2.4　非臨床試験の概括評価の目次

2.4.1　非臨床試験計画概略 3
2.4.2　薬理試験 5
2.4.2.1　効力を裏付ける試験 5
2.4.2.1.1　*In vitro* 試験 5
2.4.2.1.2　*In vivo* 試験 6
2.4.2.2　副次的薬理試験 6
2.4.2.3　安全性薬理試験 6
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用試験 7
2.4.3　非臨床薬物動態試験 8
2.4.3.1　分析法 8
2.4.3.2　吸収及び血漿中濃度 8
2.4.3.3　分布 8
2.4.3.4　代謝 9
2.4.3.5　排泄 9
2.4.3.6　ヒト代謝物の全身曝露 9
2.4.4　毒性試験 11
2.4.4.1　単回投与毒性 11
2.4.4.2　ラットにおける反復投与毒性 11
2.4.4.3　サルにおける反復投与毒性 13
2.4.4.4　遺伝毒性 13
2.4.4.5　がん原性 14
2.4.4.6　生殖発生毒性 14
2.4.4.7　幼若動物における試験 14
2.4.4.8　局所刺激性 15
2.4.4.9　その他の毒性試験 15
2.4.4.9.1　抗原性 15
2.4.4.9.2　免疫原性 15
2.4.4.9.3　機序検討 16
2.4.4.9.4　依存性 16
2.4.4.9.5　代謝物に関する試験 16
2.4.4.9.6　不純物に関する試験 16
2.4.4.9.7　光毒性 16
2.4.4.10　新規添加物 17
2.4.5　総括及び結論 18

2.4.6　引用文献一覧..... 26

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

ラロトレクチニブ（LOXO-101）は、ヒトトロポミオシン受容体キナーゼ（TRK）A、TRKB 及び TRKC に対して高い選択性を持つ強力な阻害薬であり、*NTRK* 遺伝子融合タンパク質を伴った切除不能又は転移性の固形がんを有する成人及び小児患者の経口治療薬として開発されている。臨床推奨用量は、成人患者では 100mg を 1 日 2 回、小児患者では 100mg/m^2 を 1 日 2 回（最高 100mg を 1 日 2 回まで）である。

ラロトレクチニブの薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的プロファイルを明らかにするため、一連の非臨床試験を実施した。

ラロトレクチニブは、経口投与に適した硫酸塩として開発されており、すべてのカプセル剤及び液剤の臨床用製剤には共に硫酸塩が含有されている。非臨床試験では遊離塩基（ラロトレクチニブ）及び硫酸塩の両方が用いられ、概括評価、概要文及び概要表では、特に記載のない限り、用量（mg/kg）の表記はすべて遊離塩基として示す。

ラロトレクチニブの臨床開発プログラムには、固形がんを有する成人及び小児患者を対象とした臨床試験が含まれる。非臨床試験の項で参照した成人患者における治療時の曝露量は、定常状態における平均最高血漿中濃度（C_{max}）の 914ng/mL（2135nM）及び平均血漿中濃度－時間曲線下面積（投与後 0～24 時間）（AUC_{0-24}）の 5410ng*h/mL で、非結合型の平均 C_{max} は 274ng/mL（640nM）であった（2.7.2.3.9）。小児患者でも同程度の治療時曝露量が得られ、定常状態における平均 C_{max} は 976ng/mL（2280nM）、平均 AUC_{0-24} は 5194ng*h/mL であった（2.7.2.3.9）。

ラロトレクチニブの薬理学的特性を評価するため、抗腫瘍効果に加え、生化学的及び細胞における活性を種々の *in vitro* 及び *in vivo* 試験で検討した。効力を裏付ける試験では、*in vitro* におけるラロトレクチニブの TRKA、TRKB 及び TRKC に対する結合親和性、TRK 融合タンパク質発現細胞株における各キナーゼの活性阻害作用に加えて細胞増殖抑制作用を検討した。更に、リン酸化 TRK 融合タンパク質及びその下流のシグナル伝達分子（AKT 及び ERK）の細胞内タンパク質レベルをウエスタンブロット法により検討した。TRK 融合タンパク質を発現しない細胞を用いた試験も実施し、ラロトレクチニブの特異性を確認した。また、マウスの同種及び異種移植モデルを用いた *in vivo* 試験において、ラロトレクチニブを経口投与後、腫瘍体積を基に抗腫瘍効果を検討した。なお、マウス、ラット、サル及びヒトの間で、3 種類すべての TRK タンパク質に対するラロトレクチニブ結合ドメインのアミノ酸配列は高度に保存されていることから、ラロトレクチニブの *in vitro* 及び *in vivo* 評価においてこれらの動物種を選択した。

副次的薬理試験において、ラロトレクチニブの *in vitro* でのオフターゲット活性を、229 種類（TRK を含む）のキナーゼパネルを用いたキナーゼ阻害アッセイ、並びに 80 種類の受容体、酵素及び核内ターゲット分子に対する広範なスクリーニングアッセイにより検討した。

また、安全性薬理試験ガイドライン（ICHS7A）及びヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価（ICHS7B）ガイドラインに従った、独立した安全性薬理試験実施に加え、ラット及びサルの反復投与毒性試験に安全性薬理エンドポイント（心血管系、呼吸器系及び中枢神経系）を組み込んだ。

ラロトレクチニブの薬物動態（PK）及び代謝を、一連の *in vitro* 及び *in vivo*〔トキシコキネティクス（TK）試験を含む〕試験で検討した。単回投与 PK 試験はマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルを用いて実施した。また、反復投与したときのラロトレクチニブの PK データは、

マウス、ラット、ウサギ及びサルで得られた。そのうち、ラット、ウサギ及びサルにおけるラロトレクチニブの反復投与時の PK データは、主にこれらの動物種を用いた毒性試験及び TK 試験により得られた。また、組織分布及び *in vivo* 代謝をヒトを含む複数の動物種で評価した。更に、*in vitro* での血漿タンパク結合、血球／血漿分配、トランスポーターとの相互作用及び代謝経路について複数の動物種で検討した。

ラット及びサルは、ヒトと類似した *in vitro* 代謝プロファイルを示すことから、非臨床安全性試験に適切な動物種として選択した。加えて、それぞれの TRK における ATP 結合部位は種間で高度に保存されていることから、ヒトと類似した TRK への結合親和性が期待される。

ラット、ウサギ及びサルにラロトレクチニブを単回経口投与した時の PK に基づき、ラット反復投与試験、ラット及びウサギ胚・胎児発生試験及び幼若動物試験では 1 日 2 回（BID）投与を、サル反復投与試験では 1 日 1 回（QD）投与を採用した。雌雄ラット間で PK プロファイルが異なることから（2.6.4.3.3.2）、13 週間反復投与毒性試験では雄の投与量を高く設定した。

ラロトレクチニブの毒性評価のため、以下の毒性試験を実施した。Sprague-Dawley（SD）ラットを用いて、単回投与毒性試験、並びに反復投与毒性試験として、7 日、28 日、42 日、並びに 4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験を実施した。また、カニクイザルを用いて、7 日、14 日（2 試験）、4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験を実施した。加えて、SD ラット及び New Zealand White（NZW）ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験、引き続き実施したそれぞれの動物種における胚・胎児発生に関する試験、幼若 SD ラットに生後 7 日から 28 日まで投与した用量設定試験（2 試験）、その後に実施した幼若 SD ラットに生後 7 日から 70 日まで投与した反復投与毒性試験、*in vitro* Ames 試験及びその予備試験、*in vitro* マウスリンフォーマ試験及びその予備試験、*in vivo* マウス小核試験、並びに BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験を実施した。すべての *in vivo* 毒性試験（マウスを用いる小核試験を除く）において、ラロトレクチニブの曝露量を明らかにする目的で、TK 評価を実施した。また、ラロトレクチニブの臨床投与量 200mg/man/日の製剤中に含まれるヒドロキシプロピル β シクロデキストリン（HPBCD）の量（1.746g）（2.3.P.1［経口液剤］）は本邦における使用前例を超えており新規添加剤に該当することから、公表文献より得られた情報を基に安全性について考察した。

経口投与毒性試験において投与液を調製するための媒体として、初期の試験には Labrafac™ Lipophile WL 1349 を、7 日間反復投与用量設定試験、13 週間反復投与毒性試験、胚・胎児発生毒性試験及び幼若動物毒性試験にはコーン油を用いた。*In vitro* 遺伝毒性試験及び *in vitro* 光毒性試験には、媒体としてジメチルスルホキシド（DMSO）を用いた。

これらの試験結果は、2.6.2、2.6.4 及び 2.6.6 に記載した。

非臨床安全性試験及びこれらの GLP 適合性に関する一覧を、2.6.3 及び 2.6.7 に示した。安全性薬理エンドポイントを含む主要な毒性試験及び独立した安全性薬理試験は、特記しない限り、GLP に従って実施した。

試験は、ICH ガイドラインの原則に基づき実施し、抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン（ICHS9）、医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス〔ICHM3(R2)〕、トキシコキネティクス（毒性試験における全身的曝露の評価）に関するガイダンス（ICHS3A）、ICHS7A、ICHS7B、医薬品の生殖発生毒性試験法ガイドライン〔ICHS5(R2)〕、医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス〔ICHS2(R1)〕及び医薬品の光安全性評価ガイドライン（ICHS10）に従った。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

TRKA、TRKB 及び TRKC 膜貫通型受容体はそれぞれ *NTRK1*、*NTRK2* 及び *NTRK3* 遺伝子にコードされている[1)]。各受容体はニューロトロフィン（リガンド）により活性化される。すなわち、TRKA は神経成長因子（NGF）、TRKB は脳由来神経栄養因子（BDNF）及びニューロトロフィン-4/5（NT-4/5）、TRKC はニューロトロフィン-3（NT-3）によってそれぞれ活性化される。リガンド結合がトリガーになって受容体はオリゴマーを形成し、細胞内キナーゼドメイン内の特異的チロシン残基がリン酸化される。チロシンリン酸化によりシグナル伝達経路が活性化し、正常及び腫瘍細胞の増殖、分化及び生存が促進される。NGF の TRKA 受容体への結合によりラット肉腫（RAS）/マイトジェン活性化プロテインキナーゼ（MAPK）が活性化されると、細胞外シグナル制御キナーゼ（ERK）を介して細胞の増殖や成長を促進する。更に、ホスホリパーゼ C（PLC）-γ及びホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ（PI3K）経路などの他のシグナル伝達経路も活性化される。NT-3 の TRKC 受容体への結合により、PI3/v-akt マウス胸腺腫ウイルス癌遺伝子ホモログ（AKT）経路が選択的に活性化されると、アポトーシスが抑制され、細胞の生存が促進される。一方、TRKB 受容体は RAS-ERK、PI3K 及び PLCγ経路を介して BDNF のシグナルを伝達し、神経の生存及び分化を誘導する。TRK は細胞の生存と同様に中枢神経系及び末梢神経系の発達において重要な役割を有する。TRK の発現レベル及び活性化の適切な調節は細胞の機能において重要であり、TRK 発現の上昇が複数の中枢神経系関連疾患（例えば、てんかん、神経障害性疼痛及びうつにおける TRKB の発現）で報告されている[1)]。

