてのイヌの末梢血を用いて、血液学的検査における血球数及びリンパ球のサブセットを検査した。途中死亡したイヌで、リンパ球数の中等度の減少並びにB細胞及びT細胞サブタイプの減少が認められ、病理組織学的に複数のリンパ組織におけるリンパ球枯渇が認められた。

30及び90/45mg/kg/日群の生存イヌ6例でBTK占有率を評価した。投与7日目に十分なBTK占有率(>95%)が確認され、総BTKレベルにばらつきがあったこと、及び高用量群のイヌ数が少なかったことから、いずれの評価時点においても用量群間で差は認められなかった。

すべての用量群で、8、14及び21日目に臨床病理学的評価を実施した。30mg/kg/日の用量では、イヌ4例中2例でALT及びアルカリホスファターゼ(ALP)の軽微～軽度の増加が認められたが14日目に回復し、又はフィブリノゲンの軽微な増加も認められたが21日目までに回復し

た。60 mg/kg/日を3日間投与したイヌでは、BUN及びクレアチニンの中等度の増加、ALT及びALPの軽度～中等度の増加、GGT、AST及びアミラーゼの軽度の増加、並びに血清カリウム及びクロールの軽度の減少が認められた。これらの所見は21日目までに部分的又は完全に回復した。フィブリノゲンの中等度の増加、グロブリン濃度の軽度の上昇、循環赤血球量の軽度の増加、及び好中球数の中等度の増加は試験終了までに回復した。試験終了まで生存した90/45 mg/kg/日群のイヌにおいて、臨床病理検査所見としてBUN及びクレアチニンの中等度～著明な増加、ALT及びALPの軽度～中等度の増加、ASTの軽度の増加、フィブリノゲンの中等度の増加、グロブリン濃度の軽度の増加、リンパ球数の軽微な減少、循環赤血球量の軽度の増加が認められた。これらの影響は試験終了時までにほぼ回復した。

剖検及び病理解剖学的評価は、最高用量群で死亡したイヌ2例でのみ実施した。病理組織学的所見は、腎臓、心臓及びリンパ組織（脾臓、胸腺及び／又は腸管関連リンパ組織[GALT]）に認められた。病理組織学的検査の結果から、死因／屠殺理由は、腎尿細管変性、壊死及び石灰化であると考えられた。

屠殺したイヌで臨床病理学的变化が認められた（途中死亡したイヌでは臨床病理学的所見はみられなかった）。BUN、クレアチニン及びリンの増加と関連して、腎臓の病理組織学的所見が認められ、カルシウム濃度の減少、コレステロール及びトリグリセリド増加は腎臓への影響に起因するものと考えられた。血液濃縮／脱水に起因する変化として、循環赤血球量の中等度の増加、アミラーゼ及びリパーゼ活性の中等度の増加が認められた。脱水の結果としてBUN、クレアチニン及びリン濃度の上昇も認められた。脱水は、腎損傷、嘔吐、食欲不振の総合的な影響による可能性が高いと考えられた。

死亡したイヌ2例の腎臓で中等度の両側性尿細管変性／壊死、軽度の両側性亜急性／慢性の炎症、尿細管の軽微～軽度の両側性石灰化、尿細管管腔内の軽度の偏光性結晶、軽微～軽度の出血が認められた。腎皮質の結晶は、遠位尿細管よりも近位尿細管で多く認められ、集合管又は髓質にはほとんど認められなかった。認められた結晶の組成は不明である。尿毒症により死亡した2例の腎皮質におけるアカラブルチニブ濃度を測定した結果、組織中濃度は28.2～303.8 ng/gであった。これらの生体試料分析の結果は、ラットを用いた組織分布試験で100 mg/kg/日の経口投与の48時間後に認められたアカラブルチニブ関連物質濃度の1/10以下であった（薬物動態試験の概要文2.6.4項、試験8338525）。イヌの組織分布に関する比較データはないが、これらの結果は、8日目時点でこれらのイヌの腎臓におけるアカラブルチニブの過剰蓄積を示唆するものではなかった。

またいずれの死亡例でも、軽微～軽度の心臓血管周囲／血管の炎症が認められた。1例は左心房の心内膜に局所的な中等度の炎症を呈し、この炎症はその下部にある心筋及び房室弁基底部まで拡大し、出血を伴っていた。これに関連して、弁に肉眼所見（軽度の不規則な赤色表面）が認められた。イヌ2例における血管周囲／血管の炎症及び1例における心筋／心内膜の炎症の特徴として、リンパ球数及び形質細胞数が少なく、好中球数が多かった。それに伴い、炎症がより顕著な領域において、筋線維の分離、壊死及び／又は変性が認められた。屠殺したイヌ（No.610）では、好中球及びフィブリノゲンの増加が認められ、これは心臓及び腎臓の炎症に対応する所見であった。血管周囲／血管の炎症及び心内膜炎症の所見は、イヌ尿毒症性心内膜炎でみられるよう（Van Vleet and Ferrans 2007、Podoll et al 2019、Robinson and Robinson 2016）、直接的な毒性作用ではなく、腎臓の変化と関連する尿毒性に続発する可能性が高いが、これを明確に決定することはできなかった。1例のイヌでは、病理組織学的所見として胃底粘膜固有層の軽度の石灰化及び血管の軽微な石灰化が認められたが、いずれも尿毒症に起因する反応と一致するものであった。

いずれのイヌでも、脾臓、胸腺及び／又は GALT に軽微～重度のリンパ球枯渇が認められた。本試験は元々毒性を評価するようデザインされていなかったため、無毒性量を決定するのは適切ではないと考えられた。イヌでは 30 mg/kg/日を超える用量は MTD を超えていた。

#### 2.6.6.3.3.3 試験 502515 : ACP-196 の雌雄ビーグル犬を用いた 28 日間強制経口投与毒性及び 4 週間回復性試験

概要表 2.6.7.6 項参照

本 GLP 適用毒性試験の目的は、イヌにアカラブルチニブを 1 日 1 回 28 日間強制経口投与したときの毒性を評価すること、及び 28 日間の休薬期間後の作用の回復性を検討することであった。雌雄イヌにアカラブルチニブを 0、3、10 又は 30 mg/kg/日の用量で投与した。

1 週目に使用した製剤は、1 日目に目標濃度に適合していなかった（目標の 69%～75%）。これらの結果を考慮し製剤の追加分析を実施した。2～6 日目に使用した製剤の平均制度範囲は、3 mg/kg/日では目標濃度の 54～128%、10 mg/kg/日では目標濃度の 82～124%、30 mg/kg/日では目標濃度の 60～148% であった。これらの結果から、最初の 6 日間は予定よりも低用量又は高用量が投与されたことが示された。ばらつきの原因は製剤の安定性ではなく均質性であると考えられたため、7 日目以降は毎日調製することとした。その後、すべての投与製剤（7、8 及び 30 日目に分析）が目標濃度に適合していた（平均精度 85～115%）。

アカラブルチニブの全身曝露量に性差はみられなかった。C<sub>max</sub> 到達時間 (t<sub>max</sub>) は 0.5～1 時間、t<sub>last</sub> は 3～24 時間とばらつきがみられたが、殆どの動物で 6 時間であった。平均 t<sub>1/2</sub> は、雄では 0.797～3.31 時間、雌では 0.631～1.48 時間の範囲であった。曝露量は、概ね用量依存的に増加し、反復投与後には大きな変化はみられなかった。

試験期間中に死亡は認められなかった。一般状態、体重、摂餌量、心電図検査、眼科学的検査、血液生化学的検査、エストラジオール分析及び尿検査において投与に関連する影響は認められなかった。

3 mg/kg/日以上を投与したイヌでは、有害でないアカラブルチニブ関連の肉眼所見及び／又は病理組織学的所見として、腸間膜リンパ節の赤色化、うっ血／赤血球貪食、並びに脾臓におけるリンパ球枯渇が認められ、28 日間の休薬期間後に完全に回復した。30 mg/kg/日群の脾臓のリンパ球枯渇、それに関連する脾臓重量のわずかな減少が認められたが、これはアカラブルチニブの薬理作用に起因するものであり、重症度は低く、毒性所見ではないと判断された。

形態計測分析では、対照群動物と比較して脾臓、下頸リンパ節及び腸間膜リンパ節における CD20 陽性 B 細胞数の減少が確認されたが、明確な用量依存性のパターンは認められなかった。この所見は、すべての用量群の雄及び 30 mg/kg/日群の雌の血液中 B 細胞の絶対数及び相対数のわずかな減少を伴っていた。血液サンプルでは、28 日間の休薬期間後に部分的な回復が認められたが、形態計測分析においては、組織中で完全な回復が認められた。血液及び組織中の B 細胞数減少はアカラブルチニブの薬理作用に起因するものと考えられた。本試験の無毒性量は最高用量である 30 mg/kg/日と判断された。

無毒性量における 27 日目の C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>(0-last)</sub> は、雄ではそれぞれ 6910 ng/mL 及び 15300 ng•h/mL、雌ではそれぞれ 7320 ng/mL 及び 16600 ng•h/mL であった。

#### 2.6.6.3.4 試験 2219-030 : ACP-196 カプセルの犬を用いた 91 日間経口投与毒性及び 28 日間回復性試験

概要表 2.6.7.7.3 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、イヌにアカラブルチニブを 13 週間投与したときの毒性を評価すること、及び 28 日間の休薬期間後の回復性、進行又は遅延して発現する変化を検討することであった。雌雄イヌに、アカラブルチニブをカプセル剤（調製せず、そのままカプセルに充填）として 0、5、10 又は 30 mg/kg/日の用量で投与した。

アカラブルチニブの全身曝露量に性差はみられなかった。反復投与後に全身曝露量の平均値に一貫した変化はみられなかった。1 日目の経口カプセル投与後の  $AUC_{(0-24)}$  及び  $C_{max}$  は 10 mg/kg/日までほぼ用量に比例して増加し、30 mg/kg/日までは用量比を上回る増加を示した。29、58 及び 90 日目には、 $AUC_{(0-24)}$  及び  $C_{max}$  はほぼ用量に比例して増加した。

一般状態、平均体重（雄のみ）、平均摂餌量（雄のみ）、眼科学的検査、定性的又は定量的心電図パラメータ、血液凝固検査、尿検査又は血小板凝集能測定において、アカラブルチニブ投与に起因する影響は認められなかった。対照群の体重増加と比較して、アカラブルチニブ投与群の雌では体重増加量が減少したが、これに付随して全用量の雌における平均摂餌量が対照群と比較して減少した。しかしながら試験期間中に平均体重の増加が認められたため、アカラブルチニブを投与した雌で認められた体重増加量の減少は毒性とはみなさなかった。

10 及び 30 mg/kg/日群の雌雄で、アカラブルチニブ投与に関連する血液学的パラメータへの影響として循環赤血球量の軽微～軽度の減少が認められた。30 mg/kg/日ではこれらの所見に伴う再生反応がみられ、病理組織学的検査ではリンパ節における赤血球貪食及び色素沈着が認められた。これらの所見は休薬期間終了時までに部分的に回復し、毒性ではないと考えられた。

29 日目に 30 mg/kg/日投与群の雌 2 例で、肝臓への影響を示唆するアカラブルチニブ投与に関連する血液生化学的パラメータへの影響として、一過性の軽度～中等度の ALT 増加が認められた。1 例の雌では、状態不良であることを示す一般状態の変化（過度の抜け毛、疎毛、粗毛）を伴う肝酵素の増加及び ALP 上昇が認められた。これらの徴候とアカラブルチニブとの関連性は明らかではないが、そのイヌの血液生化学的変化は 1 週間の休薬期間を含む支持療法後に回復した。もう 1 例の雌では、ALT 上昇は一般症状の観察所見を伴わず、処置なしに回復した。肝臓に関連する病理組織学的变化は認められず、これらの血液生化学的所見は毒性とはみなさなかった。

投与終了時の剖検において、30 mg/kg/日群の雄で統計学的に有意な脾臓重量の減少（絶対重量、対体重比の平均値、対脳重量比の平均値の 29% の減少）が認められた。これに関連して、当該用量群で脾臓濾胞リンパ球枯渇の病理組織学的所見が認められた。これらの器官重量の変化は毒性とみなさなかった。

試験終了時の剖検において、病理組織学的にすべての用量群の雌雄の 1 つ以上のリンパ組織（パイエル板、脾臓、下頸リンパ節、腸間膜リンパ節）で軽微～軽度のリンパ濾胞枯渇が認められ、その頻度及び重症度は用量に依存して増加した。また、すべての用量群の雌雄の 1 つ以上のリンパ節において、軽微～軽度の洞赤血球過形成／赤血球貪食及び／又は色素沈着が非用量依存的に認められた。休薬期間の剖検で認められた病理組織学的所見は、30 mg/kg/日群の雄で下頸リンパ節及び／又は腸間膜リンパ節の軽微から軽度の濾胞性リンパ球枯渇、全用量群の雄の下頸リンパ節における軽微な色素沈着又は洞赤血球過形成／赤血球貪食の非用量依存的な増加、並びに 30 mg/kg/日群の雌の下頸リンパ節における軽微な色素沈着の増加（対照群との比較）のみであった。

試験終了時の剖検では、30 mg/kg/日群のすべての雄の脾臓に CD8 及び CD4 及び／又は CD20 の軽度～中等度の染色強度の低下が認められ、これは当該用量で認められた濾胞性リンパ球枯渇に対応する所見であった。30 mg/kg/日群の雌 1 例の脾臓で、CD20 の染色強度の軽度の低下が認められた。稀に、30 mg/kg/日群の雌雄でリンパ節における CD4 又は CD20 の染色強度の軽微～

軽度の低下が認められた。休薬期間後の剖検では、30 mg/kg/日群の雌雄全例で、脾臓及び／又はリンパ節に CD8 染色強度の軽度～軽度の増加が認められた。30 mg/kg/日群の雄 1 例で CD20 の染色が軽微に減少したが、それを除き、休薬期間後の剖検時の雌雄における CD4 及び CD20 の染色はいずれも対照群で認められた範囲内であった。

投与期間終了時に、アカラブルチニブ投与による有害でない病理組織学的所見として、30 mg/kg/日群の雄の腎臓に尿細管上皮細胞内で軽微な両側性の色素沈着が認められた。休薬期間終了後には、30 mg/kg/日群の雄で両側性尿細管空胞化の頻度が増加したが、尿細管内の色素沈着は認められなかった。

本試験における無毒性量は、最高用量である 30 mg/kg/日と判断された。無毒性量における 90 日目の  $C_{max}$  及び  $AUC_{(0-24)}$  はそれぞれ 3690 ng/mL 及び 8910 ng·h/mL であった。

#### 2.6.6.3.3.5 試験 2219-098 : ACP-196 カプセルのイヌを用いた 39 週間経口投与毒性及び 4 週間回復性試験

概要表 2.6.7.7.3 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、イヌにアカラブルチニブをゼラチンカプセルに充填し 9 カ月間経口投与したときの毒性を評価すること、及び 28 日間の休薬期間後の回復性、進行又は遅延して発現する変化を検討することであった。雌雄イヌに、空カプセル又はアカラブルチニブの 10 又は 30 mg/kg/日を含有するカプセルを投与した。

試験開始前のイヌを 10 日間の給餌環境に順応させた。朝餌の撤去から 2 時間±15 分後にアカラブルチニブを 1 日 1 回投与した。投与の約 4 時間後から数時間給餌をし、その後は一晩絶食させ、朝餌の摂取を促すようにした。すべての群で、9 カ月間の投与期間を通じて給餌制限を実施した。

アカラブルチニブの全身曝露量に性差は認められなかった。すべての採血日において、アカラブルチニブカプセルを経口投与したときの  $C_{max}$  及び  $AUC_{(0-24)}$  はほぼ用量に比例して増加した。全身曝露量 ( $AUC_{(0-24)}$ ) の平均値は、反復投与後も変化しないと考えられた。

一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、定性的又は定量的心電図検査、血液凝固検査パラメータ、尿検査パラメータ、肉眼所見、器官重量、病理組織学的所見において、アカラブルチニブ投与による影響は認められなかった。

アカラブルチニブに起因する血液学的変化として、30 mg/kg/日群の雌雄に赤血球系パラメータに対する軽度の可逆的作用（平均赤血球容積の増加、平均赤血球ヘモグロビン濃度の増加、平均赤血球ヘモグロビン濃度の減少及び／又は赤血球分布幅の減少）が認められ、雌ではこれらの変化に伴い、対照群と比較して循環赤血球量の軽度の減少が認められた。血液生化学的パラメータの変化として、30 mg/kg/日群の雌及び 10 mg/kg/日群の雌 1 例でアルブミンの軽度から時に顕著な減少が認められた。

本試験の無毒性量は、最高用量である 30 mg/kg/日と判断された。無毒性量における 269 日目の  $C_{max}$  及び  $AUC_{(0-24)}$  は、それぞれ 4950 ng/mL 及び 17400 ng·h/mL であった。

#### 2.6.6.4 遺伝毒性試験

標準的な GLP 試験（代謝活性化系存在下及び非存在下での、経済協力開発機構（OECD）ガイドラインに準拠した細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験）を実施し、アカラブルチニブの *in vitro* 遺伝毒性を評価した。更に、ラットを用いた *in*

*vivo* 小核試験も実施した。一部の *in vitro* 試験では、不純物の濃度を増加させたアカラブルチニブのロットを用いて、不純物の変異原性を評価した（2.6.6.8.6 項参照）。いずれの試験においても、アカラブルチニブは遺伝毒性を示さなかった。

#### 2.6.6.4.1 *In vitro* 試験

##### 2.6.6.4.1.1 試験 503223 : ACP-196 のネズミチフス菌及び大腸菌を用いる復帰突然変異試験

概要表 2.6.7.8 項参照

本試験の目的は、アカラブルチニブのネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) におけるヒスチジン要求性株から非要求性株への復帰突然変異誘発性、及び大腸菌 (*Escherichia coli*) におけるトリプトファン要求性から非要求性への復帰突然変異誘発性を評価することであった。

本試験では、試験菌株 TA1535、TA1537、TA98、TA100 及び WP2<sup>uvrA</sup> を用いて、肝臓組織ホモジネートからの上清分画 9 (S9-mix) の存在下及び非存在下でプレートあたり 3~5000 µg の濃度で試験を行った。検討したいずれの濃度においても背景細菌叢は減少しておらず、復帰突然変異体数に生物学的に意義のある減少は認められなかった。本試験において、陰性対照群及び菌株特異的な陽性対照群の値は試験施設の背景データの範囲内であり、実験条件が適切であること、及び代謝活性化系が適切に機能していることが示された。

S9-mix 存在下及び非存在下のいずれにおいても、アカラブルチニブは 3 菌株 (TA1535、TA1537 及び TA100) の復帰突然変異体 (His<sup>+</sup>) コロニー数及び WP2<sup>uvrA</sup> の復帰突然変異体 (Trp<sup>+</sup>) コロニー数の有意な用量依存的増加を誘発しなかった。

TA98 では、アカラブルチニブは、S9-mix 存在下及び非存在下で陰性対照と比較して復帰突然変異体コロニー数を最大 1.9 倍及び 1.8 倍に増加させた。復帰突然変異体コロニー数の増加は、TA98 に設定された変異原性陽性の判定基準を下回っていたが、その結果の正当性を確認するため、本試験菌株を用いて追加の実験を実施した。S9-mix 非存在下及び存在下でプレートあたり 5000 µg の濃度まで検討を行ったところ、毒性は認められなかったが、確認再試験においても、S9-mix 非存在下及び存在下で TA98 の復帰突然変異体コロニー数がそれぞれ 1.9 及び 1.8 倍に増加した。

TA98 で認められたコロニー数の増加は、本試験で実施した 2 回の独立した実験で背景データの範囲を上回ったものの、陰性対照の 3 倍未満であった。したがって、これらの増加は生物学的に重要ではないと考えられた。

本試験の結果から、アカラブルチニブはネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験において突然変異誘発性を示さないと結論付けられた。

##### 2.6.6.4.1.2 試験 503225 : ACP-196 の培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

概要表 2.6.7.8 項参照

本試験の目的は、代謝活性化系 (S9-mix) の存在下又は非存在下で培養ヒトリンパ球を用い、アカラブルチニブの染色体構造異常誘発性を評価することであった。

最初の試験では、1.8% (v/v) S9 画分存在下及び非存在下で、薬剤処理時間 3 時間及び固定培養時間 24 時間で 333 µg/mL までのアカラブルチニブの評価を実施した。当該用量で適切な毒性

レベルに達した。2回目の試験では、S9-mix 非存在下で、20 µg/mL までの薬剤処理時間 24 時間及び固定培養時間 24 時間で、100 µg/mL まで薬剤処理時間 48 時間及び固定培養時間 48 時間で評価した。また、S9-mix 存在下で、薬剤処理時間 3 時間及び固定培養時間 48 時間で 400 µg/mL までの評価を実施した。これらの用量で適切な毒性レベルに達した。

溶媒対照で認められた染色体異常細胞数は、試験施設の背景データの範囲内であった。陽性対照に使用したマイトマイシン C 及びシクロホスファミドでは、染色体異常細胞の出現頻度が統計学的に有意に増加したことから、試験条件は適切であったこと及び代謝活性化系（S9-mix）が適切に機能していたことが示された。

2回の独立した試験のいずれにおいても、アカラブルチニブは、S9-mix の存在下及び非存在下で染色体異常細胞数の統計学的有意又は生物学的有意な増加を誘発しなかった。S9-mix の存在下及び非存在下のいずれにおいても、倍数体細胞数及び核内倍加染色体を有する細胞数に生物学的意義のある増加は認められなかった。

本試験の結果から、培養ヒト末梢血リンパ球を用い、代謝活性化系の存在下及び非存在下で細胞毒性がみられる限界濃度まで検討したとき、アカラブルチニブは染色体異常を誘発しないと結論づけられた。

#### 2.6.6.4.2 *In vivo* 試験

##### 2.6.6.4.2.1 試験 AD92XN.125M012ICH.BTL : *In vivo* ラット小核試験

概要表 2.6.7.9 項参照

本試験の目的は、ラット骨髄を用いて多染性赤血球（PCE）中の小核を検出することで、アカラブルチニブの *in vivo* 染色体異常誘発性及び／又は有糸分裂の阻害作用を評価することであった。

用量設定試験では、1群あたり雌雄各 3 例のラットに 500、1000 及び 2000 mg/kg を強制経口投与した。本試験の用量は忍容性に基づいて設定されたため TK は評価しなかった。本試験の高用量である 2000 mg/kg は、ICH S2(R1)ガイドラインで推奨される小核試験の最高用量である。

雌雄間で一般状態に差は認められなかったため、本試験では雄ラットのみを使用した。動物は投与 24 時間後又は 48 時間後のいずれかの時点で骨髄を採取する群に割り当てられた。剖検時に大腿骨骨髄を採取し、スライド標本を作製し、アクリジンオレンジで染色した。アカラブルチニブ投与群における総赤血球に対する PCE の比率を溶媒対照群と比較して細胞毒性を評価した。骨髄細胞（各動物あたり 2000 個の PCE）を顕微鏡で観察し、小核を有する PCE を計数した。

試験の成立基準はすべて満たされていた。小核試験の結果から、アカラブルチニブは小核を有する PCE 出現頻度の有意な増加を誘発しないことが示された。

アカラブルチニブは小核試験において 2000 mg/kg 以下の用量で、ラット骨髄細胞に小核発現を誘発しないと結論付けられた。

#### 2.6.6.5 がん原性試験

アカラブルチニブのがん原性試験は実施していない。アカラブルチニブを投与した患者で二次性悪性腫瘍が認められたため（臨床的安全性の概要 2.7.4 項）、非臨床のがん原性試験を実施しても、患者で既に確認されているがん原性リスクが変わることはなく、臨床的リスク評価に更なる価値を与えることもないと考えられる。二次性悪性腫瘍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書及び添付文書に記載する予定である。アカラブルチニブのがん原性に関する詳細な根拠及び考察は、総合的リスク評価（2.6.6.9.1.9 項）及び非臨床試験の概括評価 2.4 に記載する。

## 2.6.6.6 生殖発生毒性試験

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を評価した。予備試験及び胚・胎児発生に関する本試験の結果を以下に示す。ラットにおける胚・胎児発生に関する試験は、生殖への影響を評価するため雄雌受胎能試験と統合して実施した。アカラブルチニブの TK 評価は、両動物種の本試験及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する予備試験で実施した。出生前及び出生後の発生に関する試験は、ラットを用いて評価した。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 日目の時点で胎児の血漿中にアカラブルチニブ及びその代謝物 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）。

### 2.6.6.6.1 受胎能及び胚・胎児発生に関する試験

#### 2.6.6.6.1.1 試験 2219-031 : ACP-196 のラットを用いた出生前発生毒性予備試験

概要表 2.6.7.11 項参照

この GLP 非適用毒性試験の目的は、後に実施する Sprague-Dawley ラットを用いた生殖発生毒性試験におけるアカラブルチニブの適切な用量を決定することであった。交配させた雌ラットに、妊娠 6 日から 17 日まで 0、5、25、50 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。

すべての動物が計画剖検まで生存した。一般状態、体重及び体重増加量、摂餌量、卵巣及び子宮パラメータ、肉眼所見等、評価されたいずれの母動物パラメータにおいてもアカラブルチニブに関連する影響は認められなかった。胎児体重、外表検査又は胚・胎児生存率にも投与に関連した影響は認められなかった。

#### 2.6.6.6.1.2 試験 2219-088 : ACP-196 のラットを用いた受胎能及び胚・胎児発生に関する試験（トキシコキネティクス評価を含む）

概要表 2.6.7.12 項参照

本 GLP 適用毒性試験の目的は、卵管輸送、着床、胚の着床前後の発生等の雌受胎能並びに発生毒性に及ぼすアカラブルチニブの影響を検討することであった。更に、催奇形性の評価及び雄受胎能への影響も評価した。雌雄ラットにアカラブルチニブを 0、30、100、200（雌のみ）又は 300 mg/kg/日（雄のみ）の用量で投与した。

雄の高用量 300 mg/kg/日は、過去に実施したラット試験の TK 評価において用量補正した曝露量が雄ラットに比べて雌ラットで高かったことに基づいて選択された。主試験の動物では、雄には交配 28 日前から、雌には交配 14 日前から投与を行った。雄ラットでは交配期及び交配後の期間を経て剖検時まで合計 77～79 日間にわたって投与を継続し、雌ラットでは交配期及び妊娠期を経て妊娠 17 日目まで投与を継続した。

妊娠雌ラットでは、妊娠 6 日目及び妊娠 17 日目の AUC<sub>(0-t)</sub>は、検討した用量範囲において用量比を上回って増加した。妊娠 6 日目の C<sub>max</sub> は 30～100 mg/kg/日の用量範囲でほぼ用量に比例して

増加し、100～200 mg/kg/日の用量範囲では明らかな増加はなかったが、妊娠 17 日目の  $C_{max}$  はほぼ用量に比例して増加した。妊娠雌ラットに反復投与したとき、全身曝露量に変化は認められなかった。

雄ラットに 300 mg/kg/日を投与したときの 1 日目の  $AUC_{(0-24)}$  及び  $C_{max}$  はそれぞれ 16300 ng•h/mL 及び 1840 ng/mL、28 日目の  $AUC_{(0-24)}$  及び  $C_{max}$  はそれぞれ 19900 ng•h/mL 及び 5670 ng/mL であった。雄に反復投与したとき、全身曝露量に変化は認められなかった。

雌雄のいずれにおいても、すべての用量群で有害でない流涎の発現増加が認められた。

300 mg/kg/日群の雄 2 例が 33 日目に死亡した。いずれの動物も、剖検時に腎臓に白色病巣及び脾臓にゼラチン様浮腫が認められた。腎臓所見は、一般毒性試験で死亡したラットで同様の肉眼所見が認められたことから、アカラブルチニブによる毒性と判断された (2.6.6.3.2 項参照)。300 mg/kg/日群の雄 1 例では呼吸困難がみられ 76 日目に早期屠殺した。剖検時に胃及び腸のガスによる膨張、並びに胸腺の赤色化が認められ、投与ミスが示唆された。また、300 mg/kg/日群の雄 1 例が 78 日目に死亡した。この動物では、剖検時に腎臓の腫大及び赤色化並びに赤色巣を伴う胸腺の小型化が認められた。これら死亡 (300 mg/kg/day 群の 76 と 78 日目の 2 例の死亡動物) は、突発的事象であり、本試験の他の雄で観察された一般毒性変化はこの 2 例ではみられておらず、また、死亡動物 2 例間で相関する所見が認められないことから、アカラブルチニブ投与に起因するものではないと考えられた。

雌では、いずれの用量においても、生存状態、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、性周期を含む生殖能又は受胎能パラメータ、交尾行動、子宮データ、肉眼所見及び器官重量にアカラブルチニブによる影響は認められなかった。

雄では、いずれの用量においても、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、精子評価を含む生殖能又は受胎能パラメータ、交尾行動、肉眼所見又は生殖器重量にアカラブルチニブによる影響は認められなかった。剖検時に雄ラットで脾臓重量の減少が認められたが、毒性学的意義は不明であった。

いずれの用量においても、着床前胚死亡率、胚・胎児生存率、胎児体重又は胎児発生 (外表、内臓及び骨格検査) にアカラブルチニブ投与による影響は認められなかった。

本試験の母動物及び雌受胎能に対するアカラブルチニブの無毒性量は 200 mg/kg/日、雄動物に対する無毒性量は 100 mg/kg/日、雄受胎能に対する無毒性量は 300 mg/kg/日と判断された。

胚・胎児発生及び生存に対するアカラブルチニブの無毒性量は 200 mg/kg/日であった。

母動物、雌受胎能、胚・胎児発生及び生存に対する無毒性量 (200 mg/kg/日) における妊娠 17 日の  $AUC_{(0-24)}$  は 17500 ng•h/mL、 $C_{max}$  は 6650 ng/mL であった。

#### 2.6.6.6.1.3 試験 2219-032 : ACP-196 の New Zealand White ウサギを用いた出生前発生毒性予備試験 (トキシコキネティクス評価及び非妊娠ウサギ試験を含む)

概要表 2.6.7.11 項参照

この GLP 非適用毒性試験の目的は、後に実施する生殖発生毒性試験におけるアカラブルチニブの用量を決定することであった。A 相 (曝露試験) では、非交配、非妊娠雌ウサギにアカラブルチニブを 5、25、50 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 5 日間強制経口投与した。B 相 (発生毒性及び催奇形性試験) では、妊娠ウサギに、妊娠 6～18 日にアカラブルチニブを 0、25、50、

100 及び 200 mg/kg/日の用量 (A 相の結果に基づいて用量を選択) で 1 日 1 回強制経口投与した。A 相及び B 相の両方でアカラブルチニブの曝露量を測定した。

A 相では毒性は認められなかった。すべての動物が計画剖検日まで生存し、検討したいずれの用量でも投与の影響は認められなかった。相対成長率を用いて A 相で認められた血漿中曝露量から曝露量を推定し、B 相での用量を選択した。その結果、200 mg/kg/日を B 相の最高用量とした。

B 相では、25、50 及び 100 mg/kg/日の用量で、一般状態、体重及び体重増加量、摂餌量、卵巢及び子宮パラメータ及び肉眼所見等、評価されたいずれの母動物パラメータにおいてもアカラブルチニブ投与による影響は認められなかった。剖検時に臍臓表面に単一の軽度の赤色巣が認められたため、2 用量で臍臓の病理組織学的検査を実施したが、所見は認められなかった。

200 mg/kg/日群において母動物への毒性として、体重減少及び体重増加量の減少並びに摂餌量減少が認められた。200 mg/kg/日群の雌 1 例が、長期の食欲不振及び体重減少の後、妊娠 24 日に流産した。この自然流産はアカラブルチニブ投与に関連すると判断された。B 相では検討したいずれの用量においても、胚・胎児生存率、胎児体重及び外表検査にアカラブルチニブによる影響は認められなかった。

B 相 (妊娠ウサギ) においてアカラブルチニブを 1 日 1 回経口投与したときの  $C_{max}$  は、妊娠 6 日では検討した用量範囲において用量比を上回る増加を示し、妊娠 18 日ではほぼ用量に比例して増加した。200 mg/kg/日を投与したときの妊娠 6 及び 18 日の  $C_{max}$  はそれぞれ 5010 及び 4160 ng/mL、妊娠 6 及び 18 日の  $AUC_{(0-24)}$  はそれぞれ 12200 及び 19400 ng·h/mL であった。B 相の血漿中曝露量は、A 相の TK データに基づく推定よりもはるかに高かった。

#### 2.6.6.6.1.4 試験 2219-075 : ACP-196 のウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 (トキシコキネティクス評価を含む)

概要表 2.6.7.13 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、妊娠ウサギを用いてアカラブルチニブの催奇形性を含む発生毒性を検討すること、及び妊娠ウサギにおける TK を評価することであった。交配させた雌ウサギに、妊娠 6~18 日にアカラブルチニブを 0、50、100 又は 200 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。

1 日 1 回強制経口投与したときの妊娠 6 日の  $C_{max}$  及び  $AUC_{(0-24)}$  は、検討した用量範囲においてほぼ用量に比例して増加した。妊娠 18 日の  $C_{max}$  は 50~100 mg/kg/日の用量範囲でほぼ用量に比例して増加したが、100~200 mg/kg/日の用量範囲では明確な増加は認められなかった。妊娠 18 日の  $AUC_{(0-24)}$  は 50~100 mg/kg/日の用量範囲ではほぼ用量に比例して増加し、50~200 mg/kg/日までの用量範囲では用量比を上回る増加を示した。アカラブルチニブを反復経口投与したとき、全身曝露量に変化は認められなかった (表 7 及び毒性試験概要表 2.6.7.3 項参照)。

100 及び 200 mg/kg/日群では母動物への影響として、一般状態変化 (排便減少、痩せ及び活動低下)、体重減少及び体重増加量の減少、並びに摂餌量減少が認められた。200 mg/kg/日群では妊娠 18 日目以降に母動物の死亡率が上昇したため、この群のウサギは妊娠 21~23 日目に試験を早期終了した。その結果、高用量群では妊娠 29 日目に胎児の検査が実施できず、この用量における発生毒性を評価することはできなかった。200 mg/kg/日群の一部のウサギでは、剖検時に肉眼所見として、腎臓の軽度の赤色化又は黄褐色化、並びに胃の軽度の赤色化及び/又は軽度~中等度の赤色巣が認められた。胚・胎児発生に関する予備試験 (試験 2219-032) と比較し、100 及

び 200 mg/kg/日のアカラブルチニブを強制経口投与後の忍容性が本試験で低下したが、両試験の妊娠ウサギで同程度の曝露量が得られており、その理由は不明である。

50 mg/kg/日群では、母動物の生存率、一般状態、体重、体重増加量又は摂餌量への影響は認められなかった。

50 mg/kg/日群では、子宮着床データ、胎児の雌雄比、胎児体重、胎児の外表、内臓又は骨格検査、母動物において剖検時に肉眼的な影響は認められなかった。100 mg/kg/日群では、子宮の着床データ、胎児の雌雄比、胎児の外表及び内臓検査、並びに剖検時の母体肉眼所見に対する影響は認められなかった。100 mg/kg/日群の胎児では、胎児体重の減少が認められた。100 mg/kg/日群で影響がみられた同腹児では、骨格変異（距骨及び舌骨の骨化遅延）も認められた。

以上の結果から、アカラブルチニブの母動物及び発生毒性に対する無毒性量は 50 mg/kg/日と判断された。無毒性量（50 mg/kg/日）における妊娠 18 日目の AUC<sub>(0-24)</sub>は 2030 ng•h/mL であった。

## 2.6.6.6.2 出生前及び出生後の発生に関する試験

### 2.6.6.6.2.1 試験 2219-109 : ACP-196 のラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する予備試験

概要表 2.6.7.11 項参照

この GLP 非適用毒性試験の目的は、ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する本試験におけるアカラブルチニブの用量を決定することであった。交配した雌 CD<sup>®</sup>[Crl:CD<sup>®</sup>(SD)]ラットにアカラブルチニブを 0、100、200 又は 300 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日目から授乳 12 日目まで 1 日 1 回強制経口投与した。

妊娠雌ラットにアカラブルチニブを単回投与（妊娠 6 日）又は 1 日 1 回反復投与（妊娠 17 日）したとき、母動物の血漿中曝露量（C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>(0-t)</sub>）は、すべての用量でほぼ用量に比例して増加し、代謝物 ACP-5862 の曝露量は用量比を下回る又は用量にほぼ比例した増加を示した。単回投与後（妊娠 6 日）のアカラブルチニブの t<sub>1/2</sub> は、100 mg/kg/日（2.29 時間）から 200 mg/kg/日（4.14 時間）の間で増加した。反復投与によるアカラブルチニブ又は ACP-5862 の明らかな蓄積の徴候は認められなかった（蓄積比：0.748～1.68）。授乳 12 日の投与 3 時間後のアカラブルチニブ及び ACP-5862 の平均濃度は、母動物の血漿中よりも乳汁中の方が高かった（血漿中濃度に対する乳汁中濃度の比の平均値：3.92～21.7）。母動物への投与の 1 時間後の出生児の血漿中アカラブルチニブ及び ACP-5862 の平均濃度は、投与 3 時間後の母動物の乳汁中濃度の 1%未満であり、投与後 1 時間の母動物の血漿中濃度の 5%未満であった。

