目次

略号一覧表 3
2.6.6 毒性試験の概要文 6
2.6.6.1 まとめ 6
2.6.6.2 単回投与毒性試験 12
2.6.6.2.1 マウスを用いた Brigatinib の単回経口投与毒性試験 12
2.6.6.2.2 ラットを用いた Brigatinib の単回経口投与毒性試験 12
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクスの評価を含む） 13
2.6.6.3.1 ラットを用いた Brigatinib の 14 日間経口投与用量設定毒性試験 13
2.6.6.3.2 ラットを用いた Brigatinib の 28 日間経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 14
2.6.6.3.3 ラットを用いた Brigatinib の 6 ヵ月間経口投与毒性試験及び 56 日間回復性試験... 20
2.6.6.3.4 サルを用いた Brigatinib の用量設定毒性試験 24
2.6.6.3.5 サルを用いた Brigatinib の 28 日間経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 25
2.6.6.3.6 サルを用いた Brigatinib の 6 ヵ月間経口投与毒性試験及び 56 日間回復性試験 28
2.6.6.4 遺伝毒性試験 31
2.6.6.4.1 細菌を用いた Brigatinib の復帰突然変異試験 31
2.6.6.4.2 哺乳類細胞を用いた Brigatinib の in vitro 遺伝毒性試験 32
2.6.6.4.3 ラットを用いた Brigatinib の in vivo 小核試験 32
2.6.6.5 がん原性試験 32
2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 33
2.6.6.6.1 ラットを用いた Brigatinib の胚・胎児発生毒性試験のための用量設定試験 33
2.6.6.6.2 ラットを用いた Brigatinib の胚・胎児発生毒性試験とトキシコキネティックス評価 33
2.6.6.6.3 ラットを用いた Brigatinib の出生前及び出生後の生殖発生毒性に関する主要試験とトキシコキネティクス評価 35
2.6.6.7 局所刺激性試験 35
2.6.6.8 その他の毒性試験 35
2.6.6.8.1 ラットを用いた Brigatinib の In vivo 光毒性試験 35
2.6.6.9 考察及び結論 36
2.6.6.10 参考文献一覧 38

表

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム（主要な試験） 6
表 2.6.6.3-1　Brigatinib 経口投与後のラットにおける Brigatinib トキシコキネティクスパラメータ平均値の要約：投与 1 日目及び 14 日目 13
表 2.6.6.3-2　Brigatinib 経口投与後のラットにおける Brigatinib の トキシコキネティクスパラメータ 18

表 2.6.6.3-3　Brigatinib 強制経口投与後のラットにおける AP26123 の トキシコキネティクスパラメータ 19
表 2.6.6.3-4　Brigatinib を経口投与したラットの投与 0、29、52、89 及び 182 日における Brigatinib のトキシコキネティクスパラメータの要約 23
表 2.6.6.3-5　Brigatinib を経口投与したラットの投与 0、29、52、89 及び 182 日における AP26123 のトキシコキネティクスパラメータの要約 23
表 2.6.6.3-6　Brigatinib 経口投与後のサルにおける Brigatinib のトキシコキネティクスパラメータ平均値（雌雄合算）の要約：投与 1 日目及び 14 日目 25
表 2.6.6.3-7　Brigatinib 経口投与後のサルにおける AP26123 のトキシコキネティクスパラメータ平均値（雌雄合算）の要約：投与 1 日目及び 14 日目 25
表 2.6.6.3-8　Brigatinib 経口投与後のサルにおける Brigatinib の TK パラメータ平均値の要約 27
表 2.6.6.3-9　Brigatinib 経口投与後のサルにおける AP26123 の TK パラメータ平均値の要約 28
表 2.6.6.3-10　Brigatinib 経口投与後のサルにおける投与 0、29、60、89 及び 181 日の血漿中 Brigatinib のトキシコキネティクスパラメータの要約 31
表 2.6.6.6-1　Brigatinib を経口投与した妊娠ラットにおける妊娠 6 及び 17 日の Brigatinib のトキシコキネティクスパラメータの要約 34
表 2.6.6.9-1　ラット及びサルを用いた一般毒性試験で認められた標的臓器毒性の要約 36
表 2.6.6.9-2　主要な非臨床毒性試験における参照用量での全身曝露量と Brigatinib の 最高臨床用量（180 mg/日）におけるヒト曝露量との比率 37

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明	
ADME	absorption, distribution, metabolism, excretion	吸収、分布、代謝、排泄
ALCL	Anaplastic large-cell lymphoma	未分化大細胞リンパ腫
ALK	Anaplastic Lymphoma Kinase	未分化リンパ腫キナーゼ
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AMP	adenosine 5'-monophosphate	アデノシン 5'-一リン酸
ASP	4-(4-dimethylaminostyryl)-N-methylpyridinium	4-(4-ジメチルアミノスチリル)-N-メチルピリジニウム
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
A-to-B	apical-to-basolateral	頂端膜側から基底膜側
ATP	adenosine 5'-triphosphate	アデノシン 5'-三リン酸
AUC	Area under the plasma concentration-time curve	血漿中濃度-時間曲線下面積
AUC0-24	area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours postdose	投与後 0 時間から 24 時間までの AUC
AUC0-∞	area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity	0 時間から無限大時間までの AUC
AUC0-τ	area under the plasma concentration-time curve over the dosing interval	投与間隔時間における AUC
AUCall	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the last measurable time point or to the last time point that is below the limit of quantitation and assumed as zero for calculations	0 時間から最終測定可能時点又は定量下限未満を下回り計算上 0 と仮定される最終時点までの AUC
AUClast	area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last measurable concentration above the lower limit of quantitation	0 時間から定量下限を上回る最終測定可能時点までの AUC
BA	Bioavailability	バイオアベイラビリティ
BCRP	breast cancer resistance protein	-
BDC	bile duct-cannulated	胆管ろう形成
BSEP	bile salt export pump	-
B-to-A	basolateral-to-apical	基底膜側から頂端膜側
C2BBe1	human colon carcinoma cell line	ヒト結腸癌細胞株
Cave	average plasma concentration	平均血漿中濃度
CD74	Cluster of differentiation 74	分化抗原群 74
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use	-
CL	clearance	クリアランス
CLh	hepatic clearance	肝クリアランス
CLint	intrinsic clearance	固有クリアランス
Cmax	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CsA	cyclosporine A	シクロスポリン A
CSR	clinical study report	治験総括報告書
CYP	cytochromes P450	チトクローム P450
DFG	Asp-Phe-Gly	-
DMPO	Dimethylphosphine oxide	ジメチルホスフィンオキシド
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor	上皮成長因子受容体
EGFR-Del	EGFR (delE746_A750)	-

略号	略していない表現又は説明	
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
EML4	echinoderm microtubule-associated protein-like 4	棘皮動物微小管結合蛋白質様 4
EPAR	European Public Assessment Report	欧州公開医薬品審査報告書
ERK	Extracellular Signal-Regulated Kinase	細胞外シグナル調節キナーゼ
EU	European Union	欧州連合
FDA	Food and Drug Administration	（米国）食品医薬品局
FIG	Fused In Glioblastoma	膠芽細胞腫における融合
FLT3	Fms-like tyrosine kinase 3	-
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissue	消化管関連リンパ系組織
GeoMean	Geometric mean	幾何平均
GGT	Gamma glutamyltransferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GI50	growth inhibition 50%	細胞増殖を 50%阻害する濃度
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
GSH	glutathione	グルタチオン
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎
HER2	human epidermal growth factor receptor type 2	ヒト上皮細胞増殖因子受容体 2
hERG	human ether-a-go-go Related Gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャンネル遺伝子
HNSTD	Highest-non-severely-toxic-dose level (in nonrodents)	（非げっ歯類において）重篤な毒性が発現しない最大投与量
HPLC	high pressure liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IC50	Inhibitory concentration 50%	50%阻害濃度
IC90	Inhibitory concentration 90%	90%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonization	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IGF-1	insulin-like growth factor 1	インスリン様成長因子 1
IGF-1R	Insulin-like growth factor 1 receptor	インスリン様成長因子 1 受容体
IL-3	Interleukin-3	インターロイキン 3
INSR	Insulin receptor	インスリン受容体
IV	intravenous	静脈内
KB/P	blood to plasma ratio	血液－血漿比
Km	Michaelis–Menten constant	ミカエリス・メンテン定数
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LD_{50}	Lethal dose eliciting 50% mortality	50%致死量
LDH	lactate dehydrogenase	乳酸脱水素酵素
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーション計数
MATE	multidrug and toxic compound extrusion	-
MDCK	Madin-Darby canine kidney	Madin-Darby イヌ腎
MDR1	multi-drug resistance 1	多剤耐性遺伝子
MET	Hepatocyte growth factor receptor	肝細胞増殖因子の受容体チロシンキナーゼ
MPP+	methylphenylpyridinium	メチルフェニルピリジニウム
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
MTD	Maximum Tolerated Dose	最大耐量
NA	Not applicable	該当せず
NADPH	reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NDA	New Drug Application	新薬承認申請
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量

略号	略していない表現又は説明	
NOEL	No-observed-effect level	無影響量
NPM	nucleophosmin	ヌクレオフォスミン
NSCLC	Non-small cell lung cancer	非小細胞肺癌
NTCP	sodium taurocholate cotransporting polypeptide	-
OAT	organic anion transporter	-
OATP	organic anion-transporting polypeptide	-
OCT	organic cation transporter	-
ORR	objective response rate	客観的奏効率
P-	Phosphorylated-	リン酸化-
Papp	apparent permeability coefficient	見かけの透過係数
PD	Pharmacodynamic	薬力学
PFS	progression-free survival	無増悪生存期間
P-gp	permeability-glycoprotein	P-糖蛋白質
PK	pharmacokinetic	薬物動態
PO	oral	経口
QD	once daily	1日1回
QWBA	quantitative whole body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
RBC	red blood cell	赤血球
RET	rearranged during transfection	-
rhCYP	recombinant human Cytochromes P450	遺伝子組換えヒトチトクロム P450
ROS	c-ros oncogene 1	c-ros がん遺伝子-1
SCID	Severe combined immunodeficient	重症複合免疫不全
SD	Standard deviation	標準偏差
SDC4	Syndecan 4	シンデカン 4
SDH	Sorbitol dehydrogenase	ソルビトール脱水素酵素
SEM	Standard error of the mean	平均の標準誤差
STAT3	signal transducer and activator of transcription 3	シグナル伝達兼転写活性化因子 3
STD10	Severely toxic dose eliciting ≥10% lethality (in rodents)	（げっ歯類において）供試動物の致死率 10%以上の毒性が発現する用量
t1/2	half-life	半減期
TDI	time-dependent inhibition	時間依存的阻害
TKI	Tyrosine kinase inhibitor	チロシンキナーゼ阻害剤
Tmax	time of maximum concentration	最高濃度到達時間
TPM3	tropomyosin 3	トロポミオシン 3
TRA	total radioactivity	総放射能
Tyr	tyrosine	チロシン
USPI	United States prescribing information	米国添付文書
Vd	volume of distribution	分布容積
Vmax	Maximum velocity	最大速度

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

Brigatinib（別名 AP26113）を用いて実施した主要な毒性試験を、表 2.6.6.1-1 に示す。これらは一部の試験を除き、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。In vivo 試験では Brigatinib を 25 mM クエン酸ナトリウム緩衝液（pH 4.0）の溶液として経口投与した。

これらの非臨床安全性試験プログラムは、抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関する ICH S9 ガイドライン[1]に従っている。忍容性及び代謝特性に基づき、毒性試験に供するげっ歯類及び非げっ歯類として、それぞれラット及びサルを選択した。全ての主要な試験では、Brigatinib のトキシコキネティクスを測定し、さらに、代謝物である AP26123 のトキシコキネティクスプロファイルを、ラット及びサルを用いた一部の試験において測定した。

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム（主要な試験）

試験の種類及び期間	被験物質	投与経路	動物種（試験数）
単回投与毒性試験	Brigatinib	経口	マウス(1*)、ラット(1*)
反復投与毒性試験：			
14 日間	Brigatinib	経口	ラット(1*)、サル(1*)
28 日間	Brigatinib	経口	ラット(1)、サル(1)
6 ヶ月間	Brigatinib	経口	ラット(1)、サル(1)
生殖発生毒性試験：			
胚・胎児毒性	Brigatinib	経口	ラット(1*)、ラット(1)

*非 GLP（その他の全試験は GLP 適用）

マウス及びラットを用いた単回経口投与毒性試験において、体重減少、自発運動の低下、痙攣及び死亡といった毒性作用が確認された。マウス及びラットを用いた単回経口投与毒性試験における最大非致死量は、それぞれ 75 及び 125 mg/kg であった。マウス及びラットを用いた単回経口投与毒性試験における推定 LD_{50} 値は、それぞれ 149 及び 174 mg/kg であった。

ラットを用いた 28 日間経口投与毒性試験において、Brigatinib を 15、30 及び 60 mg/kg の用量で強制経口投与し、その後 28 日間の回復期間を設けた。60 mg/kg/日投与群の投与 2 日目以降に一般状態の変化として自発運動の低下、振戦、腹部膨満、脱水、削痩、衰弱、半眼、円背位、瀕死及び死亡が認められた。そのため 60 mg/kg/日投与群の全動物に対する投与を、雄では 5 日目に、雌では 6 日目に中止した。60 mg/kg/日投与群では、3 日目から 9 日目の間に 50%を超える動物が死亡した（死亡発見、又は瀕死状態のため安楽死）。投与早期の死亡の原因は不明であったが、後述する骨髄、リンパ器官及び胃における投薬に起因した病変が状態悪化／死亡の要因と推察された。30 mg/kg/日投与群では 48 例中 2 例（約 4%）の動物に、Brigatinib に関連した死亡が認められた。30 mg/kg/日投与群における一般状態の所見として、自発運動の低下、削痩、腹部膨満、脱水、衰弱、半眼、体温低下及び円背位がみられた。

15 及び 30 mg/kg/日投与群では、投与期間において用量依存的な体重増加量の減少が認められ、これは回復期間中に回復した。60 mg/kg/日投与群では体重及び／又は体重増加量の減少が認められたが、投与 5 日（雄）あるいは 6 日目（雌）に投与を中止したところ、体重への影響は回復した。60 mg/kg/日投与群では摂餌量減少も認められたが、投与中止後に回復した。眼科学的検査から、Brigatinib に関連した眼の変化は確認されなかった。

投与期間中の血液学的検査で、15 及び 30 mg/kg/日投与群の動物において白血球数（好中球、リンパ球）、血小板数及び網状赤血球の減少が認められた。フィブリノゲンの軽微な増加も 15 及び 30 mg/kg/日投与群でみられた。60 mg/kg/日投与群で瀕死状態のため安楽死に処された動物は、白血球数、リンパ球、ヘマトクリット値、ヘモグロビン値及び血小板の減少がみられた。これらの血液学的パラメータへの影響は回復期間中に回復した。

15 mg/kg/日投与群では、血液生化学的パラメータに毒性学的に意義のある変化は認められなかった。30 mg/kg/日投与群では、投与期間終了時、AST、ALT、グルコース、コレステロール及びインスリンの増加がみられた。インスリンの増加は 15 mg/kg/日投与群でも認められた。瀕死状態のため安楽死に処された 60 mg/kg/日投与群の動物は、AST、ALT、ALP、GGT、尿素、クレアチニン及びグルコースの増加がみられた。これらの血生化学的パラメータへの影響は回復期間中に回復した。

試験終了時まで生存していた 60 mg/kg/日投与群の動物において、投薬期間終了時の血液生化学的検査値はおおむね基準範囲内にあった。

器官重量、肉眼的又は病理組織学的所見が複数の器官においてみられた。Brigatinib に関連した変化の大半は、試験期間中に安楽死に処された又は死亡発見された 30 又は 60 mg/kg/日投与群のラットにおいて認められた。主要な病理組織学的病変は大腿骨（骨芽細胞壊死）、骨髄（造血細胞の細胞充実性低下）、胃（びらん／潰瘍形成）、脾臓（白／赤脾髄の萎縮／壊死）及び胸腺（萎縮／リンパ球の壊死）に認められた。病変の発現率及び／又は重症度は、通常、用量依存性に増加した。28 日間の回復期間終了後に、Brigatinib に関連する器官重量、肉眼的又は病理組織学的所見は認められなかった。

以上の結果から、ラットに Brigatinib を 28 日間反復経口投与した場合に、15 mg/kg/日で種々の投薬起因性変化が認められたが、個々の動物の一般状態に影響は無く良好な忍容性が確認できたことから、毒性ではないと判断して、同用量を NOAEL と判断した。同用量における投与 28 日目の Brigatinib の Cmax 及び AUC0-24 の平均値（雌雄合算）は、それぞれ 1,482 ng/mL 及び 22,633 ng·hr/mL であった。

6 ヵ月間経口投与毒性試験において、ラットに 7.5、15 及び 25 mg/kg/日を最長 6 ヵ月間投与し、その後 2 ヵ月間の回復期間を設けた。重度の毒性及び死亡率の増加が認められたことから、25 mg/kg/日投与群は 53 日目に早期中止とした。Brigatinib に関連した死亡は、15 mg/kg/日投与群でも認められた。7.5 及び 15 mg/kg/日投与群は 6 ヵ月間の投与を完了した。

Brigatinib に関連した死亡は概して、心臓及び／又は腎臓の病理組織学的変性に起因するものであった。瀕死状態のため安楽死又は死亡した個体では、概ね投与 7 日目以降に、忍容性不良を示唆する体部及び四肢の蒼白／低温、皮膚弛緩、削痩、痙攣、呼吸数増加、糞量の減少、肛門生殖器周辺の乾燥した褐色物質、鼻・口周囲の乾燥した赤色物質、努力呼吸、浅呼吸及び赤色尿などの一般状態変化が認められた。体重及び摂餌量の減少が用量依存的に全用量群においてみられ、これらの一部は回復性を示した。

Brigatinib に関連した主要な血液学的変化として、全用量群における赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値、15 及び 25 mg/kg/日投与群における網状赤血球数の高値、全用量群におけるフィブリノゲンの高値が認められた（フィブリノゲンの高値は、肝臓、腎臓及び精巣など複数組織における変性及び／又は炎症に随伴するものと考えられた）。ま

た全用量群において、白血球及びリンパ球数の低値もみられた。これらの血液学的変化はおおむね、回復期間中に回復した。

Brigatinib に関連した主要な血清生化学検査値の変化として、病理組織学的にみられた肝細胞壊死と関連した、全用量群における血清肝トランスアミナーゼ増加がみられた。その他、肝胆道系への作用を示す血清生化学的マーカーの変動として、15 mg/kg/日投与群の雌における血清ビリルビンの増加及び 15 及び 25 mg/kg/日投与群における血清コレステロール増加が認められた。全用量群において認められた血中尿素窒素及びクレアチニン濃度の高値は、病理組織学的検査で認められた尿細管変性と関連していた。その他の血清生化学検査値の変化として、全用量群において K 及び Cl の低値、並びに Ca 及び総蛋白の高値が認められた。血清リンの高値が 15 及び 25 mg/kg/日投与群のみでみられた。血清インスリンの用量依存性の増加が、15 及び 25 mg/kg/日投与群において投与期間中にみられ、血清中グルコースの軽度の増加は 25 mg/kg/日投与群のみでみられた。GGT 濃度の高値を除き、これらの血清生化学検査値の変化はおおむね、回復期間終了後の剖検時までに対照レベルに回復した。

尿検査パラメータの Brigatinib に関連した変化として、15 mg/kg/日投与群の雄における尿量高値及び尿比重の低値が認められた。15 mg/kg/日投与群の雌 2 例でも、血清尿素窒素及びクレアチニン高値を伴う尿比重の低値がみられた。25 mg/kg/日投与群では尿 pH の低値及び尿中グルコース陽性反応試料数の増加がみられた。この変化は、血清中グルコースの高値に起因する可能性が考えられた。尿中の K 及び Cl の高値が、全用量群の雄及び／あるいは雌で、Na の高値が雄の全用量群と雌の 15 及び 25 mg/kg/日投与群でみられた。蛋白尿が全用量群でみられ、病理組織学的に蛋白円柱を伴っていた。尿検査パラメータの変化はおおむね、回復期間終了までに回復した。

12 週までは投与に関連する眼科学的所見は認められなかったが、7.5 及び 15 mg/kg/日投与群では投与期間終了時に Brigatinib に関連した白内障が、15 mg/kg/日投与群では網膜変性が認められた。これらの所見は回復期間中に回復しなかった。

Brigatinib に関連した腎臓の暗赤色化、精巣の軟化及び縮小、並びに胸腺の縮小が、投与期間終了後の剖検時に全用量群でみられ、回復期間終了後の剖検時にこれら変化の回復性はみられなかった。

Brigatinib に関連した脾臓、胸腺、下垂体、精巣、精嚢／前立腺及び精巣上体重量の低値が、全用量群において投与期間終了後の剖検時にみられた。精巣及び精巣上体の重量低値は、25 mg/kg/日投与群の雄では回復期間終了後の剖検時においても認められた。

Brigatinib に関連した病理組織学的所見として、腎臓（蛋白円柱、尿細管の拡張及び変性、及び／又は尿細管上皮細胞の褐色色素：全用量群）、肝臓（肝細胞壊死：7.5 及び 15 mg/kg/日投与群）、膵臓（腺房萎縮及び膵島線維化：全用量群）、脾臓／胸腺／リンパ節（細胞密度低下：全用量群）、精巣（精上皮細胞の減少を特徴とする（セルトリ細胞は残存）精細管変性：全用量群）、精巣上体（管腔中の細胞残屑及び精子数減少：15 及び 25 mg/kg/日投与群）、及び心臓（心筋の変性：15 及び 25 mg/kg/日投与群）がみられた。なお、精巣における病理組織学的所見は回復期間中に回復しなかった。

Brigatinib とその代謝物である AP26123 の曝露量は、用量依存的に増加した。Brigatinib と AP26123 の曝露量に明らかな性差はみられず、また共に反復投与による蓄積も認められなかった。ラットを用いた 6 ヵ月間毒性試験において全用量群で Brigatinib に関連した臓器毒性

が認められたことに基づき、NOAEL は特定されなかった。「供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する用量（STD10）」は 7.5 mg/kg/日と判断された。この用量における試験 182 日目の brigatinib の平均曝露量（雌雄合算）は、AUC0-t 及び Cmax についてそれぞれ 18,600 ng·hr/mL 及び 1,150 ng/mL であった。

カニクイザルを用いた 28 日間毒性試験において、Brigatinib を 7.5、15 及び 45 mg/kg/日の用量で強制経口投与し、その後 28 日間の回復期間を設けて評価した。一般状態の変化が 45 mg/kg/日投与群において 3 日目からみられ、自発運動の低下、食欲減退、腹部膨満、嘔吐、脱水、筋緊張低下、衰弱、削痩、半眼、流涎、赤色又は黒色便、軟便／液状便、円背位、体表温低下及び瀕死が認められた。45 mg/kg/日投与群の雄 2 例（それぞれ 3 日目と 4 日目）、雌 1 例（5 日目）及び雄 2 例（8 日目）が死亡又は安楽殺した。このため 45 mg/kg/日投与群の全動物への投与を、雄では 8 日目に、雌では 7 日目に中止した。これら投与初期における死亡例動物における死因は、薬理作用に起因した消化管毒性と考えられ、その傷害は、胃及び小腸において最も重篤であった。さらに、リンパ系及び造血器病変として、胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節及び腸管関連リンパ組織におけるリンパ組織の萎縮／壊死が認められた。このリンパ組織の萎縮／壊死は、胸腺及び脾臓の縮小といった肉眼所見並びに胸腺重量の減少と関連していた。骨髄の造血細胞の細胞充実性低下も認められ、これらは動物の一般状態の悪化に起因したと考えられた。

45 mg/kg/日投与群における生存動物の一般状態は、試験の最終 2 週間で正常に回復した。このことから、Brigatinib 誘発性の顕著な毒性変化は回復することが示された。15 mg/kg/日投与群では一般状態の変化として、自発運動の低下、円背位及び軟便／液状便が認められた。7.5 mg/kg/日投与群では一般状態の変化は認められなかった。

7.5 及び 15 mg/kg/日投与群において体重に対する影響は認められなかった。45 mg/kg/日投与群では、試験開始後 1 週間で雄動物に体重の軽度減少が認められたが、被験物質投与を中止することにより回復した。

7.5 mg/kg/日投与群における血液生化学的パラメータの変化は、インスリンの増加のみであり、同変化は毒性学的に意義ある変化ではないと考えられた。15 mg/kg/日投与群では 28 日間の投与期間終了後において、血清中 ALT 及び AST、グルコース及びインスリンの増加、並びにリンの減少が認められた。45 mg/kg/日投与群の動物は、投与開始後 1 週間までに AST、ALT、尿素、クレアチニン、インスリン及び／又はグルコースの増加を示した。認められた血液生化学的パラメータの変化は全て回復期間中に回復した。血清インスリン及び／又はグルコースの増加は、投与後 24 時間までに基準範囲に回復した。

眼科学的検査、心電図、血液凝固系検査及び尿検査において、Brigatinib 投与に関連する変化は認められなかった。

投与期間終了後の剖検時には、15 及び 45 mg/kg/日投与群において Brigatinib に関連した変化として、胸腺のリンパ組織の萎縮／壊死及び骨髄造血細胞の細胞充実性低下が認められた。7.5 mg/kg/日投与群では Brigatinib に関連した変化はみられなかった。28 日間の回復期間終了時に、Brigatinib に関連する肉眼的又は病理組織学的変化はみられなかった。

以上の結果から、カニクイザルに Brigatinib を 28 日間反復経口投与したときの、NOAEL は 7.5 mg/kg/日と判断された。この用量の 28 日目における Brigatinib の Cmax 及び AUC0-24 の平均値（雌雄を合わせた）は、それぞれ 543 ng/mL 及び 3,383 ng·hr/mL であった。

サルを用いた 6 ヵ月間経口投与試験において 5、10 及び 15 mg/kg/日を投与した。眼科学的検査及び心電図検査について投与に関連した変化は認められなかった。一般状態の変化として、15 mg/kg/日投与群の雄において、自発運動の低下、失調性歩行、円背位、削痩、体部及び／又は四肢の蒼白／低温、皮膚弛緩及び瀕死が認められ、2/3 例を安楽殺した。合計 3 例が途中死亡し、これらのうち 2 例は、Brigatinib に関連した毒性のため瀕死状態となり安楽殺された前述の 15 mg/kg/日投与群の雄で、もう 1 例は 5 mg/kg/日投与群の雄で、投与 106 日目に Brigatinib 投与と関連のない下肢損傷のため安楽殺された。

血液学的パラメーターの変化がおおむね全用量群でみられ、リンパ球数、赤血球パラメータ、及び網状赤血球数の低値が認められた。血液学的パラメータの変動は、一般状態悪化に伴う変化と考えられ、一部パラメーターは回復性を示した。

血清生化学的パラメーターの変化は、多くが 10 及び 15 mg/kg/日投与群にみられ、総蛋白、アルブミン、グロブリン、Ca、Cl 及びリンの低下が含まれた。さらに、全用量群で投与期間中に、用量依存傾向のあるグルコース及びインスリンの増加が認められた。血清生化学的パラメータに対する作用はおおむね回復期間中に回復した。

剖検所見として、全用量群において腎臓の暗赤色化及び胸腺の縮小がみられたが、これらは回復期間終了後の剖検時にはおおむね回復していた。器官重量の低値が脾臓、精巣、下垂体及び胸腺について全用量群でみられたが、これらはおおむね回復期間終了後の剖検時には回復していた。なお、精巣及び下垂体重量の減少は病理組織所見を伴っていなかった。

病理組織学的検査で、腎臓（尿細管上皮細胞の褐色色素沈着）、リンパ節及び胸腺（細胞密度低下）に投薬に関連した所見が全用量群でみられ、脾臓（萎縮）及び肺（泡沫状肺胞マクロファージ）において投薬に関連した所見が 10 及び 15 mg/kg/日投与群にみられた。これらの病理組織学的変化は、完全又は部分的に回復した。

Brigatinib の曝露量は投与量に依存して増加した。また Brigatinib の曝露量に明らかな性差は認められなかった。反復投与後に Brigatinib の顕著な蓄積は認められなかった。

サルを用いた 6 ヵ月間経口投与毒性試験では、全ての用量で各種器官に病理組織学的変化が認められたことから、NOAEL を特定できなかった。雌雄における、重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は 10 mg/kg/日と判断された。この用量の投与 181 日目における平均曝露量（雌雄合算）は、AUC0-24 及び Cmax についてそれぞれ 6,175 ng·hr/mL 及び 485 ng/mL であった。

In vitro の細菌を用いた復帰突然変異試験及びほ乳類細胞を用いた染色体異常試験において、Brigatinib は遺伝毒性を示さなかった。ラット小核試験において、Brigatinib を 10、25、50、125 mg/kg/日の用量で 2 日間強制経口投与した。50 mg/kg/日の用量では、統計学的に有意な小核頻度の上昇が認められたが、溶媒対照に比べて 2 倍未満だった。一方、MTD である 125 mg/kg/日では、溶媒対照の 2 倍を超える統計学的に有意な小核頻度の上昇が認められ、毒性学的に意義がある変化と判断された。これらの遺伝毒性試験の結果から、Brigatinib は染

色体異常を誘発すること可能性が示された。In vitro のほ乳類細胞を用いた染色体異常試験において構造異常細胞数の増加は認められなかったものの、倍数体細胞数の増加が認められたことから、小核誘発作用は異数性誘発能（細胞の紡錘体装置の障害により、染色体の均等分配が出来なくなる作用）に関連すると考えられた。ラットにおいて軽微な小核頻度の上昇が認められたMTDにおける推定曝露量は、最大臨床用量の180 mg/日を投与したヒト（日本人）におけるAUC0-24の約3倍であり、50 mg/kg/日における推定曝露量は、最大臨床用量の180 mg/日を投与したヒト（日本人）におけるCmax及びAUC0-24と同等だった。

ラットにおける胚・胎児発生試験（用量設定及び主要試験）を行い、妊娠ラットに12日間［妊娠6～17日］投与して、着床から硬口蓋閉鎖までの胚及び胎児発生に対する作用を評価した。

用量設定試験において、5、10、15及び25 mg/kg/日を経口投与したところ、25 mg/kg/日投与群で胚・胎児毒性として、胎児体重の減少、吸収胚数及び着床後死亡率の増加、生存胎児数の減少及び胎児異常（頚胸部又は胸部の皮下浮腫、口蓋裂及び小下顎）が認められた。吸収胚数及び着床後死亡率の増加は、10及び15 mg/kg/日投与群でもみられた。