NTRK に関わる遺伝子変異は融合であり、発がん性及び形質転換の可能性を持つことが知られている。*NTRK* 遺伝子融合は、染色体内又は染色体間の再構成によりキナーゼドメインの 3'末端領域と融合パートナー遺伝子の 5'末端配列が並列することで引き起こされる。その結果生じた融合タンパク質は異常に発現し、キナーゼドメインが恒常的に活性化することにより発がん性の下流シグナル伝達経路が活性化する[2)]。

ラロトレクチニブの効力を裏付ける試験における TRK 受容体との相互作用、並びに *NTRK1*、*NTRK2* 及び *NTRK3* 融合遺伝子発現細胞及び動物モデルに対する作用の詳細は 2.6.2 に記載した。

2.4.2.1.1 *In vitro* 試験

ラロトレクチニブは *in vitro* において、ヒト TRKA 受容体に高い結合親和性を示した（IC_{50}：11.5nM）（2.6.2.2.1.1）。細胞系アッセイにおいて、ラロトレクチニブは野生型 TRKA 及び恒常的活性型 TRKA〔ヒト *NTRK1* 遺伝子の第 2 免疫グロブリンドメイン（Ig2）を欠損させた TRKA 受容体；ΔTRKA〕のリン酸化を阻害し、その IC_{50} 値はそれぞれ 9.8 及び 6.4nM であった（2.6.2.2.1.3.1）。ラロトレクチニブは、癌患者において同定された臨床的に関連性のある *NTRK1* 遺伝子融合タンパク質を導入した細胞株の TRKA リン酸化を減少させ（2.6.2.2.1.3.2.1）、細胞増殖を 1.9～8nM の IC_{50} 値で抑制した（2.6.2.2.1.3.2.2）。ラロトレクチニブは、TRKA とほぼ同程度に TRKB 及び TRKC のキナーゼ活性を阻害した。3 種類すべての TRK 受容体のアミノ酸配列を動物種間で比較した結果から、ラロトレクチニブはいずれの動物種（マウス、ラット、ウサギ及びサル）の TRK 受容体に対しても、ヒト TRK 受容体に対する阻害活性と同様な阻害活性を有することが示唆される（2.6.2.2.1.3.1）。また、結晶構造解析の結果から、ラロトレクチニブの TRKA との結合は ATP 競合的であることが確認された。

2.4.2.1.2 *In vivo* 試験

ΔTRKA 導入細胞（NIH-3T3）をヌードマウスの右側腹部皮下に移植し、ラロトレクチニブの *in vivo* での効果を検討した。当該移植マウスモデルに、ラロトレクチニブを 30 及び 100mg/kg の用量で単回経口投与すると、用量及び時間依存的にΔTRKA 腫瘍内の TRKA リン酸化が抑制されたことから、ラロトレクチニブは *in vivo* においてマウスモデルの TRKA 依存性腫瘍の活性を阻害する可能性が示された（2.6.2.2.2.1）。

マウスの種々の移植モデルにおいて、ラロトレクチニブはΔTRKA 腫瘍（2.6.2.2.2.2.2）に加え、*NTRK* 遺伝子融合タンパク質を発現する種々の細胞株由来腫瘍に対し、がん腫によらず増殖を抑制した（2.6.2.2.2.2.3）。

2.4.2.2 副次的薬理試験

ラロトレクチニブは 1μM で、tyrosine kinase non receptor 2（TNK2）（IC_{50}：約 1.2μM）を除く TRK 以外のすべてのキナーゼ（226 種類）に対して 50%を超える阻害作用を示さなかった（2.6.2.3.1.1）。更に、ラロトレクチニブは 10μM で 58 種類の哺乳類由来のオフターゲット分子（G タンパク質共役受容体、核内受容体、イオンチャネル及びトランスポーターを含む）について、放射性リガンド結合アッセイにより検討した結果、いずれのオフターゲット分子に対しても有意な相互作用を示さなかった（2.6.2.3.1.2）。また、11 種類の多くはヒト由来の受容体、ドーパミントランスポーター及び酵素について、各受容体に特異的な放射性リガンドを用いた受容体結合アッセイ、細胞系アッセイ及び酵素分析アッセイにより検討した。ラロトレクチニブは 10～30μM で、受容体〔ドーパミン（D_{2S} 及び D_{2L}）、ムスカリン（M_1、M_2 及び M_3）及びシグマ（σ_1 及び σ_2）〕、並びにヒトドーパミントランスポーターに対してそれぞれの特異的リガンドの結合を阻害せず、30μM でヒトアデノシン（A_1）及びメラトニン（MT_1）受容体に対してアゴニスト／アンタゴニスト活性のいずれも示さず、10μM でヒトホスホジエステラーゼ（PDE）$4A_{1A}$ 活性を阻害しなかった。更に、11 種類の核内受容体〔ヒト（PPARα、PPARβ、PPARγ、RXRα、RXRβ、RXRγ、PXR 及び CAR）、マウス及びラット（PPARα及び PPARγ）〕に対してもアゴニスト／アンタゴニスト活性を示さなかった（2.6.2.3.1.2）。

マウス及びラットを用いた種々の疼痛モデルにおいて、ラロトレクチニブの作用を検討した結果、痛覚過敏及び侵害受容に対する抑制作用を示した（2.6.2.3.2）。

2.4.2.3 安全性薬理試験

安全性薬理試験では、生命維持に重要な器官系（心電図を含む心血管系、中枢神経系、呼吸器系）及び胃腸管系に及ぼす影響を検討するため、*in vitro* 及び複数の動物種（マウス、ラット、イヌ及びサル）を用いた *in vivo* による独立した試験として実施した（2.6.2.4）。加えて、ラット及びサルの反復投与毒性試験に、心血管系、呼吸器系及び中枢神経系の安全性薬理エンドポイントを組み込んで実施した。

中枢神経系に対する影響は 2.6.2.4.1 にまとめた。ラロトレクチニブを成熟ラットに単回（最高 100mg/kg）及び反復経口投与（4 及び 13 週間、最高 100mg/kg、BID）した結果、神経行動学的に問題となる所見はみられなかった〔単回投与後の C_{max} はヒトに臨床推奨用量（100mg、BID）投与後の C_{max} に比し最大 8 倍に相当〕。しかし、幼若ラットの反復投与試験においては、ラロトレクチニブを最高用量 22.5mg/kg（BID）まで反復経口投与した結果、神経筋所見（後肢の握力及び着地開足幅の平均値低下）、並びに一過性の中枢神経系関連所見（低頻度の首振り及び旋回、2.6.6.7.3）がみられた。当該試験で評価した学習及び記憶を含むその他のすべての中枢神経系パラメータにラロトレクチニブは影響を及ぼさなかった。ラロトレクチニブを 100mg/kg（BID）の用量で成熟ラットに 42 日間反復経口投与した試験では、ロータロッド試験成績（神経筋機能）

に低下傾向がみられた。しかし、ラロトレクチニブを 30mg/kg（BID）の用量で成熟マウスに 48 日間反復経口投与した試験では、ロータロッド試験成績に影響はみられなかった。また、サルの 14 日間及び 4 週間反復経口投与毒性試験では、最高 100mg/kg まで神経行動学的観察にラロトレクチニブに関連する所見はみられなかった（4 週間反復投与後の C_{max} はヒトに臨床推奨用量投与後の C_{max} に比し最大 7 倍に相当）。

ラロトレクチニブの血行動態及び心臓の電気生理学的パラメータに対する影響について、*in vitro* の hERG 試験（2.6.2.4.2.1）、並びにテレメーター装着ラット、イヌ、サル及び反復投与後のテレメーター非装着サルを用いて評価した（2.6.2.4.2.2）。ラットを用いた試験（最高用量 300mg/kg）、及びテレメーター装着サルを用いた試験（最高用量 100mg/kg：ヒトに臨床推奨用量投与後の C_{max} に比し最大 6 倍に相当）において、心血管系に対する問題となる影響はみられなかった。また、麻酔イヌにおいて、心血行動態パラメータに臨床的に問題となる変化はみられなかった。しかし、ラロトレクチニブを 200mg/kg の用量で、3 例のテレメーター装着サルに投与した試験において、全例に嘔吐がみられ、1 例に 45%を超える拡張期血圧の低下がみられた。このサルにおける C_{max} は 16μg/mL であり、これはヒトに臨床推奨用量投与後の C_{max}（0.9μg/mL）の 18 倍に相当した。ラロトレクチニブを 10、30 及び 100mg/kg の用量でサルに 4 週間反復経口投与した毒性試験において、いずれの用量でも 2 日目の投与後 2 時間で動脈血圧（拡張期及び収縮期血圧）の軽度の低下がみられた（ヒトに臨床推奨用量投与後の C_{max} に比し最大 31 倍に相当）。しかし、この血圧低下は投与期間の後期（14 及び 23 日目）には観察されなかった。

ヒトにおける QT 間隔延長リスクを検討した試験において、ラロトレクチニブは hERG カリウム電流を 147μM の IC_{50} 値で阻害した（2.6.2.4.2.1.1）が、これはヒトに臨床推奨用量投与後の非結合型 C_{max}（$C_{max,u}$＝0.64μM）の 230 倍高濃度であった。心電図を検討したすべての心血管系試験及びサルの 4 週間反復経口投与毒性試験（10、30 及び 100mg/kg：ヒトに臨床推奨用量投与後の C_{max} に比し最大 31 倍に相当）において、心電図パラメータ（PR、QRS 及び QT/QT_C 間隔）に影響はみられなかった。更に、学会認定の獣医学心臓病専門家によって分析された心血管系試験成績に関する報告書では、ラロトレクチニブは評価したすべての試験において、心臓の電気生理学的パラメータに対して問題となる重要な影響を及ぼさなかったと結論された（4.2.1.3.5）。

ラロトレクチニブを最高 100mg/kg までの用量で成熟ラットに単回経口投与、並びにサルに 13 週間反復経口投与しても、呼吸機能に影響はみられなかった（2.6.2.4.3）。

ラロトレクチニブはラットの腸管輸送を促進させ、胃液分泌及び酸性度を高めた（2.6.2.4.4）。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

2.4.3 非臨床薬物動態試験

ラロトレクチニブの PK 及び代謝を、一連の *in vitro* 及び *in vivo*（TK 試験を含む）試験で検討した。ラロトレクチニブの用量及び血漿中濃度は、ラロトレクチニブ遊離塩基に換算して表示した。単回投与 PK 試験は、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルで実施した。また、反復投与したときのラロトレクチニブの PK データは、マウス、ラット、ウサギ及びサルで得られた。そのうち、ラット、ウサギ及びサルにおけるラロトレクチニブの反復投与時の PK データは、主にこれらの動物種を用いた毒性試験及び TK 試験により得られた。