100 mg/kg/日投与群の母動物の生存率に、アカラブルチニブ投与の影響は認められなかった。主試験の 200 mg/kg/日群の母動物 1 例が授乳 2 日に死亡した。剖検時の所見として、腹部及び胸腔の黄色液体、腎臓の赤色化、肺の赤色化、脾臓の黄色化及び浮腫並びに胸腺の浮腫が認められた。この動物の死因及びアカラブルチニブとの関連性は不明である。主試験の 300 mg/kg/日群の母動物 1 例が妊娠 22 日に死亡した。剖検時の所見として、副腎及び腎臓の赤色化が認められた。更に、主試験の 300 mg/kg/日群の母動物 1 例を妊娠 23 日／授乳 0 日に分娩異常のため屠殺した。他のアカラブルチニブの生殖発生毒性試験（試験 2219-088(2.6.6.6.1.2 項)及び試験 2219-111(2.6.6.6.2.2 項)）で低い頻度で分娩異常が認められているため、この死亡はアカラブルチニブ投与に関連すると判断された。これらの母動物のいずれにおいても、死亡又は屠殺前に一般状態、体重、体重増加量及び摂餌量への影響は認められなかった。200 及び 300 mg/kg/日投与群におけるアカラブルチニブに関連した腎臓の所見として、中等度～重度の腎孟の赤色化（軽微～軽度の急性炎症及び軽微のうつ血と相関する所見）、及び腎臓の皮質の黄褐色化（中等度の石灰化

及び尿細管の変性／壞死と相関する所見）が認められた。石灰化は、皮質及び髓質の尿細管及び集合管腔内で認められた。主に髓質に軽度の好酸性円柱が、皮質及び髓質に軽微～軽度の尿細管再生が認められた。

これらの所見に基づき、ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する毒性試験では、高用量として 150 mg/kg/日の使用が適切であると考えられた。

#### 2.6.6.6.2.2 試験 2219-111 : ACP-196 のラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

概要表 2.6.7.14 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、着床から離乳までの間、母動物にアカラブルチニブを投与し、妊娠又は授乳期の雌ラット並びに受胎産物及び出生児の発生に及ぼすアカラブルチニブの影響を評価することであった。出生児の発生に関する評価では、行動及び受胎能の評価を実施した。交配した母親動物に、妊娠 6 日から授乳 20 日までアカラブルチニブを 0、50、100 又は 150 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。出生児には直接投与しなかったが、アカラブルチニブは子宮内及び経乳汁曝露する可能性があった。

親動物の所見としては、妊娠及び授乳期の一般状態、体重及び摂餌量、分娩及び同腹児データ、離乳までの哺育の成功及び病理解剖所見を評価した。母動物における被験物質の血漿中濃度を測定した。出生児 (F1) の所見としては、生存率、性別、体重、肉眼的異常及び身体発達を評価した。離乳後、一部の F1 動物を選択し、一般状態、体重及び子宮検査を含む病理解剖所見を評価した。また、選択された F1 動物の成長、性成熟、行動、機能観察総合評価 (FOB) 、性周期、生殖能及び受胎能の評価も実施した。

分析したすべての対照群サンプルで、アカラブルチニブの血漿中濃度は定量下限未満であった。アカラブルチニブ投与群におけるアカラブルチニブの血漿中濃度は、50 mg/kg/日群では投与後 9 時間まで、100 及び 150 mg/kg/日群では 24 時間の採血期間を通じて概ね定量可能であった。

授乳期の雌ラットにアカラブルチニブを 50、100 及び 150 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回経口投与したときの血漿で、TK を評価した。 $t_{1/2}$  は 2.82～4.27 時間であった。全身曝露量 ( $C_{max}$  及び  $AUC_{(0-t)}$ ) は用量比を上回る増加を示した。

検討したいずれの用量においても、妊娠又は授乳期の母動物の平均体重、体重増加量及び摂餌量にアカラブルチニブの影響は認められなかった。

50 mg/kg/日群の母動物では、一般状態及び生存率に有害な影響は認められなかった。100 mg/kg/日群の母動物 1 例及び 150 mg/kg/日群の母動物 2 例を胎児性分娩異常又は不完全分娩により瀕死屠殺した。屠殺前に異常分娩に関連する一般状態の変化が認められた。過去のアカラブルチニブの生殖発生毒性試験（試験 2219-088 及び 2219-109）では、低頻度で異常分娩が認められており、本試験でも発現率が低かったものの、アカラブルチニブ投与に起因する毒性所見と考えられた。50 mg/kg/日群の分娩パラメータは対照群と同程度であった。

母動物に認められた肉眼所見として、すべてのアカラブルチニブ投与群で下頸リンパ節及び／又は縦隔リンパ節の赤色化が認められた。これらの変化は、両リンパ節に影響がみられたことからアカラブルチニブに関連する可能性が考えられるが、病理組織学的検査を実施していないため、この関連性について確定的な評価はできなかった。母動物の投与終了時の剖検では、明らかにアカラブルチニブ投与に関連した器官重量の変化は認められなかった。

全アカラブルチニブ投与群の平均生存児数は、対照群の平均値と同程度であった。いずれの用量においても、離乳前又はF1出生児の選択後に評価したF1出生児の雌雄比、一般状態、体重、肉眼所見、間引き出生児の外表検査、及び器官重量にアカラブルチニブ投与に関連する影響は認められなかつた。検討された用量において、授乳期に実施されたF1出生児の反射、感覚、発達、聴覚反応、性的成熟、及び神経薬理学的評価にアカラブルチニブの影響は認められなかつた。

検討した用量では、FOBパラメータ、自発運動、学習及び記憶にアカラブルチニブの影響は認められなかつた。検討した用量で、試験継続のために選択されたF1動物の性周期、交尾、受胎能及び繁殖能、並びに子宮着床データにアカラブルチニブの影響は認められなかつた。

これらの結果に基づき、100 mg/kg/日以上の用量で低頻度の異常分娩が認められたことから、母動物に対する無毒性量は50 mg/kg/日と判断され、無毒性量における授乳20日のAUC<sub>(0-t)</sub>は1420 ng·h/mLであった。F1動物における生存率、発育、並びに身体的・機能的発達に対する無毒性量は150 mg/kg/日と判断された。

### 2.6.6.6.3 幼若動物を用いる試験

予定している適応症の対象集団は成人であるため、幼若動物を用いたアカラブルチニブの毒性試験は実施していない。

### 2.6.6.7 局所刺激性試験

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つた。

### 2.6.6.8 その他の毒性試験

#### 2.6.6.8.1 抗原性試験

反復投与毒性試験又は臨床試験においてアカラブルチニブが抗原性を示すエビデンスが認められなかつたことから、抗原性試験は実施しなかつた。

#### 2.6.6.8.2 免疫毒性試験

反復投与毒性試験又は臨床試験においてアカラブルチニブが免疫学的影響をもたらすエビデンスが認められなかつたことから、免疫毒性試験は実施しなかつた。

#### 2.6.6.8.3 毒性発現機序解明のための試験

毒性発現機序解明のための試験は実施していない。臨床での曝露量に近い非臨床試験での曝露において認められた主な所見は、概ねアカラブルチニブの薬理学作用に起因するものであった。BTK阻害薬で一般的に観察されるラット特異的臍臓所見の考察検討については、2.6.6.8.7.3項及び非臨床試験の概括評価2.4.3.11項に記載した。

#### 2.6.6.8.4 依存性試験

安全性薬理試験及び反復投与毒性試験、又は臨床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つたことから、アカラブルチニブの依存性試験は実施しなかつた。

### 2.6.6.8.5 代謝物の試験

ヒトで特定されたアカラブルチニブの主な代謝物 (ACP-5862) はラット及びイヌにおいても経口投与後に代謝物として認められたため、ACP-5862 を単独で評価する試験は実施しなかった。

### 2.6.6.8.6 ACP-196 の工程由来物質、不純物及び分解生成物の安全性確認のための試験

不純物E\* を除くすべての工程由来不純物及び分解物の毒性は、ICH Q3A 及び Q3B ガイドラインに従いアカラブルチニブの GLP 適用一般毒性試験で評価されている。これらの不純物の内で不純物E\* については、アカラブルチニブの毒性試験で使用したロットに含有されていなかったため、GLP 適用 14 日間反復投与毒性試験 (2219-063) を実施した。原薬及び製剤中の不純物の申請規格に関する詳細な根拠は、CTD2.3.S.4.5 に記載されている。アカラブルチニブで実施された毒性試験の無毒性量も考慮し、これらの不純物に対して出荷規格が設定された。原薬及び製剤中の各不純物の適格レベルを計算するために使用された情報を表 5 に示す。

表 5 アカラブルチニブの工程由来不純物の規格データ

Impurity	Acceptance criterion (%w/w) <sup>c</sup>	Batch	Impurity level in qualification batch (%)	Study	Dose (mg/kg/day) used for calculation	Impurity level at acalabrutinib NOAEL dose (mg/kg/day)	Level qualified based on 200 mg dose (%) <sup>b</sup>
不純物E*	0.3	[REDACTED]	6.49	2219-063	25	1.62	40.6
不純物F*	0.4	[REDACTED]	0.1	2219-029	100	0.1	2.5
不純物G*	0.5	[REDACTED] /	0.27	2219-098	30	0.08	2.0
不純物C*	0.4	[REDACTED] /	0.06	2219-084	100 <sup>a</sup>	0.06	1.5
不純物D*	0.3	[REDACTED]	0.27	2219-063	25	0.07	1.7
不純物B*	0.6	[REDACTED]	0.21	2219-029	100	0.21	5.3
不純物A*	0.6	[REDACTED]	0.12	2219-029	100	0.12	3.0

<sup>a</sup> NOAEL dose in male rats in study 2219-084

<sup>b</sup> Level qualified in 200 mg dose (%) = (impurity level at acalabrutinib NOAEL dose mg/kg/day x 100) x (50 kg person/200 mg daily dose)

<sup>c</sup> The higher specification value among drug substance or drug product is indicated here.

ICH M7 (R1) ガイドラインのハザード評価の要件に従い包括的なリスクベースのアプローチを実行し、7つすべての不純物の変異原性を評価した。ICH M7 (R1) ガイドラインは、不純物を評価するための最新の手法を提供し、リスク評価に使用可能である。すべての工程由来関連物質は、ICH M7 (R1) ガイドラインに従い、DEREK 及び Leadscape を使用した定量的構造活性相關 (QSAR) 分析を行った。またすべての QSAR 結果について、専門家のレビューが実施された。2 つのシステムを利用した QSAR 解析で予測がいずれも陰性であった場合、専門家は QSAR システムのデータベースの範囲を調査し、対象の化合物がシステムのルール/データセットでカバーされていることを慎重に評価した。ICH M7 (R1) ガイドラインによれば、2 つの補完的な QSAR シ

システムにより構造アラートがないことは、その不純物には変異原性の懸念がないと結論付けるのに十分であり、それ以上の試験は必要ないとされている。

アカラブルチニブの不純物（不純物E\*、不純物A\*、不純物F\*、不純物B\*、不純物G\*、不純物C\*及び不純物D\*）のQSAR解析結果を表6に示す。7つすべての不純物のいずれについても、構造的なアラートは確認されなかった。不純物E\*、不純物A\*、不純物B\*及び不純物C\*については、QSARシステムのルール/データセットによる適用範囲が不十分であるとみなされたため、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施して評価することにより、QSARによる予測の裏付けを確認した。これらの不純物は復帰突然変異試験の結果が陰性であり、ICH M7 (R1) ガイドラインの注1に記載されているように、さらなる遺伝毒性評価が必要であるとは考えられなかった。その他3つの不純物（不純物F\*、不純物G\*及び不純物D\*）は、QSAR評価により構造アラートがなかったこと、復帰突然変異試験結果が陰性であった不純物A\*、不純物B\*及び不純物C\*と構造が類似していることから（表6）、復帰突然変異試験は実施しなかった。ICH M7 (R1) では必要とされていないが、不純物E\*については *in vitro* 染色体異常試験を実施し、その結果は陰性であった（試験 AE24KN.341ICH.BTL）。

表6 アカラブルチニブの工程由来不純物のQSAR評価結果

Identity	Structure	SAR Result		Ames test/study No.	Impurity Classification*
		DEREK	Leadscope		
ACP-196 Acalabrutinib		Negative	Negative	Negative 503223	Class 5
不純物E*		Negative	Negative	Negative AE24KN.502ICH.BTL	Class 5
不純物A*		Negative	Negative	Negative AE25YJ.502005ICH.BTL	Class 5
不純物F*		Negative	Negative	Not tested	Class 5

Identity	Structure	SAR Result		Ames test/study No.	Impurity Classification*
		DEREK	Leadscope		
不純物B*		Negative	Negative	Negative AE28XD.502005ICH.BTL	Class 5
不純物G*		Negative	Negative	Not tested	Class 5
不純物C*		Negative	Negative	Negative AE38BU.502008ICH.BTL	Class 5
不純物D*		Negative	Negative	Not tested	Class 5
Class 5 impurity: No structural alert using two QSAR prediction methodologies that complement each other or availability of sufficient data to demonstrate lack of mutagenicity or carcinogenicity (ICH M7 (R2)).					

#### 2.6.6.8.6.1 試験 AE25YJ.502005ICH.BTL : 細菌を用いた復帰突然変異試験 ( 不純物A\* )

概要表 2.6.7.17.2 項参照

本 GLP 適用かつ OECD ガイドライン準拠試験の目的は、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、数種類のネズミチフス菌株の特定の遺伝子座及び大腸菌株 WP2uvrA のトリプトファン遺伝子座における復帰突然変異誘発性を指標として、アカラブルチニブの製造工程由来不純物及び分解生成物である 不純物A\* の変異原性を評価することであった。

本変異原性試験は、1 プレートあたり 15.0、50.0、150、500、1500、3333、4000 及び 5000  $\mu$ g の用量で実施した。最初の試験は、ジメチルスルホキシド (DMSO) に対する被験物質 (不純物\* 、ロット [REDACTED]) の溶解度の限界により中止された。その後、最初の試験と同じ用量を用いて、DMSO をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) で 9:1 に希釀した溶液を溶媒とし、新しいロットの被験物質 ( 不純物A\* 、ロット [REDACTED] ) を用いて、変異原性試験を再度実施した。析出及び毒性は認められなかった。代謝活性化系の存在下及び非存在下で、いずれの試験菌株においても突然変異誘発は認められなかった。

本試験の結果から、不純物A\* は代謝活性化系の存在下及び非存在下で、数種類のネズミチフス菌株の特定の遺伝子座及び大腸菌株 WP2<sub>uvrA</sub> のトリプトファン遺伝子座で突然変異を誘発しないことが示された。

#### 2.6.6.8.6.2 試験 AE28XD.502005ICH.BTL : 細菌を用いた復帰突然変異試験（不純物B\*）

概要表 2.6.7.17.2 項参照

本GLP適用かつOECDガイドライン準拠試験の目的は、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、数種類のネズミチフス菌株の特定の遺伝子座及び大腸菌株 WP2<sub>uvrA</sub> のトリプトファン遺伝子座における復帰突然変異誘発性を指標として、アカラブルチニブの工程由来不純物である不純物B\* の変異原性を評価することであった。

本変異原性試験は、1プレートあたり 15.0、50.0、150、500、1500、3333、4000 及び 5000 µg の用量で実施した。析出及び毒性は認められなかった。代謝活性化系の存在下及び非存在下で、いずれの試験菌株においても突然変異誘発は認められなかった。

本試験の結果から、不純物B\* は代謝活性化系の存在下及び非存在下で、数種類のネズミチフス菌株の特定の遺伝子座及び大腸菌株 WP2<sub>uvrA</sub> のトリプトファン遺伝子座で突然変異を誘発しないことが示された。

#### 2.6.6.8.6.3 試験 AE38BU.502008ICH.BTL : 6穴プレート法による細菌を用いた復帰突然変異試験（不純物C\* を含む ACP-196 ロット）

概要表 2.6.7.17.2 項参照

本GLP適用かつOECDガイドライン準拠試験の目的は、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、数種類のネズミチフス菌株の特定の遺伝子座及び大腸菌株 WP2<sub>uvrA</sub> のトリプトファン遺伝子座における復帰突然変異誘発性を指標として、アカラブルチニブの工程由来不純物である不純物C\* の変異原性を評価することであった。10% (w/w) の不純物C\* を添加した1ロットのアカラブルチニブを用いて不純物C\* の遺伝毒性を検討した。

本試験は、6穴プレート法を用いて、1穴あたり 0.300、1.00、3.00、10.0、30.0、100、300 及び 1000 µg の用量で実施した。析出は認められなかった。代謝活性化系の非存在下で、試験菌株 TA100 の 1000 µg で毒性（復帰突然変異コロニー数の減少）が認められた。代謝活性化系の存在下では、TA98において最大 2.2 倍の復帰突然変異コロニー数の増加が認められた。しかしながら、個々の復帰突然変異体数はいずれも背景データの範囲内であったことから、この増加は変異原性を示すものではないと考えられた。代謝活性化系の存在下及び非存在下で、いずれの試験菌株においても突然変異誘発は認められなかった。陰性及び陽性対照の結果は、変異原性試験で予測される範囲内であり、適切な試験と判断するための基準をすべて満たしていた。

本試験の結果から、10% (w/w) の不純物C\* を添加したアカラブルチニブは、6穴プレート法による細菌を用いた復帰突然変異試験で突然変異誘発性を示さないと考えられた。

#### 2.6.6.8.6.4 試験 AE44YR.502005ICH.BTL : 細菌を用いた復帰突然変異試験（不純物H\*）

概要表 2.6.7.17.2 項参照

本 GLP 適用かつ OECD ガイドライン準拠試験の目的は、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、数種類のネズミチフス菌株の特定の遺伝子座及び大腸菌株 WP2uvrA のトリプトファン遺伝子座における復帰突然変異誘発性を指標として、出発物質である 不純物H\* の変異原性を評価することであった。本試験は、アカラブルチニブの工程由来物質の QSAR スクリーニングにおいて、変異原性の構造アラートが 不純物H\* で検出されたことを受け実施した。

本変異原性試験は、1 プレートあたり 10.0、25.0、50.0、75.0、150、300、600、1200、2500 及び 5000  $\mu\text{g}$  の用量で実施した。毒性は認められなかった。5000  $\mu\text{g}$ /プレートの用量では、すべての条件下で析出が認められた。TA1537 では代謝活性化系の存在下及び非存在下で陽性反応（それぞれ 5.4 倍及び 8.8 倍の増加）が認められた。代謝活性化系の非存在下では、TA100 において最大 1.5 倍の増加が認められた。これらの増加に用量依存性はなく、各陰性対照値の 2 倍以上の増加は認められなかったが、3 つの高用量の殆どの復帰突然変異体数が背景データを超えていた。TA1537 で明らかな陽性反応が示されたことから、TA100 に対する反応性確認のための再試験は必要ないと判断した。

これらの結果から、不純物H\* は、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、TA1537 の特定の遺伝子座で復帰突然変異を誘発することが示された。

この試験の結果から、不純物H\* は、ICH M7 ガイドラインに基づくクラス 2 の変異原性不純物と考えられ、otoxicology の懸念の閾値（即ち、予想される総投与期間が 1 年～10 年の薬剤では 10  $\mu\text{g}/\text{日}$ ）以下に管理する。よって、1 日投与用量（200 mg）に基づき、アカラブルチニブ原薬の出荷試験における 不純物H\* の規格値を ■ ppm 以下と設定した。

#### 2.6.6.8.6.5 試験 AE24KN.502ICH.BTL : 細菌を用いた復帰突然変異試験 ( 不純物E\* を含む ACP-196 ロット )

概要表 2.6.7.17.2 項参照

本 GLP 適用かつ OECD ガイドライン準拠試験の目的は、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、数種類のネズミチフス菌株の特定の遺伝子座及び大腸菌株 WP2uvrA のトリプトファン遺伝子座における復帰突然変異誘発性を指標として、アカラブルチニブの工程由来不純物である不純物E\* の変異原性を評価することであった。不純物E\* を含有する 1 ロットのアカラブルチニブ（ロット ■ : 8.2% [6.49% (w/w) ] の 不純物E\* を含有）を用いて、不純物E\* の遺伝毒性を評価した。

本試験で検討した最高用量は 5000  $\mu\text{g}$ /プレートであった。この用量は濃度 50.0 mg/mL の試験液 100  $\mu\text{L}$  を分注して作製した。本試験では、1 プレートあたり 15、50、150、500、1500、3333、4000 及び 5000  $\mu\text{g}$  の用量で実施した。代謝活性化系の存在下及び非存在下で、いずれの試験菌株においても突然変異誘発性は認められなかった。代謝活性化系の存在下で、TA98 において復帰突然変異コロニー数が増加した（最大 1.5 倍の増加）。しかしながら、(1) 変異原性陽性と判断するための基準を満たしていなかった、(2) 用量相関性は認められなかった、及び (3) 反応ピークにおける復帰突然変異コロニー数の平均値が、本試験菌株の溶媒対照の背景データの範囲内であったことから、この増加は変異原性を示すものではないと考えられた。3333  $\mu\text{g}$ /プレート以上の濃度で析出が認められた。毒性（復帰突然変異コロニーの減少）は、3333 又は 4000  $\mu\text{g}$ /プレート以上で一部の試験条件下で認められた。

本試験の結果から、6.49% (w/w) の 不純物E\* を含有するアカラブルチニブは、細菌を用いた復帰突然変異試験で陰性と結論付けられた。

2.6.6.8.6.6 試験 AE24KN.341ICH.BTL：ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験（不純物E\* を含有する ACP-196 ロット）

概要表 2.6.7.17.2 項参照

本 GLP 適用かつ OECD ガイドライン準拠試験の目的は、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、ヒト末梢血リンパ球を用いて、アカラブルチニブの工程由来不純物である 不純物E\* の染色体構造異常誘発性を評価することであった。不純物E\* を含有する 1 ロットのアカラブルチニブ（ロット [REDACTED] : 8.2% [6.49% (w/w) ] の 不純物E\* を含有）を用いて、不純物E\* の遺伝毒性作用を検討した。

本試験では、代謝活性化系非存在下で 4 時間処理群の 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上、代謝活性化系存在下で 4 時間処理群の 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上、及び 20 時間処理群の 80  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上の濃度で細胞毒性が認められた。薬剤処理期間終了時には、代謝活性化系非存在下で 4 時間処理群の 325  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上、及び代謝活性化系存在下で 4 時間処理群の 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  以上で目視可能な析出が認められた。各処理条件で検討された最高用量は、処理期間終了時に処理培地における溶解限界を超えた、又は分裂指数の約 50±5% の減少を示し、本試験に関するガイドラインで推奨される限界量を満たした。

代謝活性化系の存在下又は非存在下を問わず、いずれの処理群でも構造又は数的異常（倍数性又は核内倍加を伴う細胞）の有意又は用量依存的な増加は認められなかった ( $p>0.05$ 、Fisher の正確確率及び Cochran-Armitage 検定)。

本試験の結果から、6.49% (w/w) の 不純物E\* を含有するアカラブルチニブは、哺乳類細胞を用いた染色体異常試験で染色体異常誘発性を示さないと結論付けられた。

2.6.6.8.6.7 試験 2219-063 : ACP-196（ロット [REDACTED]）の Wistar Han ラットを用いた 14 日間経口投与毒性試験

概要表 2.6.7.17.2 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、Wistar Han ラットに製造工程由来不純物（不純物E\*）を高濃度で含有するアカラブルチニブを 1 日 1 回 14 日間強制経口投与したときの毒性を検討することであった。雌雄ラットにアカラブルチニブ（8.2% [6.49% (w/w) ] の 不純物E\* を含有するロット [REDACTED]；以下「ロット [REDACTED]」）を 0、2.5、5 又は 25 mg/kg/日の用量で、又はアカラブルチニブ（高濃度の 不純物E\* を含有しないロット；以下「アカラブルチニブ」）は 25 mg/kg/日の用量で投与した。

アカラブルチニブ及びロット [REDACTED] を投与したすべての動物において、全身曝露量に性差が認められた。

雌では、 $\text{AUC}_{(0-24)}$  及び  $\text{C}_{\text{max}}$  はほぼ用量に比例して増加した。雄では、1 日目の  $\text{C}_{\text{max}}$  が用量比をやや下回る増加を示したことを除き、 $\text{AUC}_{(0-24)}$  及び  $\text{C}_{\text{max}}$  はほぼ用量に比例して増加した。いずれの用量でもロット [REDACTED] を反復経口投与したとき、雌雄共に全身曝露量は変化しないと考えられた。

雌で用量補正（25 mg/kg/日）した  $\text{AUC}_{(0-24)}$  及び  $\text{C}_{\text{max}}$  を比較したところ、アカラブルチニブとロット [REDACTED] の曝露量は同程度であることが示唆された。雄で用量補正（25 mg/kg/日）した  $\text{AUC}_{(0-24)}$  及び  $\text{C}_{\text{max}}$  を比較したところ、14 日目の  $\text{C}_{\text{max}}$  がロット [REDACTED] と比較してアカラブルチニブ投与動物でやや低かったことを除き、アカラブルチニブとロット [REDACTED] の曝露量は同程度であることが示唆された。

ロット [REDACTED] を投与したとき、不純物E\* の全身曝露量に性差はみられなかった。また、雌雄共に 不純物E\* の AUC<sub>(0-24)</sub>はほぼ用量に比例して増加し、不純物E\* の C<sub>max</sub>は用量比を下回る増加を示した。ロット [REDACTED] を反復投与したとき、不純物E\* の全身曝露量は変化しないと考えられた。

被験物質に関連する死亡は認められなかった。一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理学検査パラメータ、肉眼所見、器官重量に被験物質に関連する影響は認められなかった。アカラブルチニブ 25 mg/kg/日を投与した雄 1 例に有害でない被験物質に関連する膵臓病変（膵島細胞の変性、出血、線維化、混合細胞炎症及びマクロファージの色素沈着）が認められたことを除き、被験物質に関連する病理組織学的所見は認められなかった。

アカラブルチニブ及びロット [REDACTED] のアカラブルチニブの無毒性量は、いずれも 25 mg/kg/日と判断された。

ロット [REDACTED] の無毒性量 (25 mg/kg/日) における 14 日目のアカラブルチニブの AUC<sub>(0-24)</sub>及び C<sub>max</sub>は、雄ではそれぞれ 990 ng•h/mL 及び 497 ng/mL、雌では 1820 ng•h/mL 及び 1130 ng/mL であった。無毒性量における雄及び雌の 14 日目の 不純物E\* の AUC<sub>(0-24)</sub>及び C<sub>max</sub>は、それぞれ 55.3 ng•h/mL 及び 10.6 ng/mL であった。

### 2.6.6.8.7 その他の試験

*In vitro* ニュートラルレッド取り込み試験で光毒性を評価し、UV 照射を含む復帰突然変異試験で光変異原性を評価した。また、*in vitro* 溶血性試験を実施して、静脈内投与製剤の安全性リスクを評価した。

複数の *in vivo* 試験を実施し、アカラブルチニブの特性を検討した。ヒトでの静脈投与をサポートする目的で、ラット及びイヌを用い静脈内投与時の影響を検討した。ラットで観察された膵臓所見を更に検討するための毒性試験も実施した。その中で、ラット系統間の比較及び他の BTK 阻害薬であるイブルチニブの投与も実施した。また、イヌを用いた 28 日間一般毒性試験を実施し、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 特異的阻害剤) の併用投与の非臨床安全性を評価した。本試験は、臨床試験実施の妥当性を示すために実施されたが、イヌにアカラブルチニブを投与したときの非臨床プロファイルに関する追加情報も得られた。

#### 2.6.6.8.7.1 *In vitro* 試験（光毒性試験及び溶血性試験）

アカラブルチニブの化学構造には、波長 290~700 nm におけるモル吸光係数が 1000 cm<sup>-1</sup>M<sup>-1</sup> を超える共役芳香族系が含まれている。そのため、マウス線維芽細胞 (3T3 細胞) を用いて *in vitro* 光毒性スクリーニング試験を実施し、長波紫外線 (UVA) 照射又は非照射の条件下でアカラブルチニブの相対的細胞毒性を評価した。更に、アカラブルチニブの UV による活性化を含む復帰突然変異試験を実施し、光変異原性を評価した。

*In vitro* 溶血性試験を実施し、ヒト全血及び血漿を用いて、アカラブルチニブの静脈内投与毒性試験のために開発された静脈内投与製剤の溶血性又は析出性を検討した。

##### 2.6.6.8.7.1.1 試験 R2013001 : ACP-196 の 3T3 細胞を用いた予備的 *in vitro* 光毒性試験

概要表 2.6.7.17.3 項参照

本 GLP 非適用試験の目的は、3T3 細胞ニュートラルレッド取り込み光毒性試験においてアカラブルチニブの光毒性を予測することであった。

最初の試験では、アカラブルチニブは光毒性を示さないと考えられた。2回目の試験では、アカラブルチニブの 50% 阻害濃度 ( $IC_{50}$ ) は  $100 \mu\text{M}$  であり、光毒性を示すと判断された。

本 *in vitro* 3T3 細胞ニュートラルレッド取り込みスクリーニング試験では、高曝露量でアカラブルチニブの光毒性が示唆されたものの、明確な結論は得られなかった。

#### 2.6.6.8.7.1.2 試験 9316-101051：マウス BALB/c 3T3 細胞株を用いた *in vitro* 光毒性試験

概要表 2.6.7.17.3 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、 $5 \text{ J/cm}^2$  の UVA 照射下及び非照射下で、複数濃度のアカラブルチニブ及び対照物質に曝露し、ニュートラルレッド取り込みを指標として細胞生存を評価することにより、アカラブルチニブの光毒性を検討することであった。

UVA 非照射下では、細胞生存率の 82.7% 未満への減少はみられなかった。UVA 照射下では、細胞生存率が 1.6% に低下し、50% 有効濃度 ( $EC_{50}$ ) は  $32.7 \mu\text{g/mL}$  ( $70 \mu\text{M}$ ) と算出された。この結果から、アカラブルチニブの Photo irritation factor は 13.138 と算出され、3T3 細胞ニュートラルレッド取り込み光毒性試験において高濃度のアカラブルチニブは光毒性を示すと考えられた。

#### 2.6.6.8.7.1.3 試験 503224：ネズミチフス菌を用いた紫外線照射下における ACP-196 の光変異原性試験

概要表 2.6.7.17.3 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、UV 照射下でネズミチフス菌株におけるヒスチジン要求性からヒスチジン非要求性への復帰突然変異をアカラブルチニブが誘発することであった。

いずれの試験菌株においても、3330 及び  $5000 \mu\text{g}$ /プレートの濃度でプレート上にアカラブルチニブの析出が認められた。検討したいずれの濃度においても背景細菌叢は減少しておらず、復帰突然変異体数に生物学的に意義のある減少は認められなかった。本試験において、陰性対照群及び菌株特異的な陽性対照群の値は許容基準の範囲内であり、試験条件が適切であること、及び UV 活性化系が適切に機能していることが示された。陽性対照物質は、UV 照射下でのみ陽性反応を示した。

アカラブルチニブは、5 種類それぞれの試験菌株 (TA1535、TA1537、TA98、TA102 及び TA100) において復帰突然変異 (ヒスチジン非要求性) コロニー数の有意で用量依存的な増加を誘発しなかった。本試験の結果から、アカラブルチニブは、UV 照射下のネズミチフス菌を用いる復帰突然変異試験で変異原性を示さなかった。

以上、アカラブルチニブの光毒性評価を行ったところ、ニュートラルレッド取り込み試験で、非常に高い濃度 ( $>70 \mu\text{M}$ ) でのみ、紫外線による細胞毒性への影響が認められた。この *in vitro* における濃度は、ヒトにアカラブルチニブ  $100 \text{ mg}$  を投与したときの定常状態の  $C_{\max}$  の約 29 倍であった。光 Ames 試験において、アカラブルチニブは陰性であった。

#### 2.6.6.8.7.1.4 試験 2219-034：ACP-196 のヒト全血を用いた *in vitro* 溶血性試験

概要表 2.6.7.17.4 項参照

本 GLP 適用試験は、3 濃度のアカラブルチニブ及び／又は溶媒（20%（w/v）ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン [HP-β-CD] 、0.3 N 無水クエン酸 [USP] 、滅菌注射用水、ラクトリングル液 [LRS] ）が *ex vivo* でヒト赤血球の溶血をもたらすか否かを検討するために実施した。本試験では、アカラブルチニブを LRS に 2 mg/mL の濃度で溶解して使用した。

全血中に 0.1、0.2 及び 1 mg/mL の濃度でアカラブルチニブを希釈して曝露し、インキュベーション後に上清及び溶解した赤血球を除去して、ヒト赤血球に対する溶血を評価した。残った赤血球をすべて溶血させ、最終的な上清の吸光度によりアカラブルチニブの存在下又は非存在下での溶血を定量し、溶媒対照及び陽性対照と比較した。血漿蛋白の溶解度に対する影響は、血漿にアカラブルチニブを 1 mg/mL の濃度で加え、沈殿及び混濁の有無を目視検査することで評価した。

アカラブルチニブは、検討した最高濃度である 1 mg/mL までヒト赤血球を溶血させなかつた。溶媒対照及び 1 mg/mL のアカラブルチニブではヒト血漿蛋白に対する影響はみられなかつた。これらの結果から、溶媒対照及び 1 mg/mL の濃度までのアカラブルチニブ溶液は、いずれもヒト血液への適合性が認められると考えられた。

#### 2.6.6.8.7.2 静脈内投与毒性試験

Sprague-Dawley ラットを用いて GLP 適用のアカラブルチニブ単回静脈内投与毒性試験を実施した（試験 2219-027）。更に、1 群のイヌを用いて GLP 適用の拡張型 7 日間急性静脈内投与毒性試験を実施し、アカラブルチニブの単回静脈内投与毒性を評価した（試験 2219-026）。ラット又はイヌにアカラブルチニブを静脈内投与したときに毒性は認められなかつた。

##### 2.6.6.8.7.2.1 試験 2219-027 : ACP-196 のラットを用いた急性静脈内投与毒性試験

###### 概要表 2.6.7.5 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、Sprague-Dawley ラットにアカラブルチニブを単回静脈内投与したときの急性毒性及びトキシコキネティクスを評価することであった。雌雄ラットにアカラブルチニブを 0、6 又は 10 mg/kg の用量で投与した。

全身曝露量には性差は認められなかつた。アカラブルチニブを単回急速静脈内投与したときの  $AUC_{(0-24)}$  及び投与後 0 時間の濃度 ( $C_0$ ) は、ほぼ用量に比例して増加した。

すべての動物が計画剖検時まで生存した。

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査パラメータ、血液凝固検査パラメータ、血液生化学的検査パラメータ、尿検査パラメータ、器官重量、肉眼又は病理組織学的検査において、アカラブルチニブ投与に関連する影響は認められなかつた。本試験の無毒性量は、最高用量である 10 mg/kg と判断された。

無毒性量（10 mg/kg）における雄雌の平均  $AUC_{(0-24)}$  及び  $C_0$  はそれぞれ 1980 ng·h/mL 及び 10700 ng/mL であった。

##### 2.6.6.8.7.2.2 試験 2219-026 : ACP-196 のイヌを用いた急性静脈内投与毒性試験

###### 概要表 2.6.7.17.6 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、イヌにアカラブルチニブを単回急速静脈内投与したとき（A 相）及び 1 日 1 回 7 日間急速静脈内投与したとき（B 相）のアカラブルチニブの急性毒性及び TK を評価することであった。雌雄イヌにアカラブルチニブを A 相では 0、3 又は 5 mg/kg を、B 相では 0 又は 5 mg/kg/日を投与した。A 相では 3 日目に投与終了時の剖検を実施した。B 相では 8 日

目の投与終了時に剖検を実施し、各群残りの3例について、14日間の休薬期間後に剖検を実施した。

全身曝露量に性差はみられなかた。単回急速静脈内投与したときのAUC<sub>(0-24)</sub>及びC<sub>0</sub>はほぼ用量に比例して増加した。反復投与後に全身曝露量の蓄積は認められなかつた。

すべての動物が計画剖検時まで生存した。一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理的検査（血液学的検査【A相のみ】、血液凝固検査、血液生化学的検査又は尿検査）パラメータ、肉眼所見、器官重量、又は病理組織学的検査において、被験物質投与に関連する所見は認められなかつた。