主要なラット胚・胎児発生試験において、5、12.5及び25 mg/kg/日を経口投与したところ、母動物の死亡又は投与に関連した一般状態変化は認められなかった。

25 mg/kg/日投与群では膣からの分泌液、母動物の体重及び摂餌量の減少がみられ、吸収胚数及び着床後死亡率が増加し、生存胎児数及び胎児体重が減少した。同群でみられた投与に関連した外表、内臓及び骨格異常には、全身性皮下浮腫、無眼球、前肢の過屈曲、四肢の退縮／短縮／湾曲、多発性肋骨癒合、肩甲骨湾曲、臍帯ヘルニア及び腹壁裂が含まれた。また、発達遅滞を示す外表及び内臓の変異には、両側脳室の中等度の拡張が含まれた。

12.5及び25 mg/kg/日投与群でみられた骨格変異には、切歯の小型化、頸椎及び胸椎の椎体及び／又は椎弓の不完全骨化、肋骨の波状／切痕化／欠損、骨盤骨の不完全骨化、頭頂骨／頭頂間骨／前頭骨の不完全骨化が含まれた。その他の25 mg/kg/日投与群における骨格変異として、頸椎及び胸椎の椎体及び／又は椎弓の位置異常／欠損／癒合及び肋骨癒合がみられた。胚・胎児及び母動物毒性のNOAELはそれぞれ5及び12.5 mg/kg/日と判断された。5及び12.5 mg/kg/日投与群の妊娠17日におけるCmax及びAUC0-tは、それぞれ508 ng/mL及び5,290 ng·hr/mL、952 ng/mL及び14,400 ng·hr/mLとであった。

ラット及びサルを用いた一般毒性試験及びラットを用いた胚・胎児発生試験において、主要な毒性が認められた用量での全身曝露量は、Brigatinibの最大臨床用量（180 mg/日）をヒト（日本人）に投与したときの定常状態におけるAUC0-24平均値である31,130 ng·hr/mL以下であった。

ラット及びサルにおけるAP26123（Brigatinibの代謝物でヒトにおいても生成される）の全身曝露量は、両動物種における親化合物の曝露量を下回っていた。ラットにおけるAP26123の曝露量はおおむね、Brigatinibの1%以下であった。サルにおけるAP26123の曝露量は、Brigatinibの6～17%であった。したがって、サルを用いた一般毒性試験は、AP26123の毒性も評価していると考えられる。

以上のように、非臨床安全性評価試験成績から、Brigatinib は多臓器毒性、胚・胎児毒性及び／又は染色体異常を引き起こす可能性があることが示唆された。一般毒性試験において認められた臓器毒性（消化管、造血系、肝臓、腎臓、骨、心血管など）はおおむね回復性を示した。非回復性の白内障、網膜変性及び精巣／精巣上体に対する毒性はラットでのみ認められ、サルでは認められなかった。さらに、有色ラットを用いた光毒性試験では毒性所見が認められなかったことから、Brigatinib はヒトにおいて光毒性のリスクを伴わないと予想される。

現在得られている非臨床及び臨床における毒性プロファイル、臨床では成人に用いられること、また抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関する ICH S9 ガイドライン[1]に基づき、幼若動物を用いた毒性試験、がん原性試験及び特殊な非臨床毒性試験は実施していない。

結論として、ICH S9 ガイドライン[1]に準拠して得られたこれらの非臨床安全性プロファイルは、進行性肺癌の治療薬としての Brigatinib の承認を支持している。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 マウスを用いた Brigatinib の単回経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-1（参考）

CD-1 マウスを用いた単回経口投与毒性試験において、1 用量あたり雌雄各 5 例のマウスに Brigatinib を 0、50、75、125、250 及び 400 mg/kg の用量で強制経口投与した。14 日間の観察期間を通して動物を観察した。

50 及び 75 mg/kg 群では、Brigatinib に関連した一般状態の変化又は死亡は認められなかった。125、250 及び 400 mg/kg 群の死亡率はそれぞれ 40、90 及び 100%であった。125 mg/kg 以上の用量群における一般状態の所見として、自発運動の低下、腹臥位及び痙攣が認められた。

最大非致死量は 75 mg/kg と判断された。マウスにおける経口 LD_{50} は 149 mg/kg と判断された。

2.6.6.2.2 ラットを用いた Brigatinib の単回経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-2（参考）

Sprague-Dawley ラットを用いた単回経口投与毒性試験において、1 用量あたり雌雄各 5 例のラットに Brigatinib を 0、50、75、125、250 及び 400 mg/kg の用量で強制経口投与した。14 日間の観察期間を通して動物を観察した。

50、75 及び 125 mg/kg の用量の Brigatinib 経口投与は忍容性が良好であった。死亡率は 250 mg/kg 群で 90%、400 mg/kg 群で 100%であった。250 mg/kg 以上の用量群で認められた一般状態の所見には、自発運動の低下、鎮静、被毛の乱れ、斜視及び体重減少が含まれた。

最大非致死量は 125 mg/kg と判断された。ラットにおける経口 LD_{50} は 174 mg/kg と判断された。

2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクスの評価を含む）

2.6.6.3.1 ラットを用いた Brigatinib の 14 日間経口投与用量設定毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-1（参考）

Sprague-Dawley ラット（1 用量あたり雌 5 例）に brigatinib を 3、10、30 及び 100 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。3、10 及び 30 mg/kg/日を 14 日間投与したとき、brigatinib の忍容性は良好であった。100 mg/kg/日の忍容性は不良で、brigatinib 投与による死亡が 100 mg/kg/日投与群の 4 日目以降にみられ、5 日目に投与を中止した。

100 mg/kg/日投与群の一部の動物に腹部硬化、自発運動の低下及び被毛の乱れが認められた。100 及び 30 mg/kg/日における（1 日目の平均体重に比べた）体重最大減少率の平均値は、それぞれ 38.4%及び 5%であった。

10 及び 30 mg/kg/日投与群において白血球数の軽度減少が認められ（それぞれ対照の 0.73 倍及び 0.69 倍）、リンパ球絶対数の減少（それぞれ対照の 0.71 倍及び 0.65 倍）並びに好酸球数の減少（それぞれ対照の 0.8 倍及び 0.73 倍）もみられた。30 mg/kg/日投与群では血小板数の減少（対照の 0.69 倍）がみられた。

30 mg/kg/日投与群における ALT 及び AST は、それぞれ対照の 3.6 倍及び 4.4 倍に増加し、ALP 及び血中尿素窒素は、それぞれ対照の 2 倍及び 1.6 倍に増加した。

10 及び 30 mg/kg/日投与群において血中インスリン濃度の増加が認められたが、いずれの群においても血清中グルコースに対する明らかな影響はみられなかった。

100 mg/kg/日投与群の剖検時の肉眼的所見として、胃内容充満並びに胸腺、脾臓、卵巣及び子宮の縮小が認められた。胸腺及び脾臓の縮小は 30 mg/kg/日投与群においても、14 日間投与期間終了時に認められた。

投与 1 日目及び 14 日目のトキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.3-1 に示す。

表 2.6.6.3-1　Brigatinib 経口投与後のラットにおける Brigatinib トキシコキネティクスパラメータ平均値の要約：投与 1 日目及び 14 日目

用量（mg/kg/日）	1 日目		14 日目	
	Cmax（ng/mL）	AUC0-24（ng·hr/mL）	Cmax（ng/mL）	AUC0-24（ng·hr/mL）
3	635	7806	624	7180
10	1843	27084	2587	41120
30	2447	37345	6715	131840
100	3665	75086	NA	NA

NA：Not Applicable

30 及び 100 mg/kg/日投与群における 1 日目の全身曝露量の増加は、用量比を下回っていた。1 日目と 14 日目で AUC0-24 値を比較したとき、3 mg/kg/日投与群では薬物の蓄積はみられなかったが、10 及び 30 mg/kg/日投与群における 14 日目の AUC0-24 値は、1 日目のそれぞれ約 1.5 倍及び 3.5 倍であった。これらの結果は、高用量では Brigatinib の反復投与により血中濃度が増加することを示している。

以上のように、ラットにおける 30 mg/kg/日以下の Brigatinib を 14 日間連続経口投与した際の忍容性は良好であった。NOAEL は 3 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.2 ラットを用いた Brigatinib の 28 日間経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験
：添付資料番号 4.2.3.2-2（評価）

Sprague-Dawley ラット（1 用量あたり雌雄各 15 例）に対し、Brigatinib を 1 日 1 回 28 日間反復経口投与する毒性試験を行った。Brigatinib の用量は 15、30 及び 60 mg/kg/日とした。28 日間の投与期間終了時に 1 用量あたり雌雄各 10 例を計画剖検した。各用量の残りの雌雄各 5 例は、引続き 28 日間の回復期間を設定し、回復期間終了後、剖検した。さらに、試験期間中に死亡した又は瀕死状態のため安楽殺した全動物について、剖検時の肉眼検査及び病理組織学的検査を行った。トキシコキネティクスを評価するサテライト群（1 用量あたり雌雄各 9 例）にも同様に投与し、Brigatinib 及び AP26123 のトキシコキネティクスパラメータを算出した。

60 mg/kg/日投与群の 2 日目以降に投与に関連した一般状態の変化として、自発運動の低下、振戦、腹腔内硬化物（firm abdominal inter-structure）、脱水、削痩、衰弱、半眼、円背位、瀕死及び死亡が認められた。そのため 60 mg/kg/日投与群の全動物に対する投与を、雄では 5 日目に、雌では 6 日目に中止した。60 mg/kg/日投与群における死亡（死亡発見、又は瀕死状態のため安楽死）は、毒性評価群の動物 30 例中 19 例に、またトキシコキネティクス評価群の動物では 18 例中 14 例に、3 日から 9 日目までに認められた。トキシコキネティクス評価群の動物 14 例中 5 例の死亡は、剖検時に頚部／胸部及び腋窩領域に血塊が認められたことから、採血の手技との関連性が疑われた。したがって、60 mg/kg/日投与群において Brigatinib に関連した死亡が、48 例中 28 例（58%）に生じたと判断された。60 mg/kg/日投与群における投与中止前の一般状態の変化は、散発性の脱水及び削痩を除き、試験の最後 2 週間には認められず、いずれの動物も当初計画された 28 日間の投与期間終了時まで生存した。

15 mg/kg/日投与群のラット及び 30 mg/kg/日投与群の多くのラットにおいて、Brigatinib の忍容性は良好であった。30 mg/kg/日投与群の毒性評価群の動物 30 例中 2 例とトキシコキネティクス評価群の動物 18 例中 2 例は、試験期間中、死亡発見又は安楽殺された。これら死亡例 4 例中 2 例（毒性評価動物とトキシコキネティクス評価動物の各 1 例）は、頸部採血の結果死亡した。したがって、30 mg/kg/日投与群では 48 例中 2 例（約 4%）の動物が、Brigatinib に関連した死亡と判断された。流涎が 30 mg/kg/日投与群と、それより低い程度で 15 mg/kg/日投与群に認められた。その他、30 mg/kg/日投与群において散発性に認められた所見として、自発運動の低下、削痩、腹部膨満、脱水、衰弱、半眼、体温低下及び円背位が認められた。

Brigatinib 群では対照群に比べ、7 日目から投与期間終了時まで体重及び体重増加量の群平均値の減少が認められ、15 及び 30 mg/kg/日投与群では用量依存的に減少した。群平均体重の変化は、雄では対照の 0.92～0.68 倍で、雌では対照の 0.99～0.81 倍であった。体重の変化は回復性があり、回復期間終了時にはみられなかった。60 mg/kg/日投与群では体重の減少が認められ、7 日目の雄では対照の 0.78 倍、雌では対照の 0.67 倍であった。しかし、試験開始 5 日（雄）及び 6 日（雌）後に投与を中止すると、体重増加は回復した。

15 及び 30 mg/kg/日投与群の雄では投与期間中に、対照の 0.91～0.83 倍程度の摂餌量の軽微な減少が認められた。これらの変化は統計学的に有意であり、回復期間終了時にも認められた。60 mg/kg/日投与群の雌雄では対照の 0.52～0.60 倍程度の摂餌量減少が認められたが、投与中止後に回復した。

15 mg/kg/日投与群の雄性ラットにおいて統計学的に有意な体重増加抑制及び摂餌量減少が認められたが、体重減少を伴っておらず、回復性がみられたこと、特記すべき一般状態の変化は認められず、各個体での忍容性が良好であったことから、毒性学的意義の乏しい変化と判断した。

試験期間中、Brigatinib に関連した眼科学的な異常は認められなかった。

15 及び 30 mg/kg/日投与群では血液学的パラメータについて意義のある変化は認められなかった。15 及び 30 mg/kg/日投与群の 15 日目及び投与期間終了時に、用量依存的な軽微な変化が白血球数（好中球比の割合が対照の 1.16～3.18 倍、リンパ球比の割合が 0.73～0.98 倍）、血小板数（対照の 0.74～0.96 倍）及び網状赤血球数（対照の 0.42～0.95 倍）にみられた。これらの変化は、回復期間終了後にはみられなかった。60 mg/kg/日投与群で瀕死状態のため安楽殺された動物の 1 例以上で、白血球数、リンパ球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン値、及び血小板数の減少がみられた。試験終了時まで生存していた 60 mg/kg/日投与群の動物において、投与期間終了時の血液学的検査値はおおむね基準範囲内にあった。15 及び 30 mg/kg/日投与群では、28 日間の回復期間終了時の血液学的パラメータに臨床的に重要な変化はなかった。

30 mg/kg/日投与群の 15 日目及び 15 及び 30 mg/kg/日投与群の投与期間終了時に、フィブリノゲンの軽微な増加（対照の 1.2～1.4 倍）がみられた。これらの変化は回復期間終了時までに回復した。

15 mg/kg/日投与群では、血液生化学的検査値に意義のある変化は認められなかった。30 mg/kg/日投与群では、28 日間の投与期間終了時における AST は対照の 5.3 倍（雄）及び 3.5 倍（雌）であり、ALT は対照の 7.7 倍（雄）及び 8.3 倍（雌）であった。30 mg/kg/日投与群の投与期間終了時の血清中グルコースは対照に比べ、雄で約 1.6 倍、雌で約 2.2 倍であった。また雄の血清コレステロールは対照の 2 倍であった。瀕死状態のため安楽殺された 60 mg/kg/日投与群の 1 例以上の動物では、AST、ALT、ALP、GGT、尿素、クレアチニン及びグルコースの増加がみられた。試験終了時まで生存していた 60 mg/kg/日投与群の動物において、投与期間終了時の血液生化学的検査値はおおむね基準範囲内にあった。15 及び 30 mg/kg/日投与群では、28 日間の回復期間終了時の血液生化学的パラメータに臨床的に意義のある変化はみられなかった。

血清中インスリン及び血清中グルコースを初回投与前、投与 15 日目の投与後 4 時間、並びに投与 28 日目の最終投与後 4、24 及び 48 時間に同時測定した。60 mg/kg/日投与群では死亡例がみられ投与中止となったため、15 及び 30 mg/kg/日投与群のみ測定した。15 mg/kg/日投与群では、投与後 4 時間の血清中インスリンの増加が 15 日目（雄では対照の 5.1 倍、雌では対照の 3.8 倍）及び 28 日目（雄では対照の 6.6 倍、雌では対照の 5.6 倍）に認められた。15 mg/kg/日投与群では、血清中グルコースに対する明らかな影響はみられなかったため、毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。30 mg/kg/日投与群では、血清中インスリンのさらなる増加が 15 日目の投与後 4 時間（雄では対照の 9.3 倍、雌では対照の 20.5 倍）、及び 28 日目（雄では対照の 12.3 倍、雌では対照の 26.0 倍）に認められた。これらの血清中インスリンの増加が認められた、投与後 4 時間の時点では血清中グルコースの軽度の増加（対照の 1.1～1.7 倍）を伴っていた。血清中インスリン及びグルコースは、投与 28 日目の最終投与後 24～48 時間には対照値と同等レベルだった。

尿検査値について Brigatinib に関連した変化はみられなかった。

投与期間終了時、前立腺、子宮、脾臓及び胸腺の Brigatinib に関連した器官重量の変化がみられた。

30 mg/kg/日投与群の雄で前立腺の、雌で子宮の絶対重量及び比脳重量の低値が認められ、これらは、各臓器の病理組織学的所見（萎縮）と一致していた。

15 及び 30 mg/kg/日投与群の雌雄の脾臓で脾重量の減少（絶対及び相対重量）がみられ、30 mg/kg/日投与群では重量減少に一致する所見として病理組織学的に赤／白脾髄の萎縮／壊死がみられた。また、剖検時には少数の動物で脾臓が小さかった。

15、30 及び 60 mg/kg/日投与群の雌雄の胸腺で胸腺重量の減少（絶対及び相対重量）がみられ、30 及び 60 mg/kg/日投与群ではリンパ組織の萎縮／壊死がみられた。剖検した一部の動物で、胸腺の縮小がみられた。

前立腺、子宮、脾臓及び胸腺でみられた Brigatinib に関連した器官重量の変化は、回復期間終了後の動物には認められなかった。

Brigatinib 投与に起因する肉眼所見が、以下に示すように副腎、消化管内容物、雄性生殖器（前立腺及び精嚢）、ハーダー腺、盲腸、直腸、脾臓、胃、胸腺及び下顎リンパ節などに認められた。これら Brigatinib に関連した肉眼所見の大半は、30 及び 60 mg/kg/日投与群で早期死亡したラットにおいて認められた。

60 mg/kg/日投与群の雌雄及び 30 mg/kg/日投与群の雌の数例において消化管内容物の黒色化、硬調化又は水様便がみられた。この内容物は、複数の動物でびらん及び／又は潰瘍という病理組織学的病変がみられた胃に由来する血性物質に相当すると考えられた。

60 mg/kg/日投与群の雌雄数例では、副腎の暗調化又は暗色巣がみられ、これらは病理組織学的検査における軽度出血と関連していた。

30 及び／又は 60 mg/kg/日投与群の数例の雄で、前立腺及び精嚢の縮小がみられた。これらはおおむね、病理組織学的検査でみられた前立腺及び精嚢の軽微～中等度の萎縮と関連していた。

60 mg/kg/日の数例の雌雄のハーダー腺も暗調化しており、これは病理組織学的検査でみられた色素沈着と一致していた。60 mg/kg/日投与群の雌 1 例において、唾液腺の腫脹がみられた。これは組織学的検査における、浮腫を伴う唾液腺の中等度萎縮と関連していた。

30 及び 60 mg/kg/日投与群の雌雄において脾臓及び胸腺の縮小がみられた。これは赤／白脾髄の萎縮／壊死及び胸腺リンパ組織の萎縮／壊死と関連していた。

30 及び 60 mg/kg/日投与群の数例のラットの胃に、暗色部／巣及び／又は陥凹／膨隆巣が認められた。これらは、病理組織学的にみられたびらん及び／又は潰瘍と関連していた。30 及び 60 mg/kg/日投与群の少数のラットにおいて、盲腸及び／又は直腸の暗色病巣が認められ、これはおおむね病理組織学的にみられた出血と関連していた。

Brigatinib に関連した複数の病理組織学的変化が、以下の種々の器官において認められた：副腎、骨（大腿骨、胸骨）、骨髄、胃、腸管（結腸、十二指腸、回腸、空腸）、雄生殖器系（前立腺、精嚢）、子宮、ハーダー腺、涙腺、下顎唾液腺、心臓、喉頭、肺、乳腺、膀胱及びリンパ器官（GALT、下顎及び腸間膜リンパ節、脾臓及び胸腺）。Brigatinib に関連した変化の多くは、安楽殺された動物において認められた。病理組織学的変化は雌が雄に比べて顕著であり、その多くは 30 及び 60 mg/kg/日投与群のラットで認められた。

30 及び 60 mg/kg/日投与群の雌雄ラットにおいて、骨髄（大腿骨／胸骨）に軽微～重度の造血細胞の細胞充実性低下がみられた。安楽殺された動物の病変が最も顕著であり、用量に依存して重症化した。

大腿骨の主な変化は、軽微～中等度の骨芽細胞壊死であり、多くは骨幹端において認められた。この変化は、60 mg/kg/日で安楽殺された雌雄のラットで記録された。その他、骨病変として、全試験群（15、30 及び 60 mg/kg/日投与群）で発現率及び重症度の明らかな用量依存性の増加を伴う骨端軟骨（大腿骨、胸骨）の肥厚、30 及び／又は 60 mg/kg/日投与群の一部のラットで大腿骨骨幹端線維化、60 mg/kg/日投与群の雌雄で大腿骨出血、30 mg/kg/日投与群の数例で大腿骨の軽微な過骨症が、それぞれ認められた。これらの変化のうち、15 mg/kg/日投与群で認められた骨端軟骨の軽微な肥厚は、軽微な変化であり発現率が低かったこと、また、胸骨及び脛骨に同様の所見が認められず可逆的な変化であることを考慮して毒性学的意義に乏しい変化と判断した。

30 及び 60 mg/kg/日投与群において脾臓の白及び／又は赤脾髄の重度な萎縮／壊死が認められ、用量に依存して重症化した。15 mg/kg/日投与群のラットの脾臓には、器官重量の減少と関連する病理組織学的変化はみられなかった。15、30 及び 60 mg/kg/日投与群の胸腺ではリンパ組織の萎縮／壊死がみられた。病変は軽微～重度で、用量依存的に重症化した。30 及び／又は 60 mg/kg/日投与群の一部のラットにおいて、GALT（腸管関連リンパ組織）の軽微～中等度の萎縮／壊死が記録された。30 及び／又は 60 mg/kg/日の下顎及び腸間膜リンパ節でもリンパ組織の萎縮／壊死が同様に認められ、その変化は軽微～重度で、用量依存性に重症化した。15 mg/kg/日投与群のリンパ組織の変化は雌の胸腺のみで認められ、その発現率は低く、関連する血液学的パラメータ（リンパ球数含む）に臨床的に意義のある変化は認められなかったことから、毒性学的意義に乏しい変化と判断した。

60 mg/kg/日投与群の雌雄の一部に、腸管（結腸、十二指腸、空腸及び回腸）の軽微～軽度の上皮壊死（通常は単細胞壊死）がみられた。上皮壊死に随伴した変化と考えられる、軽微～中等度の絨毛／粘膜萎縮も、十二指腸、空腸及び回腸にみられた。腸管以外の器官にも上皮壊死（通常は単細胞壊死）が認められた。これらには涙腺、唾液腺及び膀胱が含まれた。これら器官の壊死は 30 及び／又は 60 mg/kg/日において軽微～中等度であり、発現率及び重症度は用量依存的に増加した。

前立腺、精嚢、乳腺（雄のみ）及び子宮において、軽微～中等度の萎縮が認められた。この萎縮は、動物の一般状態悪化（多くのラットは安楽殺された）及び／又は体重減少と関連すると考えられた。60 mg/kg/日投与群の死亡発見あるいは安楽殺された雄ラットの精巣では、軽度な低精子症／無精子症が認められたが、これらの動物は 3 日目から 6 日目までで死亡、又は安楽殺されたことから、性成熟に至っていなかったことに起因する可能性があると判断された。なお、精巣上体でみられた重度の精子減少症は、精巣変化に関連した変化と判断された。

副腎、心臓、肺、乳腺、胸腺、盲腸及び直腸で出血がみられた。この変化について死戦期変化である可能性は除外できなかったものの、骨髄の細胞充実性低下に起因した可能性も考えられた。60 mg/kg/日投与群の 1 例の雌の片側の副腎で、軽度壊死に付随した出血がみられた。30 及び 60 mg/kg/日投与群の各 2 例に心臓で出血がみられ、この出血部位は心筋変性に

関連していた。60 mg/kg/日投与群の雌の肺で出血の発現率及び重症度の増加がみられた。一方、一部の動物の膵臓でみられた出血は、死戦期変化と考えられた。

30 及び／又は 60 mg/kg/日の一部の動物の喉頭では、軽微～重度の炎症が認められた。この病変の多くはびらん性又は潰瘍性で、喉頭内腔に滲出液がみられた。60 mg/kg/日投与群の 2 例の雌ラットにおいて、炎症性変化部位で細菌又は真菌が認められた。これらの変化は、骨髄の造血細胞の細胞充実性低下及び／又はリンパ組織の萎縮／壊死（おそらく免疫抑制作用）に随伴したものと疑われた。60 mg/kg/日投与群の 2 例の雌で、舌に軽微から軽度のびらん性の炎症も認められた。30 mg/kg/日投与群の安楽殺された 1 例の雌の食道において、軽度の潰瘍性炎症が認められた。2 例の雌の腎臓（30 mg/kg/日投与群と 60 mg/kg/日の各 1 例）において中等度の壊死性腎盂炎／腎盂腎炎が認められ、60 mg/kg/日投与群の 1 例には細菌が存在していた。

30 及び／又は 60 mg/kg/日投与群の一部の動物の胃には、腺性又は扁平上皮粘膜のいずれかで軽微～重度のびらん／潰瘍性病変がみられ、一部症例には真菌又は細菌が存在していた。（一部の Brigatinib 投与ラットの喉頭及び腎臓で認められたように）胃病変の真菌／細菌の存在は、Brigatinib の免疫抑制作用が疑われた。

回復期間終了後に剖検された動物において、Brigatinib に関連した病理組織学的変化は認められず、投与期間終了時に認められた Brigatinib に関連した病変は、完全に回復した。

Brigatinib 及び AP26123 のトキシコキネティクスパラメータを、以下の表 2.6.6.3-2 及び表 2.6.6.3-3 にそれぞれ要約している。

表 2.6.6.3-2　Brigatinib 経口投与後のラットにおける Brigatinib のトキシコキネティクスパラメータ

試験日	用量（mg/kg/日）	Cmax（ng/mL） 雄／雌	AUC0-24（ng·hr/mL） 雄／雌
1	15	1043 / 1417	13017 / 17538
	30	1747 / 1890	22838 / 29778
	60	2363 / 1783	38939 / 35762
15	15	1340 / 1473	20270 / 20461
	30	1800 / 2503	34418 / 40214
28	15	1437 / 1527	21716 / 23550
	30	2213 / 3067	40527 / 48890

Brigatinib の曝露量に明らかな性差はみられなかった。30 mg/kg/日投与群の雄を除く全ての場合で、投与後 8 時間までに Brigatinib の最高濃度（Cmax）に達した。30 mg/kg/日投与群の雄における 15 日目の Tmax は 16 時間であった。60 mg/kg/日投与群において、1 日目の Tmax 後の血漿中濃度は持続していた。Cmax 及び AUC0-24 は用量に伴って増加したが、雄では全ての場合で用量比を下回って増加した。雌における用量に伴う曝露量の増加は、1 及び 15 日目にはおおむね用量比を下回り、28 日目には試験した用量範囲内でほぼ用量に比例していた。15 及び 30 mg/kg/日の 28 日間の反復投与後に、Brigatinib の蓄積は認められなかった。

表 2.6.6.3-3　Brigatinib 強制経口投与後のラットにおける AP26123 の
トキシコキネティクスパラメータ

試験日	用量（mg/kg/日）	Cmax（ng/mL） 雄／雌	AUC0-24（ng·hr/mL） 雄／雌
1	15	9.18 / 3.29	116 / 35.7
	30	26.3 / 11.3	304 / 89.1
	60	74.7 / 21.8	832 / 106
15	15	15.6 / 4.85	274 / 56.6
	30	27.8 / 16.8	445 / 169
28	15	13.5 / 7.37	247 / 92.3
	30	27.8 / 22.6	413 / 253

AP26123 の血漿中濃度は、投与後 15 分で最高値に到達し、投与後 8 時間まで同等レベルの曝露が認められた。雄における Cmax 及び AUC0-24 は用量に伴って増加し、1 日目には用量比を上回り、15 及び 28 日目にはおおむね用量比を下回って増加した。雌における 1 日目の用量に伴う曝露量の増加は、15～30 mg/kg/日では全てについて用量比を上回り、30 ～ 60 mg/kg/日では用量比を軽度に下回っていた。28 日目の曝露量は 1 日目の最大 2.8 倍となり、Brigatinib 反復投与後に AP26123 の血中濃度が増加することが示された。親化合物に対する代謝物の曝露量の比率は用量に伴って上昇し、雌に比べ雄で高かった。ただし、AP26123 の曝露量は Brigatinib の曝露量の 1%未満だった。

結論として、ラットに Brigatinib を 15、30 又は 60 mg/kg の用量で 28 日間反復経口投与したところ、死亡（30 及び 60 mg/kg/日の用量のみ）、体重及び摂餌量への影響と回復性、臨床病理検査値への影響と回復性が確認され、30 又は 60 mg/kg/日投与群のラットの複数の器官で免疫応答性の変化、器官重量、肉眼所見又は病理組織学的所見がみられた。主要な病理組織学的変化は大腿骨（骨芽細胞壊死）、骨髄（造血細胞の細胞充実性低下）、胃（びらん／潰瘍形成）、脾臓（白／赤脾髄の萎縮／壊死）及び胸腺（リンパ組織の萎縮／壊死）に認められた。病変の発現率及び／又は重症度は、多くの所見で、用量依存的に増加した。
15 mg/kg/日で種々の投薬起因性変化が認められたが、体重増加抑制については体重減少や特記すべき一般状態の変化を伴っていなかったこと、血清中インスリンの増加は、血清中グルコースに対する明らかな影響は見られなかったこと、大腿骨骨端軟骨の肥厚は、軽微かつ低頻度の変化であり、胸骨及び脛骨に同様の所見が認められず、可逆的な変化であったこと、胸腺重量の減少を伴う胸腺の萎縮/壊死は、他のリンパ器官で同様の変化が認められず、関連する血液学的パラメーターに意義のある変化が認められなかったこと、また、片性かつ低頻度の変化であり、可逆性が認められたことを考慮して、毒性学的意義の乏しい変化と判断した。

28 日間の回復期間終了後に、Brigatinib に関連する所見は認められなかった。

以上の結果に基づき、NOAEL は 15 mg/kg/日と判断された。当該用量における 28 日目の（雌雄を合わせた）Brigatinib の Cmax 及び AUC0-24 の平均値は、それぞれ 1,482 ng/mL 及び 22,633 ng·hr/mL であった。