2.4.3.1 分析法

ラット、ウサギ及びサルの GLP 適用毒性試験において血漿中ラロトレクチニブ濃度の測定に用いた高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析（LC-MS/MS）法は、生体試料分析法に関する米国食品医薬品局（FDA）ガイダンスに従ってバリデートした。血漿試料は、重水素標識体[^{2}H]ラロトレクチニブを内部標準として加えた後アセトニトリルで抽出した。分析法はすべて重み付け $1/x^2$ の直線検量線を用い、1～1000ng/mL の定量範囲であった。1000ng/mL を超える濃度の血漿試料は、あらかじめ同種の無処置動物の血漿で希釈して分析した。この希釈操作についても、すべての動物種についてバリデートした。すべての分析法において、ラロトレクチニブを 3、50（又は 80）及び 800ng/mL の濃度で含有する品質管理（QC）試料を生体試料分析ごとに含め、個々の分析法による毎回の測定データについて許容性評価を行った。更なる分析法の詳細及び主要性能データは 2.6.4.2 に記載した。

2.4.3.2 吸収及び血漿中濃度

ラロトレクチニブの主要な物理化学的性質は、分子量：428（遊離塩基として）、pH7.4 における LogD：1.71、pKa：2.36 であった（2.6.4.3.1）。ルイス肺癌ブタ腎尿細管上皮細胞株（LLC-PK1）を用いた単層細胞膜透過性（受動拡散）試験において、ラロトレクチニブの「頂端膜側から基底膜側方向」及び「基底膜側から頂端膜側方向」への膜透過係数はいずれも約 5×10^{-6}cm/sec であり、中等度～高い膜透過性を示している（2.6.4.3.2）。正式な生物薬剤学分類システム（BCS）の評価は実施していないが、ラロトレクチニブはクラス 1 化合物の属性を有する（2.7.1.1）。

PK 試験の結果、マウス、ラット、イヌ及びサルにおける経口バイオアベイラビリティは約 30%～150%であった（2.6.4.3.3）。ラロトレクチニブをマウス、ラット、イヌ及びサルに反復経口投与したときの PK は、全般的に単回投与したときの PK と一致した（2.6.4.3.4）。溶解性、膜透過性及び動物における PK データは、ラロトレクチニブをヒトに経口投与したときの良好な吸収性を示唆している。

2.4.3.3 分布

マウス、ラット、イヌ及びサルにおけるラロトレクチニブの分布容積は約 0.7～2L/kg の範囲であり、広範囲な組織分布が示唆された（2.6.4.4.1）。ラロトレクチニブの脳／血漿中濃度比は野生型マウスにおいて約 0.03～0.23 であり、ヒト *MDR1*（P-gp）のマウス相同遺伝子が欠損している *Mdr1a* 欠損マウス及びヒト *MDR1* とヒト *BCRP* のマウス相同遺伝子が共に欠損している *Mdr1a/Mdr1b/Bcrp* ノックアウトマウスでは比較対照の野生型に比べて約 3～4 倍高かった。これらのデータは、マウスにおいてラロトレクチニブの中枢神経系（CNS）への移行性が低いこと、並びにマウスにおけるラロトレクチニブの低い CNS 移行性に Mdr1a、Mdr1b 及び Bcrp 等のトランスポーターが寄与していることを示している。また、ラットにおけるラロトレクチニブの脳／血漿中濃度比は約 0.01～0.02 であった。総合的に、これらのデータはマウス及びラットにおける

ラロトレクチニブの CNS 移行性が限定的であることを示唆している（2.6.4.4.1.1 及び 2.6.4.4.1.2）。

更に、Long Evans（LE）有色ラットに[^{14}C]ラロトレクチニブを単回経口投与したときの放射能の組織分布を、定量的オートラジオグラフィー（QWBA）により検討した。この有色ラットでの[^{14}C]ラロトレクチニブ由来放射能の組織分布は、経口投与後 2 及び 8 時間において広範囲に認められた。大部分の組織において、組織内放射能の C_{max} は投与後 2 時間にみられた。胆汁及び尿を除き、最も高い C_{max} は肝臓、腎臓（腎皮質及び髄質を含む）、小腸、甲状腺及び大腸で観察された。一方、最も低い C_{max} は精巣、精巣上体、精嚢、有色及び非有色皮膚及び骨髄で観察された。腹腔脂肪、骨、水晶体及び脳室周囲器官を除く CNS 組織へは試験期間を通して放射能分布がみられなかった。組織内濃度は C_{max} に達した後、概して時間と共に減少した。最終サンプリング時点である投与後 672 時間までに、肝臓及び甲状腺を除くすべての組織で組織内放射能濃度は検出限界未満に減少した。総合的に、これらのデータは放射能がすべての組織から消失することを示しており、また[^{14}C]ラロトレクチニブ由来放射能が有色ラットのメラニン含有組織に選択的に結合しないことを示唆していた（2.6.4.4.1.3）。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト血漿タンパクとの結合率（ラロトレクチニブ濃度 4280ng/mL）は、それぞれ 56%(マウス)、64%（ラット）、55%（ウサギ）、61%（イヌ）、66%（サル）及び 68%（ヒト）であった。タンパク結合の程度は、臨床濃度範囲（43～4280ng/mL）にわたってラロトレクチニブ濃度に依存しなかった（2.6.4.4.2）。更に、ラロトレクチニブ及びその代謝物は赤血球及び血漿間で自由に分配することが示された（2.6.4.4.3）。

2.4.3.4 代謝

ラロトレクチニブはマウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト肝ミクロソーム画分及び肝細胞により代謝された（2.6.4.5）。肝細胞で認められた主要代謝物はピロリジン環の水酸化により生じた M9、並びにピラゾロピリミジン基の酸化、尿素部分の脱離及び引き続くグルクロン酸抱合により生じた M14 であった。ヒト肝ミクロソームにおいてラロトレクチニブの代謝に関与するチトクローム P450（CYP）分子種は主に CYP3A4 であった。ヒト臨床試験及びヒト試料を用いた試験における代謝の詳細は 2.7.2 に記載されている。

2.4.3.5 排泄

ラロトレクチニブ及びその代謝物は、腎排泄及び胆汁中排泄経路を介して消失した。胆管カニューレを施したラットに静脈内投与したとき、投与量の約 6%が未変化体として胆汁中に排泄された。またイヌに静脈内投与したとき、投与量の約 71%が未変化体として尿中に排泄された。放射性標識ラロトレクチニブを経口投与したサルでは、投与した放射能の約 27%が主に未変化体として尿中に、約 47%が主に代謝物として胆汁中に排泄された（2.6.4.6）。ラット、イヌ及びサルにおけるこれらの排泄試験データから、ヒトにおけるラロトレクチニブの消失に腎排泄及び胆汁中排泄経路が寄与することが示唆された。ヒトでのラロトレクチニブの腎排泄は 2.7.2 に記載されている。

2.4.3.6 ヒト代謝物の全身曝露

ヒト及び動物における代謝物の全身曝露の比較は、本モジュールの 2.4.4.9.5 に記載されている。ヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞で生成した代謝物は、ラット、ウサギ（肝細胞でのみ検討）及びサルのこれら肝組織分画においても同様に生じた（2.6.4.5.2）。ヒトにおける血漿中主要代謝物の一つである M14（ヒドロキシピロリジン-尿素部分が脱離後に生成した O-グルクロン酸抱合体）は、ラロトレクチニブの非臨床安全性試験で用いた動物種であるラット及びサルの血漿中でも認められた。このとき、雄ラット（150mg/kg BID）、雌ラット（150mg/kg BID）及びサル

〔200mg/kg QD〕における M14 の AUC は、がん患者にラロトレクチニブを 100mg BID 投与したときのヒト AUC のそれぞれ 2 倍、1 倍及び 20 倍であった（2.6.4.5.3）。これらの全身曝露量のマージンに基づき、代謝物 M14 はラット及びサルを用いた非臨床毒性試験において適切に評価されていると考えられた。

2.4.4 毒性試験

成人及び小児進行がん患者における単独治療として、ラロトレクチニブを連日経口投与することの妥当性を検証する目的で、ラロトレクチニブの安全性プロファイルを評価する広範な毒性プログラムを実施した。ラット及びサルを用いた、単回（ラットのみ）及び 13 週間までの反復経口投与毒性試験に加えて、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定及び本試験、幼若ラットを用いた用量設定及び本試験、*in vitro* Ames 試験及びその予備試験、*in vitro* マウスリンフォーマ試験及びその予備試験、*in vivo* マウス小核試験、並びに *in vitro* 光毒性試験を実施した。毒性試験に適切な動物種として、ヒトに類似した *in vitro* 代謝プロファイルを示す、ラット及びサルを選択した。加えて、それぞれの TRK における ATP 結合部位は種間で高度に保存されていることから、ヒトに類似した TRK への結合親和性が期待される。ラット及びサルを用いた GLP 反復投与毒性試験においては、各々1 日 2 回及び 1 回投与を採用した。

2.4.4.1 単回投与毒性

単回投与試験（2.6.6.2.1）では、ラットに 0、100、300 及び 600mg/kg のラロトレクチニブを強制経口投与した。忍容性は良好であり、ラロトレクチニブ投与に関連した死亡は、いずれの群でも認められず、臨床症状は、300mg/kg 以上の群でみられた流涎のみであった。軽度な臨床病理所見がみられ、100mg/kg 以上の群の雌で心臓重量の増加が認められたが、いずれも関連する病理組織学的変化はみられなかった。高用量の 600mg/kg における曝露（AUC_{0-inf}）は、雄で 264000ng*h/mL、雌で 571000ng*h/mL であった。以上の成績から、ラットにおける単回経口投与時の概略の致死量は 600mg/kg より大きいと考えられた。

非げっ歯類を用いたラロトレクチニブの単回投与毒性試験は実施していないが、サルを用いた反復投与毒性試験の中で最高用量（300mg/kg/日）を投与した 14 日間反復投与試験（1）（2.6.6.3.2.2）及び次に高い用量（200mg/kg/日）を投与した 7 日間反復投与用量設定試験（2.6.6.3.2.1）の成績から、単回経口投与時の影響を考察した。14 日間投与試験では、死亡はなく、投与 1 日目及び 2 日目の臨床症状、並びに投与 1 日目の機能観察総合評価（FOB）に異常はなかった。また、7 日間投与試験では、死亡はなかったが、75mg/kg/日以上の群で投与初期から吐物の頻度が用量に依存して増加した。200mg/kg/日群の雌 1 例は、1 日目に嘔吐の治療が必要であった。以上の成績から、サルにおける単回経口投与時の概略の致死量は 300mg/kg より大きいと考えられた。