B相の8日目の投与終了時の検査で、5mg/kg/日群の雌に試験前値と比較して循環赤血球量の軽度の減少が認められた。循環赤血球量の減少はアカラブルチニブ投与に起因すると考えられたが、概して変化量が少なく、網状赤血球に意義のある変化は認められなかつたことから、毒性とはみなさなかつた。休薬期間後の採血では、循環赤血球量の減少に部分的な回復が認められた。雄では、いずれの採血時点でも同様の変化は認められなかつた。単回投与及び7日間反復投与の無毒性量は5mg/kg/日と判断された。

無毒性量（5mg/kg/日）を単回投与したときのAUC<sub>(0-24)</sub>は3030ng·h/mL、反復投与7日目のAUC<sub>(0-24)</sub>は3290ng·h/mLであった。

#### 2.6.6.8.7.3 ラットにおける脾臓所見の考察試験

ラットを用いた複数のGLP適用及びGLP非適用毒性試験を実施し、ラット脾臓で認められる病理組織学的变化の特性を検討したところ、この変化はラットの種特異的な背景病変（Erickson et al 2017）のアカラブルチニブ投与による増悪であると考えられた。

雄ラットで脾臓の背景病変の発現が高かつたため、雄ラットを用いて2件のGLP非適用試験を実施した。雄Sprague-Dawleyラットにアカラブルチニブ又はイブルチニブのいずれかを投与し、14又は28日後に組織を検査した（試験2219-005、2.6.6.8.7.3.1項）。Wistar Han雄ラットにアカラブルチニブを投与し、28日後に組織を検査した（試験2219-040、2.6.6.8.7.3.3項）。更に低用量のアカラブルチニブを用いて3件のGLP適用試験を実施した（Sprague-Dawleyラットを用いた28日間試験（試験2219-010、2.6.6.8.7.3.2項）、Sprague-Dawleyラットを用いた13週間試験（試験2219-041、2.6.6.8.7.3.4項）、及びWistar Hanラットを用いた13週間試験（試験2219-050、2.6.6.8.7.3.5項））。2件の13週間の試験の目的は、脾臓背景病変の増悪に対する年齢及び長期投与の影響を検討することであった。通常、ラットの毒性試験では試験開始時に7～9週齢の動物を使用したが、ラット26週間反復投与試験（試験2219-084、2.6.6.3.2.5項）で使用したラットは、試験前期間が長かつたため（KLHによる一次免疫を実施するため）、投与開始時に12～14週齢であった。

ラットを用いた毒性試験で得られた結果を総合的に評価すると、ほとんどの試験で脾臓所見は毒性とはみなされなかつた。初期の毒性評価では、アカラブルチニブ投与群において脾臓所見の明らかな増悪及び背景病変との類似性がみられたが、血液生化学又はその他の関連する所見はみられなかつたことから、脾臓所見の有害性は不確定であると考えられた。そのため、初期に実施された28日間試験では、ラットの脾臓所見は有害又は有害性不確定と判断された。その後、長期曝露期間及び週齢の高いラットで、臨床病理学的又はその他の脾臓機能障害の徴候が認められなかつたことから、これらの脾臓所見は毒性変化ではないと判断された。

### 2.6.6.8.7.3.1 試験 2219-005 : ACP-196 及びイブルチニブのラットを用いた 14 日及び 28 日間強制経口投与毒性試験

概要表 2.6.7.17.5 項参照

本 GLP 非適用試験の目的は、雄 Sprague-Dawley ラットにアカラブルチニブ又はイブルチニブを 1 日 1 回 14 日間及び 28 日間投与したときの毒性及びトキシコキネティクスを検討することであった。雄ラットにアカラブルチニブを 0、1.0、2.5、7.5、15 又は 30 mg/kg/日、或いはイブルチニブを 30 mg 又は 100 mg/kg/日の用量で投与した。イブルチニブ投与群は、膵島及び膵外分泌部の組織病理学所見に対する他の BTK 阻害剤の影響を評価するために設けた。イブルチニブは経口バイオアベイラビリティが低いため、高用量範囲のイブルチニブを用いた。雄は自然発生の背景病変を呈しやすい傾向があり、アカラブルチニブ投与による膵臓所見の発現頻度及び重症度も雄で高かったことから（試験 502513、2.6.6.3.2.2 項）、本試験では雄ラットを使用した。

雄ラットにアカラブルチニブ又はイブルチニブを 1 日 1 回 14 及び 28 日間強制経口投与したところ、生存率、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理学的所見、剖検所見又は器官重量に明らかな被験物質関連の影響は認められなかった。標準的な組織について詳細な病理組織学的評価を実施した。被験物質に関連した変化は、アカラブルチニブ投与動物及びイブルチニブ投与動物の全用量群において、膵臓の病理組織学的变化（膵島細胞の軽微から中等度の出血／色素沈着／炎症／線維化、並びに膵外分泌腺房及び間質における軽微から中等度の亜急性／慢性の炎症等）のみであった。発現頻度及び重症度が低く、全身への影響がないと考えられたことから、アカラブルチニブ 1.0 mg/kg/日群の膵臓所見は毒性ではないと考えられた。その他の用量で認められた所見は、アカラブルチニブ 1.0 mg/kg/日群の所見と比較して発現頻度及び重症度が高かったが、これらの膵臓所見は、加齢に伴う既知の種特異的な背景変化として知られているものであり、ラットにおける一般状態の変化又は病理学的検査項目との明らかな関連性は認められないことから、有害性は明らかではなかった。

本試験実施当時には、この膵臓所見は確定的ではないものの毒性学的に意義がある可能性があると判断されていたため、ラットに投与したアカラブルチニブ又はイブルチニブの用量範囲で、無毒性量は確定されなかった。アカラブルチニブ 1 mg/kg/日を 28 日間投与したときの AUC<sub>(0-24)</sub> 及び C<sub>max</sub> は、それぞれ 10.7 ng•h/mL 及び 6.73 ng/mL であった。アカラブルチニブ 30 mg/kg/日を 28 日間投与したときの AUC<sub>(0-24)</sub> 及び C<sub>max</sub> は、それぞれ 1010 ng•h/mL 及び 288 ng/mL であった。

### 2.6.6.8.7.3.2 試験 2219-010 : ACP-196 のラットを用いた 28 日間経口投与毒性及び 28 日間回復性試験

概要表 2.6.7.17.5 項参照

本 GLP 適用毒性試験では、用量反応性を評価し、過去の試験で認められた雄 Sprague-Dawley ラットにおける自然発生の背景病変の増悪を検討した。アカラブルチニブは 0、0.5、1.0、2.5 又は 5.0 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 28 日間強制経口投与し、その後 28 日間の休薬期間を設けた。

ラットにアカラブルチニブを強制経口投与したところ、生存、体重、摂餌量及び一般状態に影響は認められなかった。投与に関連する有害でない変化は、アカラブルチニブ 1 mg/kg/日以上の用量群の雄で認められた臨床病理学的変化（好中球及びフィブリノゲン増加）及び病理組織学的所見（軽微～軽度の膵島細胞の出血／色素沈着／炎症／線維化、並びに膵外分泌腺房及び間質における軽微から中等度の亜急性／慢性の炎症等）のみであった。臨床病理学的検査及び病理組織学的検査のいずれの所見も雄ラットで用量反応性が認められ、いずれも休薬期間終了時までに回復した。

本試験期間中に毒性変化は認められなかつたため、無毒性量は最高用量である 5 mg/kg/日と判断された。

無毒性量（5 mg/kg/日）における 28 日目の AUC<sub>(0-24)</sub>は雄雌でそれぞれ 182 ng•h/mL 及び 307 ng•h/mL、C<sub>max</sub> は雄雌でそれぞれ 124 ng/mL 及び 248 ng/mL であった。

#### 2.6.6.8.7.3.3 試験 2219-040 : ACP-196 の Wistar Han ラットを用いた 28 日間経口投与毒性試験

概要表 2.6.7.17.5 項参照

本 GLP 非適用試験の目的は、雄 Wistar Han ラットにアカラブルチニブを 28 日間投与したときの毒性を評価することであった。過去の試験で認められた種特異的な膵臓所見を検討するため、Wistar Han を選択した。雄は自然発生の背景病変を呈しやすい傾向があり、アカラブルチニブによる膵臓所見の発現頻度及び重症度も雄で高かつたことから（試験 502513 : 2.6.6.3.2.2 項、試験 2219-010 : 2.6.6.8.7.3.2 項）、本試験でも雄ラットを使用した。アカラブルチニブは 0、2.5、30 又は 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回投与した。

アカラブルチニブの 1 日 1 回強制経口投与の忍容性は良好であった。すべての動物が計画剖検時まで生存した。

体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査パラメータ、血液凝固検査パラメータ、血液生化学的検査パラメータ、尿検査パラメータ、器官重量、又は肉眼所見にアカラブルチニブ投与に関連する影響は認められなかつた。流涎の増加はアカラブルチニブ投与に起因すると判断されたが、試験進行に伴い頻度が減少し、他にアカラブルチニブに関連する生存中の所見は認められなかつたため、有害変化ではないと判断された。

膵臓においてアカラブルチニブに関連する有害でない病理組織学的所見として、膵島出血、炎症、線維化、及び／又は色素沈着（2.5 及び 30 mg/kg/日群の 6 例中 1 例、100 mg/kg/日の 6 例中 2 例）、並びに膵外分泌腺房腺炎症（30 mg/kg/日群の 6 例中 2 例、100 mg/kg/日の 6 例中 1 例）が低頻度で認められた。腎臓又はその他の組織に投与に関連する所見は認められなかつた。本試験の無毒性量は、最高用量の 100 mg/kg/日と判断された。

無毒性量（100 mg/kg/日）における AUC<sub>ALL</sub> 及び C<sub>max</sub> はそれぞれ 5760 ng•h/mL 及び 3170 ng/mL であった。

#### 2.6.6.8.7.3.4 試験 2219-041 : ACP-196 のラットを用いた 91 日間経口投与毒性及び 28 日間回復性試験

概要表 2.6.7.17.5 項参照

本 GLP 適用試験の目的は、雌雄 Sprague-Dawley ラットにアカラブルチニブを 1 日 1 回 13 週間投与したときの毒性を評価すること、及び 28 日間の休薬期間後の回復性、進行又は遅延して発現する変化を検討し、特に膵臓の背景病変の増悪に対する週齢及び低用量での長期投与の影響を検討するために実施した。アカラブルチニブは 0、1.0、2.5 又は 5 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。

高用量として設定されていた 5 mg/kg/日が、13 週目に調製過誤（本試験の最終週の投与後に発覚）のため、実際には 3.83 mg/kg/日となっていた。本試験の最終週までに使用したすべての投与媒体は規格の範囲内であり、TDAR 評価は 13 週目までに完了していたため、試験で認められた所見の解釈に製剤調製過誤の影響はなかつた。

全身曝露量 ( $AUC_{(0-24)}$ ) には性差が認められた（雌>雄）。雌雄共に（すべての用量及び採取日において）アカラブルチニブを反復経口投与したとき、全身曝露量に一貫した変化（2倍超）は認められなかった。

雌では、29日目の値を除き、検討した用量範囲において、全身曝露量及び  $C_{max}$  はほぼ用量に比例して増加した。雄の全身曝露量及び  $C_{max}$  は、1日目はほぼ用量に比例して増加したが、29、56及び90日目は、特に 5 mg/kg/日の用量で用量比を上回る増加傾向を示した。

アカラブルチニブの1日1回経口投与の忍容性は良好であった。アカラブルチニブ投与に起因する死亡は認められなかった。体重、摂餌量、眼科学的所見、血液学的検査、血液凝固時間又はフィブリノゲン値、尿検査、又は抗 KLH IgM 又は IgG 反応 (TDAR) にアカラブルチニブに関連する影響は認められなかった。ラットで有害でない用量依存的な流涎の増加が認められた。更に、投与終了時の剖検では、5.0 mg/kg/日群の雌雄で、対照群と比較してグルコースの軽度の減少が認められた。これらの所見はアカラブルチニブ投与に関連する可能性が考えられたが、その程度は小さく、この項目は固有の変動がみられるため、生物学的に重要ではないと考えられた。

アカラブルチニブ投与に関連する肉眼所見は認められなかった。この試験では明確なアカラブルチニブ投与による器官重量の変化は認められなかつたが、1.0 及び 2.5 mg/kg/日投与群の雌雄では平均肝臓重量が有意に増加し、1.0 及び 5.0 mg/kg/日投与群の雌では平均脾臓重量が有意に減少した。これらの変化は休薬期間中に回復した。これら器官重量の変化に関連する病理組織学的又は肉眼所見は認められなかつた。脾臓において有害でないアカラブルチニブ関連の病理組織学的所見として、胰島出血、炎症、線維化、及び／又は色素沈着、並びに胰外分泌腺房腺の炎症が全用量で認められた。病理組織学的検査では、腎臓、脾臓、肝臓及びその他の組織に投与に関連する所見は認められなかつた。本試験の無毒性量は最高用量の 5 mg/kg/日と判断された。

無毒性量は (5 mg/kg/日) における 90 日目の  $AUC_{(0-24)}$  及び  $C_{max}$  は、雄 Sprague-Dawley ラットではそれぞれ 188 ng•h/mL 及び 150 ng/mL、雌 Sprague-Dawley ラットではそれぞれ 347 ng•h/mL 及び 297 ng/mL であった。

#### 2.6.6.8.7.3.5 試験 2219-050 : ACP-196 の Wistar Han ラットを用いた 91 日間経口投与毒性及び 28 日間回復

概要表 2.6.7.17.5 項参照

本 GLP 非適用試験の目的は、雌雄 Wistar Han ラットにアカラブルチニブを 1 日 1 回 13 週間強制経口投与したときの毒性を評価すること、及び 28 日間の休薬期間後の回復性、進行又は遅延して発現する変化を検討することであった。雌雄ラットにアカラブルチニブを 0、2.5、5、7.5 又は 30 mg/kg/日の用量で投与した。本試験は、Wistar Han ラットにおける脾臓の背景病変の増悪に対する週齢及び長期投与の影響を検討するために実施した。本試験の用量は、一般毒性試験での用量範囲と、Sprague-Dawley ラットで脾臓の所見が認められた低用量 (2.5~5 mg/kg) (試験 2219-010、2.6.6.8.7.3.2 項及び試験 2219-041、2.6.6.8.7.3.4 項) との間を埋める用量を選択した。

全身曝露量 ( $AUC_{(0-24)}$ ) には性差がみられた（雌>雄）。雌雄にアカラブルチニブを 28 日間及び 90 日間反復経口投与したとき、いずれの用量でも全身曝露量に変化は認められなかつた。

雌では、1日目及び 90 日目に、検討した用量範囲において、 $C_{max}$  は用量比を下回る増加を示し、 $AUC_{(0-24)}$  は用量比を上回る増加を示した。雄の  $C_{max}$  は、1日目は用量比を下回る増加を示し、90 日目はほぼ用量に比例して増加した。雄の  $AUC_{(0-24)}$  は、1日目ほぼ用量に比例して増加し、90 日目は用量比を上回る増加を示した。

アカラブルチニブの1日1回強制経口投与の忍容性は良好であった。アカラブルチニブ投与に起因する死亡は認められなかった。2.5 mg/kg/日の雄1例を除き、すべての動物が計画剖検時まで生存した。2.5 mg/kg/日の雄1例が90日目に死亡したが、その原因是尿生殖器の炎症／閉塞／結石であり、低用量群の動物であったこと及び他の動物には同様の所見が認められなかったことから、アカラブルチニブとの関連はないと判断された。

一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査所見、臨床病理学所見（血液学的検査、血液生化学検査、血液凝固検査、フィブリノゲン又は尿検査パラメータ）にアカラブルチニブに関連する影響は認められなかった。

器官重量への影響又は肉眼所見は認められなかった。有害でないアカラブルチニブ投与に関連する病理組織学的所見として、膵島出血、炎症、線維化、及び／又は色素沈着が全用量の雄ラットの膵臓で認められた。対照動物及び雌では膵臓の所見は認められなかった。これらの所見は、重症度及び発現頻度が低く、一般症状の変化及び臨床病理学的所見を伴わず、概して影響がみられる膵島数が限られていたことから、有害でないと考えられた。本試験の無毒性量は最高用量の30 mg/kg/日と判断された。

無毒性量（30 mg/kg/日）における90日目のAUC<sub>(0-24)</sub>及びC<sub>max</sub>は、雄Wistar Hanラットではそれぞれ1250 ng·h/mL及び603 ng/mL、雌Wistar Hanラットではそれぞれ1620 ng·h/mL及び1260 ng/mLであった。

#### 2.6.6.8.7.4 併用投与毒性試験

B細胞性悪性腫瘍患者を対象としたアカラブルチニブとACP-319の併用投与試験（ACE-LY-001試験）の開始の妥当性を示すことを目的に、アカラブルチニブとACP-319の併用投与の影響をイヌを用いた28日間一般毒性試験で評価した。また、本試験では、予定しているアカラブルチニブの用法・用量（1日2回投与）を採用した。15 mg/kg/日1日2回併用投与時の1日投与量は、ビーグル犬における無毒性量である30 mg/kg/日に相当する。アカラブルチニブは、早期の臨床試験で使用されたカプセル剤と同等の乾燥顆粒入りカプセル剤を使用した。

##### 2.6.6.8.7.4.1 試験2219-020：イヌを用いた28日間のACP-196及びACP-319併用投与毒性及び28日間回復性試験

概要表2.6.7.17.7項参照

本GLP適用試験の目的は、被験物質（アカラブルチニブ及びACP-319）を併用投与したときのTK及び毒性を検討すること、及びヒトを対象とする臨床試験の妥当性を示すために必要な情報を収集することであった。雌雄イヌにアカラブルチニブ0又は15 mg/kgを1日2回とACP-3190、25又は50 mgを1日2回28日間強制経口投与した。予想される臨床での1日2回投与レジメンに合わせるため、被験薬は朝に1回、その約9時間後に2回目の投与を行った。便宜上、以下に記載する各群の用量は、1日総投与量を用いる。

アカラブルチニブ、ACP-319及びACP-1057（ACP-319の主代謝物）の全身曝露量に性差は認められなかった。

アカラブルチニブの全身曝露量（AUC<sub>(0-24)</sub>）及びC<sub>max</sub>は、アカラブルチニブ30 mg/kg/日とACP-31950又は100 mg/日の併用投与時、及びアカラブルチニブ30 mg/kg/日単独投与時で同程度であった。アカラブルチニブ30 mg/kg/日とACP-31950又は100 mg/日のカプセルを経口併用投与したときのACP-319のAUC<sub>(0-24)</sub>及びC<sub>max</sub>は、1日目及び28日目共にほぼ用量に比例して増加したが、ACP-1057のAUC<sub>(0-24)</sub>及びC<sub>max</sub>は、1日目は用量比を下回る増加を示し、28日目は明らかな増加がみられなかった。ACP-319及びACP-1057のAUC<sub>(0-24)</sub>及びC<sub>max</sub>は、ACP-319100 mg

の単独投与時、あるいは ACP-319 を增量した場合、またはアカラブルチニブ 30 mg/kg/日との併用時でも同程度であった。アカラブルチニブ及び ACP-319 の全身曝露量 (AUC<sub>(0-24)</sub>) は、アカラブルチニブ及び ACP-319 単独又は併用投与後に一貫した変化を示さないと考えられた。ACP-1057 の全身曝露は、ACP-319 単独又はアカラブルチニブとの併用反復投与後に減少 (2 倍超) すると考えられた。ACP-1057 の全身曝露量 (AUC<sub>(0-24)</sub>) は、ACP-319 の全身曝露 (AUC<sub>(0-24)</sub>) より低かった。

全ての動物が計画剖検時まで生存した。

被験物質に関連する一般状態の変化、体重への影響、摂餌量への影響、眼科学的検査所見、凝固時間又は尿検査パラメータの変化、肉眼所見、器官重量の変化、或いは病理組織学的所見は認められなかった。

心電図所見としては、高用量併用群で最終解剖前の測定において心拍数の軽度で有害でない以下の可能性が示されたが、他に被験物質に関連した定性的又は定量的な心電図パラメータの変化は認められなかった。被験物質に関連する血液学的変化として、単球及び／又はフィブリノゲンの軽微で有害でない、可逆的な増加が認められた。これらの増加は雌雄両方の低用量及び高用量併用群で認められ、またアカラブルチニブ又は ACP-319 単独群でも散発的に認められた。被験物質に関連する可能性のある血液生化学的作用として、ACP-319 単独群のイヌ 14 例中 3 例に中等度の可逆的な ALT 増加が認められた。

アカラブルチニブの無毒性量は 30 mg/kg/日、ACP-319 単独投与時又はアカラブルチニブとの併用投与時の ACP-319 の無毒性量は 100 mg/日と判断された。

単独投与群については、無毒性量における 28 日目のアカラブルチニブ単独の AUC<sub>(0-24)</sub>及び C<sub>max</sub> はそれぞれ 9700 ng·h/mL 及び 2470 ng/mL、ACP-319 単独の AUC<sub>(0-24)</sub>及び C<sub>max</sub> はそれぞれ 49600 ng·h/mL 及び 5710 ng/mL であった。高用量併用群については、無毒性量における 28 日目の ACP-196 の AUC<sub>(0-24)</sub>及び C<sub>max</sub> はそれぞれ 13900 ng·h/mL 及び 3220 ng/mL、ACP-319 の AUC<sub>(0-24)</sub>及び C<sub>max</sub> はそれぞれ 43100 ng·h/mL 及び 6220 ng/mL であった。

## 2.6.6.9 考察

一般毒性試験は、マウスでは 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た。更に、胚・胎児発生及び生殖発生毒性試験、並びに一連の遺伝毒性試験及び光毒性試験も実施した。ラット及びイヌにおける代謝物のプロファイリングから、既知のヒト代謝物が網羅されていることが確認された。アカラブルチニブの主要なヒト血漿中代謝物である ACP-5862 は、これらの動物種の血漿中に存在していた。その他の試験としては、ラット及びイヌを用いた静脈内投与試験、ラットを用いて臍臓所見を検討する毒性試験、工程由来物質及び不純物の遺伝毒性試験、不純物の安全性確認を目的とした 14 日間反復投与毒性試験、及びアカラブルチニブと ACP-319 の併用投与を評価する 28 日間反復投与毒性試験を実施した。

マウスでは、28 日間の試験において最大 100 mg/kg/日までの用量で毒性は認められなかった。ラット及びイヌでは、比較的高用量のアカラブルチニブ（ラットでは 100 mg/kg/日以上、イヌでは 30 mg/kg/日以上）を経口投与したときに毒性の標的臓器が確認された。関連する非臨床試験で得られた主な曝露データ及び推奨臨床用量における曝露量の比（安全域）を 2.6.6.9.1 項に要約した。

毒性試験で確認されたアカラブルチニブの安全性プロファイル及びこれらの結果と臨床的安全性との関連については、2.6.6.9.2 項で考察する。

## 2.6.6.9.1 総合的リスク評価

### 2.6.6.9.1.1 主要毒性試験における曝露量

表 7 に主要毒性試験におけるアカラブルチニブの曝露及び非結合曝露パラメータを示し、それらの値と、ヒトに推奨臨床用量（100 mg 1 日 2 回）投与後の曝露量で除した比として安全域を算出した。各毒性試験の最後の TK 評価時点のアカラブルチニブの  $AUC_{(0\text{-last})}$  データと、ヒトに推奨臨床用量を投与後の定常状態の曝露量 ( $AUC_{(24\text{h,ss})}$ ) を比較した。

毒性試験で用いた動物種におけるアカラブルチニブの血漿蛋白非結合率は、ヒト血漿における蛋白非結合率と比べて高かった。血漿蛋白結合率の違いを補正した場合、推定非結合曝露量を指標とすると、マウス、ラット及びイヌと比較してそれぞれ約 15.3 倍、2.6 倍及び 43.7 倍の安全域が得られている。総合的リスク評価では、曝露量比の保守的な推定を行うため、血漿蛋白結合率の補正を行わない AUC 値を用いた。

表 7 主要毒性試験で得られた曝露量データ及び安全域

Summary of Key Toxicology Findings	Dose (mg/kg/day)	Total <sup>a</sup> $AUC_{(0\text{-t})}$ (ng•h/mL)	Unbound <sup>a</sup> $AUC_{(0\text{-t})}$ (ng•h/mL)	Margin <sup>b</sup> (Total ACP-196)	Margin <sup>b</sup> (Unbound ACP-196)
<b>28-Day Mouse Study <sup>c</sup></b>					
NOAEL:	100	3860	950	1.6	15.3
<b>28-Day Rat Study (Sprague-Dawley)</b>					
HNSTD: kidney tubular basophilia, tubular dilation, inflam. infiltrate, minimal to slight tubular degeneration.	100 (M)	4070	326	1.6	5.3
STD <sub>10</sub> : 3M + 3F deaths, kidney gray-white foci, tubular degeneration, tubular dilation, inflam. infiltrate, tubular necrosis and fibrosis; hepatocellular single cell necrosis, hypertrophy; cardiac infiltrates, coagulative necrosis of cardiomyocytes, multifocal mononuclear inflammation (DOS rats only).	100 (F)	6550	524	2.6	8.5
	300 (M)	24300	1944	9.8	31.4
	300 (F)	13700	1096	5.5	17.7
<b>28-Day Rat Study (Wistar Han)</b>					
NOAEL	100 (M)	2630	210	1.1	3.4
	100 (F)	6390	511	2.6	8.2
<b>13-Week Rat Study (Sprague-Dawley)</b>					
NOAEL	100 (M)	2250	180	0.9	2.9
	100 (F)	3700	296	1.5	4.8
<b>6-Month Rat Study (Wistar Han)</b>					
NOAEL (F)	30 (F)	2010	161	0.8	2.6
NOAEL (M)					
LOAEL (F): kidney tubular	100 (M)	4760	381	1.9	6.1

Summary of Key Toxicology Findings	Dose (mg/kg/day)	Total <sup>a</sup> AUC <sub>(0-t)</sub> (ng•h/mL)	Unbound <sup>a</sup> AUC <sub>(0-t)</sub> (ng•h/mL)	Margin <sup>b</sup> (Total ACP-196)	Margin <sup>b</sup> (Unbound ACP-196)
basophilia, subacute/chronic inflammation, and minimal-mild tubular degeneration/necrosis; individual hepatocyte degeneration/necrosis.	100 (F)	8130	650	3.3	10.5
Dose-reduced from 300 mg/kg on Day 14/15 of study. 6 F deaths (Days 66-163), kidney white/tan foci, tubular degeneration/necrosis/mineralization; individual hepatocyte degeneration/necrosis, mitotic figures increased (F only). In 6 DOS rats, myocardial vascular mineralization, and hemorrhage/inflammation/ necrosis.	200 (M)	7930	634	3.2	10.2
300 mg/kg dose stopped due to early deaths. 5 F deaths (Days 8-13), kidney white/tan foci, tubular degeneration/ necrosis; myocardial hemorrhage/inflammation/ necrosis; aortic mineralization.	200 (F)	13000	1040	5.2	16.8
300 (M)	16200	1296	6.5	20.9	
300 (F)	26000	2080	10.5	33.5	
<b>Combined Rat Fertility and EFD Study (Sprague-Dawley)</b>					
NOAEL (female)	200 (F)	17500	1400	7.1	22.6
NOAEL for male fertility parameters. Paternal mortalities (3) in post mating period; white foci on kidneys, red discoloration of kidneys were noted.	300 (M)	19900	1592	8.0	25.7
<b>Rabbit EFD Study</b>					
NOAEL	50	2030	ND	0.8	ND
Maternal inappetance, reduced weight gain, decreased litter/fetal weights, delayed ossification in affected litters.	100	4580	ND	1.8	ND
Maternal mortality beginning on GD18, early termination of group on GD 21-23. Kidney red or tan discoloration; red discoloration and/or red foci on stomach.	200	17800	ND	7.2	ND
<b>Rat PPND study <sup>d</sup></b>					
NOAEL for dams (P)	50	1420	113.6	0.57	1.8
Unscheduled euthanasia/deaths due to dystocia or incomplete delivery (P)	100	4470	357.6	1.8	5.8
Unscheduled euthanasia/deaths due to dystocia or incomplete delivery (P)	150	10300	824	4.2	13.3
NOAEL for offspring (F <sub>1</sub> )	150	ND	ND	ND	ND
<b>28-Day Dog Study</b>					
NOAEL	30 (M)	15300	4835	6.2	78.8
	30 (F)	16600	5246	6.7	84.6

Summary of Key Toxicology Findings	Dose (mg/kg/day)	Total <sup>a</sup> AUC <sub>(0-t)</sub> (ng•h/mL)	Unbound <sup>a</sup> AUC <sub>(0-t)</sub> (ng•h/mL)	Margin <sup>b</sup> (Total ACP-196)	Margin <sup>b</sup> (Unbound ACP-196)
<b>13-Week Dog Study<sup>c</sup></b>					
NOAEL	30	8580	2711	3.5	43.7
<b>9-Month Dog Study<sup>c</sup></b>					
NOAEL	30	15700	4961	6.3	80.0

AUC=area under the concentration-time curve; DOS=dead on study; EFD=embryofetal development; PPND=pre-and postnatal development; P=parent; F=female; GD=gestational day; HNSTD=highest not-severely toxic dose; LOAEL=lowest observed adverse effect level; M=male; ND=not determined; NOAEL=no observed adverse effect level; STD<sub>10</sub>=severely toxic dose in greater than 10%; TK=toxicokinetic.

a Total drug refers to all measurable acalabrutinib within a bioanalytical sample matrix. Unbound drug refers to acalabrutinib that is not bound to plasma proteins within the sample matrix (as determined *in vitro* for each species [Module 2.6.4]). Derivation of Unbound C<sub>max</sub> or AUC: Unbound C<sub>max</sub>=total C<sub>max</sub>•(1-fraction bound); and Unbound AUC=total AUC•(1-fraction bound).

b Exposure margins use denominator of clinical steady-state AUC<sub>(24h,ss)</sub> of 2480\* ng•h/mL (total), 62\*\* ng•h/mL (unbound) in Japanese patients on a therapeutic dosage of 100 mg twice daily (\* 2 x arithmetic mean of steady state AUC<sub>(0-12)</sub> of 1240 ng•h/mL, \*\* Corrected by free fraction of 2.5% in human plasma).

c Male and female exposure parameters were combined for presentation of the data from mouse 28-day study and dog 13-week and 9-month studies.

d TK parameters were determined in dams on Gestation Day 17, exposure of offspring not assessed.

ラット及びイヌを用いた一般毒性試験では、用量補正した曝露量に若干のばらつきが認められたものの、明らかな曝露量-反応傾向が認められた。ラットでは、曝露量が最も高かった群（即ち、雌ラット、調製過誤により過量投与した雄ラット、及び Wistar Han ラット [Sprague-Dawley ラットとの比較]）で、標的臓器における所見の発現頻度及び重症度が高かった。一般毒性試験で 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）が途中死亡した。これらの途中死亡例及び 200 mg/kg/日で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/日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。高用量の投与経験（即ち、試験 2219-096；イヌに MTD を超える用量を投与した薬物動態／薬力学試験）は限られているものの、個々のイヌで明らかな曝露量-反応傾向が認められた。

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、ラット脾細胞の BTK 占有率分析では、ラットのアジュバント誘発関節炎モデルにおいて 1 mg/kg を反復投与した後、投与後 3 時間で目標飽和に達した（薬理試験の概要文 2.6.2 項、試験 R2017007 参照）。イヌでは、アカラブルチニブ 2.5 mg/kg 単回経口投与の 3 時間後及び投与 7 日目のトラフ（投与前）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）。

### 2.6.6.9.1.2 忍容性

マウスを用いた 28 日間毒性試験及びラットを用いた最長 6 カ月間の毒性試験において、100 mg/kg/日まで良好な忍容性を示した。ラットに高用量（300 及び 300/200 mg/kg/日）を投与したとき、主に雌で途中死亡が認められ、これは雌で曝露量が高かったことによると考えられた。イヌを用いた最長 9 カ月間の試験では、30 mg/kg/日まで良好な忍容性を示した。イヌで評価した更に高い用量は MTD を超えていた。イヌ 2 例で MTD を超える用量の投与後に、嘔吐の徵候及び一般状態の悪化が認められ死亡に至った。

### 2.6.6.9.1.3 リンパ組織への影響

リンパ球分画における投与に関連する変化は、BTK 阻害による予想される薬理作用によるものであると考えられた。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、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。

ラット及びイヌを用いた毒性試験では、リンパ組織への影響が認められた。ラットでは、最初の 28 日間試験（試験 502513、2.6.6.3.2.2 項）において投与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。イヌでは、検討した 1 つ以上のリンパ組織に軽微から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（502515 試験、2.6.6.3.3.3 項）では、脾臓重量の減少及び B リンパ球／CD20 陽性細胞の減少が認められ、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。イヌを用いた 13 週間試験（試験 2219-030、2.6.6.3.3.4 項）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、CD8 及び CD4 及び／又は CD20 の染色強度の減少が認められた。また、一部の動物では、リンパ節における CD4 又は CD20 の染色強度の軽微から軽度の減少も観察された。これらの変化は、ほとんどのイヌで休薬期間中に回復し、それ以外では部分的に回復した。

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、2.6.6.3.3.5 項）。より短期間の試験で認められた病理組織学的変化は概ね軽微～軽度であった、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 BCR を介した B 細胞の増殖時には 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 細胞の発達が阻害されると、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）。

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 KLH 接種に対する一次応答を評価し（試験 2219-041、2.6.6.8.7.3.4 項）、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、2.6.6.3.2.5 項）。アカラブルチニブを投与したラットを用いた 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薬理作用が確認された。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、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。

ラットにアカラブルチニブを 5.0 mg/kg/日以下の薬理学的に反応する用量で投与し、TDAR の一次応答を評価した（試験 2219-041、2.6.6.8.7.3.4 項）。50 日目の KLH 摂取後、すべての平均値及び個別値は生物学的変動の予想範囲内と考えられた。64 日目及び 71 日目に、雄では 2.5 及び 5.0 mg/kg/日で、雌では 5.0 mg/kg/日で対照と比較して IgM 応答の軽度の減少が認められた。接種後の最初の評価時点（57 日）では影響が認められず、この項目は変動が大きいため、これらの傾向は生物学的に意義があるものではないと考えられた。

ラット 6 カ月毒性試験で、TDAR の二次（リコール）応答を評価した（試験 2219-084、2.6.6.3.2.5 項）。抗 KLH IgG に対する影響は、対照群と比較して最高用量群の 57 日目及び 64 日目の雌でのみ統計学的に有意な減少がみられた。このような差にもかかわらず、TDAR 変化が生

物学的又は病理学的に重要なことを示唆するような一般症状の所見や解剖学的又は臨床病理学的項目におけるその他の変化は認められなかった。

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）。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。

#### 2.6.6.9.1.4 ラット脾臓への種特異的影響

いくつかの毒性試験が、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（Imaoka et al 2007）と同様の組織学的特徴を有する脾臓所見を検討のために実施された。。自然発生病変は、高齢ラット、雄及び Sprague-Dawley 及び Zucker 等の肥満を呈しやすい系統により多くみられる（Dilberger 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、脾臓の病理組織学的所見として、脾島の出血／色素沈着／炎症／線維化／並びに脾外分泌腺の亜急性／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脾島の所見は、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、2.6.6.8.7.3.1 項）。脾臓所見は、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。病理組織学的变化は、脾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。

発現機序は不明であるが、これら脾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 阻害剤を投与したところ、自然発症脾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、脾臓所見は認められていない（2.6.6.3.1 項 [マウス] 及び 2.6.6.3.3 項 [イヌ] 参照）。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が、脾臓機能に関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）。

ヒトでは、遺伝的に BTK 活性が欠損していても、脾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。X 連鎖性無ガンマグロブリン血症（XLA）発端者から得られた報告によると、脾臓機能不全は 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 欠損症において脾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脾臓に対する有害な病理組織学的又は機能的变化は生じないと考えられる。

ラットにおける脾臓病変は、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との結論の妥当性を裏付けるものであった。更に、XLA 患者に関する報告に基づくと、BTK 阻害剤を投与されたラットに認められた脾臓病変

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、この結論と完全に合致している。

#### 2.6.6.9.1.5 腎臓への影響

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。いずれの動物種においても、病理組織学的所見として、尿細管の好塩基性変化及び炎症細胞浸潤の増加、尿細管の変性／壞死、拡張及び石灰化が認められた。

いずれの動物種においても短期曝露した動物で曝露量－反応関係がみられ、更に低用量に長期曝露したラットで腎臓所見が認められた。病理組織学的所見は、300/200 mg/kg/日の用量で途中死亡した雌と、投与6カ月まで生存した雌雄とで同様であった。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、2.6.6.3.2.5 項）。一方、イヌを用いた長期投与毒性試験では、30 mg/kg/日の9カ月間の投与期間終了時まで有害な腎臓の所見は認められなかった（試験 2219-098、2.6.6.3.3.5 項）。

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。ラットを用いた長期毒性試験で雄に認められた腎臓の所見は、300/200 mg/kg/日群の軽微な尿細管の好塩基性変化の発現率のわずかな増加のみであった。