2.6.6.3.3 ラットを用いた Brigatinib の 6 ヵ月間経口投与毒性試験及び 56 日間回復性試験
：添付資料番号 4.2.3.2-3（評価）

Sprague Dawley ラット（1 用量あたり雌雄各 25 例）に Brigatinib を 7.5、15 及び 25 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、6 ヵ月間反復経口投与し、その後 56 日間の回復期間を設けた。トキシコキネティクスを評価するサテライト群（1 用量あたり雌雄各 9 例）にも同様に投与し、Brigatinib 及びその代謝物である AP26123 のトキシコキネティクス評価を行った。一般状態変化、眼科学的検査、臨床病理検査、器官重量及び病理組織学的検査で動物を評価した。また、毒性評価用動物を用いて、投与期間中及び回復期間中のグルコース及びインスリン測定を行った。

試験中、合計 19 例が途中死亡した。そのうち 14 例の死亡は Brigatinib に関連していた。25 mg/kg/日投与群の 6 例（雄 4 例及び雌 2 例）が 35～49 日に死亡発見又は安楽死に処された。15 mg/kg/日投与群の 9 例（雄 5 例及び雌 4 例）が投薬期間終了時剖検前（76～183 日）に死亡発見又は安楽殺された。また、7.5 mg/kg/日投与群の 3 例（雄 2 例及び雌 1 例）並びに対照群の 1 例（雄）が、投薬期間終了時剖検前（79～167 日）に死亡発見又は安楽殺された。Brigatinib に関連した急性心疾患が、25 mg/kg/日投与群の途中死亡例 6 例中 5 例、及び 15 mg/kg/日投与群の途中死亡例 9 例中 2 例の死因であった。25 mg/kg/日投与群の残りの雄 1 例も、Brigatinib に関連した心筋の変性を合併したと思われる心筋症により死亡した。15 mg/kg/日投与群の早期死亡例 9 例中 6 例では、Brigatinib に関連した慢性尿細管変性が死因であった。

途中死亡した残りの 5 例（対照群の雄 1 例、7.5 mg/kg/日投与群の 3 例、15 mg/kg/日投与群の雄 1 例）の死因は、投与過誤、急性敗血症、急性肺出血などによるものであり、Brigatinib 投与と関連していないと判断された。

重篤な毒性及び死亡が認められたことから、毒性評価群の 25 mg/kg/日群の雌雄各 15 例及び 25 mg/kg/日トキシコキネティクス評価群の残りの全生存動物は、53 日間の投与後に安楽殺した。残りの雄 6 例及び雌 8 例は 53 日以降投与を中止し、56 日間の回復期間後に剖検した。0、7.5 及び 15 mg/kg/日投与群の雌雄は最長 184 日間反復投与後に、毒性評価群の雌雄各 15 例を剖検し、残りの雌雄各 10 例以下は 56 日間の回復期間終了後に剖検した。

全ての Brigatinib 投与群において 7 日目以降、一般状態の変化、すなわち、体部及び四肢の蒼白／低温、皮膚弛緩、削痩、痙攣、呼吸数増加、糞量の減少、肛門生殖器周辺の乾燥した褐色物質、鼻・口周囲の乾燥した赤色物質、努力呼吸、浅呼吸及び赤色尿が認められ、これら所見は概して、死亡又は瀕死状態による安楽死動物において認められた。7.5 及び 15 mg/kg/日投与群の動物では回復期間中にこれら所見は回復したが、25 mg/kg/日投与群では回復期間中にも持続して認められた。

用量依存性の体重減少（対照群に比べて 5.3%～32.1%低値）が全用量群においてみられた。体重減少は全用量群において摂餌量の減少を伴い（対照群に比べ 5%～19.4%低値）、回復期間中に回復傾向が認められた。

Brigatinib に関連した赤血球数、ヘモグロビン値及びヘマトクリット値の低値（対照の-1.9%～-18.8%）が、全用量群においてみられた。これら変化はおおむね用量依存的で、第 7 週にみられ始め、投与期間を通しておおむね持続していた。Brigatinib に関連した網状赤血球数の高値（対照の+16.7%～+164.4%）が 15 及び 25 mg/kg/日投与群においてみられた。平均赤血球容積、赤血球容積分布幅、ヘモグロビン濃度分布幅の高値（対照の+2.6%～+44.7%）が 15

及び 25 mg/kg/日投与群でみられ、平均赤血球ヘモグロビン濃度の低値（対照の-3.6%）が 15 mg/kg/日投与群の雌でみられた。Brigatinib に関連した血小板数の軽微な高値（対照の +14.1%～+42.6%）が 7.5 及び 15 mg/kg/日投与群の雌雄にみられた。平均血小板容積の高値（対照の+10.5%）が、15 mg/kg/日投与群の雌及び 25 mg/kg/日投与群の雄でみられた。フィブリノゲン濃度の高値（対照の+16.5%～+77.3%）が全用量群において用量依存性にみられた。白血球（WBC）数、リンパ球数及び好酸球数の低値（対照の-8.7%～-64.1%）を含む、Brigatinib に関連した白血球の変化が、全用量群において用量依存的にみられた。好中球数の高値（対照の+133.1%）は 15 mg/kg/日の雄のみにみられた。これらの血液学的変化は回復期間中におおむね回復した。

ALP、ALT、AST 及び SDH の用量依存的な増加が、全用量群でみられた。さらに GGT の高値（対照の+800.0%）が 15 及び 25 mg/kg/日投与群でみられた。肝酵素の変化の大きさは、ALP 及び GGT については対照の約 3～9 倍、ALT、AST 及び SDH については対照の 7～13 倍であった。肝酵素のこのような変化はおおむね用量依存的で、第 7 週以降みられ、投与期間を通しておおむね持続していた。Brigatinib に関連した総ビリルビンの高値（対照の+333.3%）が 15 mg/kg/日投与群の雌でみられ、これは回復期間中に回復した。コレステロールの高値（対照の+26.4%～95.2%）が 7.5、15 及び 25 mg/kg/日投与群でみられた。尿素窒素及びクレアチニンの高値（対照の+20.8%～+150.0%）が、全用量群において用量依存性にみられた。K の低値（対照の-4.0%～-8.6%）、Cl の低値（対照の-1.0%～-5.6%）及び Ca の高値（対照の+2.8%～+7.3%）が、全用量でおおむね用量依存性にみられた。リンの高値（対照の+7.0%～+45.2%）が 15 及び 25 mg/kg/日投与群のみでみられた。グロブリンの高値による総蛋白の高値（対照の+3.9%～+12.3%）が、全用量群においておおむね用量依存的にみられた。グルコースの高値（+10.4%～+18.5%）が全用量群においておおむね用量依存的にみられた。さらに 6 ヵ月間の投与期間を通して測定されたインスリン及びグルコースも、全用量群においておおむね用量依存的に高値を示した。一過性の GGT の高値を除き（対照の+350%）、これらの血清生化学的検査値の変化は回復期終了後時の剖検までに、おおむね対照レベルに回復した。

Brigatinib に関連した変化として、15 mg/kg/日投与群の雄における尿量の高値及び尿比重の低値が認められた。15 mg/kg/日投与群の雌 2 例でも、血清尿素窒素及びクレアチニンの高値と一致した、尿比重の低値がみられた。25 mg/kg/日投与群では尿 pH の低値及び尿中グルコース陽性反応試料数の増加がみられた。この変化は、血清中グルコースの高値に起因する可能性が考えられた。尿中 K の高値（対照の+30.7～+164.3%。血清 K の減少を伴わなかったが、血清中尿素及びクレアチニンの増加により意義がある変化と考えられた）、及び Cl の高値（対照の+23.7%～+313.7%。血清 Cl の減少を伴っていた）が、全用量群において雌雄両方又はいずれかでみられた。Na 排泄率の高値（対照値の+313.7%）が 15 mg/kg/日投与群の雌でみられた。蛋白尿が全用量群においてみられ、病理組織学的には蛋白円柱を伴っていた。尿検査パラメータの変化はおおむね、回復期間終了までに回復した。

第 12 週において投与に関連する眼科学的所見はみられなかったものの、第 25 週目において両側の白内障（7.5 mg/kg/日投与群の雄 1 例及び 15 mg/kg/日投与群の雄 3 例）並びに両側の網膜変性（15 mg/kg/日投与群の雌 3 例）が認められた。第 33 週（回復期間終了後の剖検前）には、両側の白内障が 7.5 mg/kg/日投与群の雄 1 例、15 mg/kg/日投与群の雄 4 例、7.5 mg/kg/日投与群の雌 2 例及び 15 mg/kg/日投与群の雌 1 例にみられ、さらに両側の網膜変性が

15 mg/kg/日投与群の雌 1 例でみられた。これら投与に関連する白内障及び網膜変性は、Brigatinib が回復期間中に回復しない眼科学的な毒性作用を有することを示している。

Brigatinib に関連した腎臓の暗赤色化、精巣の軟化及び縮小、並びに胸腺の縮小が、投与期間終了後の剖検時に全用量群でみられ、回復期間終了後の剖検時に回復はみられなかった。

脾臓、胸腺、下垂体、精巣、精嚢／前立腺及び精巣上体の Brigatinib に関連した重量の低値が、全用量群において投与期間終了後の剖検時にみられた。25 mg/kg/日投与群の雄の精巣及び精巣上体の重量の低値は、回復期間終了後の剖検時において回復性を示さなかった。

Brigatinib に関連した病理組織学的変化が腎臓、肝臓、膵臓、脾臓、胸腺、精巣、精巣上体、心臓及びリンパ節（腋窩及び腸間膜）にみられた。

全用量群における病理組織学的変化として、上皮変性及び腎尿細管内腔の蛋白円柱を伴う尿細管拡張がみられ、これらの変化は回復期間終了後の剖検時に部分的に回復していた。さらに 7.5 及び 15 mg/kg/日投与群では、尿細管上皮細胞の細胞質内に褐色の微細な顆粒状色素が、主に近位曲尿細管において認められた。この変化は剖検時にみられた腎臓の暗赤化と関連し、回復期間終了後の剖検時に部分的に回復していた。

肝臓の多巣性肝細胞壊死が、7.5 及び 15 mg/kg/日投与群の雌雄両方又はいずれかでみられた。これらの変化は剖検時にみられた肝臓の暗赤色巣と関連しており、回復期間終了後の剖検時に完全に回復していた。

全用量群における膵臓の変化として、膵腺房の大きさと細胞密度の低下を特徴とする腺房萎縮、並びに膵島線維化がみられた。これらの変化は部分的に回復性であった。

脾臓の細胞密度低下（特に辺縁帯内のリンパ球密度の低下）、及び脾臓内の大型の単核球の褐色色素が全用量群でみられた。これら変化は回復期間終了後の剖検時に回復性を示した。

全用量群において胸腺の細胞密度低下がみられ、これは剖検時にみられた胸腺の縮小及び胸腺重量の減少と関連していた。これらは部分的に回復性を示した。

腋窩及び腸間膜リンパ節の細胞密度低下が全用量群においてみられた。この変化は 7.5 及び 15 mg/kg/日投与群では完全に回復したが、25 mg/kg/日投与群では回復しなかった。

全用量群の雄で精細管変性がみられ、それらはセルトリ細胞が保持された状態での精上皮細胞の喪失を特徴としていた。この変化は精巣の軟化及び縮小という肉眼所見と関連し、回復性を示さなかった。精巣上体では、15 及び 25 mg/kg/日投与群において細胞残屑及び精子の減少がみられ、これらは回復期間終了後の剖検時に部分的に回復していた。

急性出血を伴った心筋線維の横紋消失／硝子化を特徴とした心筋の変性が 15 及び 25 mg/kg/日投与群でみられ、15 mg/kg/日投与群の 2 例及び 25 mg/kg/日投与群の 6 例における早期死亡の原因と考えられた。変化は、左室自由壁、心室中隔及び乳頭筋において最も重度であったが、心臓の他の領域でも認められた。また、その重症度、単核球の浸潤がほとんどみられないこと、及び急性出血の存在により、対照群の雄 2 例で認められた自然発生性の変性所見（早期心筋症）とは異なる変化であった。

Brigatinib とその代謝物である AP26123 の曝露量は、用量依存的に増加した。また Brigatinib の曝露量に明らかな性差は認められなかった。反復投与後に Brigatinib の顕著な蓄積は認められなかった。AP26123 の全身曝露量は、雄が雌に比べておおむね高かった。Brigatinib 及び AP26123 の TK パラメータを、表 2.6.6.3-4 及び表 2.6.6.3-5 にそれぞれ要約する。

表 2.6.6.3-4　Brigatinib を経口投与したラットの投与 0、29、52、89 及び 182 日における Brigatinib のトキシコキネティクスパラメータの要約

日	用量（mg/kg/日）	Cmax（ng/mL） 雄／雌	AUC0-t（ng·hr/mL） 雄／雌
0	7.5	1010 / 1030	12200 / 12100
	15	1970 / 1490	23800 / 21600
	25	1770 / 1810	26200 / 27300
29	7.5	903 / 1150	14300 / 17300
	15	1590 / 1840	26700 / 29500
	25	1820 / 2010	35300 / 39300
52	25	1950 / 2160	35800 / 39100
89	7.5	1300 / 1250	17600 / 17800
	15	2180 / 1980	34300 / 32300
182	7.5	1100 / 1200	18200 / 19000
	15	2020 / 1850	37600 / 32700

表 2.6.6.3-5　Brigatinib を経口投与したラットの投与 0、29、52、89 及び 182 日における AP26123 のトキシコキネティクスパラメータの要約

日	用量（mg/kg/日）	Cmax（ng/mL） 雄／雌	AUC0-t（ng·hr/mL） 雄／雌
0	7.5	11.2 / 2.29	57.4 / 12.6
	15	43.4 / 4.54	457 / 27.4
	25	55.2 / 7.75	686 / 110
29	7.5	19.2 / 7.48	223 / 48.3
	15	25.5 / 9.54	437 / 164
	25	24.6 / 16.8	485 / 330
52	25	21.5 / 27.8	353 / 483
89	7.5	42.1 / 11.5	387 / 154
	15	49.7 / 24.4	591 / 384
182	7.5	18.3 / 7.76	312 / 118
	15	57.7 / 15.2	571 / 214

以上のように、ラットに Brigatinib を 7.5、15 及び 25 mg/kg/日の用量で最長 184 日間反復経口投与したとき、15 及び 25 mg/kg/日投与群において Brigatinib に関連した死亡、並びに瀕死を含む忍容性不良な一般状態所見がみられた。さらに、全用量群で Brigatinib に関連する主な所見として、体重及び摂餌量の減少、眼科学的検査でみられた白内障及び網膜変性、腎臓の変色、胸腺の縮小、精巣の縮小及び軟化、脾臓、胸腺、下垂体、精巣、精嚢／前立腺及び精巣上体の重量減少、臨床病理検査の関連所見（それぞれ血清中トランスアミナーゼ増加と血清尿素窒素及びクレアチニンの増加）を伴う肝臓及び腎臓の壊死、膵臓萎縮、胸腺及びリンパ節の細胞密度の低下、精巣変性及び心筋の変性が認められた。これらの作用はおおむね完全又は部分的に回復したが、特に血清中 GGT の高値、白内障及び網膜変性、精巣重量の減少及び精細管変性は回復期間終了後の剖検時にも持続して認められた。Brigatinib とその代謝物である AP26123 の曝露量は、用量依存的に増加し、反復投与による曝露量の変化はみられなかった。Brigatinib の曝露量に明らかな性差は見られなかったが、AP26123 の曝露量は雄が雌に比べておおむね高かった。全用量群で認められた Brigatinib に関連した器官毒性に基づき、「無毒性量（NOAEL）」は得られなかった。「供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する用量（STD10）」は 7.5 mg/kg/日と判断された。同用量の試験 182 日目における平均曝露

量（雌雄合算）は、AUC0-t 及び Cmax についてそれぞれ 18,600 ng·hr/mL 及び 1,150 ng/mL であった。

2.6.6.3.4 サルを用いた Brigatinib の用量設定毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-4（参考）

カニクイザル（1 用量あたり雌雄各 1 例）に Brigatinib を 3、10 及び 30 mg/kg/日の用量で、14 日間反復経口投与した。3、10 及び 30 mg/kg/日の Brigatinib の忍容性は良好であった。また、体重及び摂餌量に Brigatinib に関連した影響は認められなかった。

リンパ球数の減少が 30 mg/kg/日投与群の雄（ベースラインの 0.42 倍）及び雌（ベースラインの 0.51 倍）でみられた。このリンパ球減少は、胸腺重量の減少及び病理組織学的にみられた中等度のリンパ球減少と関連した。血液学的検査ではその他に Brigatinib に関連した影響はみられず、凝固パラメータに対する作用もみられなかった。30 mg/kg/日の両動物に ALT の軽度増加（雄でベースラインの 2.2 倍、雌でベースラインの 4.3 倍）がみられたが、肝臓の病理組織所見を伴っておらず、毒性とは判断されなかった。

30 mg/kg/日投与群の雌雄において、14 日目の最終投与後 8 及び 24 時間に血清インスリンの増加がみられ、血清中グルコースの増加が 30 mg/kg/日投与群の雌では投与後 1 時間に、30 mg/kg/日投与群の雄では投与後 1、8 及び 24 時間にみられた。最終投与後 48 時間のグルコースは、両動物においてベースライン値と同程度であった。最終投与後 48 時間のインスリンはベースライン値と比べてわずかに高値であったが、8 又は 24 時間の最高値から大きく低下していた。血清中グルコースとインスリンの増加の間に明らかな相関はみられず、また、膵臓の病理組織所見も認められなかった。

脾臓の絶対及び相対重量の減少が、3 mg/kg/日投与群の雌、10 mg/kg/日投与群の雄及び 30 mg/kg/日投与群の雌雄にみられたが、病理組織学的変化は伴っていなかった。胸腺の絶対及び相対重量の減少が、3 及び 30 mg/kg/日投与群の雄及び 3、10 及び 30 mg/kg/日投与群の雌においてみられた。病理組織学的にはリンパ球の減少が 30 mg/kg/日投与群の雌雄に認められた。

剖検時に Brigatinib に関連した肉眼所見は認められなかった。

対照群と比べ、Brigatinib を投与した全用量群の雌雄の肺において、肺胞腔及び肺胞壁内の泡沫状マクロファージ数の増加が認められた。このような肺の変化は、軽度であること、また対照群にも軽微な変化がみられたことから、毒性変化ではないと考えられた。

30 mg/kg/日投与群の雌雄において、胸腺の皮質及び髄質にリンパ球の減少が認められ、雄では、リンパ組織中の泡沫状マクロファージの凝集が認められた。

Brigatinib に関連する可能性がある所見として、30 mg/kg/日投与群の雌の脾臓の赤脾髄で泡沫状マクロファージの増加が認められた。

Brigatinib とその代謝物である AP26123 の曝露量は用量依存性に増加し、一部の条件で性別あるいは個体による差が認められた。試験 1 及び 14 日における Brigatinib 及び AP26123 のトキシコキネティクスパラメータ平均値（雌雄合算）を、表 2.6.6.3-6 及び表 2.6.6.3-7 に示す。

表 2.6.6.3-6　Brigatinib 経口投与後のサルにおける Brigatinib のトキシコキネティクスパラメータ平均値（雌雄合算）の要約：投与 1 日目及び 14 日目

用量 (mg/kg/日)	1 日目		14 日目	
	Cmax (ng/mL)	AUC0-t (ng·hr/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC0-t (ng·hr/mL)
3	158	932	135	1118
10	434	3685	520	3335
30	1550	10990	1130	9079

表 2.6.6.3-7　Brigatinib 経口投与後のサルにおける AP26123 のトキシコキネティクスパラメータ平均値（雌雄合算）の要約：投与 1 日目及び 14 日目

用量 (mg/kg/日)	1 日目		14 日目	
	Cmax (ng/mL)	AUC0-t (ng·hr/mL)	Cmax (ng/mL)	AUC0-t (ng·hr/mL)
3	13.3	38.8	6.7	17.4
10	23.6	88.6	28.3	82.4
30	91.1	667	77.2	725

以上のように、30 mg/kg/日以下の Brigatinib の 14 日間反復経口投与の忍容性は良好であった。Brigatinib の反復投与により、リンパ球数の減少、ALT、インスリン及び血清グルコースの増加、肺及び胸腺の病理組織学的変化がみられたが、投与期間中に明確な毒性所見は得られなかった。NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.5 サルを用いた Brigatinib の 28 日間経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-5（評価）

カニクイザルを用いた 28 日間経口投与毒性試験において、Brigatinib を 7.5、15 及び 45 mg/kg の用量で 1 日 1 回強制経口投与し（1 用量あたり雌雄各 3 例）、その後に 28 日間の回復期間を設けた。一般状態の変化は 45 mg/kg/日投与群において 3 日目から認められ、自発運動の低下、食欲減退、腹部膨満、嘔吐、脱水、筋緊張低下、衰弱、削痩、半眼、流涎、赤色又は黒色便、軟便／液状便、円背位、体表温低下及び瀕死が含まれた。45 mg/kg/日投与群の雄 2 例（それぞれ 3 日目と 4 日目）、雌 1 例（5 日目）及び雄 2 例（8 日目）は死亡発見又は安楽殺された。そのため 45 mg/kg/日投与群の全動物に対する投与を、雄では 8 日目に、雌では 7 日目に中止した。

これら全動物の早期死亡の原因は、消化管毒性であると判断された。消化管の変化は剖検時には主に、暗色化及び褐色内容物として認められ、病理組織学的には粘膜壊死及び出血、びらん及び潰瘍形成であった。さらに、Brigatinib に関連したリンパ系及び造血器系病変として、胸腺、脾臓、腸間膜リンパ節、下顎リンパ節及び腸管関連リンパ組織におけるリンパ球萎縮/壊死が認められた。胸腺及び脾臓でみられた萎縮/壊死は、剖検時に認められた胸腺及び脾臓の縮小と関連していた。造血器系の変化として、骨髄の細胞充実性の低下がみられた。リンパ系の病変として、リンパ節及び脾臓のリンパ小節の細胞密度の顕著な低下がみられた。胸腺では皮質と髄質領域共に病変がみられ、骨髄では、赤芽球系及び骨髄球細胞のいずれも細胞充実性の低下が認められた。これらのリンパ系及び造血器系の変化は、15 及び 45 mg/kg/

日投与群の投薬期間終了時の計画剖検時にもみられた。一方、投薬を中止した 45 mg/kg/日投与群の 30 日目の計画剖検時に消化管病変はみられなかった。

造血器系の変化として、骨髄の赤芽球系及び骨髄球系細胞の中等度から重度の細胞密度低下がみられ、これらも動物の一般状態の悪化に寄与していると考えられた。

45 mg/kg/日投与群の生存動物でみられた一般状態の変化は、投与中止後の約 2 週間で回復し、当初計画された 28 日間の投与期間終了時に安楽殺された。7.5 及び 15 mg/kg/日投与群に死亡はみられなかった。15 mg/kg/日投与群で一般状態変化として、自発運動の低下、円背位及び軟便／液状便がみられた。7.5 mg/kg/日投与群では一般状態変化は認められなかった。

7.5 及び 15 mg/kg/日投与群において体重に対する影響は認められなかった。45 mg/kg/日投与群では試験の第 1 週において、雄の体重が軽度に減少したが、投与中止後に生存動物の体重は回復した。また、同群の雌雄において摂餌量の減少が 3～10 日目に認められた。

Brigatinib に関連した血液学的パラメータ及び凝固パラメータの変化は、試験期間中いずれの用量群でも認められなかった。

7.5 mg/kg/日投与群では、血液生化学的パラメータに意義のある変化は認められなかった。15 mg/kg/日投与群の投与期間終了時に、ALT の軽度増加（雄では対照の 3.5 倍、雌では対照の 2.8 倍）並びに AST の軽度増加（雄では対照の 2 倍、雌では対照の 1.9 倍）がみられた。45 mg/kg/日投与群の 1 例以上の動物は、投与開始後 1 週間までに AST、ALT、尿素、クレアチニン及びグルコースの増加を示した。15 mg/kg/日投与群では 15 日目にリンの軽微な減少がみられた（雄では対照の 0.7 倍、雌では対照の 0.7 倍）。これらの変化は一過性で、投与期間終了時には認められなかった。45 mg/kg/日投与群で投薬中止後、試験終了時まで生存した動物では、これら全ての血液生化学的パラメータは、試験最終日までに投与前値に回復した。7.5 及び 15 mg/kg/日投与群では、回復期間終了時の血液生化学的パラメータに意義のある変化はみられなかった。

血清中インスリンと血清中グルコースを投与前、並びに 1、15 及び 28 日の投与後 1、4、8 及び 24 時間の時点で同時に測定した。28 日目の最終投与後には 48 時間後の測定も行った。45 mg/kg/日投与群では毒性がみられたこと、及び投与が中止されたことから、血清中インスリン及びグルコースの同時測定を 1 日目にのみ行った。7.5 mg/kg/日投与群では 1 日目のインスリン又はグルコースに投与に関連した影響はみられなかった。統計学的に有意でなかったものの、7.5 mg/kg/日投与群の 15 及び 28 日目の主に 4 時間の時点で、血清中インスリンの軽度ながら明らかな増加（対照の 2.5～5.3 倍）がみられた。同時測定した血清中グルコースについては、7.5 mg/kg/日投与群の 1、15 及び 28 日目のいずれの時点においても影響はみられなかった。15 mg/kg/日投与群の 1 日目の血清中インスリンの増加が、4 時間後の雌雄（雄では対照の 1.8 倍、雌では対照の 10 倍）、並びに 8 時間後の雌雄（雄では対照の 2.1 倍、雌では対照の 4.8 倍）において認められたが、血清中グルコースに対する明らかな影響はみられなかった。血清インスリンの同様の増加が、15 mg/kg/日投与群の 15 日及び 28 日目にみられ、血清中グルコースにも軽微な増加がみられたが、血清中グルコースの増加は、当該試験施設のカニクイザルに関する基準範囲内にあるか、又はその上限近くに留まっていた。45 mg/kg/日投与群ではインスリンの増加が、1 日目の投与後 1 時間（対照の 6.5～7.4 倍）並びに 4 及び 8 時間（対照の約 21 倍）に認められた。同群では、血清中グルコースの軽度増加も 4 時間

（対照の 2 倍）及び 8 時間（対照の 2.9 倍）に認められた。血清中インスリン及び／又はグルコースの増加は、そのいずれも投与後 24 時間以内に対照値又はベースライン値に回復した。

Brigatinib に関連した眼科学的な変化は試験中に認められなかった。

また、Brigatinib に関連した心電図の異常も試験中に認められなかった。

尿検査パラメータについて Brigatinib に関連した変化は、いずれの用量でもみられなかった。

15 及び 45 mg/kg/日投与群において胸腺重量の減少が投与期間終了時に認められた。この減少は、28 日間の回復期間終了時にはみられなかった。

投与期間終了時の計画剖検時に、15 及び 45 mg/kg/日投与群において Brigatinib に関連した変化として、胸腺のリンパ組織の軽度から重度の萎縮/壊死、及び骨髄造血細胞の軽微から重度の細胞充実性低下が認められた。胸腺におけるリンパ組織の萎縮/壊死は、軽症の動物では髄質領域で最も顕著であったが、重症の動物では髄質と皮質領域の両方に萎縮/壊死がみられた。骨髄では、赤芽血球及び骨髄球系のいずれの細胞も変化がみられた。7.5 mg/kg/日投与群では Brigatinib に関連した変化はみられなかった。回復期間終了時に剖検された動物では、Brigatinib に関連した変化は認められなかった。

Brigatinib 及びその代謝物である AP26123 に関するトキシコキネティクスパラメータの要約を、下の表 2.6.6.3-8 及び表 2.6.6.3-9 に示す。

表 2.6.6.3-8　Brigatinib 経口投与後のサルにおける Brigatinib の TK パラメータ平均値の要約

試験日	用量（mg/kg/日）	Cmax（ng/mL） 雄／雌	AUC0-24（ng·hr/mL） 雄／雌
1	7.5	508 / 607	3154 / 3550
	15	935 / 1114	8106 / 7682
	45	2254 / 2128	24556 / 22604
15	7.5	695 / 536	5071 / 4294
	15	1208 / 1066	10497 / 10522
28	7.5	526 / 560	3408 / 3358
	15	1108 / 1030	8309 / 7584

全用量の全ての場合で、Brigatinib は投与後 4 時間までに最高血漿中濃度（Cmax）に到達し、その後は経時的に減少した。Cmax 及び AUC0-24 は用量に伴って増加し、試験した用量範囲内ではほぼ用量比例的に増加する傾向がみられた。曝露量に明らかな性差はみられなかった。反復投与後 15 日目の曝露量はおおむね軽度に増加していたが、1 日目と 28 日目の値は同様であり、Brigatinib の顕著な蓄積はみられなかった（蓄積比≦1.61）。

表 2.6.6.3-9　Brigatinib 経口投与後のサルにおける AP26123 の TK パラメータ平均値の要約

試験日	用量（mg/kg/日）	Cmax（ng/mL） 雄／雌	AUC0-24（ng·hr/mL） 雄／雌
1	7.5	47.9 / 66.8	238 / 309
	15	119 / 153	846 / 845
	45	322 / 360	3767 / 3681
15	7.5	64.9 / 48.0	327 / 304
	15	156 / 109	1103 / 932
28	7.5	59.0 / 74.5	273 / 316
	15	150 / 156	808 / 761

AP26123 の血漿中濃度は投与後 1～4 時間で最高値に到達し、その後は線形に減少した。Cmax 及び AUC0-24 は用量に伴って増加し、試験した用量範囲内ではおおむね、用量比をやや上回って増加する傾向があった。Brigatinib 反復投与後の AP26123 の蓄積は認められなかった。親化合物に対する代謝物の比率は用量に伴って増加し、AP26123 の曝露量は Brigatinib の約 6～17%であった。

以上のように、Brigatinib の 7.5 mg/kg/日の用量での 1 日 1 回強制経口投与は、サルにおいて忍容性が良好であった。45 mg/kg/日投与群において死亡及び投与に関連した一般状態変化が認められた。15 及び 45 mg/kg/日投与群ではグルコースの軽微な増加、AST 及び ALT の増加、骨髄の細胞充実性の低下並びに胸腺のリンパ組織の萎縮／壊死がみられたが、いずれも回復性が認められた。以上の結果に基づき、NOAEL は 7.5 mg/kg/日と判断された。同用量の 28 日目の（雌雄を合わせた）Brigatinib の Cmax 及び AUC0-24 の平均値は、それぞれ 543 ng/mL 及び 3,383 ng·hr/mL であった。

2.6.6.3.6 サルを用いた Brigatinib の 6 ヵ月間経口投与毒性試験及び 56 日間回復性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-6（評価）