2.4.4.2 ラットにおける反復投与毒性

4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.4）では、0、10、30 及び 100mg/kg のラロトレクチニブを 1 日 2 回、強制経口投与した。用量相関性の流涎が観察された。また、皮膚病変が 10mg/kg BID 以上で用量に依存して主に 14 日目から発現した。100mg/kg BID 群で喘鳴及び呼吸困難が、30mg/kg BID 以上の群の雄及び 100mg/kg BID 群の雌で糞量の増加が観察された。用量に依存した体重増加量及び摂餌量の増加が全用量群で認められ、雌で影響が大きかった。再生性の赤血球造血反応を示唆する網状赤血球の増加を伴う、赤血球量パラメータの減少がみられた。骨髄に病理組織学的所見は認められなかった。全用量群で白血球数が減少し、単球数が増加した。プロトロンビン時間（PT）の延長が 30mg/kg BID 以上の群の雄で、APTT 短縮が 10mg/kg BID 以上の群の雌雄で、またフィブリノーゲンの増加が 10mg/kg BID 以上の群の雌及び 30mg/kg BID 以上の群の雄で認められた。10mg/kg BID 以上の群で BUN 及びクレアチニンが用量に依存して増加したが、腎臓に病理組織学的所見はみられなかった。摂餌量の増加に関連したコレステロールの増加が 10mg/kg BID 以上の群の雄及び 30mg/kg BID 以上の群の雌で認められた。アルブミンの減少が 10mg/kg BID 以上の群の雌及び 30mg/kg BID 以上の群の雄で、グロブリンの増加が 30mg/kg BID 以上の群の雌及び 100mg/kg BID 群の雄で認められ、アルブミン／グロブリン比が低下した。

30mg/kg BID 以上の群の雌及び 100mg/kg BID 群の雄で、対照群と比べて 2 倍未満のアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の増加が認められた。しかしながら、中用量群の雌及び高用量群の雄の個体値は、背景データの範囲内又は範囲に近かった。臨床病理変化はおおむね可逆的であった。臓器重量の変化（肝臓、甲状腺、心臓及び脾臓重量の増加、並びに子宮重量の減少）は回復性がみられた。心臓重量増加に関連する病理組織学的変化はみられなかった。病理組織学的変化として、褐色脂肪細胞空胞化、並びに肝臓における肝細胞肥大、門脈周囲の脂肪空胞化及び単細胞壊死が、主に 30mg/kg BID 以上の群で観察された。更に、唾液腺の腺房細胞肥大、皮膚炎、脾臓の髄外造血も観察された。膵臓では、チモーゲン顆粒の減少、限局性炎症及び腺細胞萎縮が主に 100mg/kg BID 群の雄でみられた。子宮重量減少に関連した子宮萎縮が 100mg/kg BID 群に、また黄体数減少及び発情休止期頻度の増加が 30mg/kg BID 以上の群で認められた。甲状腺重量の増加は、100mg/kg BID 群の雌でみられた甲状腺濾胞細胞肥大と関連するものであった。乳腺過形成が 100mg/kg BID 群の雌で観察された。無毒性量（NOAEL）は 10mg/kg BID 未満と考えられた。また、高用量の 100mg/kg BID は、10%の動物に重篤な毒性が発現する投与量（STD_{10}）と判断され、27 日目の AUC_{0-24} は雄が 118200ng*h/mL、雌が 198400ng*h/mL であった。

13 週間反復投与毒性試験では、雄に 0、7.5（低用量）、25/17.5（中用量）及び 75/50/37.5（高用量）mg/kg、雌に 0、7.5/5（低用量）、25/10（中用量）及び 75/50/20（高用量）mg/kg のラロトレクチニブを 1 日 2 回、強制経口投与した（2.6.6.3.1.5）。中及び高用量群で重篤な皮膚病変が進行したため、高用量群の雄は 29 日目の午後から 50mg/kg BID に、雌は 23 日目の午後から 26 日目まで休薬した後、27 日目から 50mg/kg BID に減量した。続いて、雌は 42 日目の午後から中用量を 10mg/kg BID、高用量を 20mg/kg BID に減量した。適切な用量比を維持する目的で、雌の低用量も 42 日目の午後から 5mg/kg BID に減量した。更に、雄は 53 日目に中用量を 17.5mg/kg BID、高用量を 37.5mg/kg BID に減量した。中及び高用量群の数例の動物では、重篤な皮膚病変のため抗炎症鎮痛薬及び／又は抗生物質により治療を行った。中及び高用量群で 9 例の死亡又は安楽死が認められた。死亡及び瀕死状態の原因は様々であったが、重要な要因は潰瘍性の皮膚病変であった。中及び高用量群で顔面及び上半身の痂皮がみられ、数例では開放創に進行した。体重は、雄では低用量から、雌では中用量から増加し、摂餌量の増加に関連していた。ラロトレクチニブ投与群では給餌を制限したため、体重の変化は顕著ではなかった。血液学的及び凝固系検査の影響は軽度で可逆的であり、進行性ではなかった。低用量群から赤血球量パラメータの低値、中用量群から平均赤血球容積の増加及び平均赤血球ヘモグロビン濃度の低下、高用量群の雄に網状赤血球数の増加、中及び高用量群の雄で平均血小板容積の増加、中及び高用量群の雌で血小板数と平均血小板容積の増加がみられた。これらの変化は再生性の造血反応を示唆しており、肝臓及び脾臓の髄外造血に関連していた。炎症性皮膚病変に関連すると考えられるフィブリノーゲン及び白血球数の増加が、中及び／又は高用量群でみられた。血清蛋白（アルブミン及びグロブリン）の変化も、皮膚病変に関連する炎症性反応を示唆していた。尿検査において、高用量群の雌で尿蛋白及び潜血が認められたが、腎臓に関連する病理組織学的変化はみられなかった。高用量群の雄の胸腺重量が増加したが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。中及び高用量群の脾臓重量の増加は、髄外造血と関連していた。肝臓重量の増加は、中及び高用量群でみられた肝臓の髄外造血及び肝細胞空胞化と関連するものであった。休薬期間終了時には、臓器重量の変化はみられなかった。皮膚病変の病理組織学的検査では、4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.4）と同様の所見が認められた。皮膚病変は、4 週間の休薬期間終了時には、全用量群の雌及び低用量群の雄では回復した。中及び高用量群の雄では継続して認められ、部分的な回復性が示された。皮膚病変に続発する付髄的な所見として、髄外造血（脾臓、肝臓）、リンパ球過形成及び骨髄細胞過形成が観察された。軽度な病理組織学的変化として、肝細胞の微小胞性空胞化、褐色脂肪細胞における大型の脂肪滴形成、膵臓における膵島線維化、色素沈着及び出血、並びに乳腺過形成が認められた。乳腺の所見は、部分的に回復した。NOAEL は低用量であり、91 日目の AUC_{0-24} は 7.5mg/kg BID 群の雄が 2250ng*h/mL、7.5/5mg/kg BID 群の雌が 3060ng*h/mL であった。STD_{10} は雌雄とも中用量であり、91 日目の AUC_{0-24} は 25/17.5mg/kg BID 群の雄が 11000ng*h/mL、25/10mg/kg BID 群の雌が 6520ng*h/mL であった。

2.4.4.3 サルにおける反復投与毒性

4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2.4）では、0、10、30 及び 100mg/kg/日のラロトレクチニブを強制経口投与した。100mg/kg/日群で、嘔吐及び液状便の軽度な頻度増加が認められたが、これらの変化は投与前にもみられており、被験物質との関連性は明らかではなかった。2 日目の投与 2 時間後に 10mg/kg/日以上の群の雄で収縮期及び／又は拡張期動脈血圧の低下が観察され、2 日目の投与 2 時間後に 100mg/kg/日群の雌雄各 1 例で心拍数減少がみられた。これらの心血管系変化は、他の投与期間及び休薬期間の測定日には認められなかった。血液学的検査では、赤血球量パラメータの軽度な低下が 30mg/kg/日以上の群で観察された。病理組織学的検査で骨髄に影響は認められなかった。可逆的な PT の延長が 10mg/kg/日以上の群の雄に認められた。アルブミンの減少が 30mg/kg/日以上の群で、BUN の増加が 10mg/kg/日以上の群の雄で、100mg/kg/日群の雄でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及び ALT の増加がみられたが、軽度で可逆的な変化であった。AST 及び ALT の増加は、2 例の雄の AST と ALT が 26 日目以降、投与前値に比べて 4 倍増加したことによるものであった。低用量から用量依存的で可逆的な肝臓重量の増加が認められ、病理組織学的検査でみられた肝細胞肥大に関連していることから、肝酵素誘導に起因するものと考えられた。30mg/kg/日以上の群の雄及び／又は雌で、胆嚢隣接部位の実質の出血がみられた。全用量群、特に 30mg/kg/日以上の群で、主に胆嚢隣接部位にリンパ球浸潤及び胆管の過形成がみられた。30mg/kg/日以上の群で、肝臓に軽微な単細胞壊死が認められた。30mg/kg/日以上の群の雌で、腸間膜リンパ節及び脾臓において二次リンパ濾胞が増加した。すべての病理組織学的変化は可逆的であった。30mg/kg/日以上で、肝臓に病理組織学的変化がみられたことから、NOAEL は 10mg/kg/日であり、27 日目の AUC_{0-24}（雌雄平均）は 1290ng*h/mL であった。高用量の 100mg/kg/日は、重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）よりも低いと考えられ、27 日目の AUC_{0-24}（雌雄平均）は 32200ng*h/mL であった。

13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2.5）では、0、10、30 及び 100mg/kg/日のラロトレクチニブを 13 週間強制経口投与した。100mg/kg/日群の雄では、嘔吐／吐物の頻度が 10 及び 30mg/kg/日群や対照群と比べて高かった。7 日目（最初の血圧測定日）に、30mg/kg/日以上の群の雄で、拡張期血圧及び動脈血圧の一過性の低下が認められた。100mg/kg/日群の雄で、投与期間終了時に体重増加量が高値を示したが、摂餌量の増加はみられなかった。投与期間終了時に肝ミクロゾーム分画を分析した結果、CYP2B 及び CYP3A 活性の増加が 100mg/kg/日群の雌で、CYP1A 活性の減少が 10mg/kg/日群の雌でみられた。4 週間の休薬期間終了時には、CYP1A 活性の増加が 10mg/kg/日群の雄及び 30mg/kg/日群の雌でみられた以外、顕著な変化は認められなかった。臨床病理検査で、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、アルブミン及びアルブミン／グロブリン比の減少、並びにグロブリン及びフィブリノーゲンの増加が認められたが、軽度な変化であり、毒性ではないと考えられた。肝臓重量の増加が 30mg/kg/日以上の群で認められ、肝細胞空胞化の増加及び肝酵素誘導に関連していた。100mg/kg/日群の雌で、褐色脂肪細胞における大型の脂肪滴形成頻度の増加がみられたが、軽微で対照群にもみられる変化であり、毒性ではないと考えられた。NOAEL は 100mg/kg/日であり、91 日目の AUC_{0-24}（雌雄平均）は 73700ng*h/mL であった。

2.4.4.4 遺伝毒性

ラロトレクチニブに遺伝毒性は認められなかった。細菌を用いた変異原性（Ames）試験（2.6.6.4.2）及び哺乳動物細胞を用いた *in vitro* 変異原性試験（マウスリンフォーマ TK）（2.6.6.4.4）において、ラロトレクチニブは試験可能な最高濃度で陰性であった。更に、*in vivo* マウス小核試験（2.6.6.4.5）においても、ラロトレクチニブは陰性であった。