一部の試験では無毒性量以下で尿細管の好塩基性変化が認められた。この所見は、尿細管再生又は過形成に関連するものであるが（Hard et al 2009）、毒性ではないと判断された。ラットを用いた最初の28日間試験（試験 502513、2.6.6.3.2.2 項）では、30 mg/kg/日群で腎臓所見として尿細管の好塩基性変化及び炎症性細胞浸潤が認められた。両所見の発現頻度及び重症度は、試験施設の背景データの範囲内であったが、最初の試験の時点では、いずれもアカラブルチニブに関連する変化と判断された。その後実施した反復投与毒性試験（合計5試験、うち3試験はGLP適用試験）では、ラットに30 mg/kg/日の用量を投与したときにアカラブルチニブ投与に関連する腎臓所見は認められなかった。イヌでは、13週間試験（試験 2219-030、2.6.6.3.3.4 項）でのみ投与に関連する尿細管の好塩基性変化が認められた。2件の28日毒性試験、及び9カ月間反復投与毒性試験では、尿細管の好塩基性変化はアカラブルチニブ投与に関連しない背景所見と判断された。総合的な検討の結果、試験 502513 及び試験 2219-030 の 30 mg/kg/日で認められたラットの腎臓所見は、アカラブルチニブに起因しない偶発的な所見である可能性が高いと考えられた。

28日及び6カ月試験において 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カ月間反復投与毒性試験は実施されていない。一方、試験 2219-096 で 30 mg/kg/日を超える用量で腎毒性が認められた。なお、試験 2219-096 は、無毒性量を超える用量を投与した唯一のイヌ試験である。アカラブルチニブの投与経験のあるイヌを用いたこの薬物動態／薬力学試験では、短期間の投与期間（7日以下）後に腎臓への影響が認められた。60又は90/45 mg/kg/日群のイヌ8例中6例に非忍容性の一般症状が認められた。本試験のイヌ12例中2例（途中死亡したイヌ）で組織検査を実施した。これら2例のイヌの重症化／死亡の原因是、腎尿細管変性、壞死及び石灰化と考えられた。30 mg/kg/日を超える用量群では、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、並び他の血液生化学的変化が認められた。これらの腎臓マーカーは 14 日間の休薬期間終了までに部分的又は完全に回復した。

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おり、投与開始後すぐに死亡した動物と長期間の投与を行った動物でかなり類似していた。しかしながら、尿細管の石灰化の発現頻度は、長期投与後の生存ラットの方が高かった。この尿細管の石灰化は、イヌを用いた高用量試験で剖検後の検査において 2 例のイヌの腎皮質で散発的に認められた極性結晶とは異なるものであったが、ラットの腎臓では、極性結晶は認められなかった。イヌ及びラットの病理組織学的所見は非常に類似しており、死亡前に嘔吐及び脱水の一般状態変化がみられたことから、病理組織学的評価からは、結晶は病理組織学的変化の原因とはみなされなかった。一方、尿細管の変性及び／又は石灰化による尿細管流量の減少により、途中死亡したイヌの腎皮質中に結晶が形成された可能性が考えられた。死亡したイヌ 2 例の腎皮質におけるアカラブルチニブ濃度は、最終的な組織分布試験で  $^{14}\text{C}$ -アカラブルチニブ  $100 \text{ mg/kg}$ /日投与 48 時間後のラットで認められたアカラブルチニブ関連の放射能濃度の 1/10 未満であった。

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。腎臓の臨床病理学的所見は最高用量（ラットでは  $300 \text{ mg/kg}$ /日及び  $300/200 \text{ mg/kg}$ /日、イヌでは  $90/45 \text{ mg/kg}$ /日及び  $60 \text{ mg/kg}$ /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。

主要な毒性評価項目に関連する曝露安全域を表 7 に示す。雌ラットに  $100 \text{ mg/kg}$ /日（6 カ月試験で有害な腎臓所見を示した最低用量）を投与したときのアカラブルチニブの曝露量は、推奨臨床用量投与時の曝露量の 3.3 倍であった。イヌに  $60 \text{ mg/kg}$ /日を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  $\text{AUC}_{(24\text{h},\text{ss})}$  の 9.4 倍であった。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（薬理試験の概要文 2.6.2.2.3 項参照）。低用量では亜慢性又は慢性投与でも腎臓の変化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。

ラット及びイヌのいずれにおいても腎臓が毒性の標的臓器であることが確認されたため、臨床試験では、クレアチニンの測定や有害事象の報告を含むモニタリングを実施した。各試験での検査に加えて、アカラブルチニブの単独投与を受けた血液腫瘍患者を対象に安全性の併合解析を実施した結果、腎機能に関連する臨床的に重要な安全性所見は確認されなかった（臨床的安全性の概要 2.7.4 項参照）。

### 2.6.6.9.1.6 肝臓への影響

マウスを用いた毒性試験では、 $100 \text{ mg/kg}$ /日までの用量を 28 日間投与したが、アカラブルチニブによる肝臓への影響は認められなかった。ラットを用いた試験では、 $100 \text{ mg/kg}$ /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、 $30 \text{ mg/kg}$ /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。全般的にこれらの所見は軽微～軽度で、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 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。アカラブルチニブ  $300 \text{ mg/kg}$ /日投与後に途中死亡したラットでは、肝機能に関連する血液生化学的検査値の変化として、投与 2 週間後に複数の肝胆道系マーカー（総ビリルビン、GGT、AST 及び ALT）にわずかな増加が認められた。3 週目から 26 週目まで減量した用量の  $200 \text{ mg/kg}$ /日を投与したラット（試験 2219-084、2.6.6.3.2.5 項）では、投与期間終了時に血液生化学検査値と関連する肝臓の病理組織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～軽度の肝細胞の単細胞変性／壞死が認められ、28 日間及び 13 日間試験では同用量で肝臓の所見は認められなかった。

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 13 週間試験の 30 mg/kg/日群のイヌ 2 例（試験 2219-030、2.6.6.3.3.4 項）及び高用量を 7 日間投与した薬物動態／薬力学試験の 30 mg/kg/日以上の用量群のイヌ数例（試験 2219-096、2.6.6.3.3.2 項）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、2.6.6.3.3.5 項）。

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所見は認められなかつたことから、BTK 標的飽和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。

主要な毒性評価項目に関連する曝露安全域を表 7 に示す。100 mg/kg/日（6 カ月試験で有害な肝臓及び腎臓所見を示した最低用量）を投与した雌ラットにおけるアカラブルチニブの曝露量は、推奨臨床用量投与時の曝露量の 3.3 倍であった。

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、アカラブルチニブを単独投与した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つた（臨床的安全性の概要 2.7.4 項参照）。

#### 2.6.6.9.1.7 心臓への影響

アカラブルチニブのヒト ether-a-go-go 関連遺伝子 (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つた（薬理試験の概要文 2.6.2 項）。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つた。

マウスに 100 mg/kg/日までの用量を 28 日間投与した毒性試験では、心臓への影響は認められなかつた。

アカラブルチニブ投与による心臓の病理組織学的变化は、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。いずれの動物でも 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つた。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～中等度の心筋凝固壞死が認められた（試験 502513、2.6.6.3.2.2 項）。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／壞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、2.6.6.3.2.5 項）。

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つた。途中死亡したラットで、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、重度の腎毒性及び関連する尿毒症により途中死亡した 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た（試験 2219-096、2.6.6.3.3.2 項）。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）。

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 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。アカラブルチニブよりも広いキナーゼ活性を有するイブルチニブ（薬理試験の概要文 2.6.2 項）の投与を受けた患者では、心房細動の発現頻度の増加が報告されている（Leong et al 2016、Gustine et al 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）。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つたことから、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。主要な毒性評価項目に関連する曝露量比を表 7 に示す。300/200 mg/kg/日（途中死亡したラットに投与した最低用量）を投与した雌ラットにおけるアカラブルチニブの曝露量は、推奨臨床用量投与時の曝露量の 5.2 倍であった。尿毒性で死亡したイヌ 2 例における曝露量は、推奨臨床用量におけるヒトでの AUC<sub>(24h,ss)</sub> の 19 倍であった。

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、臨床薬理試験 2.7.2 参照）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。

#### 2.6.6.9.1.8 受胎能、胚・胎児発生及び出生前及び出生後の発生への影響

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。

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 300 mg/kg/日まで、母動物又は父親の受胎能、生殖パラメータ、精子分析、子宮パラメータ、性周期、交配成功率、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つた。これらの用量における曝露量は、臨床試験で患者に 100 mg を 1 日 2 回投与したときの AUC<sub>(24h,ss)</sub> のそれぞれ 7.1 倍及び 8.0 倍であった。

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つて認められた。ウサギに 100 mg/kg/日を投与したときの曝露量は、ヒトにおける AUC<sub>(24h,ss)</sub> の 1.8 倍であった。本試験では、母体における忍容性が認められなかつたため、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つた。

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つた。これらの結果は、アカラブルチニブの作用機序（BTK 阻害）及び高い選択性と合致している。

出生前及び出生後の発生毒性試験では、予備試験及び本試験の 100 mg/kg/日群において、異常分娩又は不完全分娩のため予定外の屠殺／死亡が低頻度で発生した。100 mg/kg/日を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<sub>(24h,ss)</sub> の 1.8 倍であった。アカラブルチニブ及び ACP-5862 は、胎児ラット血漿中、授乳ラットの血漿及び乳汁中、並びに投与した母動物に授乳された仔動物で検出された。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、いずれの用量においても全身毒性は認められなかった。

アカラブルチニブが精液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 17325 draft guidance (Assessment of Male-Mediated Developmental Risk for Pharmaceuticals, FDA 2015) に記載されている方法を使用した。曝露量に基づく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。この解析に基づき、アカラブルチニブの投与を受ける男性患者はバリア避妊法を使用する必要はないと考えられる。

#### 2.6.6.9.1.9 遺伝毒性及び光毒性

標準的な一連の *in vitro* (外因性代謝活性化系(ラット S9)の存在下及び非存在下) 及び *in vivo* の遺伝毒性試験を実施し、遺伝毒性の評価を行った。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、並びに *in vivo* 小核試験では最大 2000 mg/kg/日の用量まで陰性であった。

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検出されたため (臨床的安全性の概要 2.7.4 項)、アカラブルチニブのがん原性試験は実施されていない。同様に、米国において承認された BTK 阻害薬のイムブルビカ® (イブルチニブ) を投与した患者でも二次性悪性腫瘍が認められている。BTK 阻害薬を投与された患者における悪性腫瘍の発生頻度の増加は、これまでに得られている非臨床試験成績から予測されるこれらの薬剤の低がん原性リスクとは相反しており、がん原性試験を実施しても臨床リスク評価の価値を高めるものではないと考えられる。アカラブルチニブは、*in vitro* 又は *in vivo* 試験で遺伝毒性が認められなかったこと、即ち、アカラブルチニブの作用機序は DNA 損傷修復、細胞周期又は染色体正常性に関わるその他の細胞機能の変化を伴わず、一般毒性試験では前がん病変の徵候がみられなかったことから、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 23~37 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エビデンスの重みを合わせて考えると、げっ歯類を用いた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。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。二次悪性腫瘍発生のリスクは、現在の CCDS に記載されており、医薬品リスク管理計画及び添付文書にも記載する予定である。

3T3 マウス線維芽細胞を用いて UV 照射下又は非照射下で、標準的な光毒性試験を実施した。更に、光 Ames 試験を実施し、紫外線照射による変異原性の紫外線による活性化を評価した。3T3 細胞を用いた試験の結果は、ヒトでの C<sub>max</sub> 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<sub>max</sub> 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つ

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。

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。併合した安全性試験全体を通じて、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）。

### 2.6.6.9.1.10 代謝物及び不純物

ヒト・マスバランス試験で、ACP-5862 はヒトにおける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ヒトにおける主代謝物 ACP-5862 の生成が認められた。ACP-5862 はラット肝細胞で生成されたため、ラット S9 を代謝系として用いた試験及びラットを用いた *in vivo* 小核試験において、遺伝毒性は陰性と判断された。一般毒性試験で用いた非臨床試験動物種の血漿中に十分な濃度の ACP-5862 が存在していたため、本代謝物の毒性は評価されていると判断し、安全性確認のための追加の毒性試験は必要ないと考えられた（FDA 2016）。

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。

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（ICHQ3A（R2）、ICH Q3B（R2））及び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、アカラブルチニブの工程由来物質、不純物及び分解生成物の安全性確認を実施した。

毒性試験で使用したアカラブルチニブのロットには、一般毒性試験で安全性確認が適切に行える量の 不純物E\* を除く類縁物質（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 *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施し（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 評価及び復帰突然変異試験において変異原性が陽性であることが確認された。不純物H\* は ■ ppm 以下を規格値として管理する。

### 2.6.6.9.2 アカラブルチニブの安全性プロファイル及びリスク評価

アカラブルチニブの非臨床安全性プロファイルは、CLL 患者の治療のために選択された用量（100 mg 1 日 2 回投）におけるリスク評価が良好であることを裏付けるものであった。

マウスにアカラブルチニブを 100 mg/kg/日まで 28 日間投与したとき、有害な変化は認められなかった。

ラット及びイヌの毒性試験では、毒性の標的臓器（腎臓、肝臓及び心臓）が特定された。ラット及びイヌに MTD を超える用量を投与したとき、途中死亡例で腎臓に肉眼的及び病理組織学的な所見が確認された。胚・胎児発生に関する試験で途中死亡したウサギの腎臓に肉眼所見が認められた。途中死亡したラット及びイヌでは、アカラブルチニブに関連する心臓の所見も認められた。

臨床での AUC<sub>(24h,ss)</sub>に近い曝露量では、非臨床試験動物種において毒性は認められていない。MTD を超える用量群で投与期間終了時に生存していたラット及びイヌの臨床病理学的検査及び解剖学的病理評価で、腎臓及び肝臓が毒性標的臓器として特定された。有害所見は、アカラブルチニブの推奨臨床用量におけるヒトでの AUC<sub>(24h,ss)</sub>と比較して、ラットで 3.3 倍以上、イヌでは 8.2 倍以上の曝露量で発現した。

アカラブルチニブの曝露量が高い場合は、腎臓、肝臓及び心臓が毒性の標的臓器であった。臨床試験においては、これらの標的臓器でみられる事象に関連する安全性データのモニタリング及び調査を定期的に実施している。肝臓、腎臓及び心臓に関連する安全性データは、Integrated Safety Summary 集団を対象に注目すべき事象として評価した。アカラブルチニブの毒性試験で認められた所見は、臨床における曝露量よりも大幅に高い曝露量で認められると考えられるため、動物試験の結果は臨床での安全性に直接関連するものではないと考えられる。

ラットの受胎能及び胚・胎児発生に関する無毒性量における曝露量は、患者における推定臨床曝露量を上回っている。ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、無毒性量におけるアカラブルチニブの曝露量は臨床曝露量とほぼ同程度であった。最小毒性量（母体に毒性が発現する量）と臨床での  $AUC_{(24h,ss)}$  との間には 1.8 倍の安全域が示された。胚・胎児発生に関する試験の結果は、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かった（FDA 2015）。ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験では、F1 出生児に関する無毒性量における母動物でのアカラブルチニブ曝露量は、臨床での  $AUC_{(24h,ss)}$  の 0.57 倍であった。

イヌ及びラットを用いた代謝物評価の結果、ヒトの既知の代謝物が非臨床試験動物種で網羅されていることが示された（薬物動態試験の概要文 2.6.4 項）。ACP-5862 を含む重要な代謝物はイヌ及びラットでも生成されたため、アカラブルチニブの一般毒性プログラムで実施した評価により未変化体及び代謝物の影響を十分に説明でき、リスク評価は妥当であると考えられる。

毒性プログラムにおいて、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。出発物質の 1 つ（不純物 H\*）が、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た。本不純物は同 M7 ガイドラインに従って ■ ppm 以下に管理されている。

非臨床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。非臨床安全性評価では、ヒトに予定治療用量を投与したときの  $AUC_{(24h,ss)}$  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、生殖毒性又は光毒性に、アカラブルチニブに起因する毒性は確認されなかった。非臨床試験で、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。

アカラブルチニブの非臨床プログラムの結果は、CLL 患者の治療におけるアカラブルチニブの良好なリスク特性を裏付けるものであった。

## 2.6.6.10 結論

ラットを用いた最大 6 カ月間及びイヌを用いた 9 カ月間の反復投与毒性試験、静脈内投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖及び胚・胎児発生に関する試験、考察毒性試験、光毒性試験及び不純物の評価試験を含む包括的な毒性プログラムでアカラブルチニブの毒性を評価した。

- 反復投与毒性試験でみられた有害でない所見は、BTK に関わる薬理作用と一致するものであった。これらの所見には、リンパ組織及び血中リンパ球集団の変化、並びにラットにおける抗 KLH TDAR 一次及びリコール応答に対する軽微な影響が含まれる。
- ラットにみられた種特異的な臓器所見は臨床的に重要ではないと考えられた。
- 毒性試験において、ACP-5862 を含む主要な代謝物の曝露が認められた。
- ラット及びイヌに高用量を投与したときの毒性の標的臓器は腎臓、肝臓及び心臓であった。長期投与したラットでは、臨床での  $AUC_{(24h,ss)}$  の 3.3 倍の曝露量で軽微～軽度の肝臓

及び腎臓の所見が認められた。ラット及びイヌでは、臨床での AUC<sub>(24h,ss)</sub> の 5.2 倍以上の曝露量で、毒性所見の重症度が増した。

- ラット及びイヌにおける肝臓及び腎臓の所見には回復性が認められた。心臓の所見は高用量 (MTD を超える用量) でのみ認められ、可逆性は確認されていない。
- 遺伝毒性試験において、突然変異誘発性及び染色体異常誘発性を示さなかった。
- 臨床用量に近い用量を用いた生殖発生毒性試験において、アカラブルチニブは胚・胎児発生及び出生児の発育に影響をもたらさなかった。臨床用量での AUC の 1.8 倍の曝露量で、母動物への有害作用 (異常分娩／不完全分娩) が認められた。
- すべての主要な不純物の安全性を毒性プログラム内で確認している。

アカラブルチニブの非臨床毒性プロファイルは、CLL 患者の治療において許容できるものであると考えられた。

### 2.6.6.11 参考文献

#### Advani et al 2013

Advani RH, Buggy JJ, Sharman JP, 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.

#### Banholzer et al 2016

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

#### Benson et al 2014

Benson MJ, Rodriguez V, von Schack D, et al. Modeling the clinical phenotype of BTK inhibition in the mature murine immune system. *J Immunol* 2014;193:185–97.

#### Boonrate et al 2015

Boonrate P, Warasawapati S, Hipkaeo W, et al. Monosodium glutamate dietary consumption decreases pancreatic B-cell mass in adult Wistar rats. *PLOS One* 2015;10:e0131595.

#### Byrd et al 2016

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

#### Dilberger 1994

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

#### Erickson et al 2017

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

#### 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].

**Gustine et al 2016**

Gustine JN, Meid K, Dubeau TE, et al. Atrial fibrillation associated with ibrutinib in Waldenström macroglobulinemia. *Am J Hematol.* 2016;91(6):E312–3.

**Hard et al 2009**

Hard GC, Johnson KJ, Cohen SM. A comparison of rat chronic progressive nephropathy with human renal disease-implications for human risk assessment. *Crit Rev Toxicol.* 2009;39(4):332–46.

**Harrington et al 2016**

Harrington BK, Gardner HL, Izumi R, et al. Preclinical evaluation of the novel BTK inhibitor acalabrutinib in canine models of B-cell non-Hodgkin lymphoma. *PLOS One* 2016;11:e0159607.

**Honiberg et al 2010**

Honigberg LA, Smith AM, Sirisawad M, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 blocks B-cell activation and is efficacious in models of autoimmune disease and B-cell malignancy. *PNAS* 2010;107:13075–80.

**Howard et al 2006**

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

**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.

**Imaoka et al 2012**

Imaoka M, Sayama A, Suzuki T, et al. Effect of hypertension on the occurrence of micro-hemorrhage in the pancreatic islet of Dahl salt-sensitive rats. *J Toxicol Path* 2012;25:155–61.

**Kokhaei et al 2016**

Kokhaei P, Jadidi-Niaragh F, Sotoodeh JA, et al. Ibrutinib- a double-edge sword in cancer and autoimmune disorders. *J Drug Targeting* 2016;24:373–85.

**Leong et al 2016**

Leong DP, Caron F, Hillis C, et al. The risk of atrial fibrillation with ibrutinib use: a systematic review and meta-analysis. *Blood* 2016;128:138-40.

**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.

**McMullen et al 2014**

McMullen JR, Boey EJ, Ooi JY, et al. Ibrutinib increases the risk of atrial fibrillation, potentially through inhibition of cardiac PI3K-Akt signaling. *Blood*. 2014 Dec 11;124(25):3829–30.

**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 Metab Dispos*. 2019;47(2):145–54.

**Robinson and Robinson 2016**

Robinson NA and Robinson WF. Cardiovascular system. In: Maxie MG, editor. *Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals*, 6<sup>th</sup> edition, Vol 3. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier; 2016:1–101.

**Tucker and Rule 2015**

Tucker DL, Rule SA. A critical appraisal of ibrutinib in the treatment of mantle cell lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Ther Clin Risk Manag*. 2015;11:979–90.

**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*, 4<sup>th</sup> edition. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier; 2007:559–611.

**Winkelstein et al 2008**

Winkelstein JA, Conley ME, James C, et al. Status of adults with X-linked agammaglobulinemia. *Medicine (Baltimore)* 2008;87:253–8.

---

第2部 CTD の概要

一般名：アカラブルチニブ

版番号：[REDACTED]

---

---

2.6.7 毒性試験概要表  
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
2.6.7.1 毒性試験：一覧表	3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表	8
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧	9
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧	16
2.6.7.5 単回投与毒性試験	19
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験	20
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験	28
2.6.7.7.1 マウス反復投与試験	28
2.6.7.7.2 ラット反復投与試験	30
2.6.7.7.3 イヌ反復投与毒性試験	55
2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験	65
2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験	72
2.6.7.10 がん原性試験	73
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験	74
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び胚・胎児発生に関する試験	82
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験	85
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	89
2.6.7.15 新生児を用いた試験	96
2.6.7.16 局所刺激性試験	97
2.6.7.17 その他の毒性試験	98
2.6.7.17.1 代謝物の試験	98
2.6.7.17.2 不純物の試験	98
2.6.7.17.3 光毒性試験	111
2.6.7.17.4 溶血性試験	115
2.6.7.17.5 考察試験	116
2.6.7.17.6 静脈内投与毒性試験	121
2.6.7.17.7 併用毒性試験	122

### 2.6.7.1 毒性試験：一覧表

					Test Article: ACP-196 (アカラブルチニブ)		
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	GLP	Testing Facility	Study Number	CTD Volume Section
<b>Single-Dose Toxicity</b>							
Rat (Sprague-Dawley; M+F)	Intravenous	Once	6,10 mg/kg	Yes	[REDACTED], US	2219-027	4.2.3.1.1
<b>Repeat-Dose Toxicity Non-Pivotal</b>							
Mouse (Crl:CD1; M+F)	Oral gavage	28-day	10, 30, 100 mg/kg/d	No	[REDACTED], US	2219-053	4.2.3.2.1
Rat (Sprague-Dawley; M)	Oral gavage	14-day	10, 60, 180, 500 mg/kg/d	No	[REDACTED], The Netherlands	090267	4.2.3.2.2
Dog (Beagle; M+F)	Oral gavage	7-day	10, 30 mg/kg/d	No	[REDACTED], The Netherlands	502514	4.2.3.2.3
Dog (Beagle; M)	Oral capsule	7-day	30, 45, 60, 90 mg/kg/d	No	[REDACTED], US	2219-096	4.2.3.2.4
Dog (Beagle; M+F)	Oral gavage	28-day	3, 10, 30 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], The Netherland	502515	4.2.3.2.10
<b>Repeat-Dose Toxicity Pivotal</b>							
Mouse (CB6F1-Tg(HRAS)2Jic (wt); M+F)	Oral gavage	28-day	10, 30, 100 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], US	2219-044	4.2.3.2.5

					Test Article: ACP-196 (アカラブルチニブ)		
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	GLP	Testing Facility	Study Number	CTD Volume Section
Rat (Sprague-Dawley; M+F)	Oral gavage	28-day	30, 100, 300 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], [REDACTED], The Netherland	502513	4.2.3.2.6
Rat (Wistar Han; M+F)	Oral gavage	28-day	2.5, 7.5, 30, 100 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], [REDACTED], US	2219-049	4.2.3.2.7
Rat (Sprague-Dawley; M+F)	Oral gavage	13-week	10, 30, 100 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], [REDACTED], US	2219-029	4.2.3.2.8
Rat (Wistar Han; M+F)	Oral gavage	6-month	30, 100, 300/200 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], [REDACTED], US	2219-084	4.2.3.2.9
Dog (Beagle; M+F)	Oral capsule	13-week	5, 10, 30 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], [REDACTED], US	2219-030	4.2.3.2.11
Dog (Beagle; M+F)	Oral capsule	9-month	10, 30 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], [REDACTED], US	2219-098	4.2.3.2.12
<b>Genotoxicity</b>							
<i>S. typhimurium</i> (four strains) and <i>E. coli</i> (1 strain)	In vitro	48 h incubation	100, 333, 1000, 3330, 5000 µg/plate (+/- S9)	Yes	[REDACTED], [REDACTED], The Netherland	503223	4.2.3.3.1.1
Human peripheral blood lymphocytes	In vitro	1 <sup>st</sup> Assay: 3 h 2 <sup>nd</sup> Assay: 24 & 48 h (-S9); 3 h (+S9)	1 <sup>st</sup> Assay: 3, 10, 33, 100, 333 µg/plate (+/- S9) 2 <sup>nd</sup> Assay: 3, 10, 20, 30, 50, 60, 100, 150, 200, 300, 400 µg/plate (+/- S9)	Yes	[REDACTED], [REDACTED], The Netherland	503225	4.2.3.3.1.2
Rat (Sprague-Dawley; M+F)	Oral gavage	Once	ACP-196: 500, 1000, 2000 mg/kg	Yes	[REDACTED], [REDACTED], US	AD92XN.12 5M012ICH.BTL	4.2.3.3.2.1

				Test Article: ACP-196 (アカラブルチニブ)			
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	GLP	Testing Facility	Study Number	CTD Volume Section
<b>Carcinogenicity</b>							
None							
<b>Reproductive and Developmental Toxicity</b>							
Rat (Sprague-Dawley; F)	Oral gavage	GD 6 to GD 17	5, 25, 50, 100 mg/kg/d	No	[REDACTED], US	2219-031	4.2.3.5.2.1
Rabbit (New Zealand White; F)	Oral gavage	GD 6 to GD 18	5, 25, 50, 100, 200 mg/kg/d	No	[REDACTED], US	2219-032	4.2.3.5.2.2
Rat (Sprague-Dawley; M+F)	Oral gavage	Males: 28 days prior to mating throughout study Females: 14 days prior to mating to GD 17	Males: 30, 100, 300 mg/kg/d Females: 30, 100, 200 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], US	2219-088	4.2.3.5.1.1
Rabbit (New Zealand White; F)	Oral gavage	GD 6 to GD 18	50, 100, 200 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], US	2219-075	4.2.3.5.2.3
Pilot pre- and postnatal development, Rat (Sprague Dawley; F)	Oral gavage	GD 6 to LD 12	100, 200, 300 mg/kg/d	No	[REDACTED], US	2219-109	4.2.3.5.3.1
Pre- and postnatal development, Rat (Sprague Dawley; F)	Oral gavage	GD 6 to LD 20	50, 100, 150 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], US	2219-111	4.2.3.5.3.2
<b>Local Tolerance</b>							
None							
<b>Other Toxicity Studies</b>							

					Test Article: ACP-196 (アカラブルチニブ)		
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	GLP	Testing Facility	Study Number	CTD Volume Section
<i>S. typhimurium</i> (four strains) and <i>E. coli</i> (1 strain)	In vitro	48-72 h	不純物A* at 15, 50, 150, 500, 1500, 3333, 4000, 5000 µg/plate (+/- S9)	Yes	[REDACTED], US	AE25YJ.502 005ICH.BT L	4.2.3.7.6.1
<i>S. typhimurium</i> (four strains) and <i>E. coli</i> (1 strain)	In vitro	48-72 h	不純物B* at 15, 50, 150, 500, 1500, 3333, 4000, 5000 µg/plate (+/- S9)	Yes	[REDACTED], US	AE28XD. 502005ICH .BTL	4.2.3.7.6.2
<i>S. typhimurium</i> (four strains) and <i>E. coli</i> (1 strain)	In vitro	48-72 h	不純物C* at 0.300, 1.00, 3.00, 10.0, 30.0, 100, 300, and 1000 µg/well	Yes	[REDACTED], US	AE38BU.50 2008ICH.B TL	4.2.3.7.6.3
<i>S. typhimurium</i> (four strains) and <i>E. coli</i> (1 strain)	In vitro	48-72 h	不純物H* at 10.0, 25.0, 50.0, 75.0, 150, 300, 600, 1200, 2500, and 5000 µg/plate	Yes	[REDACTED], US	AE44YR.50 2005ICH.B TL	4.2.3.7.6.4
<i>S. typhimurium</i> (four strains) and <i>E. coli</i> (1 strain)	In vitro	48-72 h	不純物E* [Lot [REDACTED]] at 15, 50, 150, 500, 1500, 3333, 4000, 5000 µg/plate (+/- S9)	Yes	[REDACTED], US	AE24KN.50 2ICH.BTL	4.2.3.7.6.5
Human peripheral blood lymphocytes	In vitro chromosomal aberrations	20 h (-S9); 4 h with 16 h recovery period +/-S9	不純物E* [Lot [REDACTED]] at 5-450 µg/mL	Yes	[REDACTED], US	AE24KN.34 1ICH.BTL	4.2.3.7.6.6
Rat (Wistar Han; M+F)	Oral gavage	14-day	不純物E* [Lot [REDACTED]] at 5, 25 mg/kg/d	Yes	[REDACTED], US	2219-063	4.2.3.7.6.7
<i>S. typhimurium</i> (five strains)	In vitro phototoxicity	Pre-incubation for 30 min; UV exposure for 10 min; incubation for 48 h	100, 333, 1000, 3330, 5000 µg/plate (-S9)	Yes	[REDACTED], The Netherland	503224	4.2.3.7.7.1
Mouse 3T3 cells	In vitro phototoxicity	1 h	0-250 µM (run 1); 0-2, 500 µM (run 2)	No	Acerta Pharma BV 5342 CC Os, The Netherlands	R2013001	4.2.3.7.7.2

					Test Article: ACP-196 (アカラブルチニブ)		
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	GLP	Testing Facility	Study Number	CTD Volume Section
Mouse 3T3 cells	In vitro phototoxicity	1 h	2-430 µg/mL	Yes	[REDACTED] [REDACTED], US	9316-101051	4.2.3.7.7.3
Human whole blood	Ex vivo hemolysis	2 min	0.1, 0.2, 1.0 mg/mL	Yes	[REDACTED] [REDACTED], US	2219-034	4.2.3.7.7.4
Rat (Sprague-Dawley; M)	Oral gavage	14-day and 28-day	ACP-196 at 1.0, 2.5, 7.5, 15, 30 mg/kg/d Ibrutinib at 30, 100 mg/kg/d	No	[REDACTED] [REDACTED], US	2219-005	4.2.3.7.7.11
Rat (Sprague-Dawley; M+F)	Oral gavage	28-day	0.5, 1, 2.5, 5 mg/kg/d	Yes	[REDACTED] [REDACTED], US	2219-010	4.2.3.7.7.5
Rat (Wistar Han; M)	Oral gavage	28-day	2.5, 30, 100 mg/kg/d	No	[REDACTED] [REDACTED], US	2219-040	4.2.3.7.7.6
Rat (Sprague-Dawley; M+F)	Oral gavage	13-week	1, 2.5, 5 mg/kg/d	Yes	[REDACTED] [REDACTED], US	2219-041	4.2.3.7.7.7
Rat (Wistar Han; M+F)	Oral gavage	13-week	2.5, 5, 7.5, 30 mg/kg/d	Yes	[REDACTED] [REDACTED], US	2219-050	4.2.3.7.7.8
Dog (Beagle; M+F)	Intravenous	Once; (7-day)	3, 5 mg/kg	Yes	[REDACTED] [REDACTED], US	2219-026	4.2.3.7.7.9
Dog (Beagle; M+F)	Oral gavage	28-day	ACP-196 at 0 or 30 mg/kg/d + ACP-319 at 0, 50, or 100 mg/d	Yes	[REDACTED] [REDACTED], US	2219-020	4.2.3.7.7.10

F=female; GD=gestation day; LD=Lactation Day; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; NA=not applicable; S9=supernatant fraction 9 from liver tissue homogenate; UV=ultraviolet

### 2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg/d)	GLP	Study Number	CTD Volume Section
28-day dose range finding	Mouse	Oral gavage	10, 30, 100	No	2219-053	4.2.3.2.1
28-day dose range finding	Mouse	Oral gavage	10, 30, 100	Yes	2219-044	4.2.3.2.5
14-day toxicity	Rat	Oral gavage	10, 60, 180, 500	No	090267	4.2.3.2.2
14- and 28-day toxicity	Rat	Oral gavage	1, 2.5, 7.5, 15, 30	No	2219-005	4.2.3.7.7.11
28-day toxicity	Rat	Oral gavage	30, 100, 300	Yes	502513	4.2.3.2.6
28-day toxicity	Rat	Oral gavage	0.5, 1, 2.5, 5	Yes	2219-010	4.2.3.7.7.5
28-day toxicity	Rat	Oral gavage	2.5, 30, 100	No	2219-040	4.2.3.7.7.6
28-day toxicity	Rat	Oral gavage	2.5, 7.5, 30, 100	Yes	2219-049	4.2.3.2.7
13-week toxicity	Rat	Oral gavage	10, 30, 100	Yes	2219-029	4.2.3.2.8
13-week toxicity	Rat	Oral gavage	1, 2.5, 5 (3.83)	Yes	2219-041	4.2.3.7.7.7
13-week toxicity	Rat	Oral gavage	2.5, 5, 7.5, 30	Yes	2219-050	4.2.3.7.7.8
6-month toxicity	Rat	Oral gavage	30, 100, 300/200	Yes	2219-084	4.2.3.2.9
7-day toxicity	Dog	Intravenous	3, 5	Yes	2219-026	4.2.3.7.7.9
7-day toxicity	Dog	Oral capsule	30, 45, 60, 90	No	2219-096	4.2.3.2.4
28-day toxicity	Dog	Oral gavage	3, 10, 30	Yes	502515	4.2.3.2.10
28-day toxicity	Dog	Oral gavage	ACP-196: 30; ACP-319 <sup>a</sup> : 50, 100	Yes	2219-020	4.2.3.7.7.10
13-week toxicity	Dog	Oral capsule	5, 10, 30	Yes	2219-030	4.2.3.2.11
9-month toxicity	Dog	Oral capsule	10, 30	Yes	2219-098	4.2.3.2.12
Reproductive	Rats	Oral gavage	Males: 300 Pregnant females: 30, 100, 200	Yes	2219-088	4.2.3.5.1.1
Reproductive	Pregnant Rabbit	Oral gavage	5, 25, 50, 100, 200	No	2219-032	4.2.3.5.2.2
Reproductive	Pregnant Rabbit	Oral gavage	50, 100, 200	Yes	2219-075	4.2.3.5.2.3
Reproductive	Pregnant	Oral gavage	100, 200, 300	No	2219-109	4.2.3.5.3.1

GLP=Good Laboratory Practice.