カニクイザルに Brigatinib を 5、10 及び 15 mg/kg/日の用量で 6 ヵ月間経口（経鼻カテーテルから）連続投与し（1 用量あたり雌雄各 5 例）、その後 56 日間の回復期間を設けて、Brigatinib の毒性及びトキシコキネティクスプロファイルを評価した。

15 mg/kg/日投与群では、瀕死状態の雄 2 例が投与 12 日及び 53 日に安楽殺され、生存例 3 例の中で重篤な毒性所見が認められた 2 例を投与 62 日に安楽殺し（早期剖検）、残りの雄 1 例は回復期間終了後に安楽殺された。さらに、5 mg/kg/日投与群の雄 1 例は、Brigatinib 投与と関連のない肢の負傷のため、（投与 106 日に）早期安楽殺された。26 週間の投与後には、0、5 及び 10 mg/kg/日投与群の雌雄各 3 例及び 15 mg/kg/日の雌 3 例が剖検された。残りの動物は、投与後 56 日間の回復期間終了後に剖検された。

15 mg/kg/日投与群で安楽殺された雄 1 例には、Brigatinib に関連した一般状態の変化として自発運動の低下、円背位、体部の蒼白／低温、四肢蒼白、浅呼吸、及び半眼がみられた。また、他の Brigatinib 投与動物でも認められた臨床病理学的及び病理組織学的変化として、尿素窒素、クレアチニン及びリンの増加、並びに Ca、Na 及び Cl の顕著な減少、胸腺、脾臓及びリンパ節を含むリンパ器官における細胞密度の低下が認められた。さらに、十二指腸及び空腸の軽度から中等度の出血、並びに腎臓の軽微な糸球体腎炎及び尿細管変性もみられた。死因は不明であったが、Brigatinib に関連した可能性が考えられた。

15 mg/kg/日投与群のその他に安楽殺された雄においても、同様の一般状態変化並びに臨床病理学的及び病理組織学的変化がみとめられた。さらに、胸膜の肉芽組織及び炎症を伴う心膜の炎症と、肺にはII型肺胞上皮細胞の肥大と右肺葉間の癒着がみられた。また、尿細管変性を伴う中等度の糸球体腎炎、並びに腎臓の蛋白円柱もみられた。死因は肺及び心膜の炎症によるものと考えられ、経鼻カテーテルによる影響の可能性が考えられた。同例でみられた炎症性変化とBrigatinibとの直接の関連性は明らかでなかったが、リンパ器官及び腎臓の変化はBrigatinibに関連したものと判断され、状態悪化に寄与した可能性が考えられた。

眼科学的検査及び心電図検査についてBrigatinibに関連した変化は認められなかった。

Brigatinibに関連した血液学的パラメータの変化として、全用量の雌雄両方又はいずれかでリンパ球数の低値（対照の約50%）がみられ、関連して10 mg/kg/日投与群の雄では白血球数の減少（-38.7%）も認められた。赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の用量依存的な減少（対照の-5.6%～-16.8%）が、全用量群の投与期間においてみられた。また、網状赤血球数の低値（対照の-35.8%～-52.5%）が10 mg/kg/日投与群の雄と15 mg/kg/日投与群の雌においてみられた。回復期間後の剖検時には、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値の軽微な減少（対照の-8.4%～-12.1%）が10 mg/kg/日投与群の雄で回復期間後にみられ、血液学的な作用が部分的に回復することを示していた。

Brigatinibに関連した血清生化学的パラメータの変化として、総蛋白、アルブミン及びグロブリンの軽微な減少（投与前期に比べ最大-20%）が、15 mg/kg/日投与群の雄に認められた。その他のBrigatinibに関連した血清生化学検査値の変化として、グルコースの軽微な増加（投与前期に比べ48%）及びCaの減少（投与前期に比べ-12%）が15 mg/kg/日投与群の雄に認められた。さらに、Clの減少（対照又は投与前期に比べ最大-4%）が、10及び15 mg/kg/日投与群の雄においてみられた。リンの減少（対照の最大-31%）が10及び15 mg/kg/日投与群の雌雄両方又はいずれかでみられた。さらに6ヵ月の投与期間及び回復期間にわたって行ったグルコース及びインスリンの詳細解析結果から、投薬起因性と思われる変化が幾つか認められたが、両者に明瞭な相関性は認められなかった。ALT及びASTの軽微な増加が10及び15 mg/kg/日投与群において散発的にみられたが、ALTの変化は小さく、ALTに比べてASTの変化の程度が大きかったこと、SDHとの相関がみられなかったこと、及び肝臓において病理組織学的に関連する所見がみられなかったことから、動物を扱う際の筋損傷に随伴したものと判断された。血清生化学的パラメータに対するこれらの作用はおおむね回復期間中に回復した。

投与期における尿検査パラメータのBrigatinibに関連した変化は、15 mg/kg/日投与群の雄でみられた尿中のグルコースの高値のみであり、血清グルコースの増加と関連する可能性があると判断された。回復期間終了後の剖検時に尿検査パラメータの変化はみられなかった。

Brigatinibに関連した所見として、投与期間終了後の剖検時に全用量群の雌雄両方又はいずれかで、腎臓の暗赤色化及び胸腺の縮小がみられた。5 mg/kg/日投与群の1例の雄でみられた胸腺の縮小を除き、これら肉眼所見は回復期間終了後の剖検時には認められなかった。

Brigatinibに関連した脾臓、精巣、下垂体及び胸腺重量の低値が全用量群でみられた。脾重量の低値は、雌では回復期間終了後の剖検時に完全に回復していたが、雄では部分的に回復していた。Brigatinibに関連した精巣重量の低値が、15 mg/kg/日投与群の早期剖検例でみられたが、回復期間終了後の剖検時には回復していた。投薬期間終了後の剖検時にBrigatinibに

関連した下垂体重量の低値が、5 及び 10 mg/kg/日投与群の雄でみられたが、回復期間終了後の剖検時には回復していた。胸腺重量の低値が、10 及び 15 mg/kg/日投与群の雌で投薬期間終了後の剖検時にみられたが、回復期間終了後の剖検時には回復していた。

Brigatinib に関連した病理組織学的所見が、腎臓、腋窩リンパ節、胸腺、脾臓及び肺において全用量群で認められた。腎臓の病理組織学的変化として、尿細管上皮細胞の褐色の微細顆粒状色素の沈着が、主に近位曲尿細管で認められた。この変化は全用量群の雌雄両方又はいずれかで剖検時にみられたが、回復期間終了後の剖検時には完全に回復していた。

全用量群の雌雄両方又はいずれかでみられた腋窩リンパ節の細胞密度低下は、リンパ球密度の低下及びこれらリンパ節中のリンパ濾胞の減少を特徴としていた。この変化は、回復期間終了後の剖検時には回復していた。

全用量群の雌雄両方又はいずれかでみられた胸腺細胞密度の低下は、リンパ球密度の低下を特徴としていた。5 mg/kg/日投与群の 1 例の雄（回復期間終了後の剖検時に軽微な細胞密度低下がみられた）を除き、この変化は回復した。

10 及び 15 mg/kg/日投与群の雌雄でみられた脾臓収縮は、赤脾髄の減少、被膜表面の不整、及び脾柱間の間隔の縮小を特徴としていた。この変化は、回復期間終了後の剖検時に回復していた。

10 及び 15 mg/kg/日投与群の雌でみられた空胞化（泡沫状）肺胞マクロファージ数の増加は、肺胞内の泡沫状マクロファージの集簇又は肺胞中隔のマクロファージの増加によるものであった。この変化の程度は弱く、肺機能に変化を示唆する変化はみられなかったことから、毒性作用ではないと判断された。軽微な肺胞マクロファージが 10 mg/kg/日投与群の雌において回復期間終了後の剖検時にみられ、同変化は部分的に回復することが示唆された。早期剖検された 15 mg/kg/日の雄の 1 例にみられた肺における慢性活動性の炎症は、変性及び非変性好中球と肺胞中隔の壊死及び線維化を特徴とし、経鼻カテーテルに伴う合併症による可能性が考えられた。

Cmax 及び AUC0-24 の平均値として定義した Brigatinib 全身曝露量は用量依存的に増加した。全体として曝露量に明らかな性差はみられなかった。反復投与後の全身曝露量はおおむね一定しており、薬物の蓄積又は曝露量の減少は生じないことが示唆された。TK パラメータ平均値を表 2.6.6.3-10 に示す。

表 2.6.6.3-10　Brigatinib 経口投与後のサルにおける投与 0、29、60、89 及び 181 日の血漿中 Brigatinib のトキシコキネティクスパラメータの要約

日	用量（mg/kg/日）	Cmax（ng/mL） 雄／雌	AUC0-24（ng·hr/mL） 雄／雌
0	5	248 / 555	2060 / 3140
	10	707 / 944	5150 / 6780
	15	999 / 1310	8350 / 9910
29	5	452 / 535	4050 / 3390
	10	572 / 760	5890 / 6900
	15	1710 / 844	24200 / 9100
60	15 / ND	1500 / ND	15700 / ND
89	5	429 / 446	4560 / 3780
	10	937 / 926	9570 / 11400
	15	ND / 1400	ND / 15900
181	5	301 / 291	3730 / 2820
	10	480 / 489	5900 / 6450
	15	ND / 805	ND / 8430

ND = 測定せず

以上のように、カニクイザルを用いて Brigatinib を 5、10 及び 15 mg/kg/日の用量で経鼻カテーテルから 6 ヵ月間経口投与した際、15 mg/kg/日投与群の雄は瀕死状態により早期安楽殺が必要であった。また、全ての用量の計画剖検動物で brigatinib 投与による変化がみられた。Brigatinib に関連した一般状態の変化（自発運動の低下、失調性歩行、円背位、削痩、体部及び／又は四肢の蒼白／低温、皮膚弛緩及び便所見）が 15 mg/kg/日投与群の雄にみられ、瀕死状態となったため安楽殺された。Brigatinib に関連した臨床病理検査値の変化、腎臓、消化管、リンパ器官及び胸腺の病理組織学的変化、さらに脾臓、精巣、下垂体及び胸腺の器官重量の減少が全 Brigatinib 投与群でみられたが、これらの変化は回復期間終了後の剖検時には、少なくとも部分的に回復していた。Brigatinib の曝露量は、用量依存的に増加し、性差はみられず、反復投与による曝露量の増加あるいは低下は認められなかった。全ての用量で各種器官に病理組織学的変化が認められたことから、NOAEL を特定できなかった。雌雄における HNSTD は 10 mg/kg/日と判断された。同用量の試験 181 日目における平均曝露量（雌雄合算）は、AUC0-24 及び Cmax でそれぞれ 6,175 ng·hr/mL 及び 485 ng/mL であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いた Brigatinib の復帰突然変異試験

：添付資料番号 4.2.3.3.1-1（評価）

細菌を用いた復帰突然変異試験で Brigatinib の遺伝毒性ポテンシャルを評価した。プレインキュベーション法により、ネズミチフス菌株（TA1535、TA1537、TA98、TA100）及び大腸菌株 WP2 uvrA に、ラット肝酵素（S9 mix）の存在下及び非存在下で、5000 μg/プレート（本アッセイの一般的な最高濃度）を最高濃度として処理した。標準的な陽性対照物質を用いて、試験系の感度及び S9 mix の活性を確認した。S9 mix の非存在下で TA100 株を処理したプレートでは、バックグラウンドコロニーの形成が不完全だったことから、1581 μg/プレート以上の濃度で Brigatinib は生育阻害作用をもつことが示された。本試験条件において、沈殿は認められなかった。

Brigatinib 曝露後の復帰変異コロニー数は、S9 mix の添加／非添加に関わらず、いずれの菌株でも増加は認められなかった。結論として Brigatinib は、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において、遺伝毒性のポテンシャルを示さなかった。

2.6.6.4.2 哺乳類細胞を用いた Brigatinib の in vitro 遺伝毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.3.1-2（評価）

ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験により Brigatinib の遺伝毒性ポテンシャルを評価した。リンパ球に陽性対照を添加して処理したとき、染色体異常を有する細胞の割合が顕著に増加したことから、本試験系の感度及び S9 mix の活性が確認された。500 μg/mL（ICH S2［R1］ガイドラインが推奨する最高用量）を最高濃度として Brigatinib を培養系に添加したとき、染色体異常を持つ分裂中期細胞数の発現頻度は増加しなかった。また、いずれの処理条件でも、染色分体型及び染色体型ギャップの発生率に増加は認められなかった。沈殿又は培地の色調変化も認められなかった。染色体異常とは分類されない、倍数体、核内倍加、セントロメア異常の発生率に増加が認められた。一般に、倍数体細胞数の増加は細胞毒性の増加に伴って生じ、遺伝毒性ポテンシャルを示すものではないと考えられる。ただし、倍数体細胞数の増加は、Brigatinib が有糸分裂プロセスを阻害し染色体の数的異常を誘発する可能性を示すと考えられる。核内倍加した染色体をもつ細胞数の増加は、Brigatinib が細胞周期の進行を阻害する可能性を示すと考えられる。結論として Brigatinib は、ガイドラインに準拠した in vitro 染色体異常試験において、遺伝毒性のポテンシャルを示さなかった。

2.6.6.4.3 ラットを用いた Brigatinib の in vivo 小核試験

：添付資料番号 4.2.3.3.2-1（評価）

ラットを用いた骨髄小核試験により、Brigatinib の遺伝毒性ポテンシャルを評価した。Brigatinib を 10、25、50、125 mg/kg/日の用量で、ラット（雄 5 例/群）に 2 日間強制経口投与した。50 mg/kg/日の用量では、統計学的に有意な小核頻度の上昇が認められたが、溶媒対照に比べて 2 倍未満だった。ラット単回投与毒性試験で、最大非致死量は 125 mg/kg/日と判断され、この MTD において統計学的に有意な小核頻度の上昇が認められ、溶媒対照の 2 倍を上回った。本試験において全身曝露量 AUC0-24 は測定しなかったものの、50 mg/kg/日の投与で AUC=33,572 ng·hr/mL と予想され（28 日間ラット試験［4.2.3.2-2］における 30 mg/kg/日及び 60 mg/kg/日の初回投与後 TK パラメーターから算出）、125 mg/kg/日の投与で約 100,000 ng·hr/mL の AUC0-24 が得られると予想される（14 日間ラット試験［4.2.3.2-1］において 100 mg/kg/日を投与した時の AUC0-24 が 75,086 ng·hr/mL であったことから）。したがって、軽微な小核頻度の上昇を誘発した 50 mg/kg/日投与時の全身曝露量は、最大臨床用量である 180 mg/日を投与したヒト（日本人）AUC0-24（31,130 ng·hr/mL）と同等であり、125 mg/kg/日投与時の全身曝露量は、ヒト曝露の約 3 倍である。これらから、Brigatinib はラットにおいて染色体異常を誘発することで遺伝毒性を示す可能性があると考えられた。

2.6.6.5 がん原性試験

抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関する ICH S9 ガイダンス[1]に従い、動物を用いたがん原性試験は実施しなかった。

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

2.6.6.6.1 ラットを用いた Brigatinib の胚・胎児発生毒性試験のための用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-1（参考）

胚・胎児発生の用量設定試験では、Brigatinib を 5、10、15 及び 25 mg/kg/日の用量で妊娠ラット（1 用量あたり 6 例）に 12 日間（妊娠 6～17 日）経口投与し、胚・胎児発生への影響について評価した。さらにサテライト動物（1 用量あたり 6 例）において妊娠 6 日及び 17 日のトキシコキネティクスプロファイルを評価した。

死亡又は投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。剖検では投与に関連した母動物の肉眼的所見は認められなかった。

体重増加量の低値が 25 mg/kg/日投与群でみられ、これは胎児体重の低値と関連していると考えられた。対照群と比べて摂餌量の低値が、25 mg/kg/日投与群の妊娠 6～18 日にみられた。

25 mg/kg/日投与群では、母動物 6 例中 1 例に全胚吸収（早期）がみられ、同群の他の母動物では対照群に比べ吸収胚数及び着床後死亡率は増加し、生存胎児数は減少した。吸収胚数及び着床後胚死亡率のわずかな増加は、10 及び 15 mg/kg/日投与群でも非用量依存的にみられ、これらの作用は Brigatinib 投与と関連性があると判断された。

胎児の平均体重が用量依存的に減少し、25 mg/kg/日投与群で最も重度であり、背景データを下回った。25 mg/kg/日投与群の胎児 4 例（3 腹）に、頚胸部又は胸部にわたる浮腫、口蓋裂及び小下顎を含む形態異常がみられた。15 mg/kg/日以下の群には、Brigatinib に関連した所見はみられなかった。

以上のように、妊娠 6～17 日の妊娠ラットに Brigatinib を 5、10、15 及び 25 mg/kg/日の用量で経口投与した結果、25 mg/kg/日投与群において母動物の体重低値を引き起こす毒性が確認された。これは摂餌量の低値及び胎児体重の減少に関連していると考えられた。25 mg/kg/日投与群では、吸収胚数の増加及び形態異常が認められたことから、胎児致死作用及び催奇形性が示された。10 mg/kg/日投与群では胎児体重の低値が認められ、胎児の成長抑制作用が示された。10 及び 15 mg/kg/日投与群では Brigatinib と関連があると考えられる吸収胚数及び着床後死亡率のわずかな増加がみられた。5 mg/kg/日投与群では、胎児体重の軽度な減少の他には胚・胎児毒性を示す所見はみられなかった。

2.6.6.6.2 ラットを用いた Brigatinib の胚・胎児発生毒性試験とトキシコキネティックス評価

：添付資料番号 4.2.3.5.2-2（評価）

ラットを用いた主要な胚・胎児発生毒性試験において、妊娠 6～17 日の雌ラット（1 用量あたり 20 例）に Brigatinib を 5、12.5 及び 25 mg/kg/日の用量で経口投与し、着床から硬口蓋閉鎖までの胚及び胎児発生に対する作用を評価した。さらに、妊娠ラット（1 用量あたり 6 例）及びその胎児における Brigatinib のトキシコキネティクスを明らかにした。また、妊娠 18 日目には投与後 2 時間に（胎児血液から）採血した。

死亡及び投与に関連した母動物の肉眼所見は認められなかった。

25 mg/kg/日投与群の母動物において、膣からの分泌液、体重の低値及び摂餌量の減少と関連した体重増加量の低値又は妊娠 6～9 日のみの体重の低値がみられた。また、2 例の母動物

で全胚吸収がみられ、その他の母動物では吸収胚数及び着床後死亡率が増加し、生存胎児数が減少した。対照群と 12.5 mg/kg/日以下の群では、黄体数、着床数、生存及び死亡した胎児と吸収胚数、性比及び着床前死亡率（%）はおおむね同程度であった。

12.5 及び 25 mg/kg/日投与群における同腹児の平均胎児体重は用量依存的に減少した。これは統計学的に有意な減少であり、25 mg/kg/日投与群では背景データ範囲を下回った。投与に関連した外表、内臓及び骨格異常が、25 mg/kg/日投与群の 13 腹からの 26 例の胎児にみられた。複数の胎児でみられた形態異常の発生率は背景データ範囲よりも高く、全身性浮腫、無眼球、前肢の過屈曲、四肢の小型化／短縮／湾曲、多発性肋骨癒合、肩甲骨湾曲、臍帯ヘルニア、及び腹壁裂が含まれた。25 mg/kg/日投与群でみられた四肢／器官の縮小／短縮は、一部、胎児の小型化と関連していた。

25 mg/kg/日投与群でみられた発育遅延を示す、Brigatinib に関連した外表及び内臓の変異には、両側脳室の中等度の拡張が含まれた。12.5 mg/kg/日以下の群における外表又は内臓変異は、おおむね背景データの範囲内であった。

Brigatinib に関連した骨格変異が 12.5 及び 25 mg/kg/日投与群でみられ、これらはおおむね背景データの範囲外であった。これらの骨格変異は、切歯（小型化）、頸椎及び胸椎の椎体及び／又は椎弓（不完全骨化）、肋骨（波状／切痕／欠損）及び骨盤骨（不完全骨化）においてみられた。12.5 及び 25 mg/kg/日投与群では頭頂骨／頭頂間骨／前頭骨の不完全骨化がみられた。25 mg/kg/日投与群の Brigatinib に関連した骨格変異は、頸椎及び胸椎の椎体及び／又は椎弓（位置異常、欠損及び／又は癒合）並びに肋骨（癒合）にもみられた。さらに 25 mg/kg/日投与群では一般的な骨格変異である第 1～第 4 胸骨分節及び第 5 胸骨分節と剣状突起（未骨化／不完全／半分割／分割）の増加もみられ、これらは背景データの範囲外であった。

妊娠 6 日及び 17 日に、用量依存的な Brigatinib の曝露量増加がみられた。母動物における Brigatinib 曝露量は妊娠 6 日に比べて 17 日に減少していた。Brigatinib のトキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.6-1 に要約する。

表 2.6.6.6-1　Brigatinib を経口投与した妊娠ラットにおける妊娠 6 及び 17 日の Brigatinib のトキシコキネティクスパラメータの要約

用量 (mg/kg/日)	Cmax（ng/mL） 妊娠 6 日／17 日	AUC0-t（ng·hr/mL） 妊娠 6 日／17 日
5	791 / 508	9650 / 5290
12.5	1330 / 952	20200 / 14400
25	2200 / 1530	34700 / 25500

以上のように、妊娠 6～17 日の妊娠ラットに Brigatinib を 5、12.5 及び 25 mg/kg/日の用量で強制経口投与した結果、25 mg/kg/日投与群で母動物の体重の低値（これは胎児数の低値及び胎児体重の低値と関連性が示唆された）が認められ、母動物毒性が確認された。胎児致死性、胎児発育遅延及び催奇形性については、25 mg/kg/日投与群でみられた吸収胚数及び着床後死亡率の増加、12.5 及び 25 mg/kg/日投与群における遅滞を示す著明な胎児重量の低値及び胎児骨格所見並びに 25 mg/kg/日投与群でみられた形態異常（外表、内臓及び骨格）によりそれぞれ示された。胚・胎児及び母動物毒性の NOAEL はそれぞれ 5 及び 12.5 mg/kg/日と判断

された。5 及び 12.5 mg/kg/日投与群の妊娠 17 日における Cmax 及び AUC0-t は、それぞれ 508 ng/mL 及び 5,290 ng·hr/mL、952 ng/mL 及び 14,400 ng·hr/mL であった。

2.6.6.6.3 ラットを用いた Brigatinib の出生前及び出生後の生殖発生毒性に関する主要試験とトキシコキネティクス評価

母動物の受胎機能を含む、出生前後の発生試験は実施していない。

2.6.6.7 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施しなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

意図している患者集団は主として成人であることから、幼若動物試験は実施しなかった。

2.6.6.8.1 ラットを用いた Brigatinib の In vivo 光毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.7.7-1（評価）

Long-Evans 有色ラットの眼及び皮膚に対する Brigatinib の光毒性を明らかにするため、Brigatinib を単回経口投与し、その後キセノンランプから放射光に露光させた。光毒性について Brigatinib と 8-メトキシプソラレン（8-MOP）を比較した。

主試験として 1 群あたり 5 例の雌ラットに 15、30 及び 60 mg/kg の用量の Brigatinib を、5 mL/kg の投与容量で単回経口投与した。さらに 1 群あたり 5 例の雌ラットに溶媒のみを 5 mL/kg の投与容量で投与し、主試験の対照群とした。さらに、3 例の雌に 8-MOP 50 mg/kg を経口投与し、陽性対照群とした。Brigatinib の各用量群及び溶媒対照群については、投与後 4 時間に採血を行い、血漿中 Brigatinib 濃度を測定する 3 例の雌を別途設けた。

溶媒又は Brigatinib の投与後 4 時間に、色素が薄い皮膚部分と濃い部分に 30 分間、UV（紫外線）を照射した。陽性対照群の動物には、8-MOP 投与後 1 時間から同様の処置を行った。

投与及び UV 照射当日には、被験物質及び対照物質の投与前にラットの一般状態及び皮膚の所見を確認した。主試験の動物では、UV 照射完了後 30 分と 4 時間、さらに UV 照射の 1、2 及び 3 日目に、全身の外観及び UV 照射部位の皮膚反応の徴候を個々に評価した。

また光毒性評価に割り付けられたラットについては、群への割付け前と UV 照射 3 日後に、獣医眼科学専門医が全ラットの眼科学的検査を行った。

溶媒のみ、又は Brigatinib を 15、30 又は 60 mg/kg の用量で投与され、その後 UV 照射されたラットのいずれにおいても、その薄い色素部位と濃い色素部位に皮膚反応はみられなかった。投与後 4 時間の平均血漿中 Brigatinib 濃度は、15、30 及び 60 mg/kg の Brigatinib 用量群でそれぞれ 1,573、2,127 及び 2,373 ng/mL であった。

対照薬である 8-MOP を投与し、1 時間後に太陽模擬光を照射したとき、光毒性に合致する皮膚反応がみられたことから、本評価系の妥当性が確認された。

太陽模擬光照射の 3 日後に行った眼科学的検査において、溶媒又は Brigatinib の経口投与及び UV 照射と関連した所見はみられなかった。Brigatinib を 15、30 又は 60 mg/kg の用量で投与したラットでは、眼（球結膜、角膜、眼房、虹彩、毛様体、水晶体、硝子体腔、脈絡膜、網膜、強膜及び視神経）に病理組織学的変化は認められなかった。陽性対照の 8-MOP を投与

して紫外線照射を行った全 3 例の動物には、眼科学的検査で両眼にびまん性角膜浮腫が認められ、さらに病理組織学的検査から、光毒性を示す角膜及びレンズの変化が明らかにされた。

以上のように、60 mg/kg 以下の Brigatinib の単回経口投与と、その後の模擬太陽光への単回露光後には、皮膚光毒性又は眼毒性を示す所見は認められなかった。

陽性対照薬である 8-MOP を投与したラットにおいて、色素の薄い皮膚部分と濃い部分の皮膚反応及び眼科的所見がみられ、光毒性が示されたことから、本評価系の妥当性が確認された。

2.6.6.9 考察及び結論

非臨床毒性試験により判断した非臨床毒性プロファイルの考察を以下に示す。

ラット及び／又はサルでみられた主要な器官毒性を表 2.6.6.9-1 に要約する。これらの器官毒性はおおむね回復性を示し、臨床的にモニタリング可能と判断された。精巣及び眼に対する非回復性の作用はラットのみでみられ、サルではみられなかった。

表 2.6.6.9-1　ラット及びサルを用いた一般毒性試験で認められた標的臓器毒性の要約

標的臓器	動物毒性試験における主要な所見
免疫系	脾臓、GALT、胸腺及びリンパ節など免疫系関連器官の抑制が、ラット及びサルにおいて認められた。
消化器系*	軟便、嘔吐がサルにおいてみられた。ラット及びサルでは、びらん、萎縮及び／又は壊死などの病理組織学的変化が認められた。これらの作用は、ラット及びサルにおける死因の 1 つと判断された。
造血系*	骨髄の細胞充実性の低下がラット及びサルにおいてみられた。これらがみられた動物には、白血球及び赤血球パラメータの低下など、血液学的に関連する所見がおおむね認められた。
心血管系*	心筋の変性がラットで認められたが、サルでは認められなかった。サルを用いた心血管系及び呼吸器系の安全性薬理試験において心拍数及び血圧の変化が認められた（2.6.2「薬理試験の概要文」の 4.3 項）。ラットでみられた心筋の変性と、サルでみられた心拍数及び血圧の機能的変化との関連性は不明である。
骨	骨への作用（骨芽細胞の壊死）がラットでみられたが、サルではみられなかった。
腎臓*	腎臓の変化がラット及びサルでみられた。これらには、血清尿素窒素の増加、血清クレアチニンの増加、及び腎機能の低下と合致する尿検査項目の変化が含まれた。ラット及びサルの尿細管上皮細胞には褐色色素がみられ、さらにラットでは尿細管変性がみられた。一般毒性試験における腎毒性所見は、ラットを用いた腎臓の安全性薬理試験で認められた腎機能の低下と関連していた（2.6.2「薬理試験の概要文」の 4.4 項参照）。
精巣／精巣上体#	ラット及びサルで精巣及び精巣上体の大きさと重量の減少が認められた。ラットでは、病理組織学的に関連する所見として精巣に精細管変性が認められ、精巣上体における精子の減少が認められた。これらの精巣及び精巣上体に対する作用は、サルでは回復性を示したが、ラットでは回復性がみられなかった。
眼*#	ラットでは非回復性の白内障及び網膜変性として眼毒性がみられたが、サルではみられなかった。
肝臓*	血清肝トランスアミナーゼの増加がラット及びサルでみられたが、ラットでのみ関連所見として病理組織学的な肝細胞壊死がみられた。
膵臓*	腺房萎縮及び膵島の線維化などの病理組織学的変化がラットのみで認められた。
肺*	空胞化（「泡沫状」）肺胞マクロファージからなる肺の病理組織学的変化がサルでみられたが、ラットではみられなかった。このような肺の病理組織学的所見は、サルを用いた安全性薬理試験で認められた呼吸数変化（2.6.2「薬理試験の概要文」の 4.3 項参照）と関連していると考えられる。

*臨床試験における有害事象との関連性が現在までに示されている器官
#非回復性の毒性

その他、非臨床試験において確認されている毒性には、ラット小核試験における小核形成に基づく染色体異常、並びにラット胚・胎児発生試験における所見に基づく胚・胎児毒性がある。

主要な試験における参照用量での全身曝露量（AUC0-t）と Brigatinib の最高臨床用量（180 mg/日）におけるヒト（日本人）AUC0-24（31,130 ng·hr/mL）との曝露量の比率を表 2.6.6.9-2 に示す。ラット及びサルにおいて、Brigatinib 及びその代謝物である AP26123 の曝露量に明らかな性差はみられなかった。したがって毒性-曝露量関係及び臨床曝露量に対する比率の解釈には、雌雄合算の曝露量を用いている。ラット及びサルを用いた毒性試験における用量及び関連する曝露量の詳細は、非臨床試験 2.6.7 項「毒性試験概要表」の第 3 項「トキシコキネティクスの概要」に示す（2.6.7.3）。

表 2.6.6.9-2　主要な非臨床毒性試験における参照用量での全身曝露量と Brigatinib の最高臨床用量（180 mg/日）におけるヒト曝露量との比率

試験	参照用量（mg/kg/日）	AUC0-t（ng·hr/mL）	曝露比率
28 日間ラット	15（NOAEL）	22633	0.7
6 ヵ月間ラット	7.5（STD10）	18600	0.6
28 日間サル	7.5（NOAEL）	3383	0.1
6 ヵ月間サル	10（HNSTD）	6175	0.2
ラット胚-胎児	5（胚・胎児毒性の NOAEL） 12.5（母動物毒性の NOAEL）	5290 14400	0.2 0.5
ラット小核	50 mg/kg/日	33,572（予想）	1.1
	125 mg/kg/日	100000（予想）	3