2.4.4.5 がん原性

ICHS9 により、進行がん患者の治療を目的とした医薬品の製造販売承認申請のためには、がん原性試験は要求されない。したがって、ラロトレクチニブのがん原性試験は実施しなかった。なお、ラロトレクチニブは、*in vitro* 遺伝毒性試験及び *in vivo* ラット小核試験で陰性であった（2.6.6.4）。

2.4.4.6 生殖発生毒性

雄性生殖機能評価（精子検査）は、成体ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.5）及び幼若ラット毒性試験（2.6.6.7.3）の一部として実施した。いずれの試験においても、ラロトレクチニブに関連した精子数、密度、運動性及び形態への影響は認められなかった。また、ラット及びサルのいずれの反復投与毒性試験においても、雄性生殖器官にラロトレクチニブに関連した病理組織学的所見はみられなかった。

雌性生殖器への影響は、ラット及びサルにおける病理組織学的検査で評価した。ラットの 4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.4）において、中及び高用量群の子宮重量が減少したが、回復性がみられた。関連する子宮萎縮が高用量でみられた。黄体数減少、発情休止期の頻度の増加及び乳腺過形成も認められた。ラットの 13 週間反復投与毒性試験では、乳腺過形成のみ観察された。ラットの 4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験における乳腺への影響はいずれも軽微であり、部分的な回復性が認められ、乳腺過形成の頻度や程度が時間の経過と共に進行しなかった。サルの雌性生殖器に、ラロトレクチニブに関連した変化はなかった。

幼若ラット反復投与試験（2.6.6.7.3）において、投与終了後から 28 日以上休薬した後、交配し、生殖能及び胚・胎児発生を評価した。中及び高用量群で、それぞれ 2 及び 4 例の交尾確認動物が妊娠せず、雌雄の受精率及び受胎率の低下が認められた。これらは背景データの範囲内であり、同時に評価した交配までの期間、発情周期の長さ、精子検査、生殖器の重量及び病理組織学的検査などに影響はみられず、またいずれの用量でも胚の子宮内生存率及び発生に影響はなかった。しかしながら、高用量 7.5/22.5mg/kg BID 群の全例で交尾が確認されたにもかかわらず受精率及び受胎率が低下したことは、投薬起因性である可能性を否定できない。高用量の生後 70 日の AUC_{0-24} は、雄で 12900ng*h/mL、雌で 22300ng*h/mL であった。

胚・胎児発生試験をラット及びウサギを用いて実施した（ラット：2.6.6.6.2.2、ウサギ：2.6.6.6.2.5）。ラロトレクチニブは、ラット及びウサギにおいて高用量で母体毒性を生じたことから、中用量を母動物に対する NOAEL と判断した。これらの用量における AUC_{0-24} は、妊娠 17 日のラットが 49700ng*h/mL、妊娠 20 日のウサギが 17700ng*h/mL であった。ラット及びウサギにおいて、子宮内発育、生存及び胎児形態（外表、内臓及び骨格）に対するラロトレクチニブの影響は認められなかったため、胚・胎児発生に対する NOAEL は、それぞれの試験の高用量である 120mg/kg BID（ラット）及び 75mg/kg BID（ウサギ）であった。これらの用量における AUC_{0-24} は、妊娠 17 日のラットが 175000ng*h/mL、妊娠 20 日のウサギが 87500ng*h/mL であった。胎児の血漿中濃度を測定した成績から両動物種でラロトレクチニブの胎盤通過性が示唆された（2.6.4.4.1.4 及び 2.6.4.4.1.5）。

2.4.4.7 幼若動物における試験

幼若ラット試験（2.6.6.7.3）では、生後 7 日から 70 日までラロトレクチニブを投与した。休薬期間は 28 日間とした。一部の動物を用いて、生殖及び初期胚・胎児発生への影響を評価した。投与終了後、休薬 28 日（生後 99 日）以降に交配を開始し、交配したすべての雌ラットについて交尾確認 15 日後に剖検を行った。投与量は、生後 7 日から生後 27 日までは 0、0.2、2 及び 7.5mg/kg BID とした。生後 28 日から生後 70 日までは、用量設定試験（2）（2.6.6.7.2）にお

いて生後 28 日の血漿中薬物濃度が低かったことを考慮し、0、0.6、6 及び 22.5mg/kg BID とした。

生後 9 日から生後 16 日までに、7.5mg/kg BID 群の 9 例の動物に死亡及び瀕死状態がみられた。2mg/kg BID 群の雌 1 例が生後 15 日に死亡した。この 1 例では、臨床観察、体重及び病理学的所見に死亡の原因と推察される変化は認められなかったが、ラロトレクチニブ投与との関連性を完全には否定できなかった。生後 28 日以降、ラロトレクチニブ投与に関連した死亡及び瀕死状態はみられなかった。2/6mg/kg BID 以上の群で、眼の部分あるいは完全閉鎖が観察された。7.5/22.5mg/kg BID 群では、一過性で低頻度の中枢神経系症状として首振り及び旋回が観察された。7.5/22.5mg/kg BID 群の雌では、腹部膨満、痂皮形成及び脱毛の頻度増加も認められた。2/6mg/kg BID 以上の群で、摂餌量の減少に関連した体重の低値が認められた。2/6mg/kg BID 以上の群の雄及び 7.5/22.5mg/kg BID 群の雌では、体重の低値は脛骨長の低値に関連していた。FOB パラメータや他の中枢神経系評価項目に対するラロトレクチニブの影響は、2.6.2.4.1.3.2 で議論されている。更に、神経系組織に病理組織学的変化はみられなかった。

生後 71 日の臨床病理検査において、ラロトレクチニブに関連した血清中の BUN、クレアチニン及びリンの増加が 2/6mg/kg BID 以上の群で認められた。腎臓に病理組織学的変化はなく、休薬期間後に回復性が認められた。投与期間終了時の剖検（生後 71 日）において、2/6mg/kg BID 及び／又は 7.5/22.5mg/kg BID 群で、心臓、肝臓及び脾臓重量の増加がみられたが、休薬期間終了時剖検（生後 99 日）では、心臓及び肝臓重量は完全な回復、脾臓重量は部分的な回復が認められ、関連する病理組織学的変化もみられないことから、毒性ではないと考えられた。いずれの群でも、被験物質に関連した剖検所見及び病理組織学的変化はみられなかった。

以上の結果に基づき、中用量の 2/6/mg/kg BID を幼若ラットにおける STD_{10} と判断した。同用量の生後 70 日の AUC_{0-24} は、雄で 1530ng*h/mL、雌で 3590ng*h/mL であった。また、中用量の 2/6mg/kg BID を雄の NOAEL、低用量 0.2/0.6mg/kg BID を雌の NOAEL と判断した。NOAEL における生後 70 日の AUC_{0-24} は、雄で 1530ng*h/mL、雌で 186ng*h/mL であった。

2.4.4.8 局所刺激性

ラロトレクチニブの臨床投与経路は経口であるため、独立した局所刺激性試験は実施していない。ラロトレクチニブ経口投与の忍容性は、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験において評価した。肉眼的及び病理組織学的検査の結果、消化管に対する刺激性は認められなかった。

2.4.4.9 その他の毒性試験

2.4.4.9.1 抗原性

抗原性試験は実施していない。

2.4.4.9.2 免疫原性

ICHS9 に記載されているとおり、一般毒性試験で免疫毒性を評価できると考えられる。ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験（2.6.6.3）における臨床及び解剖病理学的検査の結果、ラロトレクチニブを投与したラット及びサルのリンパ系組織に変化が認められた。しかしながら、いずれの動物種においても、これらの変化は毒性学的に意義のある変化とは考えられず、また回復性がみられた。

2.4.4.9.3 機序検討

ラット及びサルを用いた毒性試験でみられた所見について、機序を検討する特別な試験は実施しなかった。

ラット及びサルにおいて、ラロトレクチニブの反復投与後、肝重量の増加がみられた。この肝臓への影響は、ラット（2.6.6.3.1.1）及びサル（2.6.6.3.2.5）でみられた肝酵素誘導[3)]と一致している。両動物種の肝ミクロゾーム分画を用いて、肝ミクロゾーム蛋白質量、総 CYP450 量及び各種薬物代謝酵素活性を測定した。

50mg/kg BID を 7 日間投与した雌ラットにおいて、CYP3A 及び CYP4A の顕著な増加（各々約 5.0 及び 2.0 倍）がみられた。100mg/kg/日を 13 週間投与した雌サルで、CYP2B 及び CYP3A 活性の顕著な増加（各々約 2.7 及び 3.0 倍）がみられた。サルの休薬期間においては、CYP1A が 10mg/kg/日群の雄で約 2.4 倍、30mg/kg/日群の雌で約 2.1 倍増加していたことを除いて特記すべき変化はなかった。

2.4.4.9.4 依存性

ラロトレクチニブは、臨床及び毒性学的に意義のある濃度において、一連の標的や受容体に有意な影響を与えないことが、放射性リガンド結合アッセイなどによるスクリーニング試験（2.6.2.3.1.2）で示されている。ラロトレクチニブに対する依存性が起こる可能性はないと考えられるため、依存性試験の実施は不要と考えられる。

2.4.4.9.5 代謝物に関する試験

代謝物の毒性試験は実施しなかった。ラット、サル及びヒト血漿試料で、23 種類の代謝物が同定されている（2.6.4.5.3）が、ヒトに特異的あるいはヒトで特に多く検出されるラロトレクチニブの代謝物はなかった。すべての種で、O-グルクロン酸抱合体である M14 が代謝物の主な成分であった。M14 は、健康人血漿中の総薬物由来物質の約 30%を占め、ヒトの主要代謝物であった。M14 はラット及びサルの血漿中にも存在した。雄ラット（150mg/kg BID）、雌ラット（150mg/kg BID）及びサル（200mg/kg/日）における M14 の AUC は、100mg BID のラロトレクチニブを投与したがん患者におけるヒトの AUC に比し、それぞれ 2 倍、1 倍及び 20 倍に相当し、同代謝物の毒性学的な安全性は確認されたと考えられる。

2.4.4.9.6 不純物に関する試験

GLP 毒性試験には、主として 2 つのバッチの原薬（ラロトレクチニブ硫酸塩）を使用した（3.2.S.3.2 及び 2.6.7.4）。ICHQ3A 及び Q3B における安全性確認の閾値を超える不純物は、原薬の類縁物質で個別規格（[redacted]%以下）として設定する [redacted] 1* のみである。サルの 4 週間反復投与毒性試験に使用した原薬のロット（AR00457470-24）中の [redacted] 1* の含有量は [redacted]%、ラット及びサルの 13 週間反復投与毒性試験で使用したロット（WDK17-55B-P）中の含有量は [redacted]%である。これらの試験の NOAEL における [redacted] 1* の投与量と、ヒトの治療用量（ラロトレクチニブとして 200mg/日）に含まれる [redacted] 1* の投与量（規格値上限の [redacted]%を含有したものとして計算）を比較すると、ラットでは、NOAEL における投与量比で [redacted] 倍、サルでは [redacted]～[redacted] 倍の安全域が確保されており、[redacted] 1* の安全性は担保されている（2.6.6.9.6）。