<sup>a</sup> dosing in mg/day

### 2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Dose (mg/kg/day)	Study Number	Overview of Toxicokinetics Data – Steady State AUC Test Article: ACP-196					
		Mice AUC <sub>all</sub> (ng•h/mL)					
		M+F Day 1	M+F Day 28				
10	2219-053 (28-day non-GLP)	444	459				
30		930	1660				
100		5470	7710				
		Mice AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)					
		M+F Day 1	M+F Day 28				
10	2219-044 (28-day GLP)	266	270				
30		1210	701				
100		5530	3860				
		Rats AUC (μmol•h/L) <sup>a</sup>					
		M Day 1	M Day 14				
10	090267 (14-day non-GLP)	1.74	1.25				
60		17.3	9.4				
180		31.4	22.9				
500		87.6	103.1				

Dose (mg/kg/day)	Study Number	Overview of Toxicokinetics Data – Steady State AUC Test Article: ACP-196					
		Rats AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)					
		M Day 1	M Day 14	M Day 28			
1	2219-005 (14 and 28-day non-GLP)	42.6	19.0	10.7			
2.5		85.4	63.7	67.2			
7.5		201	200	363			
15		498	378	400			
30		1160	473	1010			
		Rats AUC <sub>last</sub> (ng•h/mL)					
		M Day 1	M Day 28	F Day 1	F Day 28		
30	502513 (28-day GLP)	855	901	988	2310		
100		2550	4070	5570	6550		
300		18700	24300	18500	13700		
		Rats AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)					
		M Day 1	M Day 28	F Day 1	F Day 28		
0.5	2219-010 (28-day GLP)	10	14.5	27	26.9		
1		25.1	30.6	46.7	51.9		
2.5		87.2	96.2	142	162		
5		159	182	300	307		

Dose (mg/kg/day)	Study Number	Overview of Toxicokinetics Data – Steady State AUC Test Article: ACP-196					
		Rats AUC <sub>All</sub> (ng•h/mL)					
		M Day 1	M Day 28				
2.5	2219-040 (28-day non-GLP)	128	106				
30		1300	2780				
100		3970	5760				
		Rats AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)					
	2219-049 (28-day GLP)	M Day 1	M Day 28	F Day 1	F Day 28		
2.5		75.4	58.2	115	153		
7.5		245	201	456	367		
30		1060	882	1990	1680		
100		2520	2630	4410	6390		
	2219-029 (13-week GLP)	Rats AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)					
		M Day 1	M Day 90	F Day 1	F Day 90		
10		432	155	812	275		
30		789	792	1490	1630		
100		3800	2250	5210	3700		
		Rats AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)					
	2219-041 (13-week GLP)	M Day 1	M Day 90	F Day 1	F Day 90		
1		25.7	29.8	42.2	72.7		

Dose (mg/kg/day)	Study Number	Overview of Toxicokinetics Data – Steady State AUC Test Article: ACP-196							
		78.4	87.3	137	162				
2.5	2219-050 (13-week GLP)	ND	188	ND	347				
3.83 (Group 8)		116	ND	242	ND				
5 (Group 8)									
		Rats AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)							
	2219-050 (13-week GLP)	M Day 1	M Day 90	F Day 1	F Day 90				
2.5		67.5	55.5	100	105				
5		148	146	262	252				
7.5		186	260	302	405				
30		936	1250	1540	1620				
		Rats AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)							
	2219-084 (6-month GLP)	M Day 1	M Day 28	M Day 91	M Day 182	F Day 1	F Day 28	F Day 91	F Day 182
30		1250	1300	1200	1150	2320	2260	1720	2010
100		4280	5160	8130	4760	9890	8520	10400	8130
300/200		16200/NA	NA/11600	NA/13300	NA/7930	26000/NA	NA/17000	NA/15700	NA/13100
		Mating and Pregnant Rats AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)							
	2219-088 (Males: 28 days prior to mating Females:	M Day 1	M Day 28	F GD 6	F GD 17				
30		ND	ND	2030	ND				
100		ND	ND	10000	6830				
200		ND	ND	15900	17500				

Dose (mg/kg/day)	Study Number	Overview of Toxicokinetics Data – Steady State AUC Test Article: ACP-196						
300	<b>14 days prior to mating to GD 17; GLP)</b>	16300	19900	ND	ND			
		<b>Pregnant Rabbits</b> <b>AUC<sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)</b>						
		<b>F</b> <b>GD 6</b>	<b>F</b> <b>GD 18</b>					
25	<b>2219-032</b> <b>(non-GLP pilot EFD)</b>	682	727					
50		1980	1590					
100		4630	2940					
200		12200	19400					
		<b>Pregnant Rabbits</b> <b>AUC<sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)</b>						
		<b>F</b> <b>GD 6</b>	<b>F</b> <b>GD 18</b>					
50	<b>2219-075</b> <b>(GLP definitive EFD)</b>	2400	2030					
100		6450	4580					
200		14800	17800					
		<b>Pregnant Rats</b> <b>AUC<sub>0-t</sub> (ng•h/mL)</b>						
		<b>F</b> <b>GD 6</b>	<b>F</b> <b>GD 17</b>					
100	<b>2219-109</b> <b>(non-GLP pilot PPND)</b>	10700	9260					
200		23900	17900					
300		28300	26300					

		Overview of Toxicokinetics Data – Steady State AUC Test Article: ACP-196							
Dose (mg/kg/day)		Study Number		Dogs AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)					
		2219-026 (once; 7-day GLP)	M+F Day 1		M+F Day 7				
3				1660	ND				
5				3030	3290				
			Dogs AUC <sub>0-t</sub> (ng•h/mL)						
		2219-096 (7-day non- GLP)	M Day 1		M Day 7				
30				7228	7180				
45				ND	20400				
60				23275	ND				
90				26220	ND				
		Dogs AUC <sub>last</sub> (ng•h/mL)							
		502515 (28-day GLP)	M Day 1		M Day 27	F Day 1		F Day 27	
3				734	1530	437	1440		
10				3120	3880	1900	4330		
30				7370	15300	9870	16600		
		Dogs AUC <sub>last</sub> (ng•h/mL)							
				ACP-196		ACP-319			
		2219-020 (28-day GLP)	M+F Day 1	M+F Day 28		M+F Day 1	M+F Day 28		

Dose (mg/kg/day)	Study Number	Overview of Toxicokinetics Data – Steady State AUC Test Article: ACP-196							
		16100	12800		29800	25800			
30 ACP-196 + 50 mg ACP-319	<b>combination study of ACP-196 and ACP-319)</b>	19000	13800		57300	43100			
30 ACP-196 +100 mg ACP-319		13000	9660		ND	ND			
30 ACP-196 + 0 ACP-319		ND	ND		60400	49600			
0 ACP-196 + 100 mg ACP-319									
		<b>Dogs AUC<sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)</b>							
	<b>2219-030 (13-week GLP)</b>	M+F Day 1	M+F Day 29	M+F Day 58	M+F Day 90				
5		1900	1750	1430	1280				
10		3830	3560	2290	2790				
30		18500	9740	7820	8910				
		<b>Dogs AUC<sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)</b>							
	<b>2219-098 (9-month GLP)</b>	M+F Day 1	M+F Day 24	M+F Day 87	M+F Day 178	M+F Day 269			
10		4000	4230	4170	5320	5050			
30		17500	15500	17600	16800	17400			

AUC=area under the curve; M=male; F=female; GD=gestation day; EFD=Embryofetal development; PPND=prenatal and postnatal development study; GLP=Good Laboratory Practice; ND=not done.

a units in source report were provided as  $\mu\text{mol}\cdot\text{h/L}$

## 2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Drug Substance					Test Article: ACP-196		
Study Material ID	Purity (%) <sup>a</sup>	Assay (%) <sup>b</sup>	Specified Impurities <sup>c</sup>		Study Number	Type of Study	
			Impurity ID	% w/w			
[REDACTED]	96.3	96.3	NA	NA	090267	Non-GLP 14-day rat	
([REDACTED])	96.86	98	不純物A* 不純物G* 不純物D* 不純物J* 不純物K* 不純物L* <sup>d</sup>	0.18 0.15 0.13 0.08 0.17 0.4	2219-005 2219-010 502515 503224 9316-101051 503223 503225 AD92XN.125M012ICH.BTL	Non-GLP 14- and 28-day rat GLP 28-day rat GLP 28-day dog GLP in vitro phototoxicity GLP in vitro phototoxicity GLP in vitro genotoxicity GLP in vitro genotoxicity GLP in vivo micronucleus	
([REDACTED])	94.28	92	不純物I* 不純物F* 不純物A* 不純物G* 不純物J* 不純物K* 不純物L*	0.07 0.12 0.26 0.17 0.20 0.23 0.3	502513 502514 502515	GLP 28-day rat Non-GLP 7-day dog GLP 28-day dog	
([REDACTED])	102	102	NA	NA	2219-020	GLP 28-day dog	

Drug Substance					Test Article: ACP-196	
Study Material ID	Purity (%) <sup>a</sup>	Assay (%) <sup>b</sup>	Specified Impurities <sup>c</sup>		Study Number	Type of Study
			Impurity ID	% w/w		
[REDACTED]	96.94	99	不純物B*	0.21	2219-027	GLP IV single-dose rat
			不純物I*	0.16	2219-026	GLP IV dog
			不純物F*	0.10	2219-053	Non-GLP 28-day mouse
			不純物A*	0.12	2219-044	GLP 28-day mouse
			不純物C*	0.05	2219-063	GLP 14-day rat
			不純物L*	<0.01	2219-040	Non-GLP 28-day rat
					2219-049	GLP 28-day rat
					2219-029	GLP 13-week rat
					2219-041	GLP 13-week rat
					2219-050	GLP 13-week rat
					2219-030	GLP 13-week dog
					2219-031	Non-GLP pilot EFD rat
					2219-032	Non-GLP pilot EFD rabbit
					2219-034	GLP ex vivo hemolysis
					AE38BU502008ICH.BTL	GLP in vitro genotoxicity
[REDACTED]	88.56	90	不純物I*	0.08	2219-063	GLP 14-day rat
			不純物D*	0.27	AE24KN.502ICH.BTL	GLP in vitro genotoxicity
			不純物E*	6.49	AE24KN.341ICH.BTL	GLP in vitro genotoxicity
			不純物J*	0.15	R2015008	Non-GLP in vitro assay
[REDACTED] ( [REDACTED] )	97.8	NA	不純物B*	0.05	2219-084	GLP 6-month rat
			不純物F*	0.07	2219-088	GLP definitive fertility/EFD rat
			不純物A*	0.12		
			不純物E*	0.52		
			不純物C*	0.07		
			不純物G*	0.30		
			不純物D*	0.08		
			不純物L*	0.01		

Drug Substance				Test Article: ACP-196		
Study Material ID	Purity (%) <sup>a</sup>	Assay (%) <sup>b</sup>	Specified Impurities <sup>c</sup>		Study Number	Type of Study
			Impurity ID	% w/w		
██████████	99.0	98	不純物B*	<0.05	2219-084	GLP 6-month rat
			不純物F*	0.05	2219-098	GLP 9-month dog
			不純物A*	0.11	2219-088	GLP definitive fertility/EFD rat
			不純物E*	0.34	2219-075	GLP definitive EFD rabbit
			不純物C*	0.06		
			不純物G*	0.27		
			不純物D*	<0.05		
██████████	98.75	100	不純物A*	0.05	2219-096	Non-GLP 7-day PK/PD dog
			不純物G*	0.10		
			不純物C*	0.10		
██████████	99.03	100	不純物A*	0.08	2219-098	GLP 9-month dog
			不純物F*	0.10		
			不純物C*	0.08		
██████████	98.3	100	不純物E*	<0.05	2219-109	Non-GLP PPND rats
			不純物A*	ND	2219-111	GLP PPND rats
			不純物F*	0.07		
			不純物B*	0.05		
			不純物G*	0.11		
			不純物C*	0.37		

EFD=embryo-fetal development; PPND=pre- and postnatal development; GLP=Good Laboratory Practice; GMP=Good Manufacturing Practice; ID=identification; IV=intravenous; NA=not applicable; ND=none detected; PK=pharmacokinetics; PD=pharmacodynamics; RRT=retention time.

a Purity value was calculated by: Purity % = 100% - (Solvents % + Water % + Inorganic Impurities % + Organic Impurities %).

b Assay results per the proposed commercial specification (on moisture and solvent free basis).

c Specified Impurities are the results of the Test Item (Compound) Characterisation Summary (TI[C]CS) per the proposed commercial test method.

d 不純物L\* was calculated by: 不純物L\* % = (100% - ██████████ %).

### 2.6.7.5 単回投与毒性試験

Species (Strain)	Method of Administration	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	Observed Max Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (Sprague-Dawley)	Intravenous	0 6 10	16M, 16F 16M, 16F 16M, 16F	ND	ND	No ACP-196-related effects were noted in clinical observations, body weights, food consumption, hematology parameters, coagulation parameters, clinical chemistry parameters, urinalysis parameters, organ weights, or macroscopic or microscopic findings. The NOAEL was 10 mg/kg/d.	2219-027

F=female; M=male; ND=Not determined; NOAEL=no observed adverse effect level.

### 2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

		Non-Pivotal Studies			Test Article: ACP-196		
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Mouse (Crl: CD1)	Oral gavage	28 days	0 10 30 100	6M, 6F 6M, 6F 6M, 6F 6M, 6F	100	No ACP-196-related effects were noted in clinical observations, body weights, food consumption, ophthalmology findings, hematology parameters, clinical chemistry analytes (including amylase or lipase), macroscopic observations, organ weight changes, or microscopic findings in this study.	2219-053

F=female; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level.

		Non-Pivotal Studies			Test Article: ACP-196		
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (Sprague-Dawley)	Oral gavage	14 days	0 10 60 180 500	5M 5M 5M 5M 5M	180	<p>10 mg/kg: Mildly increased WBCs and absolute neutrophilic granulocytes. Mild increase in extramedullary erythropoiesis in spleen.</p> <p>60 mg/kg: Mildly increased WBCs and absolute neutrophilic granulocytes. Mildly decreased glucose. Mild increase in extramedullary erythropoiesis in spleen.</p> <p>180 mg/kg: Mildly increased WBCs and absolute neutrophilic granulocytes. Mildly increased cholesterol and estradiol. Mildly decreased glucose and LDH. Moderately increased urine volume with mildly increased osmolality/creatinine and chloride/creatinine ratios. Moderate increase in extramedullary erythropoiesis in spleen (few males). The NOAEL was 180 mg/kg.</p> <p>500 mg/kg: Mildly increased WBCs and absolute neutrophilic granulocytes. Mildly decreased RBCs, hemoglobin and hematocrit. Mildly increased cholesterol and estradiol. Mild to moderately increased triglycerides and phospholipids. Mildly decreased glucose and LDH. Moderately increased urine volume with mildly increased osmolality/creatinine and chloride/creatinine ratios. Moderate increase in extramedullary erythropoiesis in spleen (almost all males).</p>	090267

LDH=lactose dehydrogenase; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level; RBCs=red blood cells; WBC=white blood cells.

		Non-Pivotal Studies			Test Article: ACP-196		
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Dog (Beagle)	Oral gavage	7 days	10 30	1M, 1F 1M, 1F	None reported	No treatment-related findings were noted for clinical signs, body weight, food consumption, hematology and clinical biochemistry parameters. No clear treatment-related macroscopic alterations. Recommendation to use 10 and 30 mg/kg/day in 28-day dog study.	502514

F=female; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level.

		Non-Pivotal Studies			Test Article: ACP-196		
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Dog (Beagle, non-naive)	Oral capsule	3-7 days	30 60 90  Because of clinical signs, the 90 mg/kg dose level was reduced to 45 mg/kg on Day 3 and the 60 mg/kg dose was changed to sham on Day 4.	4M 4M 4M  Not established		<p>Dosing at 30 mg/kg was well tolerated, with minimal to mild increased ALT and ALP in 2 dogs at Day 8 (resolved Day 14) and minimally increased fibrinogen (resolved Day 21).</p> <p>Animals at 60/0 mg/kg had test article-related clinical pathology changes on Day 8, which partially to completely resolved by Day 21. These changes included:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Moderately increased urea nitrogen and creatinine concentration.</li> <li>- Moderately increased fibrinogen concentration and mildly increased globulin concentration; one of four males also had a moderately increased neutrophil count.</li> <li>- Mildly to moderately increased ALT and ALP activity and mildly increased GGT; one of four males also had mildly increased AST</li> <li>- Mildly decreased lymphocyte count</li> <li>- Mildly to moderately increased red cell mass</li> <li>- Mildly decreased serum potassium and chloride concentrations</li> <li>- Mildly increased amylase activity</li> </ul>	2219-096

		Non-Pivotal Studies			Test Article: ACP-196		
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
						<p>Two dogs who survived in the 90/45 mg/kg treatment group displayed similar changes in blood chemistry.</p> <p>Unscheduled deaths occurred in two dogs in the 90/45 mg/kg group. Both animals had notable microscopic findings in the kidneys, heart, and lymphoid tissues (spleen, thymus, and/or gut associated lymphoid tissue). Upon microscopic examination, the cause of death/reason for euthanasia was considered to be kidney tubular degeneration, necrosis, and mineralization.</p>	

ALP=alkaline phosphatase; ALT=alanine aminotransferase; AST=aspartate aminotransferase; GGT=gamma glutamyl transferase; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level.

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity Study with ACP-196 in Male and Female Beagle Dogs Followed By a 4-Week Recovery Period		Test Article: ACP-196			
Species/Strain: Dog/Beagle		Duration of Dosing: 28 days			
Initial Age: 7–8 months		Duration of Post-dose: 28 days			
Date of First Dose: [REDACTED]-[REDACTED]-20[REDACTED]		Method of Administration: Oral gavage			
Vehicle/Formulation: 0.4% Hydroxypropyl methylcellulose with 0.2% Tween 80 in water		GLP Compliance: Yes			
Special Features: 3 animals per sex for each group were assigned to the main study with necropsy on Days 29–30; 2 animals per sex were assigned to the control group and the 30 mg/kg group as recovery animals and were necropsied on Day 57.					
No Observed Adverse Effect Level: 30 mg/kg/day					
GLP=Good Laboratory Practice.					

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5
Toxicokinetics:								
$C_{\max}$ (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	498	270	1730	1120	4340	4810
Day 27	NA	NA	607	532	1750	1980	6910	7320
$AUC_{\text{last}}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	734	437	3120	1900	7370	9870
Day 27	NA	NA	1530	1440	3880	4330	15300	16600
<b>Noteworthy Findings:</b>								
Died or Sacrificed	0	0	0	0	0	0	0	0
Moribund								
Body Weight (g) <sup>a</sup>	---	---	---	---	---	---	---	---
Food Consumption (g/animal/day) <sup>b</sup>	---	---	---	---	---	---	---	---
Tx-related Clinical Observations <sup>c</sup>	---	---	---	---	---	---	---	---
Ophthalmoscopy <sup>d</sup>	---	---	---	---	---	---	---	---

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5
Electrocardiography <sup>c</sup>	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology								
B-cells (mean and SD, % Lymphoid cells)								
Day 27	27.7 (4.5)	21.1 (3.3)	22.0 (1.8) ↓	23.4 (0.7)	15.7 (5.0) ↓	22.0 (3.3)	16.0 (7.8) ↓	16.9 (5.8) ↓
End of Recovery	33.5 (12.0)	19.6 (3.9)	---	---	---	---	16.4 (13.5) ↓	16.9 (5.5) ↓
Serum Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights (mean [g] and % of body weight)								
<b>End of Treatment</b>								
Spleen	30.47 (0.328)	---	32.85 (0.361)	---	32.50 (0.356)	---	26.30 (0.286) ↓	---
Prostate	3.71 (0.039)	---	2.84 (0.031)	---	3.87 (0.042)	---	2.59 (0.029) ↓	---
Epididymides	2.14 (0.023)	---	2.18 (0.023)	---	2.34 (0.025)	---	1.84 (0.020) ↓	---
Testes	11.31 (0.119)	---	10.24 (0.111)	---	13.19 (0.142)	---	9.93 (0.109) ↓	---
<b>End of Recovery</b>								
Spleen	31.37 (0.337)	---	---	---	---	---	27.85 (0.283) ↓	
Prostate	3.72 (0.039)	---	---	---	---	---	5.95 (0.059) ↑	
Epididymides	2.42 (0.026)	---	---	---	---	---	3.15 (0.032) ↑	
Testes	11.01 (0.122)	---	---	---	---	---	13.97 (0.142) ↑	
Gross Pathology								
Dark red discoloration in mesenteric lymph node	---	---	---	2/3	---	2/3	1/3	2/3
Histopathology								
Spleen	1/3	---	2/3	2/3	3/3	2/3	3/3	3/3
Lymphoid depletion								
Mesenteric lymph node								
Congestion / erythrophagocytosis	2/3	---	2/3	1/3	3/3	2/3	3/3	3/3

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
	Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5
Morphometry								
B-cell (CD20) Staining								
Spleen	---	---	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Mandibular lymph node	---	---	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Mesenteric lymph node	---	---	↓	↓	---	↓	↓	↓
Post-dose Evaluation:								
Number Evaluated		2	2	0	0	0	0	2

AUC=area under the curve; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; NA=not applicable; SD=standard deviation; Tx=treatment.

- a Body weight and weight gain of treated animals remained in the same range as controls over the 4-week study and recovery periods.
  - b Food consumption was similar between treated and control animals during treatment and recovery. Minor statistically significant changes in food consumption were considered to be of no toxicological significance.
  - c No treatment-related clinical signs were noted up to 30 mg/kg. Red discoloration of ears, eyelids and/or mucous membranes of eyes and mouth were observed in dogs of all groups (including control and stock animals) and were not related to treatment with the test compound.
  - d There were no toxicologically relevant ophthalmology findings at pretest and in Week 4.
  - e No treatment-related findings in ECG parameters were noted after treatment up to 30 mg/kg.
  - No treatment-related findings observed.
- ↓ Decreased  
↑ Increased

## 2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

### 2.6.7.7.1 マウス反復投与試験

<b>Report Title: 28-day Oral Dose Range-Finding Toxicity Study with ACP-196 in CByB6F1-Tg(Hras)2Jic (Wild Type) Mice with a 28-Day Recovery</b>		
Species/Strain: Mouse/CByB6F1-Tg(Hras)2Jic Wild Type)	Duration of Dosing: 28 days Duration of Post-dose: 28 days	Study No: 2219-044
Initial Age: 4-8 weeks	Treatment of Controls: Vehicle 10 mL/kg	
Date of First Dose: [REDACTED]-[REDACTED]-20[REDACTED]	Method of Administration: Oral gavage	
Vehicle/Formulation: 0.4% Hydroxypropyl methylcellulose with 0.2% Tween 80 in reverse osmosis water	GLP Compliance: Yes	
Special Features: NA		
NOAEL: 100 mg/kg/day		
GLP=Good Laboratory Practice.		

Gender	Male + Female			
Daily Dose (mg/kg)	0	10	30	100
No. of Animals (TK)	16	112	112	112
Toxicokinetics:				
C <sub>max</sub> (ng/mL)				
Day 1	NA	408	1670	6790
Day 28	NA	431	1400	4570
AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)				
Day 1	NA	266	1210	5530
Day 28	NA	270	701	3860

AUC=area under the curve; C<sub>max</sub>=maximum observed concentration; TK=toxicokinetics.

Gender	Male				Female			
	0	10	30	100	0	10	30	100
Daily Dose (mg/kg)	0	10	30	100	0	10	30	100
No. of Main Study Animals:	16	16	16	16	16	16	16	16
Died/Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (% change)	---	---	---	---	---	---	---	---
Food Consumption (% change)	---	---	---	---	---	---	---	---
<b>Noteworthy Findings</b>								
Gross Pathology								
Thin	0	1	2	0	0	0	0	0
Hematology	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---
Histopathology	---	---	---	---	---	---	---	---
<b>No. of Recovery Animals:</b>	<b>6</b>							
<b>Noteworthy Findings</b>								
Gross Pathology								
Abrasions	0	0	0	0	0	0	0	1
Scabbed area	0	0	0	0	0	0	0	1
Hematology	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---

--- =No treatment-related findings observed; AUC=area under the curve; GLP=Good Laboratory Practice; NA=not applicable; NOAEL=no observed adverse effect level; TK=toxicokinetics.

## 2.6.7.7.2 ラット反復投与試験

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity Study with ACP-196 Followed by a 4-Week Recovery Period in Male and Female Sprague-Dawley Rats		Test Article: ACP-196
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley	Duration of Dosing: 28/29 days	Study No. 502513
Initial Age: 8-9 weeks	Duration of Post-dose: 28 days	Location in CTD: 4.2.3.2.6
Date of First Dose: [REDACTED]-20-[REDACTED]	Method of Administration: Oral gavage	
Vehicle/Formulation: 0.4% Hydroxypropyl methylcellulose with 0.2% Tween 80 in water	GLP Compliance: Yes	
Special Features: 10 animals/sex were assigned to each group in the main study with necropsy on Day 28/29 (End of treatment). An additional 5 animals/sex in groups 1 and 4 were assigned to the recovery group and were followed for another 28 days and then necropsied (End of recovery). An additional 3 animals/sex were assigned to group 1, and 5 animals/sex were assigned to groups 2, 3, and 4 as satellite animals for toxicokinetic assessment. Formulation analysis on Day 21 showed >200% of target concentration in mid and high-dose groups. During the study, the satellite animals for groups 2 and 3 were reassigned to the recovery group and two of the group 4 female satellite animals were re-assigned to the recovery group to replace 2 animals that died.		
No Observed Adverse Effect Level: There were no ACP-196 dose groups without adverse, treatment-related findings.		
GLP=Good Laboratory Practice.		

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300	
Number of Animals (Main, Recovery, and TK)	M: 10, 5, 3	F: 10, 5, 3	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 5, 5	F: 10, 5, 5
Toxicokinetics: C <sub>max</sub> (ng/mL)	NA	NA	284	752	724	1290	1120	1990
	Day 1	NA	348	752	1340	2750	5840	9430
Toxicokinetics: AUC <sub>last</sub> (ng·h/mL)	NA	NA	855	988	2550	5570	18700	18500
	Day 1	NA	901	2310	4070	6550	24300	13700
<b>Noteworthy Findings:</b>								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	3 (one on Day 22 and two on Day 23)	3 (one on Days 10, 12, and 15)
Body Weight (mean and % change)	---	---	---	---	---	---	---	---
Food Consumption % <sup>a</sup>	---	---	---	---	---	---	---	---

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300	
Number of Animals (Main, Recovery, and TK)	M: 10, 5, 3	F: 10, 5, 3	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 5, 5	F: 10, 5, 5
Clinical Observations								
Slight salivation <sup>b</sup> (No. of animals)	---	---	15	15	15	15	20	20
Slight hunched posture (No. of animals/Day of observation)	---	---	1/22, 25-28	1/22	1-2/21-22	1-3/22, 26-28	2-9/21-22, 26-30	1-11/10+
Slight piloerection (No. of animals/Day of observation)	---	---	1/28	3/22	1-4/21-22, 26, 28-31	1/19, 22, 29-30	1-11/12-22, 26-30	1-10/12-22, 28-30
Ophthalmoscopy	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology								
B-cells (mean, SD, % lymphoid cells)								
Day 21/22	34.1 (3.5)	30.6 (5.5)	34.7 (8.3)	26.0 (4.8)	26.2 <sup>e</sup> (2.8)↓	27.2 (5.5)	27.8 <sup>d</sup> (6.8)↓	26.9 (3.9)
Recovery Day 28	39.5 (6.1)	35.1 (5.4)	27.4 <sup>d</sup> (3.7)↓	25.6 (5.5)	35.5 (3.1)	31.9 (4.5)	37.0 (6.2)	23.7 <sup>d</sup> (1.8)↓
RBC counts (mean, SD, 10 <sup>12</sup> /L)								
Day 21/22	8.64 (0.34)	8.07 (0.37)	8.54 (0.45)	8.31 (0.15)	8.65 (0.49)	8.08 (0.29)	8.50 (0.39)	7.65 <sup>f</sup> (0.36)↓
HGB (mean, SD, mmol/L)								
Day 21/22	10.3 (0.4)	9.8 (0.3)	10.3 (0.4)	10.0 (0.3)	10.4 (0.4)	9.6 (0.4)	10.2 (0.5)	9.2 <sup>g</sup> (0.4)↓
HCT (mean, SD, %)								
Day 21/22	48.2 (1.6)	44.8 (1.7)	48.1 (1.4)	46.0 (1.5)	48.9 (2.0)	44.5 (1.7)	47.7 (2.2)	41.8 <sup>g</sup> (1.6)↓
Reticulocytes (mean, SD, % RBC)								
Day 21/22	2.2 (0.3)	2.2 (0.4)	2.4 (0.9)	2.5 (0.4)	2.3 (0.4)	2.7 <sup>d</sup> (0.3)↑	2.7 <sup>d</sup> (0.5)↑	3.0 <sup>d</sup> (0.5)↑
WBC (mean, SD, 10 <sup>9</sup> /L)								
Day 21/22	12.8 (1.3)	11.0 (2.3)	16.8 <sup>g</sup> (3.8)↑	13.8 (3.5)	10.9 (1.9)	12.8 (2.7)	13.9 (2.8)	13.0 (5.0)
End of Recovery	8.6 (2.7)	4.9 (1.5)	6.8 (2.4)	4.7 (1.0)	4.8 <sup>f</sup> (1.2)↓	5.1 (2.1)	7.4 (2.7)	6.2 (1.0)

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300	
Number of Animals (Main, Recovery, and TK)	M: 10, 5, 3	F: 10, 5, 3	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 5, 5	F: 10, 5, 5
Serum Chemistry								
ALT (mean, SD) (U/L)								
End of Treatment	41.5 (8.0)	32.1 (5.6)	52.5 (34.8)	38.3 (7.6)	43.6 (6.0)	38.5 (7.2)	42.9 (9.7)	146.5 <sup>f</sup> (196.6)↑
End of Recovery	35.2 (4.0)	31.5 (8.6)	37.6 (5.4)	25.5 (3.3)	33.7 (1.6)	32.1 (3.1)	37.1 (9.1)	29.7 (2.6)
AST								
End of Treatment	96.5 (9.9)	84.6 (6.2)	235.3 (444.1)	85.6 (8.1)	92.8 (10.3)	82.6 (9.0)	92.7 (5.6)	279.3 <sup>f</sup> (302.6)↑
End of Recovery	79.3 (7.6)	75.9 (6.0)	91.6 (8.9)	70.8 (9.6)	81.5 (7.9)	77.6 (12.0)	83.2 (10.7)	80.8 (11.2)
Urinalysis								
Chloride (mean, SD) (mmol/L)								
End of Treatment	61 (31)	57 (19)	47 (28)	55 (15)	56 (29)	63 (28)	59 (34)	38 (12)
End of Recovery	71 (32)	66 (12)	73 (29)	97 (50)	102 (21)	85 (19)	90 (20)	86 (20)
Calcium (mean, SD) (mmol/L)								
End of Treatment	0.90 (0.58)	2.05 (1.46)	1.33 (2.00)	2.25 (1.82)	0.53 (0.28)	2.16 (1.25)	0.52 (0.34)	1.33 (0.59)
End of Recovery	0.92 (0.39)	5.58 (0.81)	0.97 (0.41)	6.03 (1.56)	1.88 (0.79)	5.07 (1.56)	1.67 (0.90)	4.67 (0.63)

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300	
Number of Animals (Main, Recovery, and TK)	M: 10, 5, 3	F: 10, 5, 3	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 5, 5	F: 10, 5, 5
Organ Weights (mean [g] and % of body weight)								
End of Treatment								
Kidney	2.95 (0.71)	1.64 (0.69)	2.93 (0.71)	1.76 (0.73)	2.82 (0.69)	1.78 (0.73)	2.81 (0.68)	1.92 <sup>g</sup> (0.81)↑
Spleen	0.678 (0.155)	0.457 (0.193)	0.598 (0.145)	0.397 <sup>f</sup> (0.165)↓	0.566 <sup>f</sup> (0.138)↓	0.416 (0.171)	0.528 <sup>g</sup> (0.127)↓	0.402 <sup>f</sup> (0.169)↓
Adrenals	0.055 (0.013)	0.061 (0.026)	0.062 (0.015)	0.066 (0.027)	0.064 (0.015)	0.062 (0.026)	0.064 (0.015)	0.065 (0.028)
Prostate	0.808 (0.192)	---	0.720 (0.175)	---	0.835 (0.204)	---	0.672 (0.162)	---
Seminal vesicle	1.776 (0.426)	---	1.889 (0.461)	---	1.856 (0.453)	---	1.594 (0.388)	---
End of Recovery								
Kidney	3.00 (0.60)	1.84 (0.70)	3.06 (0.64)	1.91 (0.73)	2.83 (0.64)	1.94 (0.70)	3.33 (0.66)	1.95 (0.73)
Spleen	0.698 (0.140)	0.502 (0.192)	0.678 (0.142)	0.443 (0.168)	0.588 (0.133)	0.488 (0.177)	0.679 (0.135)	0.462 (0.174)
Adrenals	0.051 (0.010)	0.061 (0.023)	0.053 (0.011)	0.065 (0.025)	0.055 (0.013)	0.072 (0.026)	0.054 (0.011)	0.062 (0.023)
Prostate	0.982 (0.199)	---	0.850 (0.178)	---	0.913 (0.206)	---	0.913 (0.182)	---
Seminal vesicle	2.415 (0.489)	---	2.277 (0.481)	---	2.395 (0.544)	---	2.555 (0.512)	---
Gross Pathology								
Died or Sacrificed Moribund								
Liver, gray-white foci	---	---	---	---	---	---	1/2	0/3
Liver, enlarged	---	---	---	---	---	---	2/2	3/3
Pancreas, green or red discoloration	---	---	---	---	---	---	1/2	0/3
Pancreas, enlarged lymph node	---	---	---	---	---	---	1/2	0/3
Kidneys, gray-white foci	---	---	---	---	---	---	2/2	2/3
Kidneys, pale discoloration		---	---	---	---	---	1/2	0/3
Kidneys, enlarged	---	---	---	---	---	---	2/2	3/3
End of Treatment								
Kidney, gray-white foci	---	---	---	---	---	---	1/8	1/9

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300	
Number of Animals (Main, Recovery, and TK)	M: 10, 5, 3	F: 10, 5, 3	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 5, 5	F: 10, 5, 5
End of Recovery								
Kidneys, irregular surface	---	---	---	---	---	---	---	1/5
Histopathology								
Died or Sacrificed Moribund								
Heart, mononuclear inflammation	---	---	---	---	---	---	0/3	1/3
Heart, slight-moderate coagulative necrosis of the myocardium	---	---	---	---	---	---	2/3	3/3
Liver, moderate-marked hepatocellular necrosis	---	---	---	---	---	---	3/3	2/3
Kidneys, slight-marked necrosis	---	---	---	---	---	---	3/3	2/3
Kidneys, moderate-marked tubular basophilia	---	---	---	---	---	---	0/3	2/3
Kidneys, moderate-marked tubular degeneration	---	---	---	---	---	---	1/3	2/3
Pancreas, inflammation	---	---	---	---	---	---	3/3	0/3
Pancreas, hemorrhage	---	---	---	---	---	---	2/3	0/3
Pancreas, fibrosis in/around islets and/or mononuclear infiltration of the serosa and/or lobular acinar atrophy	---	---	---	---	---	---	2/3	0/3

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300		
	Number of Animals (Main, Recovery, and TK)		M: 10, 5, 3	F: 10, 5, 3	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 5, 5
End of Treatment									
Liver, hepatocellular necrosis	---	---	---	---	---	---	---	3/8	6/9
Liver, hepatocellular hypertrophy	---	---	---	---	---	---	---	---	2/9
Pancreas, mononuclear inflammation	---	---	8/10	4/10	7/10	4/10	7/8	1/9	
Pancreas, macrophage aggregates	---	---	4/10	2/10	3/10	1/10	2/8	---	
Pancreas, hemorrhage	---	---	7/10	2/10	6/10	4/10	5/8	1/9	
Pancreas, fibrosis	---	---	8/10	5/10	7/10	5/10	5/8	1/9	
Pancreas, serosa infiltrate	---	---	6/10	1/10	6/10	3/10	3/8	---	
Pancreas, lobular atrophy	---	1/10	5/10	1/10	7/10	2/10	4/8	2/9	
Pancreas, increased apoptosis	2/10	---	1/10	1/10	1/10	---	4/8	1/9	
Kidneys, lymphocytic infiltrate	5/10	---	3/10	2/10	3/10	3/10	1/8	2/9	
Kidneys, tubular basophilia	3/10	2/10	8/10	5/10	9/10	4/10	5/8	7/9	
Kidneys, tubular degeneration	---	---	---	---	1/10	3/10	4/8	4/9	
Kidneys, tubular dilatation	---	---	---	---	1/10	---	2/8	2/9	
Kidneys, tubular necrosis	---	---	---	---	---	---	---	2/9	
Kidneys, tubular fibrosis	---	---	---	---	---	---	---	1/9	
Kidneys, tubular basophilia	3/10	2/10	8/10	5/10	9/10	4/10	5/8	7/9	
End of Recovery									
Liver, hepatocellular necrosis	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Liver, hepatocellular hypertrophy	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Pancreas, mononuclear inflammation	---	---	3/5	---	4/5	2/5	4/5	1/5	
Pancreas, macrophage aggregates	---	---	4/5	---	5/5	2/5	4/5	1/5	
Pancreas, hemorrhage	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300	
Number of Animals (Main, Recovery, and TK)	M: 10, 5, 3	F: 10, 5, 3	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 0, 5	F: 10, 0, 5	M: 10, 5, 5	F: 10, 5, 5
Pancreas, fibrosis	---	---	4/5	---	4/5	2/5	4/5	1/5
Pancreas, serosa infiltrate	---	---	2/5	---	3/5	1/5	1/5	---
Pancreas, lobular atrophy	---	---	2/5	---	---	---	1/5	---
Pancreas, increased apoptosis	---	---	---	---	1/5	1/5	---	---
Kidneys, lymphocytic infiltrate	---	1/5	1/5	2/5	2/5	2/5	3/5	3/5
Kidneys, tubular basophilia	2/5	1/5	4/5	1/5	3/5	1/5	5/5	2/5
Kidneys, tubular degeneration	---	---	---	---	---	---	---	---
Kidneys, tubular dilatation	---	---	---	---	---	---	---	---
Kidneys, tubular necrosis	---	---	---	---	---	---	---	---
Kidneys, tubular fibrosis	---	---	---	---	---	---	---	1/5

ALT=alanine aminotransferase; AST=aspartate aminotransferase; AUC=area under the curve; C<sub>max</sub>=maximum observed concentration; F=female; HCT=haematocrit; HGB=haemoglobin; M=male; NA=not applicable; RBC=red blood cells; SD=standard deviation; TK=toxicokinetics; WBC=white blood cells.