ラット及びサルを用いた一般毒性試験において、主要な毒性が認められた参照用量における最終全身曝露量は、Brigatinib の最大臨床用量（180 mg/日）をヒト（日本人）に投与したときの AUC0-24 である 31,130 ng·hr/mL 以下であった。一方、ラット小核試験において MTD 投与時に認められた小核頻度の上昇は、最大臨床用量である 180 mg/日を投与したヒト（日本人）AUC0-24 の約 3 倍の曝露量で認められ、50 mg/kg/日投与時に認められた軽微な小核頻度の上昇は、最大臨床用量である 180 mg/日を投与したヒト（日本人）AUC0-24 と同等の曝露量で認められた。

ラット及びサルを用いた一般毒性試験では、AP26123 が Brigatinib の主要代謝物であり、また、サル血漿では親分子の約 10%程度の濃度であるという事実に基づき、未変化体に加えて代謝物の毒性も評価された。

有色 Long-Evans ラットを用いた光毒性試験において、Brigatinib は皮膚及び眼に対する光毒性を誘発しなかった。現在得られている非臨床及び臨床における毒性プロファイル、臨床では成人に用いられること、また抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関する ICH S9 ガイドライン[1]に基づき、幼若動物を用いた毒性試験、がん原性試験及び特殊な非臨床毒性試験は実施していない。

2.6.6.10 参考文献一覧

[1] ICH Topic S9 (step 5): Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals. European Medicines Agency. May 2010. EMA/CHMP/ICH/646107/2008.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティックス試験：一覧表 3
2.6.7.3 トキシコキネティックス試験：成績の一覧表 4
2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧 6
2.6.7.5 単回投与毒性試験 7
2.6.7.6 反復投与毒性試験：用量設定試験 8
2.6.7.7 反復投与毒性試験 9
2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験 70
2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験 73
2.6.7.10 がん原性 74
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：予備試験 75
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 77
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 79
2.6.7.14 局所刺激性試験 79
2.6.7.15 その他の毒性試験 79
2.6.7.16 参考文献 79

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

毒性試験の一覧表						被験物質：Brigatinib, AP26113		
試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量(mg/kg)[a]	GLP 適用	実施施設	添付資料番号	区分
Single-Dose Toxicity	Mouse/CD-1	Oral	1 day	0, 50, 75, 125, 250, 400	No	ARIAD Pharmaceuticals, Inc.	4.2.3.1-1	参考
	Rat/Sprague-Dawley	Oral	1 day	0, 50, 75, 125, 250, 400	No	ARIAD Pharmaceuticals, Inc.	4.2.3.1-2	参考
Repeat-Dose Toxicity	Rat/Sprague/Dawley	Oral	14 Days	0, 3, 10, 30, 100	No	ARIAD Pharmaceuticals, Inc.	4.2.3.2-1	参考
	Rat/Sprague Dawley	Oral	28 Days	0, 15, 30, 60	Yes	[redacted]	4.2.3.2-2	評価
	Rat/Sprague Dawley	Oral	6 months	0, 7.5, 15, 25	Yes	[redacted]	4.2.3.2-3	評価
	Monkey/Cynomolgus	Oral	14 Days	0, 3, 10, 30	No	[redacted]	4.2.3.2-4	参考
	Monkey/Cynomolgus	Oral	28 Days	0, 7.5, 15, 45	Yes	[redacted]	4.2.3.2-5	評価
	Monkey/Cynomolgus	Oral	6 months	0, 5, 10, 15	Yes	[redacted]	4.2.3.2-6	評価
Genotoxicity	S. typhimurium, E. coli	In vitro	NA	NA	Yes	[redacted]	4.2.3.3.1-1	評価
	Human Lymphocytes	In vitro	NA	NA	Yes	[redacted]	4.2.3.3.1-2	評価
	Rat/Sprague Dawley	Oral	2 days	0, 10, 25, 50, 125, 150	Yes	[redacted]	4.2.3.3.2-1	評価
Embryofetal development	Rat/Sprague/Dawley	Oral	12 Days (GD 6-17)	0, 5, 10, 15, 25	No	[redacted]	4.2.3.5.2-1	参考
	Rat/Sprague/Dawley	Oral	12 Days (GD 6-17)	0, 5, 12.5, 25	Yes	[redacted]	4.2.3.5.2-2	評価
Phototoxicity	Rat/Long Evans	Oral	1 Day	0, 15,30, 60	Yes	[redacted]	4.2.3.7.7-1	評価

NA = not applicable

2.6.7.2 トキシコキネティックス試験：一覧表

毒性試験の一覧表				被験物質：Brigatinib, AP26113	
試験の種類	試験系	投与方法	投与量 (mg/kg)	GLP 適用	添付資料番号
Repeat-dose toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Oral	0, 3, 10, 30, 100	No	4.2.3.2-1
Repeat-dose toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Oral	0, 15, 30, 60	Yes	4.2.3.2-2
Repeat-dose toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Oral	0, 7.5, 15, 25	Yes	4.2.3.2-3
Repeat-dose toxicity	Monkey/Cynomolgus	Oral	0, 3, 10, 30	No	4.2.3.2-4
Repeat-dose toxicity	Monkey/Cynomolgus	Oral	0, 7.5, 15, 45	Yes	4.2.3.2-5
Repeat-dose toxicity	Monkey/Cynomolgus	Oral	0, 5, 10, 15	Yes	4.2.3.2-6
Embryofetal development	Rat/Sprague/Dawley	Oral	0, 5, 12.5, 25	Yes	4.2.3.5.2-2

2.6.7.3 トキシコキネティックス試験：成績の一覧表

トキシコキネティクス成績の一覧表　　被験物質：Brigatinib, AP26113

測定物質：AP26113		AUC (ng·hr/mL)				
投与量 (mg/kg)	投与期間	ラット		サル		ヒト
		雄	雌	雄	雌	
3	14 days		7180	1118[b]		
5	12 days		5290[a]			
5	6 months			3730	2820	
7.5	6 months	18200	19000			
7.5	28 days			3408	3358	
10	14 days		41120	3335[b]		
10	6 months			5900	6450	
12.5	12 days		14400[a]			
15	28 days	21716	23550	8309	7584	
15	6 months	37600	32700		8430	
25	12 days		25500[a]			
30	14 days		131840	9079[b]		
30	28 days	40527	48890			
45	28 days; Day 1 data			24556	22604	
60	28 days; Day 1 data	38939	35762			
100	1 day in 14-day tox study		75086			
180 mg/day	21 days (Cycle1 Day 22)					31130

a in pregnant female rats; b combined genders; 1 monkey/sex; c: 90 mg/day 7 日間投与後、180 mg/day を 14 日間投与

測定物質：AP26123		AUC (ng·hr/mL)				
投与量 (mg/kg)	投与期間	ラット		サル		
		雄	雌	雄	雌	
7.5	6 months	312	118			
7.5	28 days			273	316	
15	28 days	247	92.3			
15	6 months	571	214			
15	28 days			808	761	
25	52 days	353	483			
30	28 days	413	253			
45	28 days; Day 1 data			3767	3681	
60	28 days; Day 1 data	832	106			
180 mg/day	21 days (Cycle1 Day 22)					2818

2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧

Drug Substance									被験物質：Brigatinib (AP26113)	
ロット番号	純度 (%)	規格設定されていない不純物 [a]								
		RRT 0.11	RRT 0.14	RRT 1.35	RRT 1.69	RRT 1.74			添付資料番号	試験の種類
[redacted]	100	0.10	0.09	0.19	0.11	0.07			4.2.3.1-1, -2, 4.2.3.2-2, -5, 4.2.3.7.7-1	Single-dose oral in mice and rats; 28-day oral study in rats and monkeys; Phototoxicity in rats
ロット番号	純度 (%)	規格設定された不純物 [b]						規格設定されていない不純物	添付資料番号	試験の種類
		AP26381	AP26123	Impurity 3	Impurity4	Impurity 5	Impurity6			
[redacted]	99.9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.2.3.3.1-1, 4.2.3.3.1-2	Ames test; In vitro chromosomal aberration test
ロット番号	純度 (%)	規格設定された不純物 [b]							規格設定されていない不純物	添付資料番号	試験の種類
		AP26381	AP25656	AP26123	AP26480	AP30063	AP30062	AP32843			
[redacted]	99.8	ND	0.07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.2.3.2-3, 4.2.3.2-6, 4.2.3.3.2-1, 4.2.3.5.2-1, -2	6-Month oral study in rats, monkeys; in vivo micronucleus test: Embryo fetal in rats

a At the time of release testing for [redacted] using HPLC Method-2 no specified impurities were included on the release specification. Therefore, all reported impurities have been reported as "unspecified" for the analysis of [redacted].

b Values listed are %w/w determined using the current regulatory procedure, HPLC Method-4, as described in 3.2.S.4.2 Analytical Procedures – OmniChem. The chronology of analytical procedures used to assess the impurities of AP26113 drug substance throughout development is presented in 3.2.S.4.4. Batch Analyses – OmniChem.

RRT: Relative Retention Time NA: not applicable; ND: not detected

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Single-Dose Toxicity				Test Article: Brigatinib (AP26113)			
動物種及び系統	投与方法 (媒体/投与形態)	投与量 (mg/kg)	動物数及び性/群	最大非致死量 (mg/kg)	LD50 (mg/kg)	特記すべき所見	添付資料番号
Mouse/CD-1	Gavage (25 mM citrate buffer, pH 4.0)	0, 50, 75, 125, 250, 400	M/F: 5	75	149	125, 250, 400 mg/kg: Mortality 40, 90, 100%, respectively; Clinical signs: decreased activity, prostration, spasm.	4.2.3.1-1
Rat/Crl:CD®(SD)	Gavage (25 mM citrate buffer, pH 4.0)	0, 50, 75, 125, 250, 400	M/F: 5	125	174	250, 400 mg/kg: Mortality: 90, 100%, respectively Clinical signs: decreased activity, lethargy, ruffled fur, eye squint, body weight loss.	4.2.3.1-2

SD, Sprague Dawley.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：用量設定試験

Repeat-Dose Toxicity, Nonpivotal Studies					Test Article: Brigatinib (AP26113)		
動物種及び系統	投与方法 (媒体/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg)	動物数及び性/群	無毒性量 (mg/kg)	特記すべき所見	添付資料番号
Rat/Crl:CD®(SD)	Gavage (25 mM citrate buffer, pH 4.0)	14 Days	0, 3, 10, 30, 100	Female; 5/group, main study; 4/group, TK stud	3	at 10 mg/kg/day: slight decrease in WBC (0.73x control), absolute lymphocyte (0.71x control) and eosinophils (0.80x control); increase in serum insulin (1.7x control) with no effect on serum glucose levels. at 30 mg/kg/day: decreased mean body weight (5%); slight decrease in WBC (0.69x control), absolute lymphocyte (0.65x control) and eosinophils (0.73x control), and platelet count (0.69x control); increase in ALT (3.6x control) AST (4.4x control), alkaline phosphatase (2x control), BUN (1.6x control) and serum insulin (12.9x control) with no effect on serum glucose levels. At necropsy: small thymus and spleen (gross pathology only) at 100 mg/kg/day: decreased mean body weight (38%); hardened stomach area, low level activity, ruffled fur; mortality began to occur on Day 4, dosing discontinued on Day 5, all animals either died or were euthanized in moribund condition on Days 4-9. At necropsy: accumulation of food in stomach; small thymus, spleen, ovaries and uterus (gross pathology only)	4.2.3.2-1
Monkey/Cynomolgus	Gavage (25 mM citrate buffer, pH 4.0)	14 Days	0, 3, 10, 30	Male and Female 1/sex/group	10	at 30 mg/kg/day: decreased absolute lymphocytes (0.42x – 0.51x baseline); elevated ALT (2.2x – 4.3x baseline); transient increase in serum insulin and with slight increase in serum glucose levels. at 3 mg/kg/day: mild histiocytosis in lung; at 10 mg/kg/day: mild histiocytosis in lung at 30 mg/kg/day: mild histiocytosis in lung and spleen; lymphoid depletion in thymus; Aggregates of foamy macrophages in lymphoid tissue	4.2.3.2-4

EPW, ethanol: polyethylene glycol 400: water, 5:45:50 (v/v/v); F, female; GI, gastrointestinal; M, male; NOAEL, no observable adverse effect level; PO, oral dosing; SC, subcutaneous; SD, Sprague Dawley.

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7A 反復投与毒性試験：ラット 28 日及び 28 日回復

Report Title:	A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day recovery Period				
Species/Strain:	Rat/Sprague-Dawley	Duration of Dosing:	28 Days	Test Article:	Brigatinib (AP26113)
Initial Age:	6 Weeks	Duration of Postdose:	28 Days	Location in CTD:	Section 4.2.3.2-2
Date of First Dose:	January 5, 20[redacted]	Method of Administration:	oral gavage	Study Number:	805018
		Vehicle/Formulation:	25 mM citrate buffer, pH 4.0	GLP Compliance:	Yes
Special Features:	None				
No Observed Adverse Effect Level:	15 mg/kg/day				

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60[d]	
Number of Animals Toxicology Portion Toxicokinetic Portion	M=15 M=3	F=15 F=3	M=15 M=9	F=15 F=9	M=15 M=9	F=15 F=9	M=15 M=9	F=15 F=9
Toxicokinetics:								
Brigatinib (AP26113)								
AUC0-24 (ng·hr/mL)[a]	NA	NA	21716	23550	40527	48890	38939	35762
C_{max} (ng/mL)[a]	NA	NA	1437	1527	2213	3067	2363	1783
AP26123								
AUC0-24 (ng·hr/mL)[a]	NA	NA	247	92.3	413	253	832	106
C_{max} (ng/mL)[a]	NA	NA	13.5	7.37	27.8	22.6	74.7	21.8
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund[b] Toxicology Portion Toxicokinetic Portion	 0 0	 0 0	 0 0	 0 0	 0 1.(1)	 2(1) 1	 8 5(1)	 11 9(4)
Body Weight (%): Week 1[c]	261 g	192 g	-8*	-1	-11*	-5	-22*	-33*
Body Weight (%): Week 4[c]	439 g	253 g	-17*	-4	-32*	-19*	-10*	+1
Food Consumption (%): Week 1[c]	33 g/animal/day	22 g/animal/day	-12*	+1	-15*	-8	-48*	-40*
Food Consumption (%): Week 4[c]	36 g/animal/day	24 g/animal/day	-14*	+1	-8	-10	-1	+26

- = no noteworthy findings, NA = Not applicable.

a Toxicokinetics on Day 28 for 15 and 30 mg/kg/day; Day 1 for 60 mg/kg due to toxicity and termination of dosing

b The number includes total animals for which mortality was suspected to be caused by AP26113 or by the blood collection process. The number in parenthesis identifies the number of these animals for which the blood collection process was suspected as the cause of mortality. Animals dosed at 60 mg/kg/day were preterminally euthanized or found dead between Study Days 3 and 9. Animals from the 30 mg/kg/day group were either found dead or euthanized on Study Day 15 or 22.

c At end of Weeks 1 or 4. For controls, group means are shown. For treated groups, the direction (+ = increase; - = decrease) and percent differences from controls are shown.

d Dose was stopped on Day 5 (males) and Day 6 (females)

Statistical difference is based on actual data (not on percent differences).

* Statistically significant difference from control value, p≤0.05 Dunnet's test or Kruskal-Wallis with Dunn's procedure. Refer to study report for actual significance levels and further details on tests used.

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
Clinical Observations								
Decreased activity	-	-	-	-	-	X	X	X
Tremors	-	-	-	-	-	-	X	X
Abdominal firmness	-	-	-	X	X	X	X	X
Abdominal distention	-	-	-	X	X	X	X	X
Dehydration	-	-	-	-	-	X	X	X
Thinness	-	-	-	-	-	X	X	X
Weakness	-	-	-	-	-	X	X	X
Eye squint	-	-	-	-	-	X	X	X
Salivation	-	-	X	X	X	X	-	X
Cold to touch	-	-	-	-	-	X	X	X
Hunched posture	-	-	-	-	-	X	X	X
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

- = no noteworthy findings, X = present

a Toxicokinetics on Day 28 for 15 and 30 mg/kg/day; Day 1 for 60 mg/kg due to toxicity and termination of dosing

b The number includes total animals for which mortality was suspected to be caused by AP26113 or by the blood collection process. The number in parenthesis identifies the number of these animals for which the blood collection process was suspected as the cause of mortality.

c At end of Weeks 1 or 4. For controls, group means are shown. For treated groups, the direction (+ = increase; - = decrease) and percent differences from controls are shown. Statistical difference is based on actual data (not on percent differences).

* Statistically significant difference from control value, $p \leq 0.05$ Dunnet's test or Kruskal-Wallis with Dunn's procedure. Refer to study report for actual significance levels and further details on tests used.

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
Number of Animals	M=10	F=10	M=10	F=10	M=10	F=8	M=8	F=4
Hematology [a]								
WBC ($x10^3\mu L$)	7.8	5.4	5.9	3.0*	5.1*	2.8*	7.2	3.0*
RBC ($x10^6\mu L$)	8.0	8.0	7.9	7.4*	7.9	6.9*	7.2*	6.7*
Ht (%)	45	44	44	41	45	39	43*	41
Hb (g/dL)	15	15	15	14*	15	13*	14	14*
Lymph (%)	84.4	86.0	81.7	81.7	73.1*	63.1*	88.5	80.3
Neut (%)	11.7	10.1	13.9	13.1	22.9*	32.2*	8.4	15.6
Platelet ($10^3/\mu L$)	1207	1226	1159	1090	930*	975	1219	1371
Retic ($10^9/\mu L$)	226	131	147*	116	143*	188	253	220
Serum Chemistry [a]								
AST (U/L)	117	137	151	167	621*	480*	96	149
ALT (U/L)	31	25	45	45*	240*	211*	27	28
ALP (U/L)	178	100	231	151*	393*	268*	159	123
GGT (U/L)	ND	ND	ND	ND	ND	4	ND	ND
TBIL (mg/dL)	0.07	0.08	0.07	0.06	0.08	0.07	0.07	0.07
UREA (mg/dL)	9	13	12	11	18*	28	9	10
CREAT (m/dL)	0.28	0.37	0.33	0.38	0.38*	0.53	0.31	0.30
GLUC (mg/dL)	153	120	201	151	249*	268*	182	154
CHOL (mg/dL)	67	88	88	94	140*	102	70	79
TRIG (mg/dL)	59	40	48	32	83	56	47	40
Coagulation [a]								
PT (seconds)	13.7	13.3	13.02*	13	13.08*	13.1	-	-
APTT (seconds)	17	15.4	16.3	15.3	17.1	15	-	-
FIB (mg/dL)	192	144	186	139	191	146	-	-
Concurrent Insulin (ng/mL) and Glucose (mg/dL) Values								
Day 1; Predose								
Insulin	1.25	1.84	2.21	2.82	2.18	2.19	1.21	2.11
Glucose	135	137	142	135	143	135	137	137
Day 15; 4 h Postdose								
Insulin	2.97	2.02	15.2	7.58	27.6*	41.4*	ND	ND
Glucose	134	133	160*	130	153	221	ND	ND

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
Number of Animals	M=10	F=10	M=10	F=10	M=10	F=8	M=8	F=4
Day 28; 4 h Postdose								
Insulin	3.22	2.02	21.1*	11.4	39.6*	52.7*	ND	ND
Glucose	123	123	145	127	298*	289*	ND	ND

a At end of dosing period. - = no noteworthy findings ND = Not determined

* Statistically significant difference from control value; $p \leq 0.05$, Dunnet's test or Kruskal-Wallis with Dunn's procedure. Refer to study report for actual significance level and further details on statistical tests used.

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
Number of Animals	M=10	F=10	M=10	F=10	M=10	F=8	M=8	F=4
Day 28; 24 h Postdose								
Insulin	5.18	2.44	7.04	4.46	19.7*	13.6*	-	-
Glucose	139	139	123	133	145	154	162	131
Day 28; 48 h Postdose								
Insulin	4.07	1.81	6.18	2.23	6.26	2.84	-	-
Glucose	132	136	133	138	114*	126	-	-
Coagulation [a]								
PT (seconds)	13.6	13.4	13.5	13.3	13.5	13.4	13.4	13.0
APTT (seconds)	15.5	14.8	16.8*	15.7	14.8	15.2	14.9	14.3
FIB (mg/dL)	184	166	205*	180*	215*	206*	192	173
Urinalysis [a]								
Volume (mL)	3.34	1.54	2.76	1.31	9.36*	3.46*	3.06	1.03
Specific Gravity	1.0412	1.0376	1.0352	1.0453	1.0520*	1.0478	1.0391	1.0310
Organ Weights (%) [a b]								
Prostate (No. Weighed)	10	NA	10	NA	10	NA	8	NA
Absolute Weight	0.9564 g	NA	-12	NA	-41*	NA	+1	NA
% Body Weight	0.244	NA	+3	NA	-15	NA	+8	NA
% Brain Weight	46.25	NA	-10	NA	-39*	NA	+1	NA
Uterus (No. Weighed)	NA	10	NA	10	NA	8	NA	4
Absolute	NA	0.5470 g	NA	+26	NA	-36*	NA	+17
% Body Weight	NA	0.2373	NA	+34	NA	-17	NA	+15
% Brain Weight	NA	28.55g	NA	+27	NA	-34*	NA	+17
Spleen (No. Weighed)	10	10	10	10	10	8	8	4
Absolute Weight	0.8639 g	0.5957 g	-44*	-39*	-64*	-64*	-6	-1
% Body Weight	0.22114	0.2559	-35*	-35*	-48*	-52*	+2	-2
% Brain Weight	41.78	31.10	-43*	-38*	-63*	-63*	-6	-2

a At end of dosing period.

b For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percent difference).

* Statistically significant difference from control value; $p \leq 0.05$, Dunnet's test or Kruskal-Wallis with Dunn's procedure. Refer to study report for actual significance level and further details on statistical tests used.

- = no noteworthy findings NA = Not applicable

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
Number of Animals	M=10	F=10	M=10	F=10	M=10	F=8	M=8	F=4
Thymus (No. Weighed)	10	10	10	10	10	8	8	4
Absolute Weight	0.5838 g	0.4380 g	-36	-31*	-69*	-75*	+4	-35*
% Body Weight	0.1485	0.1885	-24*	-26*	-54*	-67*	+12	-35*
% Brain Weight	28.28	22.96	-34	-30*	-67*	-74*	+4	-35*

a At end of dosing period.

b For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percent difference).

* Statistically significant difference from control value; $p \leq 0.05$, Dunnet's test or Kruskal-Wallis with Dunn's procedure. Refer to study report for actual significance level and further details on statistical tests used.

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Gross Pathology [a, c]								
No. Examined	10	10	10	10	10	10	16	15
Adrenal								
Dark area	-	1	-	-	-	2	1	-
Dark discoloration	-	-	-	-	-	-	-	2
Cecum								
Dark area	-	-	-	-	-	-	-	1
Digestive Content								
Dark discoloration	-	-	-	-	-	-	1	-
Firm	-	-	-	-	-	2	7	11
Watery	-	-	-	-	-	1	-	-
Epididymis								-
Dark area	-		-		1		-	
Small	-		-		1		1	
Harderian Gland								
Dark discoloration	-	-	-	-	-	-	1	2
Lung								
Dark area	2	-	1	-	-	1	-	1
Lymph N., mandibular								
Enlargement	3	3	-	-	-	-	2	1
Dark foci/discoloration	-	-	-	-	1	1	-	-
Prostate								
Small	-		-		3		1	
Rectum								
Dark area	-	-	-	-	-	-	1	-
Dark foci	-	-	-	-	-	1	3	1
Seminal Vesicle								
Small	-		-		1		1	
Spleen								
Small	-	-	1	1	6	6	7	11

a At end of dosing period; c Incidence; - = no noteworthy findings.

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M=10	F=10	M=10	F=10	M=10	F=10	M=16	F=15
(cont'd) Gross Pathology [a, c] No Examined								
Stomach								
Dark area	-	-	-	-	-	1	-	1
Depressed area	-	-	-	-	-	1	-	1
Raised area	-	-	-	-	-	1	-	1
Dark foci	-	-	-	-	-	-	1	1
Thymus								
Dark area	-	-	-	1	-	-	-	2
Dark foci	-	-	-	-	2	-	1	-
Pale discoloration	-	-	-	-	-	-	-	1
Small	-	-	-	-	1	5	-	2
Histopathology [a, c]								
Adrenal (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Hemorrhage: slight	-	-	-	-	-	-	1	2
Necrosis: slight	-	-	-	-	-	-	-	1
Bone-Femur (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Necrosis: osteoblast								
Minimal	-	-	-	-	-	-	2	4
Slight	-	-	-	-	-	-	4	5
Moderate	-	-	-	-	-	-	2	-
Thickening: physeal cartilage								
Minimal	-	-	1	2	3	5	1	-
Slight	-	-	-	-	6	2	6	8
Moderate	-	-	-	-	1	-	8	3
Marked	-	-	-	-	-	-	1	-
Fibrosis: metaphysis								
Minimal	-	-	-	-	3	-	5	2
Slight	-	-	-	-	-	-	1	2
Moderate	-	-	-	-	-	-	5	-

a At end of dosing period; c Incidence; - = no noteworthy findings

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
(cont'd) Histopathology [a, c]								
Hemorrhage								
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	4
Slight	-	-	-	-	-	-	7	6
Fibrosis: periosteum								
Moderate	-	-	-	-	-	-	1	-
Hyperostosis: Minimal	-	-	-	-	2	1	-	-
Bone- Sternum (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Thickening: physeal cartilage:								
Minimal	-	-	-	-	-	-	6	11
Slight	-	-	-	-	-	-	1	-
Bone-Marrow (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Hypocellularity:								
hematopoietic								
Minimal	-	-	-	-	9	3	1	-
Slight	-	-	-	-	1	3	-	-
Moderate	-	-	-	-	-	3	3	1
Marked	-	-	-	-	-	-	4	10
Colon (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Necrosis: epithelial								
Minimal	-	-	-	-	-	-	1	2
Slight	-	-	-	-	-	-	3	1
Duodenum (No. Examined)	10	10	10	10	10	9	16	15
Atrophy: villous/mucosal								
Minimal	-	-	-	-	2	2	1	1
Slight	-	-	-	-	-	-	3	2
Moderate	-	-	-	-	-	-	1	5
Necrosis: epithelial								
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	2

a At end of dosing period; c Incidence; - = no noteworthy findings

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
(cont'd) Histopathology [a, c]								
Epididymis (No. Examined)	10	NA	10	NA	10	NA	16	NA
Oligo/aspermia								
Minimal	-		-		-		1	
Severe	-		-		-		8	
Granuloma: spermatic								
Slight	-		-		1		-	
GALT (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	13
Atrophy/necrosis: Lymphoid								
Minimal	-	-	-	-	1	1	-	-
Slight	-	-	-	-	-	-	2	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	2	1
Harderian Gland (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Deposits: pigment								
Minimum	-	-	-	-	-	2	1	-
Slight	-	-	-	-	-	2	-	2
Moderate	-	-	-	-	-	1	6	8
Marked	-	-	-	-	-	-	1	1
Heart (No. Examined)	9	10	10	10	10	10	16	15
Hemorrhage								
Minimal	-	-	-	-	-	1	-	1
Slight	-	-	-	-	1	-	1	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	1
Ileum (No. Examined)	10	10	10	10	10	9	16	15
Atrophy: villous/Mucosal								
Minimal	-	-	-	-	1	2	1	-
Slight	-	-	-	-	-	-	4	6
Moderate	-	-	-	-	-	-	1	2

a At end of dosing period; c Incidence; - = no noteworthy findings NA = Not applicable

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
(cont'd) Histopathology [a, c]								
Necrosis: epithelial								
Minimal	-	-	-	-	-	-	1	2
Slight	-	-	-	-	-	-	-	1
Jejunum (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	14
Atrophy/villous mucosal								
Minimal	-	-	-	-	1	-	2	1
Slight	-	-	-	-	-	-	-	4
Moderate	-	-	-	-	-	-	1	2
Necrosis: epithelial								
Minimal	-	-	-	-	-	-	2	1
Slight	-	-	-	-	-	-	-	2
Lacrimal Gl. (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Necrosis								
Minimal	-	-	-	-	-	2	5	3
Slight	-	-	-	-	-	-	2	2
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	1
Larynx (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Inflammation								
Minimal	-	-	-	-	-	1	-	1
Slight	-	-	-	-	-	1	2	4
Marked	-	-	-	-	-	-	-	1
Lung (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Hemorrhage								
Minimal	3	-	3	1	1	2	3	5
Slight	-	-	-	-	-	-	-	3
Histiocytosis								
Minimal	-	-	1	2	-	1	1	1

a At end of dosing period; c Incidence; - = no noteworthy findings

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
(cont'd) Histopathology [a, c]								
L.Node: Mandibular (No. Examined)	9	10	10	10	10	10	14	14
Atrophy/necrosis: lymphoid								
Minimal	-	-	-	-	-	1	-	2
Slight	-	-	-	-	-	1	1	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	5	7
Erythocytosis/								
hemorrhage								
Minimal	-	-	-	-	1	1	-	-
L Node: Mesenteric (No. Examined)	10	10	10	10	10	3	15	13
Atrophy/necrosis lymphoid								
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	1
Slight	-	-	-	-	-	1	1	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	5	6
Marked	-	-	-	-	-	-	-	1
Mammary Gland (No. Examined)	10	10	10	10	9	10	12	15
Atrophy								
Minimal	-	-	-	-	5	-	-	-
Slight	-	-	-	-	2	-	3	-
Moderate	-	-	-	-	-	-	1	-
Hemorrhage								
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	2
Slight	-	-	-	-	-	-	-	3
Prostate (No. Examined)	10	NA	10	NA	10	NA	16	NA
Inflammation								
Minimal	3		1		-		1	
Atrophy								
Minimal	-		-		4		-	

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Slight	-		-		1		2	
Moderate	-		-		-		6	

a At end of dosing period; c Incidence; - = no noteworthy findings NA = Not applicable