2.4.4.9.7 光毒性

ICHS10 に従い、ラロトレクチニブの光毒性を評価する試験（2.6.6.9.7.1）を実施した。BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いた、*in vitro* ニュートラルレッド取り込み試験において、ラロトレクチニブは光毒性を示さなかった。

2.4.4.10　新規添加物

ラロトレクチニブの臨床投与量である 200mg/man/日の製剤中に含まれる HPBCD の量は 1.746g である（2.3.P.1［経口液剤］）。この量は本邦における使用前例を超えていることから、公表文献より得られた情報を基に新規添加物として安全性を調査した（2.6.6.10）。

成体ラット、幼若ラット及びイヌに HPBCD を反復投与し、臨床症状、体重、摂餌量、臨床病理検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査について評価されている。成体ラットでは、500、2000 及び 5000mg/kg/日の HPBCD を 12 ヵ月間混餌投与したところ、2000mg/kg/日以上で体重の軽度な低値、肝酵素の増加、尿量の減少及び病理組織学的所見（尿管上皮腫大、肝臓の小葉中心の腫大、膵臓の巣状過形成）がみられ、NOAEL は 500mg/kg/日であった[4)]。幼若ラットに生後 4 日から 46 日まで、HPBCD の 500、1000 及び 2000mg/kg/日を経口投与したところ、成体ラットと比較して、新たな毒性はみられず、NOAEL は 500mg/kg/日であった[5)]。イヌに 500、1000 及び 2000mg/kg/日の HPBCD を 12 ヵ月間強制経口投与したところ、2000mg/kg/日では、軟便と尿管の病理組織学的所見がみられ、NOAEL は 1000mg/kg/日であった [4)]。ラット及びウサギの催奇形性試験では、それぞれ 400mg/kg/日及び 1000mg/kg/日まで投与しても催奇形性はみられなかった [4)]。遺伝毒性は陰性であった [4)]。

ラロトレクチニブの臨床投与量 200mg/man/日の製剤中に含まれる HPBCD の量は、約 30mg/kg/日であり（ヒトの体重を 60kg として一日投与量 1.746g を除した）、ラット 12 ヵ月試験及び幼若ラット試験では約 17 倍、イヌ 12 ヵ月試験では約 33 倍、ラット及びウサギの胚・胎児発生毒性試験では、それぞれ約 13 倍及び 33 倍まで投与しても毒性変化又は催奇形性がみられなかったことから、ヒトに有害作用を示す可能性は低いと考えられる。

2.4.5 総括及び結論

NTRK 遺伝子融合タンパク質を伴った切除不能又は転移性の固形がんを有する成人及び小児患者に対する治療を適応とするラロトレクチニブの製造販売承認申請をサポートすることを目的として、ラロトレクチニブを用いた一連の薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を実施した。

ラロトレクチニブは nM レベルで、ヒト TRKA、TRKB 及び TRKC の活性を選択的に阻害し、それぞれ TRKA、TRKB 及び TRKC タンパク質をコードする *NTRK1*、*NTRK2* 及び *NTRK3* 遺伝子との発がん性融合遺伝子を有する細胞の増殖を抑制した。ラロトレクチニブは *in vivo* において、TRK 融合タンパク質を発現する腫瘍の増殖をがん腫によらず抑制した。また、ラロトレクチニブの生化学アッセイにおける TRK に対する結合親和性の IC_{50} 値は、細胞系アッセイでの TRK 融合タンパク質を有する細胞株の増殖抑制の IC_{50} 値とほぼ同等の桁数レベルであったことから、TRK 融合タンパク質に対するラロトレクチニブの感受性は野生型 TRK と類似していることが示された。

5 種の動物における PK パラメータに基づくと、ラロトレクチニブは良好に経口吸収される。また、ラロトレクチニブは P-gp 及び BCRP の基質である（2.7.2.2.1.7）。野生型マウス及びラットにおいて脳／血漿中濃度比は、血漿中非結合型分率よりも低かったが、*Mdr1a* 及び *Mdr1a/Mdr1b/Bcrp* ノックアウトマウスでは脳／血漿中濃度比は比較対照の野生型に比べて約 3～4 倍上昇した。すなわち、ラロトレクチニブの脳への移行は排出トランスポーターにより低下するが、完全には阻止されない（2.6.4.4.1.1）。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒト血漿タンパクとの結合率は、約 60%～70%であった（2.6.4.4.2）。動物に静脈内投与したときの定常状態における分布容積は約 0.7～2L/kg の範囲であった（2.6.4.4.1）。全般的に、ラロトレクチニブの分布挙動はその脂溶性が低～中等度（pH7.4 における LogD：1.71）であったこと（2.6.4.3.1）と一致している。

反復経口投与したとき、動物種によって若干の蓄積又は曝露量の低下がみられた。すなわち、マウスでは反復投与の最初の 7 日間で AUC が約 50%減少し、それ以降は 28 日目まで減少はみられなかった。ラットでは高用量で反復投与したときの AUC は約 4 倍まで増加した。サルでは反復投与したときの曝露量は、試験によっては約 1/8 まで減少した（2.6.4.3.4）。

In vitro における肝ミクロソーム及び肝細胞による代謝、並びに *in vivo* における血漿中及び排泄物中代謝物の検討結果から、すべての動物種において代謝過程がラロトレクチニブの消失に寄与していることが示された（2.6.4.5）。ヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞で生成した代謝物は、ラット、ウサギ（肝細胞でのみ検討）及びサルのこれら肝組織分画においても生じた。ヒトにおける血漿中主要代謝物の一つである M14（ヒドロキシピロリジン-尿素部分が脱離後に生成した O-グルクロン酸抱合体）は、ラロトレクチニブの非臨床安全性試験で用いた動物種であるラット及びサルの血漿中でも認められた。したがって、M14 は非臨床毒性試験において適切に評価されていると考えられた。また、代謝による消失に加えて、ラロトレクチニブ及びその代謝物は、動物において、腎排泄及び胆汁中排泄を介して消失した（2.6.4.6）。

成体げっ歯類の安全性薬理試験及び反復投与毒性試験において、ラロトレクチニブに関連する問題となる中枢神経系所見はみられなかった。また、サルの反復投与毒性試験において問題となる神経行動学的所見はみられなかった。

妊娠ラット及びウサギ胚・胎児発生毒性試験の高用量において、一過性かつ低頻度の中枢神経系に関連した影響として運動失調、頭部傾斜及び振戦（ウサギのみ）が母体毒性用量でみられた。幼若ラットの反復投与毒性試験において、高用量の生後 21～23 日の期間に首振り及び旋回が低頻度で認められた。幼若ラット試験の FOB 評価では、眼瞼の変化又は完全な眼瞼閉鎖が観察され

た。神経筋において観察された影響は、雄では体重の変化に伴う二次的なものである可能性があり、雌ではラロトレクチニブの投与に関連のない影響であると考えられた。神経組織の病理組織学的検査で異常は認められなかった。聴覚驚愕反応又は学習記憶の評価（Biel 迷路遊泳試験）にはラロトレクチニブに関連する影響はみられなかった。

過去数十年で、機能不全 TRK タンパク質（キナーゼドメイン特異的突然変異）又は TRK タンパク質欠損の影響を検討するため、複数のマウスの系統が作製されてきた。しかし、多くの系統は条件的欠損又は標的欠損ではなかったため、幼若及び成熟動物の生体系における TRK タンパク質の必要性を理解するには限界があった。TRK ファミリー受容体及びこれらの活性化リガンドは脳の様々な細胞機能を制御しているため、多くのマウスモデルは中枢神経系における TRK タンパク質の欠損の影響を検討するために作製されてきた[6, 7, 8, 9, 10, 11, 12]。TRK 活性の欠損により、モデル動物に依存して、軽度（平衡障害／骨プレートの短縮）から重度（神経変性）まで広範にわたる表現型が誘導される。TRKB は神経組織に広範囲に発現しており、海馬及び視床下部機能に必須である。TRKB のホモ接合性／全身ノックアウトマウスは出生後 3～4 日以内に死亡することから、胎児発生における当該タンパク質の重要性が強調されている。しかし、ハプロ不全マウスは生存して重篤度の低い認知機能障害を示し、軟骨細胞における標的欠損の例ではマウスは小人症を呈する[13, 14]。TRKA のホモ接合性マウスは TRKA 欠損マウスと同様の周産期死亡率を示す。TRKA タンパク質の発現は前脳のニューロン集団と関連しており、当該組織の条件付きノックアウトによる TRKA（及び下流シグナル伝達）欠損マウスは記憶及び注意能力に障害を示した[15]。TRKC 欠損マウスも出生後初期に死亡し、また NT-3 リガンド／TRKC は心臓の神経堤の発達に直接的な関連性があることから、重篤な心臓における欠陥（心室中隔欠損及び肺動脈弁狭窄）が引き起こされる[16]。*In vitro* において、これらの TRK 受容体のシグナル伝達阻害により培養神経細胞に直接アポトーシスが引き起こされ、逆に、神経細胞へのニューロトロフィン処理により生存が促進される[17]。したがって、幼若動物の毒性試験において関連する所見はみられていないものの、過度な薬理作用の結果、患者に神経毒性が生じる可能性は否定できない。

また、ラロトレクチニブの中枢神経系移行の可能性を検討したラットの試験において、脳内非結合型ラロトレクチニブ濃度は血漿中非結合型濃度より低かった（2.6.4.4.1.2）。更に、ラットの全身オートラジオグラフィーにおいて、[^{14}C]ラロトレクチニブ由来放射能の血液-脳関門の通過、及び脳室周囲器官を除く中枢神経系組織への分布はみられなかった（2.6.4.4.1.3）。後者の知見は、非臨床でみられたラロトレクチニブの中枢神経系関連所見が軽度であったことを更にサポートするものである。臨床における安全性データベースでは、神経学的事象の大部分は低グレードであった（表 2.7.4.2- 3）。

In vitro hERG 試験、テレメーター装着の覚醒ラット及びサル、麻酔イヌ、並びにテレメーター非装着サル（反復投与毒性試験）を用いて、心電図モニタリングを含めた心血管系の安全性を評価した。

全身血行動態パラメータに対するラロトレクチニブの影響について、テレメーター装着ラット、イヌ及びサルを用いて評価した。サルにおいて、血圧低下及び心拍数上昇がみられたが、試験全体を通して一貫した血行動態所見ではなかった。臨床における安全性データベースでは、高血圧及び低血圧がみられたものの（表 2.7.4.2- 3）、ラロトレクチニブとの明確な関連性は確認されなかった（5.3.5.3.3 ISS/Table 14.4.4.1）。なお、ラット中脳の TRKB 受容体の試験において、血圧調節に TRKB 受容体が関与する可能性が示唆されたが[18]、非臨床試験において一過性の血圧変化の原因となる機序は明らかにされなかった。