+ Onward

- a Mean food consumption before or after allowance for body weight was similar between treated and control animals during treatment as well as recovery.
- b This was not observed in any rats after the cessation of dosing.
- c There were no toxicologically relevant ophthalmology findings at pretest and in Week 4.
- d Steel-test significant at 5%.
- e Steel-test significant at 1%.
- f Dunnett-test for pooled variance with statistical significance at 5% level.
- g Dunnett-test based on pooled variance significant at 1%.
- No treatment-related findings observed.
- ↓ Statistically significant decrease.
- ↑ Statistically significant increase.

Report Title: ACP-196: A 28-Day Oral Toxicity Study in Wistar Han Rats with a 28-Day Recovery Period		Test Article: ACP-196			
Species/Strain: Rat/Wister Han		Duration of Dosing: 28 days			
Initial Age: Approximately 5 weeks		Duration of Post-dose: 28 days			
Date of First Dose: [REDACTED]-20-[REDACTED]		Method of Administration: Oral gavage			
Vehicle/Formulation: 0.4% Hypromellose with 0.2% Tween 80 (w/v) in reverse osmosis water		GLP Compliance: Yes			
Special Features: None					
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day					
GLP=Good Laboratory Practice.					

Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	0	2.5	7.5	30	100	0	2.5	7.5	30	100
Number of TK Animals	3	9	9	9	9	3	9	9	9	9
Toxicokinetics:										
$C_{\max}$ (ng/mL)										
Day 1	NA	37.7	165	682	1590	NA	123	454	1480	2220
Day 28	NA	51.4	144	691	1160	NA	163	228	1450	3130
$AUC_{0-24h}$ (ng•h/mL)										
Day 1	NA	75.4	245	1060	2520	NA	115	456	1990	4410
Day 28	NA	58.2	201	882	2630	NA	153	367	1680	6390
Dose Level (mg/kg/day)	0	2.5	7.5	30	100	0	2.5	7.5	30	100
<b>Number of Main Study Animals</b>	<b>16</b>									
<b>Noteworthy Findings:</b>										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations (Day 3-28)										
Salivation	0/0	0/0	0/0	4/1	10/4	0/0	0/0	0/0	12/3	15/4

Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	0	2.5	7.5	30	100	0	2.5	7.5	30	100
Body Weight	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Food Consumption	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Coagulation	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Gross Pathology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Histopathology										
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pancreas, apoptosis										
<i>mild</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Pancreas, hemorrhage/pigment/inflammation/ fibrosis, islets										
<i>minimal</i>	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
<i>mild</i>	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0
Pancreas, inflammation, subacute/chronic										
<i>minimal</i>	1	2	3	0	0	1	0	1	2	0
<i>mild</i>	0	0	2	1	2	1	0	0	0	0

Gender	Males					Females				
	0	2.5	7.5	30	100	0	2.5	7.5	30	100
Dose Level (mg/kg/day)	0	2.5	7.5	30	100	0	2.5	7.5	30	100
Number of Recovery Animals	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
<b>Noteworthy Findings:</b>										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations (Days 31–56)										
Salivation	0/0	0/0	0/0	2/1	3/2	0/0	0/0	0/0	0/0	11/2
Body Weight	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Food Consumption	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Coagulation	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Gross Pathology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Histopathology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

AUC=area under the curve; C<sub>max</sub>=maximum serum or plasma concentration; GLP=Good Laboratory Practice; NA=not applicable; TK=toxicokinetics.

--- No treatment-related findings observed.

Report Title: ACP-196: A 91-Day Oral Toxicity Study in Rats with a 28-Day Recovery Period		Test Article: ACP-196
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley	Duration of Dosing: 13 weeks	Study No. 2219-029
Initial Age: Approximately 6 weeks at receipt	Duration of Post-dose: 28 days	Location in CTD: 4.2.3.2.8
Date of First Dose: [REDACTED]-[REDACTED]-20[REDACTED]	Method of Administration: Oral gavage	
Vehicle/Formulation: 0.4% Hypromellose with 0.2% Tween 80 (w/v) in reverse osmosis water		GLP Compliance: Yes
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day		

GLP=Good Laboratory Practice.

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	10	30	100	0	10	30	100
Number of TK Animals	4	14	14	14	4	14	14	14
Toxicokinetics <sup>a</sup> :								
C <sub>max</sub> (ng/mL)								
Day 1	NA	273	463	1260	NA	532	668	1260
Day 29	NA	140	438	1340	NA	290	898	1900
Day 56	NA	241	734	1210	NA	528	1090	2560
Day 90	NA	113	440	820	NA	278	798	1890
AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)								
Day 1	NA	432	789	3800	NA	812	1490	5210
Day 29	NA	184	690	3370	NA	311	1580	4400
Day 56	NA	463	1190	3820	NA	648	2370	6440
Day 90	NA	155	792	2250	NA	275	1630	3700

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	10	30	100	0	10	30	100
Number of Main Study Animals	16	16	16	16	16	16	16	16
<b>Noteworthy Findings:</b>								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations								
Body Weight (g)	---	---	---	---	---	---	---	---
Caged Food Consumption (g/animal/day)	---	---	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology	---	---	---	---	---	---	---	---
Coagulation	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights	---	---	---	---	---	---	---	---
Gross Pathology <sup>b</sup>								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Pancreas, discoloration, brown								
minimal	0	1	0	0	0	0	0	0
Pancreas, small								
minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
mild	0	1	2	2	0	0	0	0

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	10	30	100	0	10	30	100
<b>Histopathology<sup>b</sup></b>								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Pancreas, hemorrhage /pigment /inflammation /fibrosis, islets								
minimal	3	2	4	4	0	6	6	5
mild	1	7	6	5	0	0	3	1
moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Pancreas, inflammation, subacute/chronic								
minimal	3	5	1	6	0	2	4	3
mild	0	3	3	3	0	0	2	0
<b>Number of Recovery Animals</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>	<b>6</b>
<b>Noteworthy Findings:</b>								
Died or Sacrificed Moribund <sup>c</sup>	0	1	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations								
Body Weight (g)	---	---	---	---	---	---	---	---
Caged Food Consumption (g/animal/day)	---	---	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology	---	---	---	---	---	---	---	---
Coagulation	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights	---	---	---	---	---	---	---	---
Gross Pathology	---	---	---	---	---	---	---	---

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	10	30	100	0	10	30	100
Histopathology <sup>b</sup>								
Number Examined	6	6	6	6	6	6	6	6
Pancreas, hemorrhage /pigment /inflammation /fibrosis, islets								
minimal	1	5	3	2	0	3	4	3
mild	2	0	3	4	0	0	0	0
Pancreas, inflammation, subacute/chronic								
minimal	1	1	0	2	0	0	0	0

--- =No treatment-related findings observed; AUC=area under the curve; C<sub>max</sub>=maximum serum or plasma concentration; GLP=Good Laboratory Practice; NA=not applicable; TK=toxicokinetics.

a Group means are shown for treated groups; the control group was only analyzed for plasma concentration.

b Reported as number observed.

c One male at 10 mg/kg/day was found dead on study Day 103. Clinical observations, body weight gain, and food consumption values were normal prior to being found dead. The cause of death was considered to be a lymphoid tumor found during microscopic evaluation. This was not considered test article-related.

Report Title: ACP-196: A 26-Week Oral Toxicity Study in Rats with a 4-Week Recovery Period		Test Article: ACP-196
Species (Strain): Rat (Wistar Han)	Duration of Dosing: 6 months	Study No. 2219-084
Initial Age: Approximately 6 weeks	Duration of Post-dose: 28 days	Location in CTD: 4.2.3.2.9
Date of First Dose: [REDACTED]-20-[REDACTED]	Method of Administration: Oral gavage	
Vehicle/Formulation: 0.4% Hypromellose 2910 5 mPas (DOW, Methocel E5 Premium LV) (w/v) and 0.2% Polysorbate 80 (Tween 80) (w/v) in NANOpure Diamond Ultrapure water	GLP Compliance: Yes	
Special Features: Dose level was reduced from 300 mg/kg/day to 200 mg/kg/day on study Day 15 (main study males) or study Day 14 (main study females and all toxicokinetic animals). Study included recall T-cell dependent antibody testing.		
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day in males and 30 mg/kg/day in females.		
GLP=Good Laboratory Practice.		

Gender	Males				Females			
	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number of TK Animals	6	14	14	14	6	14	14	14
Toxicokinetics <sup>b</sup> :								
C <sub>max</sub> (ng/mL)								
Day 1	NA	948	1470	3070/NA	NA	1190	2590	6050/NA
Day 28	NA	841	2900	NA/4180	NA	1330	4000	NA/6370
Day 91	NA	1120	4160	NA/5690	NA	1370	6740	NA/7380
Day 182	NA	763	2510	NA/3110	NA	1640	3820	NA/6920
AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)								
Day 1	NA	1250	4280	16200/NA	NA	2320	9890	26000/NA
Day 28	NA	1300	5160	NA/11600	NA	2260	8520	NA/17000
Day 91	NA	1200	8130	NA/13300	NA	1720	10400	NA/15700
Day 182	NA	1150	4760	NA/7930	NA	2010	8130	NA/13100

AUC=area under the concentration-time curve; C<sub>max</sub>=maximum observed concentration.

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number of Main Study Animals	22	22	22	22	22	22	22	22
Died or Sacrificed Moribund During First 13 Days	0	0	0	0	0	0	0	5 <sup>c</sup>
Summary Findings for Animals with Early Deaths:	Clinical observations of early DOS animals included decreased activity, rapid breathing, ataxia, hunched posture, pale skin, skin cold to touch, thin, vocalization, and/or hypersensitive to touch. Slight body weight loss (up to 7.2% compared with Day 1) was noted in these 5 females. Histological evaluation in these early DOS females at 300 mg/kg/day indicated that the cause of death was uremia/acute kidney failure/myocardial necrosis.							
Number of Main Study Animals After Replacements for Early DOS Animals	22	22	22	22 (dose reduced to 200 mg/kg)	22	22	22	22 (dose reduced to 200 mg/kg)
<b>Noteworthy Findings:</b>								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	6
Clinical Observations								
Salivation	0/0	30/6	173/20	183/20	0/0	192/17	260/22	223/19
Body Weight (g)	---	---	---	---	---	---	---	---
Caged Food Consumption (g/animal/day)	---	---	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---	---	---
T-cell Dependent Antibody Response (recall) <sup>d</sup>								
LS Mean (SE) anti-KLH IgM (µg/mL), Day 50, Day 57, Day 64, and Day 71	396.01 (88.043)	249.20 (55.405)	131.09** (29.144)	153.02** (34.021)	765.96 (118.931)	409.38* (63.564)	482.76 (74.958)	447.64* (70.010)
LS Mean (SE) anti-KLH IgG (µg/mL), Day 50, Day 57, Day 64, and Day 71	1306.55 (234.964)	2034.10 (365.803)	1098.34 (197.520)	1323.82 (238.070)	2679.42 (650.976)	3148.63 (764.440)	2262.55 (549.311)	1353.43 (328.801)
Hematology <sup>e</sup>								
Lymphocytes, 10 <sup>3</sup> /µL (mean and SD)								

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number of Main Study Animals	22	22	22	22	22	22	22	22
Week 5	5.195 (1.4001)	5.143 (1.1526)	5.190 (1.7728)	5.889 (1.5226)	3.240 (1.1464)	3.309 (1.3612)	3.621 (1.1327)	4.385* (1.1238)
Week 13	4.625 (1.6296)	4.949 (0.8476)	4.626 (1.6154)	5.142 (1.4407)	2.709 (1.0318)	2.796 (0.7450)	2.919 (0.8700)	3.731** (0.8250)
Terminal	4.402 (1.1026)	4.357 (0.9050)	4.095 (1.1622)	4.692 (1.0813)	3.042 (0.9433)	2.760 (0.8798)	3.159 (1.2248)	3.206 (1.0656)
Monocytes (10 <sup>3</sup> /μL) (mean and SD)								
Week 5	0.125 (0.0448)	0.143 (0.0437)	0.128 (0.0456)	0.153 (0.0681)	0.084 (0.0320)	0.096 (0.0327)	0.104* (0.0270)	0.128** (0.0484)
Week 13	0.118 (0.0452)	0.139 (0.1092)	0.116 (0.0607)	0.144 (0.0657)	0.079 (0.0431)	0.096 (0.0302)	0.093 (0.0230)	0.129 (0.0617)
Terminal	0.117 (0.0426)	0.121 (0.0392)	0.135 (0.0638)	0.155 (0.0564)	0.078 (0.0386)	0.106 (0.0585)	0.125** (0.0560)	0.118** (0.0492)
Coagulation	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry <sup>c</sup>								
Total Bilirubin (mg/dL) (mean and SD)								
Week 2	0.14 (0.049)	0.15 (0.074)	0.15 (0.051)	0.14 (0.049)	0.13 (0.046)	0.15 (0.060)	0.15 (0.051)	0.24** (0.109)
GGT (U/L) (mean and SD)								
Week 2 <sup>#</sup>	1.1 (0.29)	1.0 (0.00)	1.1 (0.29)	1.0 (0.21)	1.2 (0.43)	1.3 (0.55)	1.2 (0.43)	2.0** (0.94)
Potassium (mEq/L) (mean and SD)								
Week 2	5.87 (0.632)	5.83 (0.867)	6.33 (0.701)	5.95 (0.613)	5.30 (0.413)	5.75 (0.681)	5.99** (0.680)	5.55 (0.754)
Week 5	5.24 (0.359)	4.98 (0.715)	4.71** (0.403)	4.96 (0.762)	5.09 (0.540)	5.13 (0.699)	4.77 (0.559)	5.06 (0.723)

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number of Main Study Animals	22	22	22	22	22	22	22	22
Week 13	5.59 (0.838)	4.83** (0.352)	4.84** (0.387)	5.08* (0.627)	5.15 (0.554)	5.04 (0.747)	4.97 (0.774)	5.16 (0.853)
Terminal	8.13 (2.018)	7.70 (1.961)	7.49 (1.814)	7.64 (1.726)	8.59 (3.070)	8.21 (2.567)	8.21 (2.487)	8.01 (3.009)
Chloride (mEq/L) (mean and SD)								
Week 2	101.1 (1.17)	100.2 (1.22)	100.4 (1.81)	100.0* (1.43)	102.6 (1.47)	101.9 (1.44)	101.6 (1.68)	99.0** (3.68)
Phosphorus (mg/dL) (mean and SD)								
Week 5	6.63 (0.695)	6.80 (1.138)	6.81 (0.693)	7.02 (0.630)	5.57 (0.613)	5.78 (0.867)	5.95 (0.742)	6.29* (1.070)
Total Protein (g/dL) (mean and SD)								
Week 2	6.83 (0.215)	6.75 (0.287)	6.53** (0.305)	6.59* (0.282)	7.37 (0.301)	7.40 (0.315)	7.15 (0.446)	7.19 (0.431)
AST (U/L) (mean and SD)								
Week 2	97.8 (25.75)	75.5** (22.94)	73.8** (24.23)	83.5 (20.68)	90.4 (25.62)	78.5 (28.27)	87.3 (27.81)	167.4** (77.24)
Week 5	119.4 (29.90)	97.6* (28.44)	84.9** (26.18)	95.8* (31.88)	112.0 (29.44)	96.0 (28.11)	96.3 (26.32)	107.8 (32.07)
Week 13	108.3 (29.25)	88.3 (27.95)	81.4** (24.85)	92.1 (26.40)	98.7 (26.53)	96.8 (30.10)	92.5 (30.37)	105.7 (30.36)
Terminal	76.5 (24.34)	68.0 (22.50)	64.9 (20.84)	73.4 (21.43)	108.9 (102.99)	88.7 (35.51)	83.4 (31.29)	102.5 (51.77)
ALT (U/L) (mean and SD)								
Week 2	36.3 (4.70)	32.8 (5.40)	30.5** (5.08)	34.4 (8.03)	36.1 (7.47)	35.1 (6.98)	35.8 (8.03)	84.3** (62.77)

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number of Main Study Animals	22	22	22	22	22	22	22	22
Week 5	34.5 (6.28)	34.4 (6.39)	29.6* (5.04)	33.2 (7.37)	32.6 (7.06)	32.7 (7.57)	30.0 (5.13)	32.8 (7.23)
Week 13	34.6 (6.02)	32.5 (3.25)	29.6** (3.80)	33.0 (5.09)	32.3 (7.64)	41.3* (17.79)	34.2 (10.02)	35.1 (8.61)
Terminal	34.8 (5.28)	34.2 (5.56)	31.6 (5.11)	38.0 (16.03)	50.8 (49.71)	44.3 (22.12)	34.7 (8.46)	36.4 (9.74)
Urea Nitrogen (mg/dL) (mean and SD)								
Week 2	17.8 (1.63)	15.7** (1.55)	16.5 (1.97)	19.1 (2.44)	20.1 (4.05)	19.9 (2.49)	19.5 (2.48)	30.0** (19.78)
Week 5	17.2 (2.77)	16.2 (2.15)	15.2* (2.42)	15.5 (2.68)	19.0 (3.39)	18.1 (3.54)	18.5 (3.60)	19.2 (4.09)
Week 13	15.0 (2.50)	13.3* (1.62)	13.5 (2.50)	14.5 (2.11)	15.3 (2.95)	15.5 (4.21)	15.5 (4.55)	16.1 (4.14)
Terminal	13.8 (2.48)	13.7 (2.00)	12.9 (1.61)	14.2 (2.44)	17.9 (2.62)	16.8 (2.52)	17.5 (5.81)	17.9 (4.48)
Triglyceride (mg/dL) (mean and SD)								
Week 2	235.6 (74.07)	239.9 (88.49)	187.0* (56.11)	143.8** (41.87)	196.6 (84.25)	210.6 (91.12)	172.4 (57.98)	95.6** (50.96)
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number Examined for Organ Weights <sup>e</sup>	16	16	16	16	15	16	16	10
Kidneys (g) (mean and SD)	2.764 (0.284)	2.721 (0.291)	2.825 (0.394)	2.701 (0.284)	1.715 (0.122)	1.770 (0.253)	1.886 (0.262)	1.816 (0.190)

Kidneys/BWt (%) (mean and SD)	0.5467 (0.0438)	0.5660 (0.0405)	0.5677 (0.0591)	0.5714 (0.0289)	0.6596 (0.0503)	0.7070 (0.1364)	0.7533* (0.1044)	0.7548 (0.0770)
Kidneys/BrWt (ratio) (mean and SD)	1.3658 (0.1260)	1.3285 (0.1120)	1.3819 (0.1752)	1.3639 (0.1352)	0.9243 (0.0586)	0.9704 (0.1113)	1.0348* (0.1351)	1.0123 (0.0893)

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number Examined for Pathology (DOS/SNC)	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	6/10
<b>Gross Pathology<sup>f</sup></b>								
Kidneys, dilation								
mild	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
moderate	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0
severe	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0
Kidneys, focus/foci, tan								
mild	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
moderate	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
Kidneys, focus/foci, white								
mild	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
moderate	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number Examined for Pathology (DOS/SNC)	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	6/10
Lung with bronchi, focus/foci, white								
mild	0/0	0/0	0/0	0/2	0/0	0/0	0/0	0/0
Lung with bronchi, focus/foci, tan								
mild	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
<b>Histopathology<sup>f</sup></b>								
Pancreas, atrophy, acinar								
minimal	0/0	0/8	0/5	0/6	0/1	0/1	0/0	0/1
mild	0/0	0/0	0/1	0/3	0/0	0/0	0/0	0/0
Pancreas, hemorrhage/ pigment/ inflammation/ fibrosis, islets								
minimal	0/1	0/7	0/7	0/5	0/0	0/0	0/0	0/0
mild	0/0	0/3	0/5	0/6	0/0	0/0	0/0	0/0
moderate	0/0	0/2	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0
Pancreas, inflammation, subacute/chronic								
minimal	0/0	0/5	0/6	0/5	0/0	0/0	0/1	0/1
mild	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Kidneys, basophilic tubules								
minimal	0/2	0/2	0/2	0/4	0/2	0/3	0/6	0/5
mild	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/1
moderate	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/1

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number Examined for Pathology (DOS/SNC)	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	6/10
Kidneys, inflammation, subacute/chronic								
minimal	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/3	1/0
mild	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	2/1
moderate	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
Kidneys, mineralization, tubular								
moderate	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	4/0
severe	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/0
Kidneys, degeneration/necrosis, tubular								
minimal	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/2	0/0
mild	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0
moderate	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	4/0
severe	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/0
Heart, hemorrhage/inflammation/necrosis								
minimal	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
mild	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	3/0
moderate	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
Heart, mineralization, vascular								
minimal	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0
mild	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number Examined for Pathology (DOS/SNC)	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	6/10
Liver, degeneration/necrosis, individual hepatocyte								
minimal	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/2	2/4
mild	0/0	0/0	0/0	0/2	0/0	0/0	0/2	3/0
Liver, mitotic figures, increased								
minimal	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2
mild	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/0

DOS=dead on study; SNC=scheduled necropsy.

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number of Recovery Animals	6	6	6	6	6	6	6	6
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations								
Body Weight	---	---	---	---	---	---	---	---
Food Consumption	---	---	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---	---	---
T-cell Dependent Antibody	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology	---	---	---	---	---	---	---	---
Coagulation	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---

Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number of Recovery Animals	6	6	6	6	6	6	6	6
<b>Organ Weights</b>								
Kidneys (g) (mean and SD)	2.975 (0.414)	2.639 (0.212)	2.890 (0.459)	2.774 (0.226)	1.682 (0.161)	1.664 (0.215)	1.617 (0.055)	1.896 (0.416)
Kidneys/BWt (%) (mean and SD)	0.5721 (0.0651)	0.5576 (0.0150)	0.5673 (0.0271)	0.5740 (0.0516)	0.6417 (0.0393)	0.6590 (0.0776)	0.6362 (0.0856)	0.7725* (0.1196)
Kidneys/BrWt (ratio) (mean and SD)	1.4133 (0.1452)	1.3107 (0.1282)	1.3762 (0.1625)	1.3851 (0.0728)	0.9023 (0.0617)	0.9215 (0.1110)	0.9523 (0.0997)	1.0253 (0.2662)
<b>Gross Pathology<sup>f</sup></b>								
Lung with bronchi, focus/foci, white								
mild	0	0	0	1	0	0	0	0
<b>Histopathology<sup>f</sup></b>								
Pancreas, atrophy, acinar								
minimal	1	2	1	0	0	0	0	0
Pancreas, fibrosis								
minimal	0	1	2	2	0	0	0	0
Pancreas, infiltration, mononuclear cell								
minimal	0	1	0	0	0	0	0	0
Pancreas, macrophages, pigmented								
minimal	0	3	5	3	0	0	0	0
Kidneys, basophilic tubules								
minimal	1	0	1	1	0	0	1	1
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
moderate	0	0	0	0	0	0	0	1

Gender	Males				Females			
	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>	0	30	100	300/200 <sup>a</sup>
Number of Recovery Animals	6	6	6	6	6	6	6	6
Kidneys, inflammation, subacute/chronic								
minimal	0	0	0	0	0	0	0	1

ALT=alanine aminotransferase; AST=aspartate aminotransferase; BWt=body weight; BrWt=Brain weight; DOS=dead on study; GGT=gamma glutamyltransferase; GLP=Good Laboratory Practice; LS mean=least squares mean; NA=not applicable; SD=standard deviation; SE=standard error; SNC=scheduled necropsy; TK=toxicokinetics.

- a Animals at 300 mg/kg/day were placed on a dose holiday beginning on Day 11 (main study males) or 10 (main study females and all TK animals). The dose holiday was 4 days and started on December 24, 2015. Dosing resumed on December 28, 2015. The dose level was lowered to 200 mg/kg/day starting on Day 15 (main study males) or 14 (main study females and all TK animals).
- b The control group was analyzed for plasma concentration; however group means were not calculated.
- c Five main study females at dose level 300/200 mg/kg/day (animal numbers 4506, 4510, 4514, 4516, and 4521) were found dead on Days 163, 132, 67, 118, and 66 as well as another female at dose level 300/200 mg/kg/day (animal number 4503) that was euthanized in extremis on Day 97. All deaths were connected to microscopic findings in the kidney and were considered test article related.
- d Least squares mean and standard error is shown.
- e Group means are shown.
- f Reported as number observed.
- \* Significantly different from control ( $p<0.05$ ).
- \*\* Significantly different from control ( $p<0.01$ ).
- # Calculation includes one or more individual value(s) out of linear range.
- No noteworthy findings.

### 2.6.7.7.3 イヌ反復投与毒性試験

Report Title: ACP-196: A 91-Day Oral Capsule Toxicity Study in Dogs With a 28-Day Recovery Period		Test Article: ACP-196
Species/Strain: Dog/Beagle	Duration of Dosing: 13 weeks	Study No. 2219-030
Initial Age: Approximately 5-6 months at receipt	Duration of Post-dose: 28 days	Location in CTD: 4.2.3.2.11
Date of First Dose: [REDACTED]-[REDACTED]-20[REDACTED]	Method of Administration: Oral capsule	
Vehicle/Formulation: Torpac Gelatin capsules #12		GLP Compliance: Yes
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 30 mg/kg/day		

GLP=Good Laboratory Practice.

Gender	Males + Females			
Daily Dose (mg/kg/day)	0	5	10	30
Number of TK Animals	NA	16	16	16
Toxicokinetics <sup>a</sup>				
C <sub>max</sub> (ng/mL)				
Day 1	NA	944	1900	7980
Day 29	NA	845	1680	3970
Day 58	NA	637	1070	3400
Day 90	NA	539	996	3690
AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)				
Day 1	NA	1900	3830	18500
Day 29	NA	1750	3560	9740
Day 58	NA	1430	2290	7820
Day 90	NA	1280	2790	8910

Gender	Males				Females			
	0	5	10	30	0	5	10	30
Number of Main Study Animals	8	8	8	8	8	8	8	8
<b>Noteworthy Findings<sup>b</sup></b>								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Tx-related Clinical Observations	---	---	---	---	---	---	---	---
Body Weight	---	---	---	---	---	---	↓	↓
Food Consumption	---	---	---	---	---	↓	↓	↓
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---	---	---
Electrocardiography	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology								
Erythrocytes (mean and SD)								
Day 58	6.720 (0.4389)	6.798 (0.5401)	6.233 (0.5635)	6.049* (0.5921)	6.918 (0.4515)	7.128 (0.4065)	6.810 (0.3741)	6.214** (0.4148)
Day 90	7.169 (0.3147)	7.083 (0.5094)	6.563 (0.5399)	6.104** (0.5547)	7.410 (0.0977)	7.501 (0.3627)	6.730** (0.3931)	6.519** (0.3929)
Coagulation	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry								
ALT (mild to moderate)	---	---	---	---	---	---	---	2↑
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights <sup>a</sup> (%)								
Spleen (g)	80.724 (7.611)	71.278 (5.892)	85.034 (7.976)	57.308* (16.010)	57.671 (20.246)	74.157 (21.972)	62.409 (19.332)	75.094 (17.142)
Thyroid/parathyroid (g)	0.696 (0.105)	0.871 (0.155)	0.946* (0.097)	0.876 (0.160)	0.933 (0.151)	0.837 (0.336)	0.860 (0.101)	0.706 (0.246)
Gross Pathology	0	0	0	0	0	0	0	0
Histopathology <sup>b</sup>								
<b>Number Examined</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>
Kidneys, pigment, tubular, bilateral								

Gender	Males				Females			
	0	5	10	30	0	5	10	30
Daily Dose (mg/kg/day)	0	5	10	30	0	5	10	30
minimal	0	0	0	2	0	0	0	0
GALT, depletion, lymphoid, follicular								
minimal	0	1	4	2	0	1	1	2
mild	0	0	0	3	0	0	0	0
Lymph node, mandibular, depletion, lymphoid, follicular								
minimal	0	0	2	3	0	0	0	0
Lymph node, mandibular, erythrocytosis/erythrophagocytosis and/ or pigment								
minimal	0	3	3	4	0	4	3	3
Lymph node, mesenteric, depletion, lymphoid, follicular								
minimal	0	0	1	1	0	0	0	0
mild	0	0	0	3	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric, erythrocytosis/erythrophagocytosis, sinus								
minimal	0	5	3	5	1	3	4	3
mild	0	0	1	0	0	0	0	0
Spleen, depletion, lymphoid, follicular								
minimal	0	0	2	3	0	1	3	2

Gender	Males				Females			
	0	5	10	30	0	5	10	30
Daily Dose (mg/kg/day)	0	5	10	30	0	5	10	30
Number of Recovery Animals	3	3	3	3	3	3	3	3
<b>Noteworthy Findings:<sup>a</sup></b>								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Tx-related Clinical Observations	---	---	---	---	---	---	---	---
Body Weight	---	---	---	---	---	---	---	---
Food Consumption	---	---	---	---	---	↓	↓	↓
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---	---	---
Electrocardiography	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology <sup>b</sup>								
Erythrocytes (mean and SD)	7.423 (0.3837)	7.587 (0.5685)	7.123 (0.1790)	6.923↓ (0.2686)	7.890 (0.5041)	7.977 (0.5707)	7.020↓ (0.2179)	6.917↓ (0.4341)
Coagulation	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights <sup>a</sup> (%)	---	---	---	---	---	---	---	---
Histopathology								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Kidneys, vacuolation, tubular (bilateral or unilateral)								
minimal	0	1	0	2	2	2	0	1
Lymph node, mandibular, depletion, lymphoid, follicular								
minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
mild	0	0	0	1	0	0	0	0
Lymph node, mandibular, erythrocytosis/ erytrophagocytosis and/ or pigment								

Gender	Males				Females			
	0	5	10	30	0	5	10	30
Daily Dose (mg/kg/day)	0	5	10	30	0	5	10	30
minimal	0	2	2	1	1	1	1	3
Lymph node, mesenteric, depletion, lymphoid, follicular								
minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric, erythrocytosis/erytrophagocytosis sinus								
minimal	2	2	2	3	2	1	0	0

ALT=alanine aminotransferase; AUC=area under the curve; C<sub>max</sub>=maximum serum or plasma concentration; GALT=gut-associated lymphoid tissue; GLP=Good Laboratory Practice; NA=not applicable; SD=standard deviation; TK=toxicokinetics; Tx=treatment.

a Group means are shown.  
b Reported as number observed.  
\* Significantly different from control (p<0.05).  
\*\* Significantly different from control (p<0.01).  
--- No treatment-related findings observed.  
↓ Decreased

<b>Report Title: ACP-196: A 39-Week Oral Capsule Toxicity Study in Dogs With a 4-Week Recovery Period</b>		<b>Test Article: ACP-196</b>
Species/Strain: Dog/Beagle	Duration of Dosing: 9 months	Study No. 2219-098
Initial Age: Approximately 5-6 months at receipt	Duration of Post-dose: 28 days	Location in CTD: 4.2.3.2.12
Date of First Dose: [REDACTED]-20-[REDACTED]	Method of Administration: Oral capsule	
Vehicle/Formulation: Commercial dry blend granulates in gelatin capsules #12		GLP Compliance: Yes
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 30 mg/kg/day		

GLP=Good Laboratory Practice.

Gender	Males + Females		
	0	10	30
Number of TK Animals	NA	14	14
Toxicokinetics <sup>a</sup>			
C <sub>max</sub> (ng/mL)			
Day 1	NA	1640	6810
Day 24	NA	1680	6610
Day 87	NA	1780	6620
Day 178	NA	2610	5560
Day 269	NA	1880	4950
AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)			
Day 1	NA	4000	17500
Day 24	NA	4230	15500
Day 87	NA	4170	17600
Day 178	NA	5320	16800
Day 269	NA	5050	17400

Gender	Males			Females		
	0	10	30	0	10	30
Number of Main Study Animals	7	7	7	7	7	7
<b>Noteworthy Findings</b>						
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0
Tx-related Clinical Observations	---	---	---	---	---	---
Body Weight	---	---	---	---	---	---
Food Consumption	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---
Electrocardiography	---	---	---	---	---	---
Hematology <sup>a</sup>						
Erythrocytes 10 <sup>6</sup> /μL (mean and SD)						
Week 13	6.431 (0.6987)	6.101 (0.5761)	5.801 (0.3590)	6.893 (0.4709)	6.536 (0.5076)	5.974** (0.3789)
Week 26	6.720 (0.4094)	6.421 (0.5422)	6.446 (0.5355)	6.860 (0.1855)	6.724 (0.4816)	6.357* (0.3211)
Terminal	6.826 (0.3159)	6.356 (0.5980)	6.183* (0.4482)	7.163 (0.5039)	6.701 (0.7522)	6.190* (0.5312)
MCV, fL (mean and SD)						
Week 13	66.59 (2.546)	69.66 (2.197)	73.50** (2.790)	67.39 (1.117)	67.64 (2.511)	72.96** (1.816)
Week 26	67.06 (2.575)	69.09 (1.515)	72.31** (2.478)	67.51 (1.536)	68.33 (2.822)	71.87** (1.532)
Terminal	67.31 (2.085)	69.40 (1.451)	73.06** (2.796)	67.49 (1.870)	68.83 (2.782)	72.49** (1.908)

Gender	Males			Females		
	Daily Dose (mg/kg/day)	0	10	30	0	10
MCHC, g/dL (mean and SD)						
Week 13	33.01 (0.857)	32.56 (0.553)	31.79* (0.778)	33.36 (0.458)	33.16 (0.721)	31.84** (0.591)
Week 26	34.03 (0.442)	34.03 (0.457)	33.14** (0.503)	34.37 (0.472)	33.90 (0.321)	33.17** (0.706)
Terminal	33.13 (0.512)	32.84 (0.443)	31.84** (0.476)	33.59 (0.414)	32.57** (0.660)	32.09** (0.456)
RDW, % (mean and SD)						
Week 13	12.87 (0.699)	12.69 (0.478)	12.06* (0.374)	12.64 (0.369)	13.04 (0.408)	11.86* (0.602)
Week 26	12.41 (0.601)	12.20 (0.630)	11.60* (0.412)	12.56 (0.658)	12.50 (0.465)	11.33** (0.350)
Terminal	12.13 (0.368)	11.83 (0.345)	11.47* (0.582)	12.21 (0.546)	12.04 (0.489)	11.29** (0.434)
Coagulation	---	---	---	---	---	---

Gender	Males			Females		
	Daily Dose (mg/kg/day)	0	10	30	0	10
Clinical Chemistry						
Albumin, g/dL (mean and SD)						
Week 4	2.83 (0.243)	2.80 (0.163)	2.81 (0.195)	3.01 (0.090)	2.87 (0.160)	2.79** (0.121)
Week 13	2.89 (0.219)	2.87 (0.189)	2.76 (0.172)	3.17 (0.125)	2.97* (0.198)	2.87** (0.111)
Week 26	2.91 (0.121)	2.87 (0.256)	2.86 (0.251)	3.11 (0.135)	2.89* (0.227)	2.89* (0.135)
Terminal	3.09 (0.069)	2.87 (0.221)	2.84 (0.276)	3.17 (0.049)	2.77* (0.502)	2.83 (0.170)
Urinalysis	---	---	---	---	---	---
Organ Weights	---	---	---	---	---	---
Gross Pathology	---	---	---	---	---	---
Histopathology	---	---	---	---	---	---
Number of Recovery Animals	3	3	3	3	3	3
<b>Noteworthy Findings:</b>						
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0
Tx-related Clinical Observations	---	---	---	---	---	---
Body Weight	---	---	---	---	---	---
Food Consumption	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---
Electrocardiography	---	---	---	---	---	---

Gender	Males			Females			
	Daily Dose (mg/kg/day)	0	10	30	0	10	30
Hematology							
RDW, % (mean and SD)		12.37 (0.208)	11.90 (0.794)	10.90* (0.265)	12.30 (0.265)	11.70 (0.656)	11.00* (0.458)
Coagulation	---	---	---	---	---	---	
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	
Organ Weights	---	---	---	---	---	---	
Histopathology	---	---	---	---	---	---	

AUC=area under the curve; C<sub>max</sub>=maximum serum or plasma concentration; GLP=Good Laboratory Practice; MCHC=mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV=mean corpuscular volume; NA=not applicable; RDW=red blood cell distribution width; SD=standard deviation; TK=toxicokinetics; Tx=treatment.

a Group means are shown.