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
(cont'd) Histopathology [a, c]								
Rectum (No. Examined)						1	4	1
Hemorrhage								
Minimal						1	1	-
Salivary Gland: Mandibular (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Atrophy								
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	1
Necrosis								
Minimal	-	-	-	-	-	1	-	-
Slight	-	-	-	-	-	1	-	1
Moderate	-	-	-	-	-	1	7	9
Seminal Vesicle (No. Examined)	10	NA	10	NA	10	NA	16	NA
Atrophy								
Minimal	-		-		2		-	
Slight	-		-		-		2	
Moderate	-		-		-		6	
Spleen (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Atrophy/necrosis white/red pulp								
Minimal	-	-	-	-	10	5	2	-
Slight	-	-	-	-	-	3	-	-
Moderate	-	-	-	-	-	-	1	-
Marked	-	-	-	-	-	1	6	11
Stomach (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Erosion: glandular mucosa								
Minimal	-	-	-	-	-	1	-	-
Slight	-	-	-	-	-	-	2	2
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	1
Marked	-	-	-	-	-	-	-	1

a At end of dosing period; c Incidence; - = no noteworthy findings NA = Not applicable

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
(cont'd) Histopathology [a, c]								
Ulceration: glandular mucosa								
Slight	-	-	-	-	-	-	1	-
Marked	-	-	-	-	-	-	1	2
Hemorrhage								
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	1
Erosion: squamous mucosa								
Minimal	-	-	-	-	1	-	-	-
Slight	-	-	-	-	1	-	-	1
Ulceration: squamous mucosa								
Slight	-	-	-	-	-	1	-	-
Testis (No. Examined)	10	NA	10	NA	10	NA	16	NA
Hypo/aspermatogenesis								
Slight	-		-		-		8	
Degeneration/atrophy: seminiferous epithelium								
Slight	-		-		-		1	
Thymus (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	16	15
Atrophy/necrosis lymphoid								
Minimal	-	-	-	2	6	2	1	2
Slight	-	-	-	-	1	2	-	1
Moderate	-	-	-	-	-	3	-	-
Marked	-	-	-	-	-	1	7	7
Severe	-	-	-	-	-	1	-	4
Hemorrhage								
Minimal	-	-	-	-	2	-	1	1
Slight	-	-	-	-	-	-	-	2
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	1

a At end of dosing period; c Incidence; - = no noteworthy findings NA = Not applicable

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
(cont'd) Histopathology [a, c]								
Urinary Bladder (No. Examined)	10	10	10	10	10	9	16	14
Inflammation								
Minimal	-	1	-	-	-	-	-	-
Slight	-	-	-	1	-	1	-	1
Moderate	1	-	-	-	-	1	-	-
Necrosis: epithelial								
Minimal	-	-	-	-	-	2	3	4
Slight	-	-	-	-	-	-	1	1
Hemorrhage								
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	1
Uterus (No. Examined)	NA	10	NA	10	NA	10	NA	15
Atrophy								
Minimal		-		-		1		-
Slight		-		-		-		3
Moderate		-		-		2		8
Additional Examinations								
Postdose Evaluations: End of 28 Day Recovery Period								
Number of Animals	M=5	F=5	M=5	F=5	M=5	F=5	M=0	F=0
Hematology								
WBC ($x10^3\mu L$)	8.8	4.9	8.4	5.6	7.8	4.5		
RBC ($x10^6\mu L$)	8.1	7.6	7.8	7.0	7.5	6.9		
Ht (%)	43	41	43	38	42	39		
Hb (g/dL)	15	15	15	14	14	14		
Lymph (%)	84.8	81.3	86.5	75.7	80.0	86.3		
Neut (%)	10.8	13.8	8.7	18.8	15.6	9.7		
Platelet ($10^3/\mu L$)	1030	945	1057	1030	1067	1051		
Retic ($10^9/L$)	170.6	99.4	201.1	115.6	194.9	140.3*		

a At end of dosing period; c Incidence; NA = Not applicable

805018	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		15		30		60	
	M=5	F=5	M=5	F=5	M=5	F=5	M=0	F=0
(cont'd) Postdose Evaluations: End of 28 Day Recovery Period								
Serum Chemistry								
AST (U/L)	123	128	123	142	153	128		
ALT (U/L)	30	29	26	32	29	31		
ALP (U/L)	100	53	88	46	127	73		
GGT (U/L)	-	-	-	-	-	-		
TBIL (mg/dL)	0.09	0.10	0.08	0.10	0.09	0.07		
UREA (mg/dL)	12	12	11	13	11	15		
CREAT (mg/dL)	0.36	0.36	0.30	0.36	0.32	0.32		
GLUC (mg/dL)	193	146	178	152	166	154		
CHOL (mg/dL)	70	83	72	74	59	79		
TRIG (mg/dL)	71	57	78	60	64	62		
Urinalysis								
Volume (mL)	4.96	2.68	2.08*	2.92	1.96*	2.60		
Specific Gravity	1.0452	1.0408	1.0546	1.0385	1.0530	1.0422		

* Statistically significant difference from control value; p≤0.05, Dunnet's test or Kruskal-Wallis with Dunn's procedure. Refer to study report for actual significance level and further details on statistical tests used.

2.6.7.7B 反復投与毒性試験：ラット 6 ヶ月及び 56 日回復

Report Title:	A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period				
Species/Strain:	Crl:CD(SD) rats	Duration of Dosing:	Up to 184 days	Test Article:	Brigatinib (AP26113)
Initial Age:	Approximately 7 weeks	Duration of Recovery:	Minimum of 56 days	Location in CTD	4.2.3.2-3
Date of First Dose:	01-Dec-20[redacted]	Method of Administration:	Oral gavage	Study Number:	[redacted]
		Vehicle/Formulation:	25 mM citrate buffer, pH 4.0 ± 0.1/suspension	GLP Compliance:	Yes

Special Features: Toxicokinetics

Severely Toxic Dose in 10% of the Animals: 7.5 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Toxicokinetics								
Sex:Number of Animals	M:3	F:3	M:9	F:9	M:9	F:9	M:9	F:9
Found Dead/Euthanized *In Extremis*	0 / 0	0 / 0	1 / 0	1 / 0	0 / 0	1 / 2	0 / 0	0 / 0
Brigatinib (AP26113)								
$AUC_{(0-t)}$ (ng·hr/mL)								
Study Day 0	NA	NA	12200	12100	23800	21600	26200	27300
Study Day 29	NA	NA	14300	17300	26700	29500	35300	39300
Study Day 52	NA	NA	NA	NA	NA	NA	35800	39100
Study Day 89	NA	NA	17600	17800	34300	32300	NA	NA
Study Day 182	NA	NA	18200	19000	37600	32700	NA	NA
C_{max} (ng/mL)								
Study Day 0	NA	NA	1010	1030	1970	1490	1770	1810
Study Day 29	NA	NA	903	1150	1590	1840	1820	2010
Study Day 52	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1950	2160
Study Day 89	NA	NA	1300	1250	2180	1980	NA	NA
Study Day 182	NA	NA	1100	1200	2020	1850	NA	NA
AP26123								
$AUC_{(0-t)}$ (ng·hr/mL)								
Study Day 0	NA	NA	57.4	12.6	457	27.4	686	110
Study Day 29	NA	NA	223	48.3	437	164	485	330
Study Day 52	NA	NA	NA	NA	NA	NA	353	483
Study Day 89	NA	NA	387	154	591	384	NA	NA
Study Day 182	NA	NA	312	118	571	214	NA	NA

M = Male, F = Female; NA = Not applicable.

[redacted]	Report Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Toxicokinetics (continued)								
Sex:Number of Animals	M:3	F:3	M:9	F:9	M:9	F:9	M:9	F:9
AP26123								
C_{max} (ng/mL)								
Study Day 0	NA	NA	11.2	2.29	43.4	4.54	55.2	7.75
Study Day 29	NA	NA	19.2	7.48	25.5	9.54	24.6	16.8
Study Day 52	NA	NA	NA	NA	NA	NA	21.5	27.8
Study Day 89	NA	NA	42.1	11.5	49.7	24.4	NA	NA
Study Day 182	NA	NA	18.3	7.76	57.7	15.2	NA	NA
Toxicology - Noteworthy Findings								
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25 [a]	F:25 [a]
Found Dead/Euthanized *In Extremis*	1 / 0	0 / 0	2 / 0	1 / 0	2 / 3	3 / 1	4 / 0	1 / 1
Body Weight (%) [b]	683 g	339 g	-13.6%**	-5.3%	-29.1%**	-19.8%**	-32.1%**	-18.1%**
Food Consumption (%) [b]	29 g/day	20 g/day	-3.4%	0.0%	-3.4%	-5.0%	-6.7%	-5.0%
Clinical Observations								
Pale body	-	-	-	-	+	+	+	+
Pale extremities	-	-	-	+	+	+	+	+
Cool extremities	-	-	-	-	+	+	+	+
Red material around nose	+	+	+	+	+	+	+	-
Red material around mouth	-	-	+	+	+	+	+	+
Clear material around mouth	-	+	+	+	+	+	+	+

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings; + = Noteworthy findings.

** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test

a = Due to overt systemic toxicity, 15 animals/sex in the 25 mg/kg/day toxicology group were euthanized at early termination during study week 7; ≤8 animals/sex in the 25 mg/kg/day group were euthanized following a minimum 56-day nondosing (recovery) period.

b = At end of the dosing period. For controls, group means are shown. For test article-treated groups, percent differences from controls are shown. Percent differences from control for Group 4 were calculated based on data from the control group at study week 7 (body weight) or study week 7-8 (food consumption). Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Hematology and Coagulation (Study Week 12)								
Red blood cell count (mil/μL)	9.18	8.69	9.13	8.34*	8.95	7.99**	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)	15.6	15.4	15.3	14.9*	15.2*	14.4**	NA	NA
Hematocrit (%)	47.3	46.1	46.8	44.5*	46.4	43.4**	NA	NA
Absolute reticulocyte count (10^3/μL)	164.4	130.2	171.9	154.8	191.9**	122.8	NA	NA
Mean corpuscular volume (fL)	51.5	53.0	51.3	53.5	51.8	54.4*	NA	NA
Red cell distribution width (%)	13.0	11.7	13.5**	12.5	14.0**	12.8*	NA	NA
Hemoglobin distribution width (g/dL)	2.81	2.43	2.90*	2.52	2.98**	2.54	NA	NA
Platelet (10^3/μL)	885	953	1010**	941	1032**	977	NA	NA
White blood cell count (10^3/μL)	10.54	6.94	8.49**	5.13**	7.30**	4.14**	NA	NA
Absolute lymphocyte count (10^3/μL)	8.56	5.85	6.77**	4.27**	5.46**	3.13**	NA	NA
Absolute eosinophil count (10^3/μL)	0.14	0.09	0.13	0.07	0.08**	0.05**	NA	NA
Serum Chemistry (Study Week 12)								
ALP (U/L)	105	59	122*	64	135**	98**	NA	NA
GGT (U/L)	0.0	0.1	0.1	0.0	0.2	0.9	NA	NA
ALT (U/L)	41	41	61*	54	88**	189	NA	NA
AST (U/L)	89	88	122*	108	166**	449	NA	NA
SDH (U/L)	11	17	16*	15	17**	47	NA	NA
Total bilirubin (mg/dL)	0.08	0.08	0.10	0.06	0.09	0.04	NA	NA
Cholesterol (mg/dL)	72	79	91**	92	104**	105**	NA	NA
Creatinine (mg/dL)	0.24	0.33	0.29**	0.36	0.32**	0.39**	NA	NA
Total protein (g/dL)	6.5	7.3	7.1**	7.8**	7.3**	8.1**	NA	NA
Globulin (g/dL)	2.5	2.9	2.8**	3.1**	2.8**	3.2**	NA	NA

M = Male, F = Female; NA = Not applicable

* = $p<0.05$ and ** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Serum Chemistry (Study Week 12) (continued)								
Albumin (g/dL)	4.0	4.4	4.4**	4.7**	4.5**	4.9**	NA	NA
Chloride (mEq/L)	105	105	104*	104*	102**	103**	NA	NA
Potassium (mEq/L)	4.73	4.55	4.47*	4.44	4.46**	4.52	NA	NA
Phosphorus (mg/dL)	7.1	6.4	7.0	6.3	7.6**	7.0	NA	NA
Calcium (mg/dL)	10.3	10.9	10.9**	11.3*	11.0**	11.7**	NA	NA
Glucose (mg/dL)	115	106	123	109	129**	117**	NA	NA
Concurrent Insulin (ng/mL) and Glucose (mg/dL) Values								
Day 1; Predose								
Insulin	2.88	5.34	2.56	3.34	3.55	3.11	3.65	2.85
Glucose	128	135	132	136	134	125	137	129
Day 1; 1 h Postdose								
Insulin	2.55	1.54	2.72	4.55	4.05	2.49	3.33	2.95
Glucose	133	142	126	128	138	128	140	130
Day 1; 4 h postdose								
Insulin	2.38	3.23	2.20	3.42	3.93	5.69	7.50	4.99
Glucose	136	133	131	130	137	132	140	139
Day 1; 8 h postdose								
Insulin	3.25	0.95	2.14	3.46	4.04	4.81	9.78	17.14
Glucose	139	124	143	126	150	136	163	151
Day 1; 24 h postdose								
Insulin	4.33	3.55	2.71	2.51	3.29	2.76	2.61	3.57
Glucose	130	122	124	117	127	126	129	126
Day 52; Predose								
Insulin							49.78	13.25
Glucose							223	134
Day 52; 1 h Postdose								
Insulin							34.3	70.98
Glucose							263	129

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Day 52; 4 h Postdose								
Insulin							76.81	46.51
Glucose							417	184
Day 52; 8 h Postdose								
Insulin							44.73	80
Glucose							377	383
Day 52; 24 h Postdose								
Insulin							35.96	24.77
Glucose							260	138
Day 52; 48 h Postdose								
Insulin							16.27	7.97
Glucose							111	104
Day 52; 72 h Postdose								
Insulin							6.21	7.54
Glucose							129	114
Day 89; Predose								
Insulin	3.83	3.98	9.53	3.13	9.59	5.17		
Glucose	109	104	129	123	139	118		
Day 89; 1 h Postdose								
Insulin	6.63	4.88	9.99	8.51	48.51	32.54		
Glucose	111	119	113	118	145	128		
Day 89; 4 h Postdose								
Insulin	3.96	5.46	17.01	5.50	35.59	32.43		
Glucose	123	119	152	123	160	177		
Day 89; 8 h Postdose								
Insulin	6.74	5.53	30.89	14.15	47.47	63.39		
Glucose	123	117	163	121	388	179		
Day 89; 24 h Postdose								
Insulin	7.86	3.94	6.17	3.72	13.16	4.18		
Glucose	123	114	113	112	96	119		
Day 182; Predose								
Insulin	3.23	2.31	10.67	4.55	10.34	6.54		
Glucose	106	107	125	123	148	114		

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Day 182; 1 h Postdose								
Insulin	7.12	5.06	11.34	6.95	16.30	13.72		
Glucose	120	118	131	113	150	154		
Day 182; 4 h Postdose								
Insulin	4.46	5.15	10.01	8.76	16.05	8.83		
Glucose	119	101	350	112	187	173		
Day 182; 8 h Postdose								
Insulin	9.76	2.69	14.59	11.06	46.12	16.41		
Glucose	175	111	242	111	419	108		
Day 182; 24 h Postdose								
Insulin	16.63	5.5	11.04	3.48	14.40	10.49		
Glucose	116	98	107	115	161	115		
Day 182; 48 h Postdose								
Insulin	8.02	3.35	7.97	7.38	8.92	3.09		
Glucose	109	105	107	111	98	98		
Day 182; 72 h Postdose								
Insulin	6.62	5.12	11.02	4.21	8.91	4.82		
Glucose	108	98	115	103	124	100		
Urinalysis (Study Week 12)								
Fractional excretion potassium (%)	7.925	9.764	10.357**	13.606**	12.650**	15.782**	NA	NA
Fractional excretion chloride (%)	0.131	0.146	0.162*	0.264**	0.251**	0.389**	NA	NA
Ophthalmology (Study Week 25)								
Number Examined	24	25	23	24	20	23	0	0
Cataracts - bilateral	0	0	1	0	3	0	NA	NA
Retinal degeneration - bilateral	0	0	0	0	0	3	NA	NA

M = Male, F = Female; NA = Not applicable

* = $p<0.05$ and ** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Hematology and Coagulation (Study Week 7 or 26) [c]								
Red blood cell count (mil/μL)	9.24	8.26	9.20	7.84	8.17**	6.71**	8.35	7.10
Hemoglobin (g/dL)	15.9	15.4	15.4	14.9	14.5**	12.7**	14.7	12.9
Hematocrit (%)	48.1	45.6	47.0	44.0	44.4**	38.8**	45.9	39.4
Absolute reticulocyte count (10^3/μL)	157.7	114.0	158.6	107.7	282.4**	301.4**	265.5	246.4
Mean corpuscular volume (fL)	52.2	55.2	51.1	56.2	54.7*	58.4**	55.0	55.8
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL)	33.0	33.8	32.9	33.8	32.7	32.6*	32.1	32.6
Red cell distribution width (%)	13.5	11.4	13.9	12.0	15.8**	16.5**	15.4	16.1
Hemoglobin distribution width (g/dL)	2.47	1.97	2.63	2.16	2.92**	2.78**	3.38	3.26
Platelet (10^3/μL)	872	902	1023*	959	1189**	1286**	807	975
Mean platelet volume (fL)	6.75	6.59	6.75	6.69	6.87	7.28**	7.03	6.79
Fibrinogen (mg/dL)	339	211	395**	245	429**	374**	411	328
White blood cell count (10^3s/μL)	8.60	5.59	7.85	4.33**	6.98	3.24**	4.84	3.25
Absolute neutrophil count (10^3/μL)	1.48	0.81	1.78	0.96	3.45**	1.45	1.40	0.88
Absolute lymphocyte count (10^3/μL)	6.56	4.49	5.62	3.16**	3.08**	1.61**	3.21	2.25
Absolute eosinophil count (10^3/μL)	0.15	0.08	0.15	0.06**	0.07**	0.04**	0.06	0.03

M = Male, F = Female; NA = Not applicable

* = $p<0.05$ and ** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test

c = Primary necropsy for Group 4 (study week 7) and Group 1-3 (study week 26). Due to overt systemic toxicity, 15 animals/sex in the 25 mg/kg/day toxicology group were euthanized at early termination during study week 7; ≤8 animals/sex in the 25 mg/kg/day group were euthanized following a minimum 56-day nondosing (recovery) period. Statistical analysis was not conducted for Group 4, as these animals were part of an early termination where no control animals were necropsied at the same time.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Serum Chemistry (Study Week 7 or 26) [c]								
ALP (U/L)	88	44	130	48	179**	141**	312	153
GGT (U/L)	0.0	0.0	0.1	0.0	3.2*	2.8	1.7	1.8
ALT (U/L)	50	52	130	68	638**	355**	229	170
AST (U/L)	112	108	234	130	1368**	1023*	507	415
SDH (U/L)	13	17	26	19	100**	49**	50	39
Total bilirubin (mg/dL)	0.06	0.09	0.03	0.06	0.06	0.39	0.03	0.05
Cholesterol (mg/dL)	85	84	101	107	139**	164**	116	87
Urea nitrogen (mg/dL)	12.9	15.8	13.5	16.3	17.6**	39.5	20.9	21.7
Creatinine (mg/dL)	0.29	0.37	0.32	0.42	0.37**	0.75	0.34	0.42
Total protein (g/dL)	6.7	7.6	7.3**	8.3**	7.0*	7.9	7.0	7.7
Globulin (g/dL)	2.8	3.0	3.1**	3.3*	3.0**	3.2	2.9	3.1
Albumin (g/dL)	4.0	4.6	4.2**	5.0**	4.0	4.7	4.1	4.6
Albumin/globulin ratio	1.43	1.57	1.38	1.55	1.33**	1.47	1.39	1.52
Chloride (mEq/L)	106	107	105	104	103**	101**	102	103
Potassium (mEq/L)	5.00	4.56	4.80	4.19	4.57*	4.64	4.47	4.07
Phosphorus (mg/dL)	6.7	6.2	6.6	5.9	7.1	9.0*	8.8	8.0
Sodium (mEq/L)	146	145	145	145	145	144	144	143
Calcium (mg/dL)	10.3	10.8	10.8**	11.1	10.7**	11.5**	11.2	11.4
Glucose (mg/dL)	108	108	126*	114	128*	127	137	139

M = Male, F = Female

* = $p<0.05$ and ** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

c = Primary necropsy for Group 4 (study week 7) and Group 1-3 (study week 26). Due to overt systemic toxicity, 15 animals/sex in the 25 mg/kg/day toxicology group were euthanized at early termination during study week 7; ≤8 animals/sex in the 25 mg/kg/day group were euthanized following a minimum 56-day nondosing (recovery) period. Statistical analysis was not conducted for Group 4, as these animals were part of an early termination where no control animals were necropsied at the same time.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Urinalysis (Study Week 7 or 26) [c]								
Urine volume (mL)	10.2	6.7	13.5	7.7	18.0**	10.2	16.5	7.0
Specific gravity	1.033	1.028	1.031	1.027	1.025	1.032	1.039	1.035
pH	6.8	6.3	6.6	6.3	6.2**	6.1	5.9	5.8
Fractional excretion potassium (%)	6.091	12.644	9.496**	16.606**	13.166**	33.419**	16.463	22.050
Fractional excretion chloride (%)	0.088	0.197	0.185**	0.267**	0.296**	0.815**	0.447	0.544
Fractional excretion sodium (%)	0.059	0.117	0.105**	0.138	0.154**	0.484**	0.229	0.275
Gross Pathology								
Unscheduled Deaths								
Number Examined	1	0	2	1	5	4	4	2
Lungs, dark red areas	0	0	0	1	0	0	0	0
Kidneys, discoloration, dark red	0	0	0	0	2	2	0	0
Kidneys, rough surface	0	0	0	0	2	1	0	0
Heart, areas(s), dark red	0	0	0	0	1	0	0	0
Heart, enlarged	0	0	0	0	0	0	1	0
Esophagus, perforation	0	0	0	0	1	0	0	0
Liver, pale	0	0	0	0	1	1	0	1

M = Male, F = Female

** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test

c = Primary necropsy for Group 4 (study week 7) and Group 1-3 (study week 26). Due to overt systemic toxicity, 15 animals/sex in the 25 mg/kg/day toxicology group were euthanized at early termination during study week 7; ≤8 animals/sex in the 25 mg/kg/day group were euthanized following a minimum 56-day nondosing (recovery) period. Statistical analysis was not conducted for Group 4, as these animals were part of an early termination where no control animals were necropsied at the same time.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Gross Pathology (Study Week 7 or 26) [c]								
Number Examined	15	15	13	15	12	13	15	15
Kidneys, discoloration, dark red	0	0	13	14	11	12	10	12
Thymus, small	1	0	1	2	2	5	4	7
Liver, dark red areas	0	0	0	0	4	4	0	0
Testes, soft	0	NA	1	NA	3	NA	1	NA
Testes, small	0	NA	1	NA	2	NA	1	NA
Organ Weights (Study Week 7) [c]								
Number Examined	NA	NA	NA	NA	NA	NA	15	15
Spleen (g)							0.37	0.28
Spleen (g/100 g final body weight)							0.118	0.133
Spleen (g/100 g brain)							18.301	14.480
Thymus (g)							0.1558	0.1017
Thymus (g/100 g final body weight)							0.049	0.048
Thymus (g/100 g brain)							7.663	5.335
Pituitary (g)							0.0076	0.0091
Pituitary (g/100 g final body weight)							0.002	0.004
Pituitary (g/100 g brain)							0.376	0.479
Testes (g)							2.88	NA
Testes (g/100 g final body weight)							0.919	NA
Testes (g/100 g brain)							142.328	NA

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings.

* = $p<0.05$ and ** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

c = Primary necropsy for Group 4 (study week 7) or Groups 1-3 (study week 26). Due to overt systemic toxicity, 15 animals/sex in the 25 mg/kg/day toxicology group were euthanized at early termination during study week 7; ≤8 animals/sex in the 25 mg/kg/day group were euthanized following a minimum 56-day nondosing (recovery) period. Statistical analysis was not conducted for Group 4, as these animals were part of an early termination where no control animals were necropsied at the same time.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Organ Weights (Study Week 7) [c](continued)								
Number Examined	NA	NA	NA	NA	NA	NA	15	15
Seminal vesicle/prostate (g)							1.65	NA
Seminal vesicle/prostate (g/100 g final body weight)							0.527	NA
Seminal vesicle/prostate (g/100 g brain)							81.655	NA
Epididymides (g)							0.75	NA
Epididymides (g/100 g final body weight)							0.239	NA
Epididymides (g/100 g brain)							37.016	NA
Organ Weights (Study Week 26) [c, d]								
Number Examined	15	15	13	15	12	13	NA	NA
Spleen (g)	0.90	0.55	-26.7**	-25.5**	-45.6**	-36.4**		
Spleen (g/100 g final body weight)	0.142	0.178	-17.6**	-21.3**	-20.4**	-21.9**		
Spleen (g/100 g brain)	40.473	27.590	-27.6**	-25.1**	-43.1**	-35.3**		
Thymus (g)	0.1676	0.1521	-29.5**	-42.5**	-58.1**	-58.2**		
Thymus (g/100 g final body weight)	0.027	0.049	-22.2	-38.8**	-40.7**	-49.0**		
Thymus (g/100 g brain)	7.566	7.625	-30.6**	-42.1**	-57.0**	-57.7**		

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings.

** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

c = Primary necropsy for Group 4 (study week 7) or Groups 1-3 (study week 26). Due to overt systemic toxicity, 15 animals/sex in the 25 mg/kg/day toxicology group were euthanized at early termination during study week 7; ≤8 animals/sex in the 25 mg/kg/day group were euthanized following a minimum 56-day nondosing (recovery) period. Statistical analysis was not conducted for Group 4, as these animals were part of an early termination where no control animals were necropsied at the same time.

d = Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. For controls, group means are shown. For test article groups, percent difference from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Organ Weights (Study Week 26) [c, d](continued)								
Number Examined	15	15	13	15	12	13	NA	NA
Pituitary (g)	0.0158	0.0245	-13.3**	-14.7*	-35.4**	-44.5**		
Pituitary (g/100 g final body weight)	0.002	0.008	0	-12.5	0	-37.5**		
Pituitary (g/100 g brain)	0.710	1.214	-14.8**	-12.9*	-33.4**	-42.8**		
Testes (g)	3.78	NA	-5.3	NA	-22.0**	NA		
Testes (g/100 g final body weight)	0.605	NA	4.6	NA	11.1	NA		
Testes (g/100 g brain)	169.992	NA	-6.8	NA	-19.2**	NA		
Seminal vesicle/prostate (g)	3.53	NA	-8.8	NA	-24.1**	NA		
Seminal vesicle/prostate (g/100 g final body weight)	0.555	NA	2.3	NA	10.6	NA		
Seminal vesicle/prostate (g/100 g brain)	158.966	NA	-10.2	NA	-21.3**	NA		
Epididymides (g)	1.54	NA	-19.5**	NA	-39.6**	NA		
Epididymides (g/100 g final body weight)	0.246	NA	-11.0	NA	-14.2*	NA		
Epididymides (g/100 g brain)	69.341	NA	-20.7**	NA	-37.6**	NA		
Histopathology								
Unscheduled Deaths								
Number Examined	1	0	2	1	5	4	4	2
Brain								
Inflammation, suppurative	0	0	1	0	0	0	0	0
Moderate	-	-	1	-	-	-	-	-
Necrosis	0	0	0	0	1	3	0	0
Mild	-	-	-	-	1	3	-	-

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings.