ラロトレクチニブは hERG 試験において、147 μM の IC_{50} 値を示したが、臨床推奨用量投与後の非結合型 C_{max}（$C_{max,u}$＝640nM）より 230 倍高値であった。非臨床試験において QTc 間隔を含む心電図パラメータに変化はみられなかった。臨床薬理 QT 試験（2.7.2.2.2.2）において、健康成人にラロトレクチニブ 100～900mg の用量（臨床推奨用量又はそれを超える用量範囲）を単回経口

投与後、QTcF 間隔を含む電気生理学的パラメータに影響はみられなかった。なお、900mg 投与後の C_{max} は 7437ng/mL であった。以上から、ラロトレクチニブがヒトへの催不整脈性リスクを有する可能性は極めて低いと考えられる。

ラットの安全性薬理試験において、ラロトレクチニブは最高 100mg/kg まで呼吸機能に影響を及ぼさなかった。また、サルの 13 週間反復経口投与毒性試験において、最高 100mg/kg/日まで呼吸数に影響を及ぼさなかった。

ラロトレクチニブの胃腸管系に対する影響を検討した試験において、ラロトレクチニブは全用量でラットの腸管輸送を促進した。ラロトレクチニブはラットの胃に対する刺激作用を示さなかったが、胃液分泌及び酸性度を有意に高めた。また、サルの反復投与毒性試験において、高用量で主に嘔吐及び下痢のような胃腸管への影響がみられた。臨床における安全性データベースでは、胃腸管系の毒性の臨床兆候として下痢がみられた（表 2.7.4.2- 3）。

成体ラットにおけるラロトレクチニブの毒性変化を以下に要約する。ラロトレクチニブを 600mg/kg（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 49 から 106 倍）まで単回経口投与した結果、忍容性は良好であった。

ラット 4 週間反復投与毒性試験において、皮膚病変並びに摂餌量増加に関連した体重増加量の増加が、用量依存的に認められた。非有害性で可逆的な臨床病理学的変化が認められた。肝臓、甲状腺、心臓及び脾臓重量の可逆的増加、並びに子宮重量の可逆的な減少がみられた。雌雄の褐色脂肪、肝臓、唾液腺、皮膚、脾臓、雄の膵臓、雌性生殖器、雌の甲状腺及び乳腺に、主要な病理組織学的所見がみられた。概して、これらの組織における影響は、休薬期間後に可逆性が示された。NOAEL は 10mg/kg BID 未満（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 1 から 2 倍未満）であった。高用量は、STD_{10} であると考えられた。ラット 13 週間反復投与毒性試験において、中及び高用量は皮膚病変のため、ラロトレクチニブの忍容性は良好でなかった。潰瘍性皮膚病変が瀕死状態の主要因であった。臨床病理変化は、軽度であり有害ではないと判断した。臨床病理変化の多くは、皮膚病変に伴う変化を反映するものと考えられ、可逆的で非進行性であった。脾臓、肝臓、骨髄、リンパ節、褐色脂肪組織、膵臓及び乳腺に、軽度の病理組織学的所見がみられた。NOAEL は雄で 7.5mg/kg BID、雌で 7.5/5mg/kg BID であった（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 0.4 から 0.6 倍）。STD_{10} は雄で 25/17.5mg/kg BID、雌で 25/10mg/kg BID であった（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 1.2 から 2.0 倍）。

サル 4 週間反復投与毒性試験において、ラロトレクチニブの忍容性は 100mg/kg/日まで良好であった。軽度かつ可逆性の臨床病理学的変化が 30mg/kg/日以上の用量でみられた。全用量で、肝細胞肥大に起因する肝重量の増加が認められた。NOAEL は 10mg/kg/日であった（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 0.2 倍）。13 週間反復投与毒性試験において、ラロトレクチニブの忍容性は 100mg/kg/日までの全用量で良好であった。臨床症状は、100mg/kg/日の雄で嘔吐／吐物の頻度増加が観察されたのみであった。非有害性で可逆的な臨床病理学的変化がみられた。病理組織学的所見として、肝細胞空胞化の増加が 30mg/kg/日以上で、また褐色脂肪組織における大型の脂肪滴形成頻度の増加が 100mg/kg/日群の雌で観察された。NOAEL は 100mg/kg/日であった（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 14 倍）。

ラロトレクチニブの毒性プロファイルは、一般毒性試験において十分に確認されている。主要な反復投与試験における、動物の全身曝露量とヒトの曝露量との比較を表 2.4.5- 1 に示す。

ラット及び／又はサルで認められた赤血球量パラメータ及び血清アルブミンの減少、BUN 及びクレアチニンの増加、肝臓及び甲状腺重量増加、体重増加、リンパ系組織の変化、消化管への影響、並びに皮膚、心臓及び膵臓の変化について以下に記載した。

ラット及びサルで赤血球量パラメータ及びアルブミンの減少が認められたが、軽度であり臨床的な意義があるものではないと考えられた。血清トランスアミナーゼ（ALT 及び／又は AST）の増加が、4 週間反復投与毒性試験でみられたが、軽度な肝臓への影響であり、可逆的で、長期投与試験では観察されなかった。成体及び幼若ラットで BUN 及びクレアチニンの増加がみられたが、軽度で可逆的な変化であり、腎臓に関連する病理組織学的所見はなかった。

幼若及び成体ラット、並びにサルを用いた反復投与試験で、可逆的な肝臓重量の増加がみられた。4 週間反復投与毒性試験において、肝細胞肥大が重量増加の原因であった。これらの肝臓への影響は、ラット及びサルで確認されたとおり、肝臓の酵素誘導[3)]と一致しており、適応性反応であると考えられた。また、甲状腺重量の増加が、ラット 4 週間反復投与毒性試験及び幼若ラット反復投与試験で雌に認められた。甲状腺の変化も、げっ歯類における肝臓の酵素誘導に関連すると考えられる[19)]。

ラット、ウサギ及びサルで体重増加がみられ、ラット及びウサギでは摂餌量の増加を伴っていた。これらの変化は、TRK 阻害薬としての薬理学的作用に関連すると考えられる。げっ歯類及びヒトの報告では、TRKB 発現神経細胞はエネルギー恒常性に関係している[20), 21), 22), 23), 24), 25)]。褐色脂肪細胞の形態学的変化及び血清コレステロールの上昇は、二次的変化と考えられる[26)]。

リンパ系組織の変化が、ラット及びサルに観察された。ラットの 13 週間反復投与毒性試験において、胸腺及びリンパ節（腸間膜、下顎）で明らかな影響がみられた。高用量群の雄で可逆性の胸腺重量増加がみられたが、関連する病理組織学的な変化はなかった。リンパ節におけるリンパ球過形成は、ラットにおける慢性的な皮膚の炎症の二次的な変化と考えられた。脾臓重量がラットで増加し、成体ラットにおける増加は赤血球量パラメータの低下と関連した変化である可能性が考えられた。サルでは、4 週間反復投与毒性試験において脾臓及びリンパ節に影響がみられた。二次リンパ濾胞の増加が腸間膜リンパ節及び脾臓に認められると共に、脾臓重量の増加がみられた。これらの変化は可逆性であった。サル 13 週間反復投与試験で脾臓及びリンパ節に影響は認められなかった。

消化管は、サルにおいてのみ標的臓器である可能性が示された。7 日間反復投与試験において、嘔吐及び下痢が 75mg/kg/日以上でみられた。これらの所見は 200mg/kg/日（ヒト AUC の約 105 倍）では投与を制限するものであった。13 週間反復投与毒性試験において、臨床症状としては、100mg/kg/日（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 14 倍）群の雄で、用量制限的ではない嘔吐／吐物の頻度増加がみられたのみであった。ラロトレクチニブはサルにおいて消化管の臨床症状を誘発したが、関連する病理組織学的所見はみられなかった。

重度の皮膚病変による毒性がみられたことから、ラットはより感受性の高い動物種であると考えられた。用量制限的な皮膚病変が、13 週間反復投与毒性試験における死因であった。なお、ラロトレクチニブ投与に関連したと考えられる発赤、湿疹あるいは皮膚炎などの皮膚所見は、サルには認められなかったが、臨床試験ではラロトレクチニブ投与に関連したと考えられるそう痒症、発疹及び皮膚乾燥などの皮膚所見が報告されている（2.7.4.2.1.1.3　表 2.7.4.2-5）。病変の発現頻度及び程度には用量依存性がみられた。病変の病理組織学的特徴は、4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験で類似しており、軽微で限局性の皮膚炎から重度の潰瘍がみられた。13 週反復投与毒性試験では 4 週間の休薬期間後に、雌は完全な、雄は部分的な病変の回復が認められた。幼若ラット反復投与試験において、痂皮形成及び脱毛の頻度増加が、高用量である 7.5/22.5mg/kg BID 群の雌で認められた。いずれの試験においても、ラロトレクチニブ投与ラットに、皮膚を反復してひっかく行動は観察されなかった。[^{14}C]ラロトレクチニブを単回経口投与した LE 有色ラットにおいて、皮膚は組織内放射能の C_{max} が最も低い組織の一つであった（2.6.4.4.1.3）。したがって、ラットにおける用量制限性の重篤な皮膚病変は、皮膚のラロトレクチニブ濃度に関連する可能性は低いと考えられた。

成体及び幼若ラットを用いた複数の反復投与試験で、心臓重量の変化が観察された。13 週間反復投与毒性試験ではみられなかったことから、この変化が進行性ではないことが示唆された。心臓重量は用量に依存して増加し、関連する病理組織学的所見はみられなかった。一般的に心臓重量増加は心肥大を伴うが、これらの試験における重量増加の原因は、肥大ではなかった。また、ラットにおける心臓重量増加に最も共通する原因は高血圧である[27]が、ラロトレクチニブに関しては、テレメトリー試験でラットに高用量を単回投与した時に、軽度な収縮期血圧の上昇が認められたのみであった。この軽度な変化が、ラット 4 週間試験における心重量変化の原因とは考えられず、その機序は不明であった。

ラットを用いた 4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験において、膵臓の変化がみられた。4 週間反復投与毒性試験においては、腺房細胞におけるチモーゲン顆粒の減少が、主に雌雄の高用量群で認められた。高用量群の雄では、膵臓の外分泌部の限局性炎症及び腺細胞萎縮がみられた。これらの所見は、部分的又は完全な可逆性がみられた。13 週間反復投与毒性試験では、雄で膵島の線維化、色素沈着及び出血などが用量に依存して増加した。これらの膵島の変化は、雄ラットにおける対照群の背景データにも認められる[28]が、この試験では、所見の発現頻度から、ラロトレクチニブ投与による影響の可能性があると考えられた。いずれの試験においても、雄の影響がより顕著であった。

ラロトレクチニブに遺伝毒性は認められなかった。細菌を用いた変異原性（Ames）試験及び哺乳動物細胞を用いた変異原性試験（マウスリンフォーマ TK）の結果、ラロトレクチニブは最大調製可能濃度で陰性であった。更に、*in vivo* マウス小核試験においても、ラロトレクチニブは陰性であった。