\* Significantly different from control (p <0.05).

\*\* Significantly different from control (p <0.01).

--- No treatment-related findings observed.

## 2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験

<b>Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of ACP-196 in the <i>Salmonella Typhimurium</i> Reverse Mutation Assay and the <i>Escherichia coli</i> Reverse Mutation Assay</b>			
Test for Induction of: Bacterial Mutations		No. of Independent Assays: 2	Study No. 503223
Strains: <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535 and TA1537; <i>Escherichia coli</i> WP <sub>2</sub> <i>uvrA</i>		No. of Replicate Cultures: 3	Location: 4.2.3.3.1.1
Metabolizing System: S9 mix		No. of Cells Analyzed/Culture: Not specified	
Vehicles:	For Test Article: DMSO	For Positive Controls: In the absence of S9: sodium azide, acridine mutagen, 2-nitrofluorene, methylmethanesulfonate and 4-nitroquinoline N-oxide; in the presence of S9: 2 aminoanthracene	GLP Compliance: Yes
Treatment: <i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i> strains were treated with ACP-196 (up to 5000 µg/plate) in the presence and absence of S9 using plate incorporation and pre-incubation assays		Date of Treatment: █-█-20█ to █-█-20█	
Cytotoxic Effects: Observed in tester strain TA100 at ACP-196 concentration of 5000 µg/plate in the presence and absence of S-9 mix.			
Genotoxic Effects: None			
GLP=Good Laboratory Practice.			

Metabolic Activation	Test Article	Dose (μg/plate)	TA100	WP2 <i>uvrA</i>	TA1535	TA1537	TA98
<b>Dose Range Finding Test</b>							
Without Activation (-S9)	Positive Control	NA	844±132	1164±35	ND	ND	ND
	DMSO	NA	87±9 <sup>a</sup>	32±7 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
	ACP-196	3	86±4	33±9	ND	ND	ND
		10	92±12	36±8	ND	ND	ND
		33	99±7	35±2	ND	ND	ND
		100	93±9	36±5	ND	ND	ND
		333	93±9	29±6	ND	ND	ND
		1000	87±4	30±4	ND	ND	ND
		3330	75±18	29±6 <sup>b</sup>	ND	ND	ND
		5000	51±6 <sup>a, b</sup>	32±5 <sup>a, c</sup>	ND	ND	ND
With Activation (+S9)	Positive Control	NA	1535±65	166±19	ND	ND	ND
	DMSO	NA	112±13 <sup>a</sup>	44±9 <sup>a</sup>	ND	ND	ND
	ACP-196	3	102±10	38±9	ND	ND	ND
		10	93±9	39±9	ND	ND	ND
		33	93±25	37±14	ND	ND	ND
		100	88±23	37±7	ND	ND	ND
		333	91±5	41±7	ND	ND	ND
		1000	120±3	35±10	ND	ND	ND
		3330	87±7	32±11	ND	ND	ND
		5000	54±17 <sup>a, b</sup>	30±5 <sup>a, b</sup>	ND	ND	ND

Metabolic Activation	Test Article	Dose (µg/plate)	TA100	WP2 <i>uvrA</i>	TA1535	TA1537	TA98
<b>Mutagenic Response Assay</b>							
Without Activation (-S9)	Positive Control	NA	ND	ND	1208±22	545±38	604±55
	DMSO	NA	ND	ND	23±7 <sup>a</sup>	8±3 <sup>a</sup>	29±12 <sup>a</sup>
	ACP-196	100	ND	ND	24±9	11±0	23±1
		333	ND	ND	27±10	7±2	24±6
		1000	ND	ND	26±4	12±3	35±9
		3330	ND	ND	25±5	9±4	56±11
		5000	ND	ND	10±3 <sup>a, b</sup>	5±5 <sup>a, b</sup>	54±5 <sup>a, b</sup>
With Activation (+S9)	Positive Control	NA	ND	ND	223±30	429±26	692±228
	DMSO	NA	ND	ND	13±4 <sup>a, b</sup>	14±10 <sup>a</sup>	38±4 <sup>a</sup>
	ACP-196	100	ND	ND	15±4	10±4	29±13
		333	ND	ND	13±2	13±3	27±6
		1000	ND	ND	9±2	12±4	40±7
		3330	ND	ND	15±1	10±7	67±30
		5000	ND	ND	19±5 <sup>a, b</sup>	7±2 <sup>a, b</sup>	40±3 <sup>a, b</sup>
<b>Additional Mutagenic Response Assay</b>							
Without Activation (-S9)	Positive Control	NA	ND	ND	ND	ND	888±66
	DMSO	NA	ND	ND	ND	ND	28±2 <sup>a</sup>
	ACP-196	100	ND	ND	ND	ND	26±5
		333	ND	ND	ND	ND	21±11
		1000	ND	ND	ND	ND	45±5
		3330	ND	ND	ND	ND	54±10
		5000	ND	ND	ND	ND	20±4 <sup>a, b</sup>

Metabolic Activation	Test Article	Dose (µg/plate)	TA100	WP2 <i>uvrA</i>	TA1535	TA1537	TA98
With Activation (+S9)	Positive Control	NA	ND	ND	ND	ND	1339±15
	DMSO	NA	ND	ND	ND	ND	39±22 <sup>a</sup>
	ACP-196	100	ND	ND	ND	ND	40±14
		333	ND	ND	ND	ND	42±7
		1000	ND	ND	ND	ND	54±4
		3330	ND	ND	ND	ND	70±14
		5000	ND	ND	ND	ND	40±13 <sup>a,b</sup>

DMSO=dimethylsulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; NA=not applicable; ND=not done; S9=supernatant fraction 9 from liver tissue homogenate.

a Bacterial background normal.

b No precipitate.

c Slight precipitate.

<b>Report Title: Evaluation of the Ability of ACP-196 to Induce Chromosome Aberrations in Cultured Peripheral Human Lymphocytes (with Repeat Experiment)</b>		
Test for Induction of: Chromosomal aberrations	No. of Independent Assays: 2	Study No. 503225
Strains: Human Lymphocytes	No. of Replicate Cultures: 2	Location: 4.2.3.3.1.2
Metabolizing System: S9 mix	No. of Cells Analyzed/Culture: 100	
Vehicles: For Test Article: DMSO	For Positive Controls: In the absence of S9: Mitomycin C; in the presence of S9: Cyclophosphamide	GLP Compliance: Yes
Treatment: Dose levels ranged from 3 to 400 µg/mL; treatment regimens 3 hours in absence and presence of S9 (first assay); 24 and 48 hours in the absence of S9 and 3 hours in the presence of S9 (second assay)	Date of Treatment: █-█-20█ to █-█-20█	
Cytotoxic Effects: Appropriate toxicity was reached at 333 µg/mL for 3 hours exposure and 20 µg/mL for 24 hours exposure.		Genotoxic Effects: None
GLP=Good Laboratory Practice.		

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Number of Metaphases		Percentage of Control	Number of Cells Examined	Aberrant Cells	
			Culture 1	Culture 2			+ gaps	- gaps
<b>First Cytogenetic Assay</b>								
Without Activation	Control	NA	29	28	100	200	0	0
	ACP-196	3	24	20	77	200	0	0
3 h exposure		10	21	22	75	ND	ND	ND
24 h fixation		33	13	19	56	ND	ND	ND
		100	11	18	51	200	0	0
		333	10	10	35	200	0	0
	MMC-C	0.5 (µg/mL)	11	7	32	200	43	40
		0.75 (µg/mL)	14	15	51	ND	ND	ND

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Number of Metaphases		Percentage of Control	Number of Cells Examined	Aberrant Cells	
			Culture 1	Culture 2			+ gaps	- gaps
With Activation 3 h exposure 24 h fixation	Control ACP-196	NA	22	18	100	200	0	0
		3	22	17	98	200	0	0
		10	20	17	93	ND	ND	ND
		33	18	13	78	ND	ND	ND
		100	9	12	53	200	0	0
		333	10	9	48	200	0	0
	CP	10 (µg/mL)	8	5	33	200	56	49
<b>Second Cytogenetic Assay</b>								
Without Activation 24 h exposure 24 h fixation	Control ACP-196	NA	34	27	100	200	5	5
		3	26	30	92	200	5	4
		10	17	13	49	200	4	4
		20	13	17	49	200	7	7
		30	6	13	31	ND	ND	ND
		50	7	10	28	ND	ND	ND
		100	8	8	26	ND	ND	ND
	MMC-C	0.2 (µg/mL)	14	14	46	100	56	56
		0.3 (µg/mL)	6	6	20	ND	ND	ND

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Number of Metaphases		Percentage of Control	Number of Cells Examined	Aberrant Cells	
			Culture 1	Culture 2			+ gaps	- gaps
Without Activation 48 h exposure 48 h fixation	Control ACP-196	NA	40	38	100	200	4	4
		3	34	29	81	200	5	5
		10	27	31	74	ND	ND	ND
		20	25	24	63	200	0	0
		30	24	21	58	ND	ND	ND
		60	20	19	50	ND	ND	ND
		100	17	19	46	200	7	7
		150	5	12	22	ND	ND	ND
	MMC-C	0.1 (µg/mL)	33	35	87	150	68	68
		0.15 (µg/mL)	30	29	76	ND	ND	ND
With Activation 3 h exposure 48 h fixation	Control ACP-196	NA	48	47	100	200	1	1
		10	40	37	81	200	0	0
		30	35	31	69	ND	ND	ND
		100	35	32	71	ND	ND	ND
		200	32	32	67	200	2	2
		300	24	26	53	ND	ND	ND
		400	17	19	38	200	1	1
		CP	10 (µg/mL)	33	31	ND <sup>a</sup>	100	59
								58

CP=cyclophosphamide; DMSO=dimethylsulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; MMC-C=mitomycin C; NA=not applicable; ND=not done; S9=supernatant fraction 9 from liver tissue homogenate.

a CP was fixed after 24 hours; therefore, the mitotic index could not be calculated as percentage of control.

## 2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験

Report Title: In Vivo Micronucleus Assay in Rats						
Test for Induction of: Bone marrow micronuclei		Treatment Schedule: Single-dose		Study No. AD92XN.125M012ICH.BTL		
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley		Sampling Time: 24 and 48 h post-dose		Location: 4.2.3.3.2.1		
Age: 6 weeks		Method of Administration: Oral gavage				
Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes (PCEs)		Vehicle/Formulation: 0.4% Hypromellose (w/v) and 0.2% Tween 80 (w/v) in reverse osmosis water		GLP Compliance: Yes		
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000 PCEs/animal			Date of Dosing: [REDACTED]-[REDACTED]-20[REDACTED]			
Special Features: Dose formulation analysis						
Toxic/Cytotoxic Effects: All animals appeared normal throughout the study conduct						
Genotoxic Effects: No statistically significant increase in the number of micronucleated polychromatic erythrocytes observed in the test article groups compared to the vehicle control group at 24 or 48 h post-dosing.						
Evidence of Exposure: confirmed in other tox studies in rats						
Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	PCE/ Total Erythrocyte (Mean± SD)	Number mnPCE/PCE Scored		
Vehicle control (24 h)	0	5 male	0.527±0.01	2/10,000		
Vehicle control (48 h)	0	5 male	0.524±0.01	3/10,000		
ACP-196 (24 h)	500	5 male	0.521±0.01	2/10,000		
ACP-196 (24 h)	1000	5 male	0.523±0.01	2/10,000		
ACP-196 (24 h)	2000	5 male	0.527±0.01	3/10,000		
ACP-196 (48 h)	2000	5 male	0.525±0.00	4/10,000		
Cyclophosphamide (24 h)	40	5 male	0.543±0.01	217 <sup>a</sup> /10,000		

GLP=Good Laboratory Practice; mnPCE=micronucleated polychromatic erythrocytes; NA=not applicable; PCE=polychromatic erythrocytes; SD=standard deviation.

a Statistically significant increase,  $p \leq 0.05$  (Kastenbaum-Bowman Tables, binomial distribution).

### 2.6.7.10 がん原性試験

該当なし

### 2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Non-Pivotal Studies					Test Article: ACP-196	
Species (Strain)	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (Sprague-Dawley)	Oral gavage	12 days (GD 6 to GD 17)	5 25 50 100	5F 5F 5F 5F	All animals survived to scheduled termination. No test article-related effects were observed on any of the maternal parameters evaluated, including clinical observations, body weights and body weight changes, food consumption, ovarian and uterine parameters, and macroscopic findings. Likewise, no treatment-related effects were observed on fetal body weights and external examinations.	2219-031

F=female; GD=gestational day.

		Non-Pivotal Studies			Test Article: ACP-196		
Species (Strain)	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	Noteworthy Findings		Study Number
Rabbit (New Zealand)	Oral gavage	13 days (GD 6 to GD 18)	25 50 100 200	6F 6F 6F 6F	At 25, 50, and 100 mg/kg/day, no test article-related effects were observed on any of the maternal parameters evaluated, including clinical observations, body weights and body weight changes, food consumption, ovarian and uterine parameters, and macroscopic findings.  Maternal toxicity was observed at 200 mg/kg/day as evidenced by clinical observations, decreased body weights and body weight gain and decreased food consumption. One main study female at 200 mg/kg/day aborted on GD 24 following an extended period of inappetence and weight loss.  No test article-related effects were observed on fetal evaluations at any of the dose levels evaluated.		2219-032

F=female; GD=gestational day.

Design Similar to ICH 4.1.2: Yes	Dosing Period: GD 6 through LD 12	Study Number: 2219-109
Species/Strain: CD <sup>®</sup> (Crl:CD <sup>®</sup> [SD]) rats	Day of Mating: GD 0	Location in CTD: 4.2.3.5.3.1
Initial Age: Approximately 8–10 weeks at receipt	Method of Administration: Oral gavage	GLP Compliance: No
Date of First Dose: [REDACTED] 20 [REDACTED]	Vehicle: 0.4% hypromellose 2910 5 cps (DOW, methocel E5 premium LV) (w:v) and 0.2% polysorbate 80 (Tween <sup>®</sup> 80) (w:v) in NANOpure Diamond Ultrapure water	
Special Features: None	Litters Culled/Not Culled: Culled	Test Article: ACP-196

Conclusion: A high dose level of 150 mg/kg/day was considered appropriate for the definitive pre- and postnatal developmental toxicity study in rats.

GLP=Good Laboratory Practice.

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	300
<b>Pharmacokinetics<sup>a</sup>:</b>				
<b>P Female Toxicokinetic Animals</b>				
<b>No. of Toxicokinetic Animals</b>	4	8	8	8
<b>ACP-196</b>				
C <sub>max</sub> (ng/mL)				
GD 17	-	2520	7060	10100
AUC <sub>(0-t)</sub> (hr•ng/mL)				
GD 17	-	9260	17900	26300
Maternal Plasma Concentration (ng/mL)				
GD 18 – 1 hour pd	-	946	3720	4370
Fetal Plasma Concentration (ng/mL)				
GD 18 – 1 hour pd	-	381	1500	2110
<b>ACP-5862</b>				
C <sub>max</sub> (ng/mL)				
GD 17	-	1530	2930	3420

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	300
AUC <sub>(0-t)</sub> (hr•ng/mL)				
GD 17	-	5090	10200	12100
Maternal Plasma Concentration (ng/mL)				
GD 18 – 1 hour pd	-	628	1280	1610
Fetal Plasma Concentration (ng/mL)				
GD 18 – 1 hour pd	-	11.8	29.1	58.1
<b>P Female Main Study Animals</b>				
<b>Plasma and Milk Analysis</b>				
<b>No. of Main Study Animals</b>	6	6	5	4
<b>ACP-196 (ng/mL)</b>				
Maternal plasma conc. LD 12 – 1 hour pd		252	2090	2130
Pup plasma conc. LD 12 – 1 hour pd		1.11	1.44	8.45
Maternal plasma conc. LD 12 – 3 hours pd		125	719	913
Milk concentration – LD12 3 hours pd		1460	2530	5050
<b>ACP-5862</b>				
Maternal plasma conc. LD 12 – 1 hour pd		168	1080	1210
Pup plasma conc. LD 12 – 1 hour pd		6.35	18.2	20.9
Maternal plasma conc. LD 12 – 3 hours pd		98.4	409	435
Milk concentration – LD12 3 hours pd		1610	2500	3160

conc=concentration; GD=Gestational Day; LD=Lactation Day; pd=postdosing.

a Group means are shown; the control group was analyzed for plasma and milk concentration; however, group means were not calculated.

Study Number: 2219-109

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	300
<b>P Females</b>				
<b>Main Study:</b>				
<b>No. of Main Study Animals</b>	6	6	6	6
<b>No. Died or Sacrificed Moribund <sup>a</sup></b>	0	0	1	2
<b>Gestation Clinical Observations</b>				
Salivation (No. of tomes observed/total no. of animal affected)	0/0	6/1	12/3	7/3
Dystocia	0	0	0	1
<b>Lactation Clinical Observations</b>				
Salivation (No. of tomes observed/total no. of animal affected)	0/0	4/1	25/4	5/2
<b>Gestation Body Weight</b>	-	-	-	-
<b>Lactation Body Weight</b>	-	-	-	-
<b>Gestation Body Weight Change</b>	-	-	-	-
<b>Lactation Body Weight Change</b>	-	-	-	-
<b>Gestation Food Consumption</b>	-	-	-	-
<b>Lactation Food Consumption</b>	-	-	-	-
<b>No. Pregnant</b>	6	6	6	5 <sup>b</sup>
<b>No. Females Delivering Litters<sup>c</sup></b>	6	6	6	4 <sup>d</sup>
<b>Mean Gestation Length (Days)</b>	22.0	22.0	22.0	22.0 <sup>d</sup>
<b>Gestation Index (%)</b>	100.0	100.0	100.0	80.0 <sup>d</sup>
<b>Stillborn Index (Mean %/Litter)</b>	4.76	1.28	0.00	0.00 <sup>d</sup>

Study Number: 2219-109

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	300
<b>Mean Implantation Scars/Litter</b>	13.0	12.5	13.2	14.8 <sup>d</sup>
<b>Organ Weights</b>	-	-	-	-
<b>Gross Pathology<sup>e</sup></b>				
Number Examined	6	6	6	6
Kidneys				
Discoloration, red				
moderate	0	0	0	1
severe	0	0	1	0
Discoloration, tan				
moderate	0	0	1	0
Lymph node - mandibular				
Red discoloration				
Minimal - moderate	0	5	3	1
Enlarged				
Mild	0	0	0	1
Lymph node – renal				
Red discoloration				
Mild-moderate	0	2	2	1
<b>Histopathology<sup>e, f</sup></b>				
Number Examined	NA	NA	1	2
Kidneys				

Study Number: 2219-109

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	300
Cast/casts				
mild	NA	NA	1	2
Congestion				
minimal	NA	NA	0	1
Degeneration/necrosis, tubular				
moderate	NA	NA	1	2
Inflammation, acute				
minimal	NA	NA	0	1
mild	NA	NA	1	0
Mineralization, tubular				
moderate	NA	NA	1	2
Regeneration, tubular				
minimal	NA	NA	0	2
mild	NA	NA	1	0
<b><u>F<sub>1</sub> Litters (Preweaning)</u></b>				
<b>No. Litters Evaluated</b>	6	6	6	4 <sup>d</sup>
<b>Mean No. Pups at Day 0 (Total Pups Born/Litter)</b>	12.5	11.8	12.3	13.3 <sup>d</sup>
<b>Mean No. Liveborn Pups/Litter</b>	11.8	11.7	12.3	13.3 <sup>d</sup>
<b>Mean No. Stillborn Pups/Litter<sup>c</sup></b>	0.7	0.2	0.0	0.0 <sup>d</sup>
<b>Sex Ratios (% Males/Animal) (Mean %/Litter)</b>				
Pups Day 0	42.25	45.94	42.88	43.10 <sup>d</sup>

Study Number: 2219-109

Dose (mg/kg/day)	0	100	200	300
<b>Viability Index (Mean %/Litter)</b>	100.0	95.94	97.78 <sup>f</sup>	100.00 <sup>d</sup>
<b>Lactation index Day 4 (Postcull) to Day 12 (Mean %/Litter)</b>	100.00 <sup>g</sup>	100.00 <sup>g</sup>	100.00 <sup>g</sup>	100.00 <sup>d, g</sup>
<b>Clinical Observations</b>	-	-	-	-
<b>Pup Body Weight (Least Square Mean, g)</b>				
<b>Males</b>				
LD 0-12	24.79	23.28	19.18	21.64
<b>Females</b>				
LD 0-12	23.88	22.49	19.38	21.1
<b>Males + Females</b>				
LD 0-12	24.16	22.86	19.36	21.41
<b>Necropsy Observations</b>	-	-	-	-

-=no noteworthy findings; GD=Gestational Day; LD=Lactation Day.

- a Unscheduled euthanasias/deaths consisted of one female at 200 mg/kg/day and two females at 300 mg/kg/day. One animal at each dose of 200 and 300 mg/kg/day were found dead with no preceding clinical signs a definitive cause of death for these animals could not be determined. One animal at 300 mg/kg/day was euthanized in extremis on GD 23 for fetal dystocia. Although of low incidence, fetal dystocia has been observed in other studies with ACP-196; therefore, the death of animal number 4505 was considered test article related and adverse.
- b One female/litter was excluded due to incomplete delivery.
- c not statistically analysed
- d Reported as number observed.
- e Histopathology examination was limited to the kidneys from main study animals euthanized in extremis or found dead.
- f One female/litter was excluded because the pups were euthanized due to the death of the dam.
- g No statistics performed due to lack of variability or sample size

## 2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び胚・胎児発生に関する試験

Report Title: ACP-196: A Combination Study of Fertility and Embryo Fetal Developmental Toxicity in Rats With a Toxicokinetic Evaluation			Test Article: ACP-196
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley	Day of Mating: Males: Day 28 Females: Day 14	Duration of Dosing: Males: ≥28 days Females: ≥32 days	Study No. 2219-088
Initial Age: Approximately 8-10 weeks	Day of C-section: GD 20		Location in CTD: 4.2.3.5.1.1
Date of First Dose: [REDACTED]-20-[REDACTED]	Method of Administration: Oral gavage		
Vehicle/Formulation: 0.4% Hypromellose with 0.2% Tween 80 (w/v) in reverse osmosis water	GLP Compliance: Yes		
Special Features: None			
No Observed Adverse Effect Level: Males: 300 mg/kg; Females: 200 mg/kg; Litters: NA			

GLP=Good Laboratory Practice.

Gender	Males					Females				
	0	30	100	200	300	0	30	100	200	300
Number of TK Animals	0	0	0	0	9	3	9	9	9	0
Toxicokinetics <sup>a</sup> :										
C <sub>max</sub> (ng/mL)										
Day 1 (M) / GD 6 (F)	NA	NA	NA	NA	1840	NA	1380	5310	4170	NA
Day 28 (M) / GD 17 (F)	NA	NA	NA	NA	5670	NA	861	3760	6650	NA
AUC <sub>0-24h</sub> (ng·h/mL)										
Day 1 (M) / GD 6 (F)	NA	NA	NA	NA	16300	NA	2030	10000	15900	NA
Day 28 (M) / GD 17 (F)	NA	NA	NA	NA	19900	NA	NA	6830	17500	NA
No. Main Study Animals Evaluated	25	25	25	NA	25	25	25	25	24	NA
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	NA	4	0	0	0	2	NA
Tx-related Clinical Observations	0	0	0	NA	0	0	0	0	0	NA

Gender	Males					Females				
Daily Dose (mg/kg/kg)	0	30	100	200	300	0	30	100	200	300
Tx-related Necropsy Observations	0	0	0	NA	2	0	0	0	0	NA
Kidneys, white foci	0	0	0	NA	2	0	0	0	0	NA
Food Consumption	0	0	0	NA	0	0	0	0	0	NA
Mean No. of Days Prior to Mating <sup>b</sup>	28	28	28	NA	28	14	14	14	14	NA
No. of Males that Mated	25	24	24	NA	24	-	-	-	-	NA
Male Fertility Index (%)	96.0	92.0	96.0	NA	100.0	-	-	-	-	NA
Premating Body Weight (g; Day 25 [M]; Day 15 [F])	420.9	426.0	423.8	NA	406.6	241.7	238.7	243.6	239.1	NA
Mean Gestation Body Weight Change (g; GD 6-20)	---	---	---	NA	---	112.8	113.1	115.6	109.2	NA
Mean Premating Food Consumption (g/animal/day; Week 2)	27.0	27.4	27.6	NA	27.7	18.9	18.6	19.0	17.6	NA
Mean Gestation Food Consumption (g/animal/day; GD 6-20)	---	---	---	NA	---	24.6	25.0	25.0	24.3	NA
Mean No. Estrous Cycles	---	---	---	NA	---	2.6	2.3	2.1 <sup>c</sup>	2.1 <sup>c</sup>	NA
No. of Pregnant Females	---	---	---	NA	---	24	24	24	24	NA
No. Aborted or w/ Total Resorption of Litter	---	---	---	NA	---	0	1	0	0	NA
Mean No. of Corpora Lutea/Animal	---	---	---	NA	---	16.7	16.2	16.5	15.9	NA
Mean No. of Implantation Sites/Animal	---	---	---	NA	---	15.3	14.5	15.0	14.6	NA
Mean % Pre-implantation Loss/Animal	---	---	---	NA	---	7.97	6.13	8.28	7.49	NA
Mean No. Live Conceptuses/Animal	---	---	---	NA	---	14.3	13.7	14.2	13.6	NA
Mean No. Resorptions/Animal	---	---	---	NA	---	1.0	0.8	0.8	0.9	NA

Gender	Males					Females				
	0	30	100	200	300	0	30	100	200	300
No. Dead Conceptuses/Animal	---	---	---	NA	---	0	0	0	0.1	NA
Mean % Post-implantation Loss	---	---	---	NA	---	6.89	9.52	5.05	7.80	NA

AUC=area under the curve; C<sub>max</sub>=maximum serum or plasma concentration; F=female; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; NA=not applicable; TK=toxicokinetics; Tx=treatment.

a Group means are shown.

b Not reported. For the males, days of dosing to mating was planned for 28 days. For the females, days of dosing to mating was planned for 14 days. It was assumed with the high rate of pregnancy on this study that all the females were pregnant within the first 5 days of being placed with a male mate.

c Significantly different from control (p <0.05).

--- No treatment-related findings observed.

### 2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

Report Title: ACP-196: A Study for Effects on Embryo Fetal Development in Rabbits With a Toxicokinetic Evaluation			Test Article: ACP-196		
Species/Strain: Rabbit/New Zealand	Day of Mating: Day 0	Duration of Dosing: GD6-GD18	Study No. 2219-075		
Initial Age: Approximately 7 months	Day of C-section: NA		Location in CTD: 4.2.3.5.2.3		
Date of First Dose: [REDACTED]-[REDACTED]-20[REDACTED] to [REDACTED]-[REDACTED]-20[REDACTED]	Method of Administration: Oral gavage				
Vehicle/Formulation: 0.4% Hypromellose with 0.2% Tween 80 (w/v) in reverse osmosis water			GLP Compliance: Yes		
Special Features: None					
No Observed Adverse Effect Level: Females: 50 mg/kg/day					

GLP=Good Laboratory Practice.

Gender	Time-Mated Females			
	0	50	100	200
Number of TK Animals	4	4	4	4
Toxicokinetics <sup>a</sup> :				
C <sub>max</sub> (ng/mL)				
GD 6	NA	1600	3650	6910
GD 18	NA	1620	3470	3380
AUC <sub>0-24h</sub> (ng•h/mL)				
GD 6	NA	2400	6450	14800
GD 18	NA	2030	4580	17800
No. of Main Study Evaluated	23	23	23	23 <sup>b</sup>
Died or Sacrificed Moribund	0	0	1	7
Tx-related Clinical Observations				
Decreased activity	0	0	1	4

Gender	Time-Mated Females			
	0	50	100	200
Feces small	0	0	3	10
Feces small, clumped	1	1	3	2
Feces few/absent	1	0	7	22
Feces mucoid	0	0	0	3
Feces soft	0	2	4	1
Feces watery	1	0	2	1
Skin cold to the touch, entire body	0	0	1	6
Skin discolored blue nose/muzzle	0	0	1	2
Skin discolored gray nose/muzzle	0	0	1	4
Thin body condition	0	8	6	19
Tx-related Necropsy Observations				
Liver discoloration, tan				
mild	1	0	2	0
Kidneys discoloration, tan				
mild	0	0	0	3 <sup>c</sup>
Kidneys focus/foci white				
moderate	0	0	0	1 <sup>c</sup>
Stomach discoloration, red				
mild	0	0	0	2 <sup>c</sup>
Stomach with red foci				
mild	0	0	1 <sup>c</sup>	4 <sup>c</sup>
moderate	0	0	0	2 <sup>c</sup>

Gender	Time-Mated Females			
	0	50	100	200
Daily Dose (mg/kgday)	0	50	100	200
Mean Gestation Body Weight Change (kg; GD 0-29)	0.545	0.532	0.422	NA
Mean Gestation Food Consumption (g/animal/day; GD 0-29)	135.8	136.7	117.3	58.3 <sup>d</sup>
No. Pregnant	22	22	23	23
Mean No. of Corpora Lutea/Animal	9.5	9.5	9.4	9.4
Mean No. of Implantation Sites/Animal	8.5	8.8	9.0	NA
Mean % Pre-implantation Loss/Animal	10.37	7.48	4.01	NA
No. of Females with Viable Fetuses (GD 29)	22	22	22	NA
No. of Nonviable Fetuses/animal	0	0	0	NA
No. of Litters Evaluated	22	22	22	0
No. of Live Fetuses	8.2	8.4	8.7	NA
Mean No. of Resorptions	0.3	0.4	0.3	NA
Mean % Post-implantation Loss	2.92	3.89	3.41	NA
Mean Fetal Body Weight (g)	42.53	41.09	37.34 <sup>d</sup>	NA
Fetal Sex Ratios (% males)	53.1	52.6	56.3	NA
Test Article-related Fetal Abnormalities				
External malformations and variations	0	0	0	NA
Visceral malformations and variations	0	0	0	NA
Skeletal				
Malformations	0	0	0	NA

Gender	Time-Mated Females			
	0	50	100	200
Daily Dose (mg/kgday)	0	50	100	200
Variations	0	0	7 (4)	NA
Hyoid body not ossified	0	0	7 (4)	NA
Talus not ossified	0	0	4 (2)	NA

AUC=area under the curve; C<sub>max</sub>=maximum serum or plasma concentration;

GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; NA=not applicable;

TK=toxicokinetics; Tx=treatment.

- a Group means are shown.
- b All surviving animals at 200 mg/kg/day were terminated early (GD 21 to 23) due to deteriorating health.
- c Died on study.
- d Significantly different from control (p <0.01).

## 2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

<b>Report Title:</b> ACP-196: A Study of Toxic Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats		
<b>Species/Strain:</b> CD® [Crl:CD®(SD)] rats	<b>Dosing Period:</b> GD 6 through LD 20	<b>Study Number:</b> 2219-111
<b>Initial Age:</b> Approximately 8 weeks of age	<b>Day of Mating:</b> GD 0	<b>Location in CTD:</b> 4.2.3.5.3.2
<b>Date of First Dose:</b> [REDACTED] 20 [REDACTED]	<b>Method of Administration:</b> Oral (gavage)	<b>GLP Compliance:</b> Yes
<b>Special Features:</b> Functional Observational Battery	<b>Vehicle:</b> 0.4% hypromellose 2910 5 cps (DOW, methocel E5 premium LV) (w:v) and 0.2% polysorbate 80 (Tween® 80) (w:v) in NANOpure Diamond Ultrapure water	
<b>No Observed Adverse Effect Level:</b>	<b>Litters Culled/Not Culled:</b> Culled	
<b>P Females:</b> 50 mg/kg/day		
<b>F<sub>1</sub> Males:</b> 150 mg/kg/day		
<b>F<sub>1</sub> Females:</b> 150 mg/kg/day		

GLP=Good Laboratory Practice.

Study Number: 2219-111

Dose (mg/kg/day)	0	50	100	150
<b>P Females</b>				
<b>Toxicokinetics<sup>a</sup>:</b>				
<b>No. of Animals<sup>b</sup></b>	6	6	5	6
<b>LD 20</b>				
<b>C<sub>max</sub> (ng/mL)</b>	-	651	1730	3000
<b>AUC<sub>(0-t)</sub> (ng* hr/mL)</b>	-	1420	4470	10300
<b>Main Study:</b>				
<b>No. of Main Study Animals</b>	25	25	25	25
<b>No. Died or Sacrificed Moribund<sup>c</sup></b>	0	0	1	2
<b>Gestation Clinical Observations<sup>d</sup></b>				

Study Number: 2219-111

Dose (mg/kg/day)	0	50	100	150
Dystocia	0/0	0/0	1/1	2/2
Salivation	0/0	9/3	3/3	35/12
<b>Lactation Clinical Observations<sup>d</sup></b>				
Salivation	0/0	74/12	59/14	141/18
Hair discolored, Lower jaw, Red	0/0	6/2	22/8	51/14
<b>Gestation Body Weight Change - GD6-20</b>	127.8	115.0 <sup>e</sup>	122.0	119.6
<b>Lactation Body Weight Change – LD0-21</b>	39.8	37.1	36.1	35.8
<b>Gestation Food Consumption – GD6-20</b>	21.79	20.96	21.42	21.24
<b>Lactation Food Consumption – LD0-21</b>	56.61	55.79	55.75	53.61
<b>No. Pregnant</b>	25	24	24	24
<b>No. Females Delivering Litters</b>	25	24	23	22
<b>Mean Gestation Length (Days)</b>	21.8	22.0	21.8	21.9
<b>Gestation Index (%)</b>	100.0	100.0	95.8	91.7
<b>Stillborn Index (Mean %/Litter)</b>	0.76	0.60	1.81	0.00
<b>Mean Implantation Scars/Litter</b>	12.4	11.8	11.7	11.7
<b>Organ Weights</b>	-	-	-	-
<b>Necropsy Observations<sup>f</sup></b>				
Number Examined	25	25	25	25
lymph node, mandibular				
discoloration, red				
mild	0	1	3	1
moderate	0	0	1	0
lymph node, renal				

Study Number: 2219-111

Dose (mg/kg/day)	0	50	100	150
discoloration, red				
mild	2	0	0	1

=no noteworthy findings; AUC=area under the concentration-time curve; C<sub>max</sub>=maximum observed concentration; GD=Gestational Day; hr=hour; LD=Lactation Day; P=parental.

- a Group means are shown; the control group was analyzed for plasma concentration; however, group means were not calculated.
- b Blood samples were collected from the first 6 P females per group.
- c One female at 100 mg/kg/day and two females at 150 mg/kg/day were euthanized moribund due to fetal dystocia or incomplete delivery on GD 22, 23, and 22, respectively. Clinical signs associated with dystocia in these P females included swelling of the vulva/anogenital region, piloerection, unkempt appearance, and/or purple discoloration of the anogenital region. At necropsy, 2 animals were found to have a normally developing fetus lodged in the vaginal canal as well as mild pelvic dilation of the kidneys. Additionally, 1 animal had brown fluid in the uterus and vagina. Another had black foreign material in the stomach. A low incidence, dystocia has been observed in previous studies with ACP-196, and therefore this was considered test article related and adverse.
- d Presented as total number of times observed/total number of animals affected.
- e Significantly different from control (p <0.05)
- f Reported as number observed.