* = $p<0.05$ and ** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

c = Primary necropsy for Groups 1-3 (study week 26).

d = Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. For controls, group means are shown. For test article groups, percent difference from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Histopathology (continued)								
Unscheduled Deaths (continued)								
Number Examined	1	0	2	1	5	4	4	2
Kidney								
Inflammation, suppurative	0	0	1	0	0	0	0	0
Moderate	-	-	1	-	-	-	-	-
Glomerulonephritis	0	0	0	0	5	4	4	2
Minimal	-	-	-	-	0	0	0	1
Mild	-	-	-	-	2	0	2	0
Moderate	-	-	-	-	3	4	2	1
Dilation, tubular	0	0	0	0	5	4	4	2
Mild	-	-	-	-	1	0	1	0
Moderate	-	-	-	-	2	0	2	2
Severe	-	-	-	-	2	4	1	0
Accumulation, pigment	0	0	0	0	4	4	0	0
Minimal	-	-	-	-	0	1	-	-
Mild	-	-	-	-	3	1	-	-
Moderate	-	-	-	-	1	0	-	-
Severe	-	-	-	-	0	2	-	-
Pancreas								
Fibroplasia, islets	0	0	1	0	2	2	4	2
Minimal	-	-	0	-	1	1	0	0
Mild	-	-	0	-	1	1	0	0
Moderate	-	-	1	-	0	0	4	2

M = Male, F = Female; - = No noteworthy findings.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Histopathology (continued)								
Unscheduled Deaths (continued)								
Number Examined	1	0	2	1	5	4	4	2
Lungs								
Hemorrhage, acute	0	0	0	1	0	0	1	0
Minimal	-	-	-	0	-	-	1	-
Severe	-	-	-	1	-	-	0	-
Heart								
Cardiomyopathy	0	0	1	0	0	1	1	0
Minimal	-	-	0	-	-	1	0	-
Mild	-	-	1	-	-	0	0	-
Moderate	-	-	0	-	-	0	1	-
Degeneration, myocardial	0	0	0	1	5	2	4	2
Minimal	-	-	-	0	0	0	1	0
Mild	-	-	-	1	3	2	0	2
Moderate	-	-	-	0	2	0	2	0
Severe	-	-	-	0	0	0	1	0
Hemorrhage, acute	0	0	0	1	3	0	3	0
Minimal	-	-	-	0	1	-	0	-
Mild	-	-	-	1	2	-	0	-
Moderate	-	-	-	0	0	-	3	-

M = Male, F = Female; - = No noteworthy findings.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Histopathology (continued)								
Early Primary Necropsy (Study Week 7) and Primary Necropsy (Study Week 26) [c]								
Number Examined	15	15	13	15	12	13	15	15
Kidney								
Dilation, tubular	0	0	2	4	9	11	12	14
Minimal	-	-	1	2	5	2	7	4
Mild	-	-	1	1	3	7	4	7
Moderate	-	-	0	1	1	2	1	3
Accumulation, pigment	0	0	13	15	12	13	0	0
Minimal	-	-	6	7	2	0	-	-
Mild	-	-	6	8	7	6	-	-
Moderate	-	-	1	0	3	7	-	-
Liver								
Necrosis	0	0	4	0	9	5	0	0
Minimal	-	-	2	-	1	1	-	-
Mild	-	-	2	-	4	2	-	-
Moderate	-	-	0	-	4	2	-	-
Pancreas								
Fibroplasia, islets	1	0	5	0	9	2	14	9
Minimal	0	-	3	-	4	1	3	4
Mild	1	-	2	-	2	1	6	3
Moderate	0	-	0	-	3	0	3	2
Severe	0	-	0	-	0	0	2	0

M = Male, F = Female; - = No noteworthy findings.

c = Primary necropsy for Group 4 (study week 7) or Groups 1-3 (study week 26). Due to overt systemic toxicity, 15 animals/sex in the 25 mg/kg/day toxicology group were euthanized at early termination during study week 7; ≤8 animals/sex in the 25 mg/kg/day group were euthanized following a minimum 56-day nondosing (recovery) period.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Histopathology (continued)								
Early Primary Necropsy (Study Week 7) and Primary Necropsy (Study Week 26) [c] (continued)								
Number Examined	15	15	13	15	12	13	15	15
Pancreas								
Atrophy, acinar	1	0	4	1	4	2	9	4
Minimal	0	-	1	0	2	0	2	2
Mild	1	-	3	1	2	2	6	2
Moderate	0	-	0	0	0	0	1	0
Spleen								
Reduced cellularity	0	0	2	2	3	2	14	14
Minimal	-	-	0	0	0	0	5	6
Mild	-	-	2	2	3	1	8	7
Moderate	-	-	0	0	0	1	1	1
Pigment, brown	1	9	8	13	6	8	14	14
Minimal	0	2	0	1	0	0	6	1
Mild	1	7	6	8	1	3	8	10
Moderate	0	0	2	4	5	5	0	3
Thymus								
Reduced cellularity	2	1	6	7	9	13	7	11
Minimal	1	0	1	0	0	0	1	4
Mild	1	1	5	6	7	8	3	5
Moderate	0	0	0	1	2	5	3	2

M = Male, F = Female; - = No noteworthy findings.

c = Primary necropsy for Group 4 (study week 7) or Groups 1-3 (study week 26). Due to overt systemic toxicity, 15 animals/sex in the 25 mg/kg/day toxicology group were euthanized at early termination during study week 7; ≤8 animals/sex in the 25 mg/kg/day group were euthanized following a minimum 56-day nondosing (recovery) period.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Histopathology (continued)								
Early Primary Necropsy (Study Week 7) and Primary Necropsy (Study Week 26) [c] (continued)								
Number Examined	15	15	13	15	12	13	15	15
Lymph node, axillary								
Reduced cellularity	0	1	8	2	1	5	13	14
Minimal	-	0	0	0	0	0	4	2
Mild	-	1	8	2	1	4	7	11
Moderate	-	0	0	0	0	1	2	1
Lymph node, mesenteric								
Reduced cellularity	0	0	1	1	1	5	1	10
Minimal	-	-	1	1	0	0	0	8
Mild	-	-	0	0	1	4	1	1
Moderate	-	-	0	0	0	1	0	1
Testes								
Degeneration, tubular	0	NA	4	NA	6	NA	8	NA
Minimal	-	NA	3	NA	3	NA	5	NA
Mild	-	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Moderate	-	NA	1	NA	3	NA	1	NA
Severe	-	NA	0	NA	0	NA	1	NA

M = Male, F = Female; - = No noteworthy findings.

c = Primary necropsy for Group 4 (study week 7) or Groups 1-3 (study week 26). Due to overt systemic toxicity, 15 animals/sex in the 25 mg/kg/day toxicology group were euthanized at early termination during study week 7; ≤8 animals/sex in the 25 mg/kg/day group were euthanized following a minimum 56-day nondosing (recovery) period.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Histopathology (continued)								
Early Primary Necropsy (Study Week 7) and Primary Necropsy (Study Week 26) [c] (continued)								
Number Examined	15	15	13	15	12	13	15	15
Epididymides								
Cellular debris	0	NA	1	NA	6	NA	11	NA
Minimal	-	NA	0	NA	3	NA	4	NA
Mild	-	NA	1	NA	3	NA	6	NA
Moderate	-	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Reduced sperm, luminal	0	NA	0	NA	5	NA	13	NA
Minimal	-	NA	-	NA	2	NA	5	NA
Mild	-	NA	-	NA	0	NA	4	NA
Moderate	-	NA	-	NA	3	NA	4	NA
Heart								
Degeneration, myocardial	2	0	1	0	0	1	6	2
Minimal	2	-	1	-	-	0	4	1
Mild	0	-	0	-	-	1	2	0
Moderate	0	-	0	-	-	0	0	1

M = Male, F = Female; - = No noteworthy findings.

c = Primary necropsy for Group 4 (study week 7) or Groups 1-3 (study week 26). Due to overt systemic toxicity, 15 animals/sex in the 25 mg/kg/day toxicology group were euthanized at early termination during study week 7; ≤8 animals/sex in the 25 mg/kg/day group were euthanized following a minimum 56-day nondosing (recovery) period.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Recovery Evaluation [e]								
Number Examined	9	10	10	9	8	8	6	8
Found Dead/Euthanized *In Extremis*	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0	0 / 0
Body Weight (%) [f]	735 g	359 g	-14.4%**	-1.1%	-16.9%**	-15.3%*	-16.9%	-5.8%
Food Consumption (%) [f]	30 g/day	22 g/day	-3.3%	-4.5%	3.3%	-9.1%	-9.7%	-4.8%
Clinical Observations								
Pale extremities	-	-	-	-	-	-	+	+
Cool extremities	-	-	-	-	-	-	-	+
Red material around nose	+	+	+	+	+	+	+	+
Ophthalmology (Study Week 33)								
Number Examined	9	10	10	9	8	8	0	0
Cataracts - bilateral	0	0	1	2	4	1	NA	NA
Retinal degeneration - bilateral	0	0	0	0	0	1	NA	NA

M = Male, F = Female; - = No noteworthy findings; + = Noteworthy findings.

* = $p<0.05$ and ** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

e = Animals were euthanized during study week 15 (Group 4) or study week 34 (Groups 1-3) following a minimum 56-day nondosing (recovery) period.

f = At end of the recovery period. For controls, group means are shown. For test article-treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). Statistical analysis was not conducted for Group 4 but percent differences from control were calculated based on data from the control group at study week 15 (which continued to receive vehicle during that time).

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Recovery Evaluation (continued)								
Hematology and Coagulation (Study Week 15 or 34) [g]								
Hematocrit (%)	48.7	43.8	48.5	45.2	47.0	43.6	45.3	43.3
Absolute reticulocyte count ($10^3/\mu L$)	149.0	96.4	141.0	109.5	146.6	139.6**	175.9	143.1
Hemoglobin distribution width (g/dL)	2.49	2.11	2.51	2.06	2.68	2.24	3.45	2.94
White blood cell count ($10^3/\mu L$)	11.53	5.84	7.68**	5.06	8.08**	4.42	7.03	4.54
Absolute lymphocyte count ($10^3/\mu L$)	8.97	4.42	5.62**	3.93	5.76**	3.15	5.20	3.61
Serum Chemistry (Study Week 15 or 34) [g]								
GGT (U/L)	0.2	0.2	1.0	0.0	0.9	0.1	0.5	0.9
Urinalysis (Study Week 15 or 34) [g]	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology (Study Week 15 or 34) [g]								
Number Examined	9	10	10	9	8	8	6	8
Kidneys, discoloration, dark red	0	0	0	0	0	1	0	0
Thymus, small	0	1	3	2	1	0	0	0
Testes, soft	1	NA	1	NA	1	NA	4	NA
Testes, small	1	NA	1	NA	1	NA	5	NA

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings.

** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

g = Recovery necropsy for Group 4 (study week 15) and Group 1-3 (study week 34). Statistical analysis was not conducted for Group 4, as these animals were part of an early termination where no control animals were necropsied at the same time.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Recovery Evaluation (continued)								
Organ Weights (Study Week 15) [g]								
Number Examined	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6	NA
Testes (g)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.14	NA
Testes (g/100 g final body weight)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.440	NA
Testes (g/100 g brain)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	98.664	NA
Epididymides (g)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.87	NA
Epididymides (g/100 g final body weight)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.179	NA
Epididymides (g/100 g brain)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	40.114	NA
Organ Weights (Study Week 34) [g]								
Number Examined	9	NA	10	NA	8	NA	NA	NA
Testes (g)	3.69	NA	3.67	NA	3.38	NA	NA	NA
Testes (g/100 g final body weight)	0.529	NA	0.614	NA	0.579	NA	NA	NA
Testes (g/100 g brain)	165.253	NA	162.229	NA	151.181	NA	NA	NA
Epididymides (g)	1.43	NA	1.44	NA	1.36	NA	NA	NA
Epididymides (g/100 g final body weight)	0.205	NA	0.241	NA	0.233	NA	NA	NA
Epididymides (g/100 g brain)	63.832	NA	63.559	NA	60.837	NA	NA	NA
Histopathology								
Early Recovery Necropsy (Study Week 15) and Recovery Necropsy (Study Week 34) [g]								
Number Examined	9	10	10	9	8	8	6	8
Kidney								
Dilation, tubular	0	0	0	0	1	5	1	3
Minimal	-	-	-	-	1	1	1	3
Mild	-	-	-	-	0	4	0	0
Accumulation, pigment	0	0	2	1	1	8	0	0
Minimal	-	-	2	1	1	5	-	-
Mild	-	-	0	0	0	2	-	-
Moderate	-	-	0	0	0	1	-	-

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings.
g = Recovery necropsy for Group 4 (study week 15) and Groups 1-3 (study week 34). Statistical analysis was not conducted for Group 4, as these animals were part of an early termination where no control animals were necropsied at the same time.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Recovery Evaluation (continued)								
Histopathology (continued)								
Early Recovery Necropsy (Study Week 15) and Recovery Necropsy (Study Week 34) [g]								
Number Examined	9	10	10	9	8	8	6	8
Thymus								
Reduced cellularity	0	0	0	0	0	0	3	1
Minimal	-	-	-	-	-	-	3	0
Mild	-	-	-	-	-	-	0	1
Lymph node, axillary								
Reduced cellularity	0	0	0	0	0	0	4	7
Minimal	-	-	-	-	-	-	1	1
Mild	-	-	-	-	-	-	3	5
Moderate	-	-	-	-	-	-	0	1
Pancreas								
Fibroplasia, islets	0	0	5	0	6	0	2	1
Minimal	-	-	4	-	2	-	0	1
Mild	-	-	1	-	4	-	2	0
Atrophy, acinar	2	0	3	2	5	3	1	4
Minimal	1	-	1	2	2	2	0	4
Mild	1	-	1	0	2	1	1	0
Moderate	0	-	1	0	1	0	0	0
Spleen								
Pigment, brown	1	3	0	0	0	1	0	3
Minimal	0	0	-	-	-	0	-	0
Mild	1	3	-	-	-	1	-	3

M = Male, F = Female; - = No noteworthy findings.

g = Recovery necropsy for Group 4 (study week 15) and Groups 1-3 (study week 34).

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of AP26113 in Sprague Dawley Rats with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		25	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Recovery Evaluation (continued)								
Histopathology (continued)								
Early Recovery Necropsy (Study Week 15) and Recovery Necropsy (Study Week 34) [g]								
Number Examined	9	10	10	9	8	8	6	8
Testes								
Degeneration, tubular	1	NA	4	NA	5	NA	6	NA
Minimal	0	NA	3	NA	3	NA	1	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Moderate	0	NA	1	NA	2	NA	1	NA
Severe	1	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Epididymides								
Cellular debris	1	NA	0	NA	2	NA	5	NA
Minimal	0	NA	-	NA	0	NA	1	NA
Mild	1	NA	-	NA	2	NA	4	NA
Reduced sperm, luminal	1	NA	0	NA	2	NA	5	NA
Minimal	0	NA	-	NA	1	NA	0	NA
Mild	0	NA	-	NA	1	NA	2	NA
Moderate	0	NA	-	NA	0	NA	2	NA
Severe	1	NA	-	NA	0	NA	1	NA

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings.

g = Recovery necropsy for Group 4 (study week 15) and Groups 1-3 (study week 34).

2.6.7.7C 反復投与毒性試験：サル 28 日及び 28 日回復

Report Title:	A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period				
Species/Strain:	Monkey/Cynomolgus	Duration of Dosing:	28 Days	Test Article:	Brigatinib (AP26113)
Initial Age:	2.5 to 4 years	Duration of Postdose:	28 Days	Location in CTD:	4.2.3.2-5
Date of First Dose:	January 6, 20[redacted]	Method of Administration:	oral gavage	Study Number:	805020
Special Features:	None	Vehicle/Formulation:	25 mM citrate buffer, pH 4.0	GLP Compliance:	Yes
No Observed Adverse Effect Level:	7.5 mg/kg/day				

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
Number of Animals	M=5	F=5	M=5	F=5	M=5	F=5	M=5	F=5
Toxicokinetics:								
Brigatinib (AP26113)								
AUC0-24 (ng·hr/mL)[a]	NA	NA	3408	3358	8309	7584	24556	22604
C_{max} (ng/mL)[a]	NA	NA	526	560	1108	1030	2254	2128
AP26123								
AUC0-24 (ng·hr/mL)[a]	NA	NA	273	316	808	761	3767	3681
C_{max} (ng/mL)[a]	NA	NA	59.0	74.5	150	156	322	360
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	4	1
Body Weight Change (kg): Day -1 to Day 7[b]	-0.08	-0.16	+0.02	-0.10	+0.04	+0.06*	-0.23*	-0.20
Body Weight Change (Kg): Day -1 to Day 28[b]	-0.10	-0.10	+0.06	-0.14	+0.06	+0.06	0.00	-0.10
Clinical Observations								
Decreased activity	-	-	-	-	X	X	X	X
Reduced appetite	-	-	-	-	X	X	X	X
Abdominal distention	-	-	-	-	-	-	X	-
Cold to touch	-	-	-	-	X	X	X	X
Dehydration	-	-	-	-	X	-	X	X
Hunched posture	-	-	-	-	-	X	X	X
Weakness	-	-	-	-	-	-	X	X
Partly closed eye	-	-	-	-	-	-	X	X
Salivation	-	-	-	-	-	-	X	-
Black feces, red feces	-	-	-	-	-	X	X	X
Liquid feces	-	X	-	-	X	X	X	X
Emesis	-	X	X	-	-	X	X	X
Lying on side	-	-	-	-	-	-	X	X
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-

- = no noteworthy findings, NA = Not applicable. X = present,

a Toxicokinetics on Day 28 for 7.5 and 15 mg/kg/day; Day 1 for 45 mg/kg due to toxicity and termination of dosing

b At end of Week 1 or 4. Body weight changes (kg) from Day -1. The direction (+ = increase; - = decrease) of body weight change from on Day -1.

* Statistically significant ($p \leq 0.05$) from controls group value.

805020	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
Number of Animals	M=5	F=5	M=5	F=5	M=5	F=5	M=1	F=4
Hematology [a]								
WBC ($x10^3\mu L$)	8.58	9.44	8.41	7.82	6.54	5.83	10.48	9.06
RBC ($x10^6\mu L$)	6.36	6.17	6.18	6.05	5.99	5.53	5.91	6.01
Ht (%)	42.2	39.7	39.7	39.3	38.3*	37.4	39.6	40.4
Hb (g/dL)	12.8	12.4	11.9	11.9	11.8	11.5	12.1	12.3
Lymph ($x10^3/\mu L$)	4.57	4.76	2.79*	3.44*	2.44*	2.35*	3.81	3.99
Platelet ($10^3/\mu L$)	351	404	475*	486	497*	523	415	433
Serum Chemistry [a]								
AST (U/L)	55	44	80	61	112*	82*	43	50
ALT (U/L)	53	52	70	75	186*	143*	56	44
UREA (mg/dL)	18	18	25	20	22	22	22	16
CREA (mg/dL)	0.74	0.66	0.80	0.74	0.82	0.76	0.90	0.60
GLUC (mg/dL)	62	64	64	73	63	74	60	61
CHOL (mg/dL)	108	98	134	151*	114	123	147	125
PHOS (mg/dL) Day 15	6.62	4.91	5.28*	3.96	4.86*	3.46*	ND	ND
PHOS (mg/dl)	6.48	5.29	5.00	4.73	4.93	4.24	5.70	5.52
Concurrent Insulin (ng/mL) and Glucose (mg/dL) Values								
Day 1; Predose								
Insulin	1.00	0.66	0.58	1.12	0.60	1.18	1.30	0.98
Glucose	62	60	62	64	72	69	61	49
Day 1; 1 h Postdose								
Insulin	0.72	0.66	1.20	1.50	1.06	3.26	4.70	4.76*
Glucose	63	53	56	59	61	64	73	79
Day 1; 4 h postdose								
Insulin	1.86	1.50	2.70	3.72	3.40	15.14	33.3*	28.48*
Glucose	60	54	64	62	74	68	119*	98

a At end of dosing period.

* Statistically significant difference from control value; $p \leq 0.05$, Dunnet's test or Kruskal-Wallis with Dunn's procedure. Refer to study report for actual significance level and further details on statistical tests used.

ND = Not determined

805020	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
Number of Animals	M=5	F=5	M=5	F=5	M=5	F=5	M=1	F=4
(cont'd) Concurrent Insulin (ng/mL) and Glucose (mg/dL) Values								
Day 1; 8 h Postdose								
Insulin	2.42	1.76	2.46	2.38	4.98	8.30	48.16*	47.38*
Glucose	65	58	74	70	72	67	144*	168*
Day 1; 24 h Postdose								
Insulin	1.22	0.66	0.82	1.02	1.26	1.12	3.02	3.00*
Glucose	72	57	63	69	64	66	66	66
Day 28; Predose								
Insulin	1.36	1.22	1.08	1.92	1.94	1.90	ND	ND
Glucose	62	64	64	73	63	74	ND	ND
Day 28; 1 h Postdose								
Insulin	0.90	1.02	2.04	1.74	3.38*	5.54*	ND	ND
Glucose	59	55	67	67	70*	74	ND	ND
Day 28; 4 h Postdose								
Insulin	2.06	1.36	5.16	3.92	36.02*	45.26*	ND	ND
Glucose	51	49	56	56	103*	118*	ND	ND
Day 28; 8 h Postdose								
Insulin	2.90	1.52	1.88	3.42	23.86*	43.9*	ND	ND
Glucose	57	58	66	66	76	129	ND	ND
Day 28; 24 h Postdose								
Insulin	1.12	1.02	1.26	1.60	2.20	2.04	ND	ND
Glucose	66	66	70	72	91*	72	ND	ND
Day 28; 48 h Postdose								
Insulin	1.80	1.02	0.86	1.06	1.76	2.10	ND	ND
Glucose	64	66	67	58	72	67	ND	ND

* Statistically significant difference from control value; $p \leq 0.05$, Dunnet's test or Kruskal-Wallis with Dunn's procedure. Refer to study report for actual significance level and further details on statistical tests used.

ND = Not determined

805020	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
Number of Animals	M=5	F=5	M=5	F=5	M=5	F=5	M=1	F=4
Coagulation [a]								
PT (seconds)	9.66	9.93	9.62	9.52	9.69	9.56	9.45	9.61
APTT (seconds)	19.54	20.43	19.36	20.71	18.98	19.47	20.88	20.17
FIB (mg/dL)	187	169	162	172	175	159	192	164
Urinalysis [a]								
Volume (mL)	49	52	43	31	60	45	30	52
Specific Gravity	1.0314	1.0208	1.0236	1.0206	1.0230	1.0218	1.0290	1.0233
Organ Weights (%) [a, b]								
Thymus (No. Weighed)	3	3	3	3	3	3	1	4
Absolute Weight	3.3723g	2.3603g	-46	-27	-67	-68	-40	-46
% Body Weight	0.09335	0.08467	-43	-28	-65	-70	-43	-49
% Brain Weight	4.534	3.690	-46	-29	-65	-69	-38	-46
Gross Pathology [a, c]								
No. Examined	3	3	3	3	3	3	5	5
Cecum:								
Dark discoloration	-	-	-	-	-	-	1	-
Dark opaque fluid	-	-	-	-	-	-	1	-
Dark material	-	-	-	-	-	-	2	-
Dilatation	-	-	-	-	-	-	-	1
Colon								
Dark discoloration	-	-	-	-	-	-	1	-
Dark opaque fluid	-	-	-	-	-	-	1	-
Dark material	-	-	-	-	-	-	2	-
Dilatation	-	-	-	-	-	-	-	1
Duodenum								
Dark area	-	-	-	-	-	-	1	-
Dark discoloration	-	-	-	-	-	-	1	-
Dark material	-	-	-	-	-	-	2	-

a At end of dosing period.

b For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on percent difference).

c Incidence.

805020	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
	M=3	F=3	M=3	F=3	M=3	F=3	M=5	F=5
(cont'd) Gross Pathology [a, c] No. examined								
Epididymis								
Small	-	NA	2	NA	2	NA	2	NA
Ileum								
Dark discoloration	-	-	-	-	-	-	3	-
Dark material	-	-	-	-	-	-	3	-
Jejunum								
Dark discoloration	-	-	-	-	-	-	4	-
Dark opaque fluid	-	-	-	-	-	-	1	-
Intussusception	-	-	-	-	-	-	2	-
Dark material	-	-	-	-	-	-	4	-
Prostate								
Small	-	NA	2	NA	2	NA	2	NA
Seminal vesicle								
Small	-	NA	2	NA	2	NA	1	NA
Spleen								
Small	-	-	-	-	-	-	2	1
Stomach								
Dark area	-	-	-	-	2	-	3	1
Clot	-	-	-	-	-	-	1	-
Dark foci	-	-	-	-	-	-	2	1
Dark material	-	-	-	-	-	-	1	-
Testis								
Small	-	NA	2	NA	2	NA	2	NA
Thymus								
Small	-	-	-	1	2	2	1	2

a At end of dosing period.

c Incidence.

- = No noteworthy findings

805020	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
	M=3	F=3	M=3	F=3	M=3	F=3	M=5	F=5
Histopathology (No examined) [a, c]								
Adrenal Gl.								
Hemorrhage								
Slight	-	-	-	-	-	-	1	-
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	1
Hypertrophy:								
Cortical								
Slight	-	-	-	-	-	-	2	-
Moderate	-	-	-	-	-	-	-	1
Vacuolation: cortical								
Slight	-	-	-	-	-	-	1	-
Bone Marrow								
Hypocellularity: hematopoietic								
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	2
Slight	-	-	-	-	2	2	-	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	2	1
Marked	-	-	-	-	-	-	1	-
Severe	-	-	-	-	-	-	1	-
Cecum								
Erosion								
Minimal	-	-	-	-	-	-	2	-
Slight	-	-	-	-	-	-	1	-
Colon								
Erosion								
Minimal	-	-	-	-	-	-	1	-
Moderate	-	-	-	-	-	-	1	-

a At end of dosing period

c Incidence

- = No noteworthy findings

805020	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
	M=3	F=3	M=3	F=3	M=3	F=3	M=5	F=5
(cont'd) Histopathology (No examined) [a, c]								
Duodenum								
Hemorrhage								
Marked	-	-	-	-	-	-	2	-
Severe	-	-	-	-	-	-	1	-
Erosion								
Minimal	-	-	-	-	-	-	1	-
Marked	-	-	-	-	-	-	1	-
Epididymis								
Oligo/aspermia								
Severe	1	NA	3	NA	3	NA	5	NA
Esophagus								
Erosion								
Slight	-	-	-	-	-	-	1	-
Hemorrhage								
Slight	-	-	-	-	-	-	1	-
GALT								
Atrophy/necrosis lymphoid								
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	3	-
Ileum								
Erosion								
Slight	-	-	-	-	-	-	2	-
Hemorrhage								
Minimal	-	-	-	-	-	-	2	-
Severe	-	-	-	-	-	-	1	-

a At end of dosing period

c Incidence

- = No noteworthy findings

805020	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
	M=3	F=3	M=3	F=3	M=3	F=3	M=5	F=5
(cont'd) Histopathology (No examined) [a, c]								
Jejunum								
Erosion								
Moderate	-	-	-	-	-	-	1	-
Hemorrhage								
Marked	-	-	-	-	-	-	3	-
Severe	-	-	-	-	-	-	1	-
Necrosis								
Severe	-	-	-	-	-	-	1	-
Larynx								
Ulceration								
Minimal	-	-	-	-	-	-	1	-
L. Node: Mandibular								
Atrophy/necrosis lymphoid								
Slight	-	-	-	-	-	-	2	1
Marked	-	-	-	-	-	-	2	-
L. Node: Mesenteric								
Atrophy/necrosis lymphoid								
Minimal	-	-	-	-	-	-	-	1
Moderate	-	-	-	-	-	-	4	-
Prostate								
Partial glandular development								
Moderate	1		1		-		-	
Marked	1		1		2		3	
Severe	-		1		1		2	

a At end of dosing period.

c Incidence.

805020	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
	M=3	F=3	M=3	F=3	M=3	F=3	M=5	F=5
(cont'd) Histopathology (No examined) [a, c]								
Seminal Vesicle								
Partial glandular development								
Slight	-		-		1		-	
Moderate	1		1		-		1	
Marked	1		1		1		2	
Severe	-		1		1		2	
Spleen								
Atrophy/necrosis lymphoid								
Minimal	-	-	-	-	1	-	-	-
Marked	-	-	-	-	-	-	1	-
Severe	-	-	-	-	-	-	3	1
Stomach								
Necrosis								
Monimal	-	-	-	-	-	-	1	-
Hemorrhage								
Moderate	-	-	-	-	-	-	1	-
Marked	-	-	-	-	-	-	3	1
Ulceration								
Moderate	-	-	-	-	-	-	1	1
Marked	-	-	-	-	-	-	1	-
Testes								
Hypo/aspermatogenesis								
Slight	1		-		-		-	
Moderate	-		1		-		-	
Marked	1		1		2		2	
Severe	-		1		1		3	

a At end of dosing period

c Incidence

- = No noteworthy findings

805020	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
	M=3	F=3	M=3	F=3	M=3	F=3	M=5	F=5
(cont'd) Histopathology (No examined) [a, c]								
Thymus								
Atrophy/necrosis lymphoid								
Slight	-	-	-	-	-	1	-	4
Moderate	-	-	-	-	-	1	-	-
Marked	-	-	-	-	-	-	3	-
Severe	-	-	-	-	2	-	1	-
Additional Examinations								
Postdose Evaluations: End of 28 Day Recovery Period								
Number of Animals	M=2	F=2	M=2	F=2	M=2	F=2	M=0	F=0
Hematology								
WBC ($x10^3\mu L$)	7.35	10.07	5.21	7.32	10.11	14.04	-	-
RBC ($x10^6\mu L$)	6.74	6.66	6.57	6.57	6.88	5.54	-	-
Ht (%)	44	42.0	42.8	41.7	44.2	38.8	-	-
Hb (g/dL)	13.6	12.9	13.2	12.6	13.8	12.2	-	-
Lymph ($x10^3/\mu L$)	3.92	4.67	3.15	5.01	3.52	4.47	-	-
Platelet ($10^3/\mu L$)	357	478	344	380	307	340	-	-
Serum Chemistry								
AST (U/L)	30	27	34.5	30	37	28	-	-
ALT (U/L)	67	46	34	46	38	31	-	-
UREA (mg/dL)	18	20	24	16	18	17	-	-
CREA (mg/dL)	0.8	0.8	0.9	0.8	0.7	0.7	-	-
GLUC (mg/dL)	62	73	64	77	65	68	-	-
CHOL (mg/dL)	108	111	123	129	112	90	-	-
PHOS (mg/dL)	6.79	5.90	6.10	6.43	5.73	5.04	-	-

a At end of dosing period

c Incidence

- = No noteworthy findings

805020	Report Title: A 28-Day Study of AP26113 by Oral Gavage in Cynomolgus Monkeys with a 28-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		7.5		15		45	
	M=2	F=2	M=2	F=2	M=2	F=2	M=0	F=0
(cont'd) Postdose Evaluations: End of 28 Day Recovery Period								
Coagulation								
PT (seconds)	10.10	9.95	9.88	9.23	9.50	9.75	-	-
APTT (seconds)	20.65	18.98	19.55	18.82	19.08	20.25	-	-
FIB (mg/dL)	202	169	155	175	182	200	-	-
Urinalysis								
Volume (mL)	97	49	66	24	48	64	-	-
Specific Gravity	1.0190	1.0250	1.0205	1.0250	1.0245	1.0195	-	-

- = No noteworthy findings

2.6.7.7D 反復投与毒性試験：サル 6 ヶ月及び 56 日回復

Report Title:	A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AP26113 in Cynomolgus Monkeys with a 56-Day Recovery Period				
Species/Strain:	Cynomolgus monkey	Duration of Dosing:	182 or 183 days (Groups 1-3 males and Groups 1-4 females) or 62 days (Group 4 males)	Test Article:	Brigatinib (AP26113)
Initial Age:	3-4 years	Duration of Recovery:	Minimum of 56 days	Location in CTD	4.2.3.2-6
Date of First Dose:	12-Feb-20[redacted]	Method of Administration:	Oral (nasogastric intubation or oral gavage)	Study Number:	[redacted]
		Vehicle/Formulation:	25 mM citrate buffer, pH 4 ± 0.1/suspension	GLP Compliance:	Yes
Special Features:	Immunochemistry analyses				
The highest-non-severely-toxic-dose level (HNSTD):	10 mg/kg/day				

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		10		15	
Sex:Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Toxicokinetics: Brigatinib (AP26113)								
AUC0-24 (ng·hr/mL)								
Study Day 0	BLQ	BLQ	2060	3140	5150	6780	8350	9910
Study Day 29	BLQ	BLQ	4050	3390	5890	6900	24,200	9100
Study Day 60	NA	NA	NA	NA	NA	NA	15,700	NA
Study Day 89	BLQ	BLQ	4560	3780	9570	11,400	NA	15,900
Study Day 181	BLQ	BLQ	3730	2820	5900	6450	NA	8430
C_{max} (ng/mL)								
Study Day 0	NA	NA	248	555	707	944	999	1310
Study Day 29	NA	NA	452	535	572	760	1710	844
Study Day 60	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1500	NA
Study Day 89	NA	NA	429	446	937	926	NA	1400
Study Day 181	NA	NA	301	291	480	489	NA	805
Toxicology: Noteworthy Findings								
Found Dead/Euthanized *In Extremis*	0	0	1 [a]	0	0	0	2	0
Body Weight (%) [b]	4569 g	3517 g	2.1%	-3.1%	-4.4%	-1.7%	NA	0.5%

M = Male, F = Female; BLQ = Below the lower limit of quantitation; NA = Not applicable.

a = Not test article-related

b = At end of the dosing period. For controls, group means are shown. For test article-treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AP26113 in Cynomolgus Monkeys with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		10		15	
Sex:Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	+[c]	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
White Blood Cells ($10^3/\mu L$):								
Study Week 26	13.91	13.35	12.19	8.32*	8.52**	13.06	NA	9.18
Absolute Lymphocytes ($10^3/\mu L$):								
Study Week 12	4.48	4.29	3.14	3.67	2.32**	3.94	NA	3.10
Study Week 26	5.77	4.80	2.91**	3.36*	2.92**	3.61	NA	2.30**
Red Blood Cells (mil/μL):								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.63	NA
Study Week 12	6.98	6.85	6.96	6.40	6.44	6.12**	NA	5.70**
Study Week 26	6.43	5.88	5.94	5.56	5.57	5.40	NA	5.20
Hemoglobin (g/dL):								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9.9	NA
Study Week 12	14.2	13.5	13.8	13.1	12.6**	12.1*	NA	11.7**
Study Week 26	12.9	11.4	12.0	11.4	10.8*	10.5	NA	10.6
Hematocrit (%):								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	31.8	NA
Study Week 12	46.1	45.2	45.7	42.7	42.0**	40.2**	NA	38.1**
Study Week 26	42.7	38.4	40.3	37.0	36.1**	34.9	NA	34.9
Absolute Reticulocytes ($10^3/\mu L$):								
Study Week 12	24.0	31.6	21.9	25.2	11.4	33.9	NA	20.3
Study Week 26	17.5	22.8	32.2	19.8	10.7	24.1	NA	16.9

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings; + = Noteworthy findings.