Study Number: 2219-111

Dose (mg/kg/day)	0	50	100	150
<b><u>F<sub>1</sub> Litters (Preweaning)</u></b>				
<b>No. Litters Evaluated</b>	25	24	23	22
<b>Mean No. Pups at Day 0 (Total Pups Born/Litter)</b>	11.72	11.54	11.26	10.73
<b>Mean No. Liveborn Pups/Litter at Day 0</b>	11.64	11.46	11.09	10.73
<b>Mean No. Stillborn Pups/Litter at Day 0</b>	0.1	0.1	0.2	0.0
<b>Sex Ratios (% Males/Animal) (Mean %/Litter)</b>				
Pups Day 0	48.96	49.68	50.28	53.47
<b>Viability Index (Mean %/Litter)</b>	98.21	100.00	98.81	97.13
<b>Lactation Index (Mean %/Litter)</b>	99.50	100.00	100.00	100.00
<b>Clinical Observations</b>	-	-	-	-
<b>Pup Body Weight (Mean) (g)</b>				
<b>Males</b>				
LD 0-21	55.94	55.20	54.58	54.72
<b>Females</b>				
LD 0-21	52.83	52.78	52.24	52.72
<b>Males + Females</b>				
LD 0-21	54.25	54.01	53.49	53.64
<b>Physical Development</b>				
<b>Necropsy Observations</b>				
<b>Organ Weights (Mean) (g)</b>				
<b>Males</b>				
No. Evaluated	71	66	66	62

Study Number: 2219-111

Dose (mg/kg/day)	0	50	100	150
Liver (g)	5.9980	5.9006	5.7896	5.6242 <sup>a</sup>
Females				
No. Evaluated	77	73	65	57
Liver (g)	5.7658	5.8026	5.6220	5.5814
<b><u>F<sub>1</sub> Males (Postweaning)</u></b>				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund <sup>b</sup>	0	0	1	1
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight Change – D1-85	480.3	504.3	494.6	499.8
Preputial Separation (Days)	42.1	41.5	42.2	41.1
Functional Observational Battery	-	-	-	-
Behavioral Observations (Motor Activity)	-	-	-	-
Behavioral Observations (Passive Avoidance)	-	-	-	-
No. Males Paired	25	25	25	25
No. of Males Mated	25	25	25	25
No. Males Impregnating a Female	25	24	24	24
Male Mating Index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
Male Fertility Index (%)	100.0	96.0	96.0	96.0
Male Fecundity Index (%)	100.0	96.0	96.0	96.0
Organ Weights	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
<b><u>F<sub>1</sub> Females (Postweaning)</u></b>				
No. Evaluated	25	25	25	25

Study Number: 2219-111

Dose (mg/kg/day)	0	50	100	150
<b>No. Died or Sacrificed Moribund</b>	0	0	0	0
<b>Premating/Mating Clinical Observations</b>	-	-	-	-
<b>Gestation Clinical Observations</b>	-	-	-	-
<b>Premating Body Weight Change – D1-50</b>	160.5	169.0	164.4	171.7
<b>Gestation Body Weight Change – GD0-13</b>	65.8	64.4	65.7	64.2
<b>Vaginal Opening (Days)</b>	31.6	31.3	31.4	31.8
<b>Premating Estrous Cycling</b>	-	-	-	-
<b>Functional Observational Battery</b>	-	-	-	-
<b>Behavioral Observations (Motor Activity)</b>	-	-	-	-
<b>Behavioral Observations (Passive Avoidance)</b>	-	-	-	-
<b>Copulatory Interval (Days)</b>	2.6	3.3	3.5	3.2
<b>No. of Females Paired</b>	25	25	25	25
<b>No. of Females Mated</b>	25	25	25	25
<b>No. of Females Pregnant</b>	25	24	24	24
<b>Female Mating Index (%)</b>	100.0	100.0	100.0	100.0
<b>Female Fertility Index (%)</b>	100.0	96.0	96.0	96.0
<b>Female Fecundity Index (%)</b>	100.0	96.0	96.0	96.0
<b>No. of Females with Confirmed Mating Day</b>	24	20	25	25
<b>Organ Weights</b>	-	-	-	-
<b>Necropsy Observations</b>	-	-	-	-
<b>Cesarean Section Observations</b>				
<b>No. Evaluated</b>	25	25	25	25
<b>No. Not Pregnant</b>	0	1	1	1

Study Number: 2219-111

Dose (mg/kg/day)	0	50	100	150
No. Pregnant	25	24	24	24
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
No. Females with Viable Embryos on GD 13	24	19	24	24
No. Pregnant with No Confirmed Mating Date	1	5	0	0
Mean No. Corpora Lutea	17.5	17.4	18.5	18.7
Mean No. Implantation Sites	15.5	16.4	15.9	17.4 <sup>c</sup>
Mean % Preimplantation Loss	10.93	5.72	14.14	6.29
Mean No. Viable Embryos	15.0	15.0	15.3	16.1
Mean % Postimplantation Loss	3.19	8.06 <sup>c</sup>	3.88	7.26
Mean No. Early + Late Resorptions	0.5	1.4 <sup>c</sup>	0.6	1.3

-=no noteworthy findings; D=Day; GD=Gestational Day; LD=Lactation Day.

a Significantly different from control; (p <0.01).

b One male at 100 mg/kg/day and one male at 150 mg/kg/day were found dead on Days 68 and 71, respectively. No clinical observations or body weight loss were observed for either of these animals prior to being found dead. At necropsy red discoloration of the lung with mainstem bronchi or red foci of the thymus were observed. The cause of death for these males was unknown. However, in the absence of any other deaths among F<sub>1</sub> treated animals on study, they were considered to be incidental, and not test article related.

c Significantly different from control; (p <0.05).

### 2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当なし

### 2.6.7.16 局所刺激性試験

該当なし

## 2.6.7.17 その他の毒性試験

### 2.6.7.17.1 代謝物の試験

該当なし

### 2.6.7.17.2 不純物の試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay		Test Article: 不純物A* (process impurity and degradant of ACP-196)
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	No. of Independent Assays: 1	Study No.: AE25YJ502005ICH.BTL
Strains: <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535 and TA1537; <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	No. of Replicate Cultures: 3	No. Cells Analyzed/Culture: Not applicable
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9		GLP Compliance: Yes
Vehicle for Test Article: 9:1 ratio of DMSO and 1X PBS	Vehicle for Positive Controls: DMSO, except sterile water for sodium azide	
Treatment: Plate incorporation	Date of Treatment: ■-■-20■	
Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		
GLP=Good Laboratory Practice.		

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ±SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 <i>uvrA</i>
Without Activation (-S9)	9:1 ratio of DMSO and 1X PBS	50.0 μL/plate	13±2	106±10	11±3	8±1	27±6
	Untreated		13±2	104±8	11±4	7±2	30±6
	15.0	13±3	105±8	13±3	7±4	37±18	
	50.0	16±3	97±16	15±2	7±4	34±5	
	150	12±3	94±3	14±1	6±1	32±7	
	500	16±1	98±26	9±1	8±4	31±4	
	1500	10±3	98±9	14±4	6±3	27±9	
	3333	15±2	91±16	11±2	5±3	17±9	
	4000	16±1	84±7	10±2	7±1	22±4	
	5000	14±4	90±9	10±3	7±2	22±8	
	2NF	1.0	99±24				
	SA	1.0		420±18	650±25		
	9AAD	75				353±24	
	MMS	1000					354±25
With Activation (+S9)	9:1 ratio of DMSO and 1X PBS	50.0 μL/plate	22±5	110±16	9±2	10±2	27±2
	Untreated		22±5	107±12	11±0	10±3	29±11
	15.0	26±2	103±7	11±3	11±5	27±3	
	50.0	25±4	113±15	9±2	6±1	27±7	
	150	24±6	111±11	10±2	10±4	34±13	
	500	19±4	115±5	9±2	10±1	24±7	
	1500	25±9	91±5	10±5	5±2	21±4	
	3333	20±4	113±23	8±5	11±4	26±4	
	4000	27±1	117±18	7±3	7±1	28±2	
	5000	24±3	123±7	7±1	7±2	23±2	
	2AA	1.0	175±4		73±9		
	2AA	2.0		523±78		44±10	
	2AA	15					223±21

2AA=2-aminoanthracene; 2NF=2-nitrofluorene; 9AAD=9-aminoacridine; DMSO=dimethylsulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; MMS=methyl methanesulfonate; PBS=phosphate buffered saline; S9=supernatant fraction 9 from liver tissue homogenate; SA=sodium azide; SD=standard deviation.

<b>Report Title:</b> Bacterial Reverse Mutation Assay		<b>Test Article:</b> 不純物B* (process impurity of ACP-196)
<b>Test for Induction of:</b> Reverse mutation in bacterial cells	<b>No. of Independent Assays:</b> 1	<b>Study No.:</b> AE28XD.502005ICHBT
<b>Strains:</b> <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535 and TA1537; <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	<b>No. of Replicate Cultures:</b> 3	<b>No. Cells Analyzed/Culture:</b> Not applicable
<b>Metabolizing System:</b> Aroclor-induced rat liver S9		<b>GLP Compliance:</b> Yes
<b>Vehicle for Test Article:</b> DMSO	<b>Vehicle for Positive Controls:</b> DMSO, except sterile water for sodium azide	
<b>Treatment:</b> Plate incorporation	<b>Date of Treatment:</b> █-█-20█	
<b>Cytotoxic Effects:</b> None	<b>Genotoxic Effects:</b> None	

GLP=Good Laboratory Practice.

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 <i>uvrA</i>
Without Activation (-S9)	DMSO 不純物B*	200 μL/plate	13±2	82±2	7±2	8±5	25±4
		15	16±2	81±2	10±3	8±2	21±9
		50	15±8	83±1	13±2	9±4	26±3
		150	16±1	76±4	9±1	10±3	22±6
		500	16±6	81±3	8±2	13±4	17±4
		1500	15±2	88±1	11±3	8±1	24±6
		3333	16±3	77±10	11±2	7±3	21±1
		4000	20±4	78±12	10±3	8±1	22±5
		5000	15±1	81±6	12±3	8±2	22±5
	2NF	1.0	120±37				
	SA	1.0		689±103	636±81	142±39	
	9AAD	75					
	MMS	1000					219±16
With Activation (+S9)	DMSO 不純物B*	200 μL/plate	20±4	94±3	12±1	10±3	21±3
		15.0	24±2	93±4	8±1	10±5	25±11
		50.0	28±8	87±8	9±2	9±1	30±9
		150	27±5	92±3	11±3	15±3	31±1
		500	20±3	91±6	12±2	12±3	28±5
		1500	25±3	89±15	10±1	11±2	25±7
		3333	30±1	98±7	12±2	13±2	31±7
		4000	27±3	93±4	10±1	11±2	30±4
		5000	30±5	91±4	16±4	15±4	29±4
	2AA	1.0	152±102		132±37		
	2AA	2.0		1494±520		137±31	
	2AA	15					241±9

2AA=2-aminoanthracene; 2NF=2-nitrofluorene; 9AAD=9-aminoacridine; DMSO=dimethylsulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; MMS=methyl methanesulfonate; S9=supernatant fraction 9 from liver tissue homogenate; SA=sodium azide; SD=standard deviation.

<b>Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay in 6-Well Plates</b>		<b>Test Article: ACP-196 with 10% weight 不純物C*</b> <b>(process impurity of ACP-196)</b>		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	No. of Independent Assays: 1	Study No.: AE38BU.502008.BTL		
Species/Strain: <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, and TA97a; <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	No. of Replicate Cultures: 2	No. Cells Analyzed/Culture: Not applicable		
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9		GLP Compliance: Yes		
Vehicle for Test Article: DMSO	Vehicle for Positive Controls: DMSO, except sterile water for sodium azide			
Treatment: Modified plate incorporation method in 6-well plates (incubated for 48 to 72 hours at 37±2°C after dosing)	Date of Treatment: █-█-20█			
Cytotoxic Effects: Toxicity, as a reduction in revertant count was observed at 1000 µg per well with tester strain TA100 in the absence of S9 activation. 2.2-fold increase was observed with tester strains TA98 in the presence of S9 activation. However, both the individual revertant counts at the response were within historical limits. Therefore, it was not indicative of mutagenic activity.				
Genotoxic Effects: None				

GLP=Good Laboratory Practice.

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (μg/well)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	WP2 uvrA
Without Activation	ACP-196 with 10% weight 不純物C*	20.0 μL/well	3.5±0.7	23.0±1.4	2.5±0.7	21.0±1.4	6.0±1.4
		0.300	4.5±0.7	19.5±2.1	2.0±1.4	16.5±0.7	7.0±2.8
		1.00	3.0±2.8	20.0±0.0	2.0±1.4	20.0±1.4	6.5±0.7
		3.00	3.5±0.7	17.5±3.5	3.5±0.7	21.5±12.0	4.0±4.2
		10.0	4.0±1.4	18.5±0.7	2.0±1.4	17.5±2.1	6.0±1.4
		30.0	2.5±2.1	20.0±4.2	3.5±0.7	19.0±5.7	2.5±0.7
		100	3.5±2.1	23.0±2.8	3.5±3.5	16.5±2.1	6.5±3.5
		300	6.0±1.4	21.0±4.2	3.5±0.7	16.0±1.4	5.0±2.8
		1000	4.0±1.4	8.5±3.5	2.5±0.7	30.0±11.3	3.5±0.7
		2NF	0.2	31.5±14.8			
With Activation	ACP-196 with 10% weight 不純物C*	SA	0.2		123.0±8.5	72.0±4.2	
		ICR-191	0.5			132.5±36.1	
		MMS	200				29.0±ND
		DMSO	20.0 μL/well	4.5±2.1	16.0±1.4	3.0±2.8	21.0±1.4
			0.300	4.0±2.8	14.5±3.5	2.0±1.4	21.5±2.1
			1.00	6.0±0.0	21.0±0.0	3.0±1.4	16.0±4.2
			3.00	4.5±0.7	24.5±0.7	3.0±2.8	19.0±1.4
			10.0	6.5±3.5	22.0±2.8	2.0±1.4	24.0±1.4
			30.0	5.0±0.0	19.5±4.9	3.0±1.4	20.0±4.2
			100	3.0±1.4	23.0±9.9	3.0±1.4	22.5±0.7
2AA	2AA		300	7.0±1.4	18.0±1.4	1.0±0.0	22.5±3.5
			1000	10.0±1.4	8.5±0.7	2.0±0.0	27.0±7.1
			0.4	163.0±11.3	144.5±19.1	34.5±10.6	93.5±20.5
			3.0				58.0±2.8

2AA=2-aminoanthracene; 2NF=2-nitrofluorene; DMSO=dimethylsulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; ICR-191=acridine mutagen ICR-191; MMS=methyl methanesulfonate; ND=not determined; S9=supernatant fraction 9 from liver tissue homogenate; SA=sodium azide; SD=standard deviation.

<b>Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay</b>		<b>Test Article: 不純物H* (process impurity of ACP-196)</b>	
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells		No. of Independent Assays: 1	
Strains: <i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535 and TA1537; <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>		No. of Replicate Cultures: 3	
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9			No. of Cells Analyzed/Culture: not applicable
Vehicles:	For Test Article: DMSO	For Positive Controls: DMSO, except sterile water for sodium azide	GLP Compliance: Yes
Treatment: Plate incorporation		Date of Treatment: █-█-20█	
Cytotoxic Effects: None	Genotoxic Effects: Positive mutagenic responses were observed (5.4- and 8.8-fold, maximum increases) with tester strain TA1537 in the presence and absence of S9 activation, respectively.		

GLP=Good Laboratory Practice.

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA
<b>Mutagenic Response Assay</b>							
Without Activation (-S9)	DMSO	50 μL/plate	20±6	92±6	12±3	5±1	25±1
	不純物H*	10.0	17±8	86±13	10±3	6±4	25±4
		25.0	16±3	100±10	11±4	6±2	24±1
		50.0	18±3	97±15	12±4	7±2	28±6
		75.0	23±11	89±11	10±3	6±1	23±2
		150	13±3	97±5	11±1	7±4	21±9
		300	16±3	101±11	11±4	7±1	22±4
		600	19±5	108±5	11±4	10±3	22±8
		1200	23±2	136±20	9±4	11±4	24±2
		2500	27±4	137±12	11±3	24±1	35±4
		5000 <sup>a</sup>	29±4	135±3	9±2	44±20	30±7
	2NF	1.0	114±57				
With Activation (+S9)	SA	1.0		652±123	524±179	411±68	
	9AAD	75					337±24
	MMS	1000					
	DMSO	50 μL/plate	20±5	89±10	12±2	9±3	29±4
	不純物H*	10.0	18±4	90±13	13±4	8±3	30±7
		25.0	19±3	83±20	13±2	8±3	26±8
		50.0	17±2	89±11	11±4	9±1	24±1
		75.0	21±3	80±5	11±2	10±2	24±1
		150	17±7	91±18	13±3	9±1	28±9
		300	20±1	83±9	10±1	7±2	26±5
		600	21±10	90±7	13±4	10±3	31±11
		1200	18±1	72±8	9±2	18±3	28±6
		2500	24±4	87±10	12±6	30±6	26±5
		5000 <sup>a</sup>	27±4	107±15	10±5	49±8	27±1
	2AA	1.0	189±9		84±11		
	2AA	2.0		363±16		63±19	
	2AA	15					233±4

2AA=2-aminoanthracene; 2NF=2-nitrofluorene; 9AAD=9-aminoacridine; DMSO=dimethylsulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; MMS=methyl methanesulfonate; S9=supernatant fraction 9 from liver tissue homogenate; SA=sodium azide; SD=standard deviation.

a Precipitate observed.

<b>Report Title:</b> Bacterial Reverse Mutation Assay		<b>Test Article:</b> ACP-196 Lot [REDACTED], containing 不純物E* (process impurity)		
<b>Test for Induction of:</b> Reverse mutation in bacterial cells	<b>No. of Independent Assays:</b> 1	<b>Study No.:</b> AE24KN.502ICH.BTL		
<b>Strains:</b> <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535 and TA1537; <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	<b>No. of Replicate Cultures:</b> 3	<b>No. Cells Analyzed/Culture:</b> not applicable		
<b>Metabolizing System:</b> Aroclor-induced rat liver S9		<b>GLP Compliance:</b> Yes		
<b>Vehicle for Test Article:</b> DMSO	<b>Vehicle for Positive Controls:</b> DMSO, except sterile water for sodium azide			
<b>Treatment:</b> Plate incorporation	<b>Date of Treatment:</b> [REDACTED] 20[REDACTED]			
<b>Cytotoxic Effects:</b> Toxicity was observed, as reductions in revertant counts, beginning at 3333 or 4000 µg per plate with some test conditions.				
<b>Genotoxic Effects:</b> None				

GLP=Good Laboratory Practice.

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (μg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 <i>uvrA</i>
Without Activation	ACP-196	100 μL/plate	16±6	93±4	14±7	4±2	17±5
		15	17±4	77±7	10±5	4±3	20±4
		50	18±4	84±10	12±3	3±1	17±4
		150	16±6	79±4	12±2	5±1	22±11
		500	13±3	85±7	12±4	6±3	21±10
		1500	18±5	83±17	13±2	5±2	20±5
		3333 <sup>a</sup>	18±2	55±10	11±5	6±2	16±6
		4000 <sup>a</sup>	15±2	34±3	6±2	5±1	15±3
		5000 <sup>a</sup>	13±2	14±8	6±4	5±4	15±4
	2NF	1.0	134±45				
	SA	1.0		466±21	469±58		
	9AAD	75				335±73	
	MMS	1000					253±11
With Activation	ACP-196	100 μL/plate	28±4	98±8	13±3	7±2	36±6
		15	27±5	83±7	10±4	7±2	31±3
		50	22±3	103±9	8±2	8±2	30±4
		150	25±3	83±2	11±3	4±3	29±8
		500	24±7	92±11	10±3	8±3	29±3
		1500	31±3	77±5	7±1	6±2	31±7
		3333 <sup>a</sup>	32±6	37±11	3±2	7±2	26±3
		4000 <sup>a</sup>	39±3	44±4	4±1	10±3	29±3
		5000 <sup>a</sup>	41±4	28±11	3±1	8±1	20±3
	2AA	1.0	327±58		110±22		
	2AA	2.0		764±99		59±2	
	2AA	15					336±18

2AA=2-aminoanthracene; 2NF=2-nitrofluorene; 9AAD=9-aminoacridine; DMSO=dimethylsulfoxide; GLP=Good laboratory Practice; MMS=methyl methanesulfonate; p=precipitate observed; S9=supernatant fraction 9 from liver tissue homogenate; SA=sodium azide; SD=standard deviation.

a Precipitate observed.

<b>Report Title: In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)</b>		<b>Test Article: ACP-196 Lot █, containing 不純物E* (process impurity)</b>
Test for Induction of: Chromosomal aberrations	No. of Independent Assays: 1	BioReliance Study No.: AE24KN.341ICH.BTL
Species/Strains: Human peripheral blood lymphocytes	No. of Replicate Cultures: 2	
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9	No. of Cells Analyzed/Culture: ACP-196: 150 for structural, 150 for numerical; Positive controls: 75 for structural, 150 for numerical	
Vehicles: For Test Article: DMSO	For Positive Controls: Water (MMC, CP)	GLP Compliance: Yes
Treatment: 20 h without S9; 4 h with 16 h recovery period with and without S9	Date of Treatment: █-█-20█ (Chromosomal Aberration Assay)	
Cytotoxic Effects:	Cytotoxicity ( $\geq 50\%$ reduction in mitotic index relative to the solvent control) was observed at dose levels $\geq 400 \mu\text{g/mL}$ in the non-activated 4-hour exposure group, at dose levels $\geq 200 \mu\text{g/mL}$ in the S9-activated 4-hour exposure group, and at dose levels $\geq 80 \mu\text{g/mL}$ in the 20-hour exposure group.	
Genotoxic Effects:	None	

GLP=Good Laboratory Practice.

Metabolic Activation	Test Article	Concentration $\mu\text{g/mL}$	Cytotoxicity <sup>a</sup> (% of Control)	Aberrant Cells		Aberrations per Cell <sup>b,d</sup> (Mean $\pm$ SD)	Total Polyploid Cells (Mean %) <sup>e</sup>
				Structural (Mean %) <sup>b</sup>	Numerical (Mean %) <sup>c</sup>		
20-h Continuous Treatment Without Activation	DMSO	NA	NA	0.0	0.0	0.000 $\pm$ 0.000	0.0
	ACP-196	20	16	0.3	0.0	0.003 $\pm$ 0.058	0.0
	ACP-196	40	24	0.0	0.0	0.000 $\pm$ 0.000	0.0
	ACP-196	80	53	0.7	0.0	0.007 $\pm$ 0.082	0.0
	MMC	0.3	51	24.7 <sup>f</sup>	0.0	0.267 $\pm$ 0.501	0.0
4-h Treatment With 16 h Recovery Without Activation	DMSO	NA	NA	0.0	0.0	0.000 $\pm$ 0.000	0.0
	ACP-196	100	14	0.3	0.0	0.003 $\pm$ 0.058	0.0
	ACP-196	200	24	0.3	0.0	0.003 $\pm$ 0.058	0.0
	ACP-196	325 <sup>g</sup>	29	0.3	0.0	0.003 $\pm$ 0.058	0.0
4-h Treatment With 16 h Recovery With Activation	DMSO	NA	NA	0.0	0.0	0.000 $\pm$ 0.000	0.0
	ACP-196	50	20	0.0	0.0	0.000 $\pm$ 0.000	0.0
	ACP-196	150	31	0.0	0.0	0.000 $\pm$ 0.000	0.0
	ACP-196	250	54	0.7	0.0	0.007 $\pm$ 0.082	0.0
	CP	5	49	14.0 <sup>f</sup>	0.0	0.140 $\pm$ 0.348	0.0

CP=cyclophosphamide; DMSO=dimethyl sulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; MMC=mitomycin C; NA=not applicable; S9=supernatant fraction 9 from liver tissue homogenate; SD=standard deviation.

a Based on mitotic inhibition relative to solvent control.

b Does not include cells with only gaps.

c Includes polyploid and endoreduplicated cells.

d Severely damaged cells counted as 10 aberrations.

e Does not include endoreduplicated cell.

f Fisher's Exact Test  $p \leq 0.01$ .

g Visible precipitate was observed in the treatment medium at the conclusion of the treatment period.

Test Article: ACP-196 Lot [REDACTED], Containing 不純物E\* (Process Impurity)

Species (Strain)	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Non-Pivotal Studies	
						Noteworthy Findings	
Rat (Wistar Han)	Oral gavage	14 days	5 25 25 ACP-196 (reference lot without 不純物E* )	10M, 10F 10M, 10F 10M, 10 F	25	<p>A toxicokinetic assessment was conducted for ACP-196.</p> <p>No test article-related observations were noted in clinical observations, body weight effects, food consumption effects, ophthalmoscopic findings, clinical pathology parameters, macroscopic observations, organ weight effects, or microscopic observations (ACP-196 Lot [REDACTED] only).</p> <p>With the exception of non-adverse test article-related pancreas lesions (degeneration of islet cells, hemorrhage, fibrosis, mixed cell inflammation, and pigmented macrophages) in one animal at 25 mg/kg/day ACP-196 (reference lot), there were no test-article-related microscopic lesions.</p>	2219-063

F=female; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level.

### 2.6.7.17.3 光毒性試験

<b>Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of ACP-196 in the <i>Salmonella Typhimurium</i> Reverse Mutation Assay Under the Influence of UV-Irradiation</b>		
Test for Induction of: Bacterial Mutations	No. of Independent Assays: 1	Study No. 503224
Strains: <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA102, TA1535 and TA1537	No. of Replicate Cultures: 3	
Metabolizing System: None	No. of Cells Analyzed/Culture: Not specified	
Vehicles: For Test Article: DMSO	For Positive Controls: CPZ and 8-MOP	GLP Compliance: Yes
Treatment: <i>S. typhimurium</i> strains were treated with ACP-196 (up to 5000 µg/plate) in the presence and absence of UV-irradiation using plate incorporation and pre-incubation assays		Date of Treatment: [REDACTED]-[REDACTED]-20[REDACTED] to [REDACTED]-[REDACTED]-20[REDACTED]
Cytotoxic Effects: None		Genotoxic Effects: None

GLP=Good Laboratory Practice.

Revertant colony counts (mean ± SD)							
Metabolic Activation	Test Article	Dose (μg/plate)	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
<b>Mutagenic Response Assay</b>							
Without UV	Positive Control	NA	21±9	7±4	22±8	99±16	275±12
	DMSO	NA	14±2	8±4	25±2	82±9	292±17
	ACP-196	100	16±6	10±7	23±6	77±10	212±187
		333	10±2	10±2	38±9	86±9	275±16
		1000	6±1 <sup>a</sup>	11±3 <sup>a</sup>	27±10 <sup>a</sup>	56±17 <sup>a</sup>	287±20 <sup>a</sup>
		3330	7±1 <sup>b</sup>	10±4 <sup>b</sup>	14±5 <sup>b</sup>	46±16 <sup>b</sup>	301±40 <sup>b</sup>
		5000	12±3 <sup>b, c</sup>	14±4 <sup>b, c</sup>	16±3 <sup>b, c</sup>	68±24 <sup>b, c</sup>	305±44 <sup>b, c</sup>
With UV	Positive Control	NA	56±7	291±44	414±58	528±42	1197±140
	DMSO	NA	14±3	9±6	26±7	76±21	302±39
	ACP-196	100	15±8	12±3	20±0	89±5	276±22
		333	13±6	5±2	21±4	98±1	299±26
		1000	9±5 <sup>a</sup>	12±7 <sup>a</sup>	29±3 <sup>a</sup>	46±10 <sup>a</sup>	288±2 <sup>a</sup>
		3330	12±12 <sup>b</sup>	9±3 <sup>b</sup>	26±4 <sup>b</sup>	59±12 <sup>b</sup>	270±2 <sup>b</sup>
		5000	12±2 <sup>b, c</sup>	10±4 <sup>b, c</sup>	32±8 <sup>b, c</sup>	44±5 <sup>b, c</sup>	291±23 <sup>b, c</sup>

CPZ=chlorpromazine; DMSO=dimethylsulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; NA=not applicable; UV=ultraviolet; 8-MOP=8-methoxypsoralen.

a No precipitate.

b Slight precipitate.

c Bacterial background normal.

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
3T3 Cells (mouse)	In vitro	1 hour	0-250 µM (run 1) 0-2,500 µM (run 2)	NA	IC <sub>50</sub> + UV = 124 µM (run 1) and 101 µM (run 2) PIF = >2.02 (run 1) and >9.862 (run 2) MPE = 0.03 (run 1) and 0.16 (run 2) Results were inconclusive in run 1 (ACP-196 was not phototoxic according to MPE calculation but probably phototoxic according to PIF calculation). Results from run 2 at the higher concentration indicated ACP-196 was phototoxic at 101 µM.	R2013001

IC<sub>50</sub>=concentration causing 50% cytotoxicity; MPE=mean photo effect; NA=not applicable; PIF=photo-irritation factor; UV=ultraviolet.

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
3T3 Cells (mouse)	In vitro	1 hour	0-430 µg/mL	NA	EC <sub>50</sub> + UV = 32.7 µg/mL (70 µM) PIF = 13.138 The assay met all the critical acceptance criteria as outlined in the protocol. Results indicate that ACP-196 is positive in the 3T3-NRU Phototoxicity Assay.	9316-101051

EC<sub>50</sub>=50% effective concentration; NA=not applicable; NRU=neutral red uptake; PIF= photo-irritation factor; UV=ultraviolet.

## 2.6.7.17.4 溶血性試験

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Human whole blood	Ex vivo	2 min	0.1 mg/mL 0.2 mg/mL 1.0 mg/mL	NA	ACP-196 formulations did not lyse human erythrocytes at the final concentrations of 0.1 to 1.0 mg/mL, the highest concentration tested. The vehicle control and ACP-196 formulation at a concentration of 1.0 mg/mL did not affect human plasma proteins.	2219-034

NA=not applicable.

## 2.6.7.17.5 考察試験

Non-Pivotal Studies						Test Article: ACP-196 or Ibrutinib	
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (Sprague-Dawley)	Oral gavage	14 and 28 days	ACP-196: 1 2.5 7.5 15 30	ACP-196: 12M 12M 12M 12M 12M	Not established within the dose range tested	A toxicokinetic assessment was conducted for ACP-196.  In animals that received either ACP-196 or ibrutinib, no treatment-related findings were noted for survival, clinical observations, body weight, food consumption, ophthalmoscopic examinations, clinical pathology, macroscopic observations, or organ weights.  Treatment-related microscopic findings were limited to histopathology changes in the pancreas and were observed in both animals that received ACP-196 and animals that received ibrutinib. These findings included minimal to moderate islet cell hemorrhage/ pigment/ inflammation/ fibrosis, and minimal to moderate subacute/chronic inflammation of the exocrine pancreatic acini and interstitium) at all dose levels. The pancreatic findings in the 1 mg/kg/day group were non-adverse, and the findings at other dose levels were of uncertain adversity given the nature of these pancreatic findings as a known strain-specific background change associated with aging and not clearly linked to morbidity or mortality in affected animals.	2219-005

M=male; NOAEL=no observed adverse effect level.

Non-Pivotal Studies						Test Article: ACP-196	
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (Sprague-Dawley)	Oral gavage	28 days w/ 28-day recovery	0.5 1 2.5 5	15M, 15F 15M, 15F 15M, 15F 15M, 15F	5	<p>A toxicokinetic assessment was conducted for ACP-196.</p> <p>No test article-related effects on survival, body weights, food consumption, or clinical observations were noted. Non-adverse test article-related changes were limited to clinical pathology (increased neutrophils and fibrinogen) and pathology (minimal to mild islet cell hemorrhage/pigment/inflammation/fibrosis, and minimal to moderate subacute/chronic inflammation of the exocrine pancreatic acini and interstitium) findings in males at dose levels <math>\geq 1</math> mg/kg/day. Both the clinical pathology and anatomic pathology findings were dose responsive in males, and showed reversibility by the end of the recovery period.</p>	2219-010

F=female; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level.

Non-Pivotal Studies						Test Article: ACP-196	
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (Wistar Han)	Oral gavage	28 days	2.5 30 100	6M 6M 6M	100	<p>A toxicokinetic assessment was conducted for ACP-196.</p> <p>No ACP-196-related effects were noted in body weights, food consumption, ophthalmoscopic examinations, hematology parameters, coagulation parameters, clinical chemistry parameters, urinalysis parameters, organ weights, or macroscopic findings.</p> <p>Non-adverse ACP-196-related observations included salivation and microscopic findings of islet hemorrhage, inflammation, fibrosis, and/or pigment deposition (1 of 6 animals at 2.5 and 30 mg/kg/day and 2 of 6 animals at 100 mg/kg/day) seen in the pancreas, as well as inflammation of exocrine pancreatic acini at a low incidence level (minimal to mild in 2 of 6 animals at 30 mg/kg/day and minimal in 1 of 6 animals at 100 mg/kg/day). No ACP-196-related findings were seen in the kidneys or other tissues.</p>	2219-040

M=male; NOAEL=no observed adverse effect level.

Non-Pivotal Studies						Test Article: ACP-196	
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (Sprague-Dawley)	Oral gavage	13 weeks w/ 28-day recovery	1 2.5 5	16M, 16F 16M, 16F 16M, 16F	5	<p>A toxicokinetic assessment was conducted for ACP-196.</p> <p>No ACP-196-related effects were noted in body weights, food consumption, ophthalmoscopic findings, hematology parameters, coagulation times or fibrinogen values, urinalysis parameters, anti-KLH IgM or IgG responses (TDAR), or macroscopic findings.</p> <p>No clear ACP-196-related organ weight changes were seen in this study, although mean liver weights were significantly increased in males and females at the 1.0 and 2.5 mg/kg/day dose levels and mean spleen weights were significantly decreased in females at 1 and 5 mg/kg/day. These changes resolved over the recovery phase. There were no microscopic or macroscopic findings associated with these organ weight changes and the toxicological significance is unclear.</p> <p>Non-adverse ACP-196-related findings included increased observations of salivation, mild decreases in glucose, and microscopic findings of islet hemorrhage, inflammation, fibrosis, and/or pigment deposition were seen in the pancreas, as well as exocrine pancreatic acinar inflammation. There were no ACP-196-related findings in the kidneys, spleen, liver or other tissues examined microscopically.</p>	2219-041

F=Female; IgG=immunoglobulin G; IgM=immunoglobulin M; KLH=keyhole limpet hemocyanin; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level; TDAR=T cell-dependent antibody responses.

Non-Pivotal Studies						Test Article: ACP-196	
Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (Wistar Han)	Oral gavage	13 weeks w/ 28-day recovery	2.5 5 7.5 30	16M, 16F 16M, 16F 16M, 16F 16M, 16F	30	<p>A toxicokinetic assessment was conducted for ACP-196.</p> <p>No ACP-196-related effects were noted in clinical observations, body weights, food consumption, ophthalmoscopic findings, or clinical pathology endpoints (hematology, clinical chemistry, coagulation, fibrinogen, or urinalysis parameters).</p> <p>No ACP-196-related organ weight effects or macroscopic observations were noted.</p> <p>Non-adverse ACP-196-related microscopic findings of islet hemorrhage, inflammation, fibrosis, and/or pigment were seen in the pancreas. These findings were not observed in females. In males, these findings were not considered adverse because of low severity and low incidence, the lack of clinical correlates, the lack of clinical pathology findings, and the generally limited number of affected islets.</p>	2219-050

F=female; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level.

## 2.6.7.17.6 静脈内投与毒性試験

### Non-Pivotal Studies

### Test Article: ACP-196

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Dog (Beagle)	Intravenous	Single-dose or Repeat-dose 7 days w/ 14-day recovery for n=3 per sex per group	Single-dose 3 5 Repeat-dose 5	3M, 3F 3M, 3F 6M, 6F	5	Toxicokinetic assessment was conducted for ACP-196.  All animals survived to the scheduled necropsies. No test article-related clinical observations, body weight effects, food consumption effects, ophthalmoscopic findings, clinical pathology (hematology [single-dose only], coagulation, clinical chemistry or urinalysis) parameters, or macroscopic findings, organ weight changes or microscopic findings were observed.  At the terminal collection on Day 8 for repeat-dose animals, females at 5 mg/kg had mild decreases in red cell mass relative to pretest values. Decreases in red cell mass were considered test article-related but were considered non-adverse due to the overall small magnitude of the change and lack of meaningful alterations in reticulocytes. At the recovery collection, decreases in red cell mass partially resolved in females at 5 mg/kg, but remained mildly decreased relative to pretest values. Similar changes were not noted in males.	2219-026

F=female; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level.

### 2.6.7.17.7 併用毒性試験

#### Non-Pivotal Studies

#### Test Article: ACP-196 + ACP-319

Species (Strain)	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/d)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/d)	Noteworthy Findings	Study Number
Dog (Beagle)	Oral capsule	28 days w/ 28-day recovery	30 mg/kg/d ACP-196 + 50 mg/d ACP-319  30 mg/kg/d ACP-196 + 100 mg/d ACP-319  30 mg/kg/d ACP-196 + 0 ACP-319  0 ACP-196 + 100 mg/d ACP-319  In all groups, the daily dose was split and animals received doses BID.	7M, 7F  7M, 7F  7M, 7F  7M, 7F	30 mg/kg/d ACP-196 and 100 mg/d ACP-319 alone or in combination	Toxicokinetic assessments were conducted for ACP-196 and ACP-319.  No test article-related clinical observations, body weight effects, food consumption effects, ophthalmoscopic findings, changes in coagulation times or urinalysis parameters, or macroscopic findings, organ weight changes or microscopic findings were observed.  Electrocardiography findings included a possible mild, non-adverse slowing of the heart rate at the terminal intervals in the high dose combination animals, there were no other test article-related qualitative or quantitative ECG parameters.  Test article related hematology effects included minimal non-adverse and reversible increases in monocytes and/or fibrinogen mostly in the low and high dose combination groups in both sexes, and sporadically in the ACP-196 or ACP-319 alone groups. Test article-related clinical chemistry effects included moderate reversible increases in ALT in 3 of 14 animals receiving 100 mg/d ACP-319 alone.	2219-020

BID=twice daily; d=day; ECG=electrocardiogram; F=female; M=male; NOAEL=no observed adverse effect level.