* = $p<0.05$ and ** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

c = The clinical signs related to deteriorated condition, such as hypoactivity and hunched posture, were observed.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AP26113 in Cynomolgus Monkeys with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		10		15	
Sex:Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Serum Chemistry								
Albumin (g/dL): Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.2	NA
Total Protein (g/dL): Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7.1	NA
Globulin (g/dL): Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.9	NA
Glucose (mg/dL): Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	105	NA
Calcium (mg/dL): Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9.2	NA
Chloride (mEq/L):								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	106	NA
Study Week 12	107	109	109	108	104	107	NA	110
Study Week 26	107	109	107	110	106	108	NA	109
Phosphorus (mg/dL):								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.4	NA
Study Week 12	5.5	5.8	5.5	5.3	5.1	4.9	NA	4.0**
Study Week 26	5.2	5.4	5.8	5.4	4.6	3.9*	NA	4.6
Concurrent Insulin (μU/mL) and Glucose (mg/dL) Values								
Day 1; Predose								
Insulin	55.58	20.32	41.54	15.86	50.76	33.28	24.38	17.25
Glucose	73.2	65	66.6	63	56.4	59.4	59	61.8
Day 1; 1 h Postdose								
Insulin	39.58	13.34	66.24	47.5	105.92	63.9	61.36	71.66
Glucose	68.4	53	68.8	64.2	85.2	83.8	108.6	70.6
Day 1; 4 h postdose								
Insulin	42.1	26.08	50.48	54.76	142.3	78.46	68.68	80.18
Glucose	62.6	59	71.8	57.2	78	68.8	76.6	63.2
Day 1; 8 h Postdose								
Insulin	36.98	43.22	42.48	41.58	85.62	73.5	50.88	80.6
Glucose	60.4	62.6	86.6	58.8	66.4	67.4	72.2	75.8
Day 1; 24 h Postdose								
Insulin	35.42	25.12	25.36	23.76	51.18	26.84	43.78	19.68
Glucose	65.6	63.6	68.8	61.8	68.6	62.2	67.6	62.6

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AP26113 in Cynomolgus Monkeys with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		10		15	
Sex:Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Day 60; Predose								
Insulin							173.37	
Glucose							80.3	
Day 60; 1 h Postdose								
Insulin							832.17	
Glucose							96.7	
Day 60; 4 h Postdose								
Insulin							571.2	
Glucose							132.3	
Day 60; 8 h Postdose								
Insulin							1292.3	
Glucose							111	
Day 60; 24 h Postdose								
Insulin							933.47	
Glucose							94.7	
Day 60; 48 h Postdose								
Insulin							88.4	
Glucose							56	
Day 60; 72 h Postdose								
Insulin							159.8	
Glucose							59	
Day 89; Predose								
Insulin	39.22	29	35.36	49.04	54.96	52.56		51.56
Glucose	65.2	63.2	65.4	64	68.8	61.6		65.2
Day 89; 1 h Postdose								
Insulin	22.52	17.16	52.04	75.86	137.36	43.14		84.88
Glucose	60	62.4	65.8	59.4	90	81		86.6
Day 89; 4 h Postdose								
Insulin	32.58	16.16	24.44	25.58	53.02	41.84		91.46
Glucose	65	61.2	60.4	68.4	74.6	71.4		67.2

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AP26113 in Cynomolgus Monkeys with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		10		15	
Sex:Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Day 89; 8 h Postdose								
Insulin	15.8	23.1	17.36	22.7	50.58	62.56		224.56
Glucose	75.4	80.2	70.8	72	94.2	85.6		91.4
Day 89; 24 h Postdose								
Insulin	38.8	43.92	43.6	82.42	118.14	74.4		59.18
Glucose	59.6	73.2	75.6	66.8	76.2	73		73.4
Day 181; Predose								
Insulin	53.5	30.84	42.18	53.82	196.82	47.88		54.6
Glucose	60.8	61.6	55.5	56.4	61.4	65.4		62.6
Day 181; 1 h Postdose								
Insulin	54.08	29.46	84.55	72.66	260.26	76		180.2
Glucose	52.4	52.2	70.3	55.2	76.6	79.2		72.4
Day 181; 4 h Postdose								
Insulin	16.4	23.6	20.73	24.74	109.56	29.68		61.26
Glucose	66	67.6	65.3	64.8	76.6	67		70.6
Day 181; 8 h Postdose								
Insulin	20.14	16.86	25.28	20.1	230.62	31.34		68.44
Glucose	68.8	70.8	72.3	62.4	97.6	80.2		82
Day 181; 24 h Postdose								
Insulin	20.86	26.82	12.48	27.7	58.06	14.66		14.82
Glucose	60	62.2	58	55.4	64	65.4		63.2
Day 181; 48 h Postdose								
Insulin	22.55	23.9	12.8	35.45	17.45	17.9		23.4
Glucose	64.5	77.5	65	64.5	65	60		54.5
Day 181; 72 h Postdose								
Insulin	60.5	39.9	57.2	127.35	117.65	88.7		39.9
Glucose	63	87.5	73	68.5	68	63.5		62
Urinalysis								
Glucose Reaction (Study Week 8)	-	-	-	-	-	-	+	-

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings; + = Noteworthy findings.

* = $p<0.05$ and ** = $p<0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AP26113 in Cynomolgus Monkeys with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		10		15	
Sex:Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Gross Pathology								
Number Examined								
Study Week 8	0	0	0	0	0	0	2	0
Study Week 26	3	3	3	3	3	3	NA	3
Kidneys: Dark Red Discoloration								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Study Week 26	0	0	2	3	2	3	NA	1
Thymus: Small								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Study Week 26	0	0	1	0	1	0	NA	2
Organ Weights [d]								
Pituitary (%)								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.0561 g	NA
Study Week 26	0.0637 g	0.0550 g	-27.0%*	16.2%	-29.8%*	-3.1%	NA	-12.0%
Spleen (%)								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.98 g	NA
Study Week 26	6.37 g	5.93 g	-22.1%	-25.6%	-53.1%*	-41.0%	NA	-54.3%*
Testes (%)								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9.92 g	NA
Study Week 26	25.43 g	NA	-1.5%	NA	3.9%	NA	NA	NA
Thymus (%)								
Study Week 8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.18 g	NA
Study Week 26	1.59 g	1.45 g	-73.6%	-12.4%	-34.0%	-37.9%	NA	-71.7%

M = Male, F = Female; NA = Not applicable

* = $p<0.05$ when compared to the control group using Dunnett's test.

d = For controls and the Group 4 males, group means are shown. For test article-treated groups (excluding the Group 4 males), percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AP26113 in Cynomolgus Monkeys with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		10		15	
Sex:Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Histopathology (Unscheduled Deaths)								
Number Examined	0	0	1	0	0	0	2	0
Duodenum								
Hemorrhage, Acute	NA	NA	0	NA	NA	NA	1	NA
Moderate	NA	NA	-	NA	NA	NA	1	NA
Heart								
Granulation Tissue	NA	NA	0	NA	NA	NA	1	NA
Mild	NA	NA	-	NA	NA	NA	1	NA
Inflammation, Chronic	NA	NA	0	NA	NA	NA	1	NA
Mild	NA	NA	-	NA	NA	NA	1	NA
Jejunum								
Hemorrhage, Acute	NA	NA	0	NA	NA	NA	1	NA
Mild	NA	NA	-	NA	NA	NA	1	NA
Kidneys								
Degeneration, Tubular	NA	NA	0	NA	NA	NA	2	NA
Minimal	NA	NA	-	NA	NA	NA	1	NA
Moderate	NA	NA	-	NA	NA	NA	1	NA
Glomerulonephritis	NA	NA	0	NA	NA	NA	2	NA
Minimal	NA	NA	-	NA	NA	NA	1	NA
Moderate	NA	NA	-	NA	NA	NA	1	NA
Lungs								
Inflammation, Chronic Active	NA	NA	0	NA	NA	NA	1	NA
Moderate	NA	NA	-	NA	NA	NA	1	NA
Inflammation, Mixed Cell	NA	NA	1	NA	NA	NA	0	NA
Mild	NA	NA	1	NA	NA	NA	-	NA

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AP26113 in Cynomolgus Monkeys with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		10		15	
Sex:Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Histopathology (Unscheduled Deaths [continued])								
Number Examined	0	0	1	0	0	0	2	0
Lymph Node, Axillary								
Reduced Cellularity	NA	NA	0	NA	NA	NA	2	NA
Moderate	NA	NA	-	NA	NA	NA	2	NA
Lymph Node, Mandibular								
Reduced Cellularity	NA	NA	0	NA	NA	NA	1	NA
Moderate	NA	NA	-	NA	NA	NA	1	NA
Lymph Node, Mesenteric								
Reduced Cellularity	NA	NA	0	NA	NA	NA	2	NA
Moderate	NA	NA	-	NA	NA	NA	2	NA
Spleen								
Reduced Cellularity	NA	NA	0	NA	NA	NA	2	NA
Moderate	NA	NA	-	NA	NA	NA	2	NA
Thymus								
Reduced Cellularity	NA	NA	0	NA	NA	NA	2	NA
Severe	NA	NA	-	NA	NA	NA	2	NA

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AP26113 in Cynomolgus Monkeys with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		10		15	
Sex:Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Histopathology								
Number Examined								
Study Week 8	0	0	0	0	0	0	2	0
Study Week 26	3	3	3	3	3	3	NA	3
Kidneys								
Accumulation, Pigment	0	0	3	3	3	3	0	3
Minimal	-	-	1	3	1	1	-	0
Mild	-	-	2	0	2	2	-	2
Moderate	-	-	0	0	0	0	-	1
Lymph Node, Axillary								
Reduced Cellularity	0	0	1	2	2	3	1	3
Minimal	-	-	0	1	1	1	1	0
Mild	-	-	1	1	1	2	0	3
Thymus								
Reduced Cellularity	0	0	2	0	2	2	2	3
Mild	-	-	1	-	1	1	0	1
Moderate	-	-	1	-	1	1	0	2
Severe	-	-	0	-	0	0	2	0
Spleen								
Contracted, present	0	0	0	0	1	2	2	1
Lungs								
Macrophages, Alveolar	0	0	0	0	0	2	0	2
Minimal	-	-	-	-	-	2	-	0
Mild	-	-	-	-	-	0	-	2

M = Male, F = Female; NA = Not applicable; - = No noteworthy findings.

[redacted]	Study Title: A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study of AP26113 in Cynomolgus Monkeys with a 56-Day Recovery Period							
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		10		15	
Recovery Evaluation								
Sex:Number of Animals	M:2	F:2	M:1	F:2	M:2	F:2	M:1	F:2
Body Weight [e] (%)	5021 g	3530 g	8.4%	-3.7%	-4.2%	6.6%	NA	4.5%
Hematology								
Red Blood Cells (mil/μL):								
Study Week 16	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7.49	NA
Study Week 34	7.30	6.89	7.37	6.43	6.54	6.47	NA	6.27
Hemoglobin (g/dL):								
Study Week 16	NA	NA	NA	NA	NA	NA	15.6	NA
Study Week 34	14.0	13.6	14.0	13.1	12.3	12.3	NA	12.7
Hematocrit (%):								
Study Week 16	NA	NA	NA	NA	NA	NA	53.9	NA
Study Week 34	48.1	47.4	50.6	44.7	43.9	41.6	NA	44.1
Spleen Weight [f] (%)								
Study Week 34	11.21 g	5.69 g	-26.9%	-12.1%	-47.3%	1.1%	NA	13.4%

M = Male, F = Female; NA = Not applicable.

e = At end of the recovery period. For controls, group means are shown. For test article-treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

f = For controls, group means are shown. For test article-treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8A In vitro 遺伝毒性試験

Report Title: AP26113: Bacterial Reverse Mutation Test in Salmonella Typhimurium and Escherichia Coli
Test Article: Brigatinib (AP26113)
Test for Induction of: Reverse mutations in bacterial cells
No. of Independent Assays: 1
Study No. 9600382
Strains: TA1535, TA1537, TA98, TA100, WP2 *uvrA*
No. of Replicates: 3
Location in CTD: 4.2.3.3.1-1
Metabolizing System: Phenobarbital / 5,6-Benzoflavone-induced rat liver S9
No. of Cells Analyzed/Culture:Not Applicable
GLP Compliance: Yes
Vehicles: Test Article: Methanol
Positive Controls: Water for NaAz, DMSO for 9AC, 2NF, 2AA, BaP and NQO
Treatment: Pre-incubation method
Date of Treatment: 24-May-20[redacted]
Cytotoxic Effects: Incomplete background lawns of non-revertant bacteria was obtained following exposure of bacterial strain TA100 in the absence of S9 mix, indicating that AP26113 was toxic to the bacteria at ≥1581 µg/plate.
Genotoxic Effects: None
General observation: No precipitation was observed in the assay.

Metabolic Activation	Test Material	Dose Level (µg/plate)	Revertants/plate (Mean ± SD)															
			TA1535			TA1537			TA98			TA100			WP2 *uvr*A			
Without Activation	Methanol	-	18	±	4	13	±	7	32	±	10	124	±	8	49	±	5	
	AP26113	5.0										100	±	32				
		15.8										123	±	14				
		50	16	±	7	12	±	6	31	±	6	115	±	24	46	±	4	
		158	15	±	5	11	±	4	32	±	6	132	±	6	41	±	8	
		500	21	±	4	10	±	8	32	±	5	115	±	15	46	±	1	
		1581	17	±	4	8	±	1	28	±	1	IL[T]			38	±	5	
		5000	18	±	3	11	±	3	25	±	2				51	±	9	
	Positive Control[*1]		280	±	16	386	±	67	133	±	29	408	±	5	1079	±	21	
With Activation	Methanol	-	23	±	2	20	±	5	43	±	7	152	±	35	52	±	6	
	AP26113	50	21	±	6	14	±	3	44	±	8	165	±	9	56	±	11	
		158	26	±	9	16	±	7	45	±	7	159	±	20	60	±	4	
		500	25	±	5	15	±	8	42	±	8	163	±	21	56	±	6	
		1581	29	±	7	18	±	3	47	±	10	139	±	8	52	±	1	
		5000	30	±	3	17	±	6	32	±	5	108	±	25	56	±	4	
	Positive Control[*2]		190	±	15	75	±	6	189	±	35	641	±	36	245	±	6	

DMSO = Dimethyl sulfoxide, Water = Sterile Water for Irrigation USP, SD = Standard deviation, T = Toxic as indicated by incomplete lawn (IL) (no meaningful count results for plates with IL).
*1: Sodium azide, 0.5 µg/plate (TA1535, TA100); 9-Aminoacridine hemihydrate, 50 µg/plate (TA1537); 2-Nitrofluorene, 1 µg/plate (TA98); 4-Nitroquinoline N-oxide, 0.5 µg/plate (WP2*uvrA*)).
*2: 2-Aminoanthracene, 20 µg/plate (WP2*uvrA*); 2-AA, 5 µg/plate (TA1535); Benzo[a]pyrene, 5 µg/plate (TA1537, TA98, TA100).

2.6.7.8B In vitro 遺伝毒性試験

Report Title: AP26113: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes | Test Article: Brigatinib (AP26113)

Test for Induction of: Chromosome aberration | No. of Independent Assays: 1 | Study No. 9600383

Strains: Primary human lymphocytes | No. of Replicate Cultures: 2 | Location in CTD: 4.2.3.3.1-2

Metabolizing System: Phenobarbital / 5,6-Benzoflavone-induced rat liver S9 | No. of Cells Analyzed/Culture: 100 | GLP Compliance: Yes

Vehicles: Test Article: Methanol | Positive Controls: Sterile Water for Irrigation, USP

Treatment: 4 hour treatment (initial) / 21 hour treatment (confirmatory) | Date of Treatment: 23-May-20[redacted]

Cytotoxic Effects: The Test Item causes a reduction in the relative mitotic index to below 50% at high dose concentrations in both the 4-hour and 21-hour treatment regimes.

Genotoxic Effects: None

Incidental Observations: Substantial increases in the incidence of polyploidy/endoreduplication/centromeric disruption were observed.[a]

a = This is not classified as a chromosomal aberration. Increases in polyploidy are commonly associated with increasing toxicity and are not indicative of genotoxic potential in this in vitro assay. However, an increase in the number of polyploid cells may indicate that the test substance has the potential to inhibit mitotic processes and to induce numerical chromosome aberrations. An increase in the number of cells with endoreduplicated chromosomes may indicate that the test substance has the potential to inhibit cell cycle progression.

Metabolic Activation	Test Material	Concentration (μg/mL)	Cytotoxicity[b] (% of Control)	Aberrant Cells (Mean %)[c]	Aberrations per Cell[c]	Total Polyploid/ Endoreduplicated Cells	Centromeric disruptions
Initial assay							
Without activation	Methanol	-	100	0.5	0.005	0	1
	AP26113	8.00	95	1.0	0.010	0	1
		16.0	57	1.5	0.015	4	3
		32.0	78	1.0	0.010	24	8
		64.0	52	1.0	0.010	44	64
	MMC	0.10	97	9.0*	0.125	0	0
With activation	Methanol	-	100	0.5	0.005	1	0
	AP26113	8.00	81	1.5	0.015	3	3
		16.0	58	0.0	0.000	3	9
		32.0	40	0.5	0.005	5	11
		64.0	49	0.5	0.005	61	56
	CP	4.0	105	13.0*	0.140	0	1

Metabolic Activation	Test Material	Concentration (μg/mL)	Cytotoxicity[b] (% of Control)	Aberrant Cells (Mean %)[c]	Aberrations per Cell[c]	Total Polyploid/ Endoreduplicated Cells	Centromeric disruptions
Confirmatory assay							
Without activation	Methanol	-	100	0.5	0.005	0	1
	AP26113	4.00	81	1.0	0.010	2	12
		8.00	95	0.0	0.000	4	18
		16.0	84	1.5	0.020	23	18
		32.0	35	0.5	0.005	5	62
		64.0	36	0.0	0.000	0	6
	MMC	0.05	125	9.5*	0.110	0	1

b = Based on relative mitotic index, c = Does not include cells with only gap, polyploidy, endoreduplication or centromeric disruptions

MMC = Mitomycin C, CP = Cyclophosphamide monohydrate, * = Substantial increase compared to concurrent vehicle control

2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験

Report Title: AP26113: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test in Rat Bone Marrow

Test for Induction of: Micronuclei in Bone Marrow Immature Erythrocytes	Treatment Schedule: Two doses were administered 24 hours apart (± 15 minutes)	Study No. 9800314
Species/strain: Rat Sprague Dawley® Crl:CD(SD)® albino outbred	Method of administration: Oral gavage	Location in CTD: 4.2.3.3.2-1
Age: Approximately 49 days old at treatment	Sampling Time: 24 hours (± 30 minutes) after the final administration	Test Facility: Charles River Laboratories Montreal ULC
Cell Evaluated: Immature erythrocytes from femur bone marrow	Vehicle for Test Item: 25 mM Sodium Citrate Buffer pH 4.0	GLP Compliance: Yes
No. of Cells Analyzed/Animal: 4000		Date of Treatment: initiated on 29-Sep-20[redacted]

Special Features: None
Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: Statistically significant increase in micronucleated immature erythrocytes at ≥50 mg/kg/day, trend test across Groups 1, 2, 3, 4, and 6 was statistically significant ($p<0.0001$). Toxicologically-relevant increase in micronucleated immature erythrocytes (≥2x control) noted at 125 mg/kg/day
Evidence of Exposure: Clinical signs observed at 125 mg/kg/day; bioavailability not assessed in this study

Test Article	Dose (mg/kg/day)	Number of Males[a]	Mean % IE/(IE+ME)	% MIE
Vehicle control (25 mM Sodium Citrate Buffer pH 4.0)	-	5	58.3	0.200
AP26113	10	5	55.9	0.140
	25	5	44.5	0.285
	50	5	40.6	0.340*
	125	5	42.3	0.410***
Cyclophosphamide	20[b]	3	47.1	3.533***

Statistical method: Pairwise Group comparison (One-sided Fisher's exact) and trend test (one-sided Cochran-Armitage) within SAS Proc MultTest
* $p<0.05$, ** $p<0.001$, *** $p<0.0001$ (when compared to the Vehicle Control group 1)
%IE/(IE+ME) Proportion of immature erythrocytes
%MIE Percentage of micronucleated immature erythrocytes observed per 4000 immature (polychromatic) erythrocytes examined

a Whereas both males and females were dosed (males at 10, 25, 50, 125 mg/kg/day, and females at 10, 25, 50, 150 mg/kg/day), micronucleus assessment was performed only in males because the dose range finding phase indicated similar sensitivity to AP26113 with a common MTD of 125 mg/kg/day determined in both genders (micronucleus determination in one gender when both genders have comparable sensitivity is consistent with regulatory guidelines ICH S2).

b Positive control (20 mg of the monohydrate per kg) dosed once only, by oral gavage, 24 hours prior to sampling.

2.6.7.10 がん原性

No carcinogenicity studies were performed for brigatinib. Carcinogenicity studies are not warranted for a drug being developed for the treatment of advance cancer based on ICH S9 guidelines.

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：予備試験

Report Title	A Dosage Range-Finding Embryo-fetal Development Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats				
Design similar to ICH 4.1.3:	Yes	Duration of Dosing:	Day 6 to 17 postcoitum (pc)	Test Article:	Brigatinib (AP26113)
Spices/Strain:	Rat/Crl:CD(SD)	Day of Mating:	Day 0	Location in CTD	4.2.3.5.2-1
Initial Age:	77 to 84 days	Day of C-Section:	21 pc	Study No.	9000676
Date of First Dose:	28 Sep 20[redacted]	Method of Administration:	Oral gavage	GLP Compliance	No
Special Features:	Toxicokinetics	Vehicle/Formulation:	25 mM Sodium Citrate Buffer pH 4.0		

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: 15 mg/kg/day
F_1 Litters: 5 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	5	10	15	25
Female	Toxicokinetics: Day 17 pc AUC0-24 (ng·hr/mL)	NA	7316	11509	11378	24056
	Toxicokinetics: Day 17 pc C_{max} (ng/mL)	NA	503	822	677	1403
	No. Pregnant	6	6	6	6	6
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0	1
	Clinical Observations	-	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-	-
	Body Weight (%[a])	445.3 g	-4	-6	-7	-21
	Food Consumption (%[b])	370.8 g	-6	-7	-5	-11
	Mean No. Corpora Lutea	15.7	14.3	15.8	15.2	16.0[c]
	Mean No. Implantations	14.2	13.8	14.5	13.5	13.6[c]
	Mean % Preimplantation Loss	9.03	2.93	8.03	9.90	14.24[c]

- = No noteworthy findings. NA = Not applicable

a At Day 21 pc. For controls, group mean is shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

b Total from(Day 6 to 18 pc). For controls, group mean is shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

c Excluding animal with total resorption.

9000676	Report Title: A Dosage Range-Finding Embryo-fetal Development Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats				
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5	10	15	25
Litters: No. Litters Evaluated	6	6	6	6	5
Mean No. Live Fetuses	13.5	13.5	12.7	12.0	8.2[a]
Mean No. Resorptions	0.7	0.3	1.8	1.5	5.2[a]
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0	1
Mean % Postimplantation Loss	4.05	2.40	12.85	10.85	39.58[a]
Mean Fetal Body Weight (g)	6.084	5.741	5.651	5.551	3.589
Fetal Sex Ratios (% males)	52.98	50.28	51.22	47.00	47.08
Fetal Malformations: No. of Fetuses					
Total Affected	0	0	0	0	4 (3)
Gross External Malformations:					
Subcutaneous edema; cervical region	-	-	-	-	3 (2)
Subcutaneous edema; cervical and thoracic region	-	-	-	-	1 (1)
Cleft palate, complete	-	-	-	-	1 (1)
Cleft palate, partial 1/2	-	-	-	-	1 (1)
Lower jaw short	-	-	-	-	1 (1)

- = No noteworthy findings. Number of parentheses indicates the number of dams.

a Excluding animal with total resorption.

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

Report Title	An Embryo-fetal Development Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats				
Species/Strain:	Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing:	Day 6 to 17 pc (12 days)	Test Article:	Brigatinib (AP26113)
Initial Age:	76 to 83 days old	Day of Mating:	Day 0 pc	Location in CTD:	4.2.3.5.2-2
Date of First Dose:	27 Oct 20[redacted]	Day of C-Section:	Day 21 pc	Study No.	9000674
Design similar to ICH 4.1.3:	Yes	Method of Administration:	Oral gavage	GLP Compliance:	Yes
		Vehicle/Formulation:	25 mM Sodium Citrate Buffer pH 4.0		
Special Features:		TK, maternal and fetal examinations			
No Observed Adverse Effect Level:		F_0 Females: 12.5 mg/kg/day			
		F_1 Litters: 5 mg/kg/day			

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5	12.5	25
Female Toxicokinetics Day 17 pc: AUC0-24 (ng·hr/mL)	NA	5290	14400	25500
C_{max} (ng/mL)	NA	508	952	1530
No. Pregnant	19	19	20	19
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. Aborted of with Total Resorption of Litter	0	0	0	2
Clinical Observations				
Liquid discharge from the vagina				X
Necropsy Observations	-	-	-	-
Corrected Body Weight (%[a])	312.8 g	1	1	-3
Corrected Body Weight Gain (%[a])	41.8 g	-8	-3	-24*
Food Consumption (%[b])	345.9 g	-1	0	-5
Mean No. Corpora Lutea	14.5	15.2	15.0	15.6
Mean No. Implantations	12.5	14.2	13.0	13.8
Mean % Preimplantation Loss	13.77	6.94	13.87	9.94

- = No noteworthy findings; pc=post coitum (day), X = present, NA = Not applicable

* = p≤0.05, ** = p≤0.01, *** = p≤0.001; Corrected = body weight/gain, minus gravid uterus weight.

a At Day 21 pc. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

b Total from Day 6 to 18 pc. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

9000674	Study Title: An Embryo-fetal Development Study of AP26113 by Oral Gavage in Rats			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	5	12.5	25
Litters: No. Litters Evaluated	19	19	20	17
No. Live Fetuses	228	259	243	147
Mean No. Resorptions	0.5	0.5	0.9	4.9***
Mean No. of Dead Fetuses	0	0	0	0.2
Mean % Postimplantation Loss	5.26	3.75	6.55	36.74***
Mean Fetal Body Weight (g)	6.017	5.748	5.658*	3.716***
Fetal Sex Ratios (% males)	51.03	48.96	54.26	39.65
Fetal Malformations: No. of fetuses				
Total Affected	-	-	-	26***(13***)
Subcutaneous edema	-	-	-	5(5)
Eye bulge absent	-	-	-	2(1)
Eye, lens small	-	-	-	1(1)
Eye, retinal folding	-	-	-	1(1)
Forelimb hyperflexion	-	-	-	4*(3)
Forelimbs small	-	-	-	7**(5*)
Intestine protruding into umbilicus	-	-	-	2(2)
Abdominal eventration (gastroschisis)	-	-	-	1(1)
Scapula bent	-	-	-	6**(3)
Ribs, multiple fusions/variants	-	-	-	3(3)
Radius bent	-	-	-	12***(5*)
Ulna bent	-	-	-	13***(5*)
Femur bent	-	-	-	7**(4*)
Fibula bent	-	-	-	4*(2)

- = No noteworthy findings. Number of parentheses indicates the number of dams.

* = p≤0.05, ** = p≤0.01, *** = p≤0.001

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

No prenatal and postnatal development studies including maternal function were performed.

2.6.7.14 局所刺激性試験

No local tolerance studies were performed.

2.6.7.15 その他の毒性試験

2.6.7.15A In Vivo 光毒性

Report Title: Single-Dose Phototoxicity Study[1] to Determine the Effects of Oral (Gavage) Administration of AP26113 on Eyes and Skin in Pigmented Rats

動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)[a]	動物数（雌）及び群	特記すべき所見	添付資料番号
Rat/CRL:LE (Long-Evans),	Oral	1 day[b]	0 (Vehicle) 15 30 60 50 (8-MOP)	5 5 5 5 3	No evidence of ocular or cutaneous phototoxicity. Comparator article 8-MOP: skin reactions in the lightly and darkly pigmented skin sites and ocular findings that demonstrated phototoxicity, validating the assay	4.2.3.7.7-1

a 25 mM citrate buffer, pH 4.0; administered at a dose volume of 5 mL/kg

b Followed 4 hours later for vehicle and test article groups and 1 hour later for 8-MOP group by UVR exposure [Instrumental UVR dose (mid-range ultraviolet, UVB) equivalent to 0.5 minimal erythema dose over a period of 30 ± 5 minutes.]

[1] Single Dose Phototoxicity Study as described in ICH Harmonised Tripartite Guideline S10. Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals.

2.6.7.16 参考文献

[1] ICH Topic S9 (step 5): Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals. European Medicines Agency. May 2010. EMA/CHMP/ICH/646107/2008.