雌雄生殖器への影響は、反復投与毒性試験で評価した。ラット 13 週間反復投与毒性試験のいずれの用量でも、精子数、密度、運動性及び形態に対するラロトレクチニブに関連した影響は観察されなかった。また、雄性生殖器に病理組織学的所見は認められなかった。なお、精巣における[^{14}C]-ラロトレクチニブ放射能濃度は、他の組織に比べて極めて低かった（2.6.4.4.1.3）。ラット 4 週間反復投与毒性試験において、子宮萎縮による可逆的な子宮重量の減少がみられた。その他の雌性生殖器の変化として、黄体の減少、並びに発情休止期及び乳腺過形成発現頻度の増加がみられた。乳腺過形成は、13 週間反復投与毒性試験においても認められた。4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験のいずれも影響は軽微であり、部分的な回復性が認められた。サルにおいては雌雄生殖器に所見はみられなかった。

幼若ラットを用いて、生殖能及び胚・胎児発生について評価した。中及び高用量で、雌雄の受精率及び受胎率の低下が認められたが、背景データの範囲内であり、また同時に評価した他の項目に影響はみられなかった。しかしながら、高用量 7.5/22.5mg/kg BID 群における受精率及び受胎率の低下は、投薬起因性である可能性を否定できない。

胚・胎児発生試験において、ラロトレクチニブによる母体毒性が、ラットでは 120mg/kg BID、ウサギでは 75mg/kg BID で認められた。母動物に対する NOAEL はラットが 40mg/kg BID（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 9 倍）、ウサギが 30mg/kg BID（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 3 倍）と考えられた。子宮内発育、生存率及び胎児形態（外表、内臓及び骨格）に、ラロトレクチニブの影響はなかった。胎児における PK データから、両動物種においてラロトレクチニブは胎盤関門を通過することが示唆された（2.6.4.4.1.4 及び 2.6.4.4.1.5）。胚・胎児発生に対する NOAEL は、ラットで 120mg/kg BID（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 32 倍）、ウサギで 75mg/kg BID（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 16 倍）であった。しかしながら、ラロトレクチニブの作用機序から、ラロトレクチニブを妊娠女性に投与した時の胎児の障害リスクは否定できないため、妊娠女性に対しては胎児の障害リスクについて説明するべきである。

幼若ラット反復投与試験では、ラロトレクチニブを 1 日 2 回、生後 7 から 70 日まで投与し、その後 28 日間休薬した。7.5mg/kg BID 群で生後 9 日から 16 日の間に死亡がみられた。臨床症状として、2/6mg/kg BID 以上の群の雌雄で、部分的あるいは完全な閉眼が観察された。7.5/22.5mg/kg BID 群の雌では、腹部膨満及び皮膚病変もみられた。2/6mg/kg BID 以上でみられた体重及び摂餌量の減少は、高用量群の雄では脛骨長の低値と関連していた。臨床病理学的変化は軽度で、部分的な回復性が認められた。心臓、肝臓及び脾臓重量の増加が、2/6mg/kg BID 以上の用量でみられたが、可逆性があり、関連する病理組織学的所見は認められなかった。これらの結果から、2/6mg/kg（雄及び雌それぞれ、臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 0.3 倍及び 0.7 倍）が雌雄の STD_{10}、2/6mg/kg が雄の NOAEL（臨床推奨用量におけるヒト AUC の約 0.3 倍）、0.2/0.6mg/kg BID が雌の NOAEL（臨床推奨用量におけるヒト AUC の 0.04 倍）と考えられた。本試験の高用量にみられた中枢神経系所見は、一過性であり、また総じて軽度であることから、毒性ではないと考えられた。学習及び記憶パラメータへの影響は、高用量においてもみられなかった。

ラロトレクチニブに光毒性は認められなかった（*in vitro* 試験）。

ヒト特異的あるいはヒトにおける曝露量が非常に高い（総薬物由来物質の＜1%である一部の微量代謝物を除く）ラロトレクチニブの代謝物は認められなかった（2.6.4.5.3）。O-グルクロン酸抱合体である M14 がヒトの主要代謝物として同定された。M14 はラット及びサルの血漿中にも存在し、反復投与毒性試験において、その安全性が確認されたものと考えられる。また、当該第Ⅱ相代謝物に化学構造上特異的な懸念はない。

ラロトレクチニブの毒性試験プログラムには、主として 2 つの原薬（ラロトレクチニブ硫酸塩）バッチを使用した。ICHQ3A 及び Q3B における安全性確認の閾値を超える不純物は、原薬の類縁物質で個別規格（[redacted]%以下）として設定する [redacted] 1* のみである。ラットの 13 週間並びにサルの 4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験の NOAEL における [redacted] 1* の投与量と、ヒトの治療用量に含まれる [redacted] 1* の投与量を比較すると、ラットでは、NOAEL における投与量比で [redacted] 倍、サルでは [redacted] 倍の安全域が確保されており、[redacted] 1* の安全性は担保されていると考えられる。

以上、ラロトレクチニブは、*in vitro* においてオフターゲット活性を有しない、ヒト TRKA、TRKB 及び TRKC の選択的かつナノモルレベルで作用する阻害薬である。ラロトレクチニブの非臨床安全性プロファイルは、安全性薬理試験及び毒性試験において広範囲に確認されている。ラット及びサルを用いた反復投与試験において、両動物種に共通した投薬起因の変化は、肝臓及びリンパ系組織への軽度の影響であった。ラットにおいて、骨髄毒性を伴わない、軽度の赤血球量パラメータの低下及び代償性の反応がみられた。摂餌量増加による体重増加及び褐色脂肪組織への二次的影響が観察された。サルにおいて、高用量で嘔吐や下痢の臨床症状がみられたことから、消化管は標的であったが、長期投与後（13 週間反復投与毒性試験）に、関連する病理組織学的所見は観察されなかった。ラロトレクチニブは、ラットに単回投与後、腸管輸送、胃液分泌及び酸性度に影響を及ぼしたが、ラット及びサルに反復投与した結果、肉眼的及び病理組織学的に消化管の刺激性は認められなかった。皮膚病変及びその結果としての炎症が、ラット反復投与時の用量制限毒性であった。その他、ラットにおける、一次的あるいは二次的標的は、心臓、唾液腺、膵臓、雌性生殖器、肝臓、脾臓及び甲状腺であった。長期投与（13 週間反復投与毒性試験）後に新たな標的は確認されなかった。更に、幼若ラット反復投与試験では、耐用量は成体ラットよりも低用量であったが、新たな毒性変化は観察されなかった。いくつかの中枢神経系所見が、幼若ラットの高用量でみられたが、有害性の変化とは考えられなかった。幼若動物において、学習及び記憶への影響は観察されず、より高齢の動物及び安全性薬理試験において関連する中枢神経系所見はみられなかった。このことは、ラットにおけるラロトレクチニブの血液-脳関門の低通過性と一致するものと考えられる。安全性薬理試験及び毒性試験の結果、生理学的に問題となる血行動態及び心電図への影響はみられなかった。また、ラロトレクチニブは呼吸機能に影響を及

ぼさなかった。総じて、ラット及びサルにおける反復投与時の所見は、完全に可逆性であるか、あるいはその傾向が認められた。

ラット及びウサギにおいて、ラロトレクチニブに胚・胎児毒性は認められなかったが、その作用機序及びノックアウト動物における結果[10, 11]から、ラロトレクチニブを妊娠女性に投与した時の胎児の障害リスクは否定できない。ラロトレクチニブの雄性生殖器への影響はなかったが、雌性生殖器にはいくつかの変化がみられた。幼若動物における交配試験で、高用量群でみられた生殖能への影響は、投薬起因性を否定できなかった。ラロトレクチニブに、遺伝毒性あるいは光毒性は認められなかった。

ラロトレクチニブを投与した成人及び小児患者において、好中球減少症、神経学的事象及び肝機能への影響が重要な潜在的リスクとみなされる（2.7.4.1.1.2.2.1）。動物では、非臨床試験において、軽度で非有害性の中枢神経系の影響がみられたが、成体では認められず、ラロトレクチニブの血液-脳関門の低通過性と一致していた。しかしながら、作用機序の観点から、中枢神経系が毒性の標的である可能性が考えられる。ラットにおける、白血球及びリンパ系臓器への影響は、皮膚毒性に続発した炎症に関連する可能性があるが、リンパ系組織の減少や変性の兆候は認められなかった。肝臓の薬物代謝酵素誘導の二次的適応性反応に加え、トランスアミナーゼ上昇を伴う、軽度で一過性の肝臓への影響が、両動物種の 4 週間反復投与毒性試験において認められた。その他のヒトに関連する可能性のある所見として、骨髄毒性を伴わない軽度の赤血球量パラメータの低下、並びにサルにおける消化管毒性及び体重増加がみられた。体重増加は、過度の薬理作用によるものと考えられる。

総じて、一連の非臨床試験によって、ラロトレクチニブの特性が広範囲に確認された。これらの試験結果は、ラロトレクチニブの作用機序に一致するものであり、また、*NTRK* 遺伝子融合タンパク質を発現した、切除不能あるいは転移固形癌を有する成人及び小児患者の治療に対するラロトレクチニブの製造販売承認申請の妥当性を裏付けるものである。

表 2.4.5- 1 成体、妊娠及び幼若ラット、サル、妊娠ウサギ、並びに成人及び小児患者にラロトレクチニブを反復経口投与した時の定常状態曝露量の比較

Dose [mg/kg]	Dose [mg/m^2]	Regimen	Sex	Threshold	C_{max} [µg/L]	C_{max} MoE[a)]	AUC_{0-24} [µg·h/L]	AUC_{0-24} MoE[a)]
4-week study in SD rats (4.2.3.2.4, LOXO-101-TOX-003)								
10	60	BID	M	>NOAEL	653	0.7	5600	1.0
10	60	BID	F	>NOAEL	852	0.9	11300	2.1
100	600	BID	M	STD_{10}	11300	12	118200	22
100	600	BID	F	STD_{10}	19100	21	198400	37
13-week study in SD rats (4.2.3.2.5, LOXO-101-TOX-018)								
7.5	45	BID	M	NOAEL	433	0.5	2250	0.4
5	30	BID	F	NOAEL	500	0.5	3060	0.6
17.5	105	BID	M	STD_{10}	2180	2.4	11000	2.0
10	60	BID	F	STD_{10}	1410	1.5	6520	1.2
4-week study in cynomolgous monkeys (4.2.3.2.9, LOXO-101-TOX-006)								
10	120	QD	M/F	NOAEL	182	0.2	1290	0.2
100	1200	QD	M/F	<HNSTD	6560	7.2	32200	6.0
13-week study in cynomolgus monkeys (4.2.3.2.10, LOXO-101-TOX-019)								
100	1200	QD	M/F	NOAEL	16400	18	73700	14
Embryofetal development in pregnant SD rats (4.2.3.5.2.2, LOXO-101-TOX-024)								
40	240	BID	F	NOAEL – mat.	5700	6.2	49700	9.2
120	720	BID	F	NOAEL – dev.	18600	20	175000	32
Embryofetal development in pregnant NZW rabbits (4.2.3.5.2.5, LOXO-101-TOX-028)								
30	360	BID	F	NOAEL – mat.	2410	2.6	17700	3.3
75	900	BID	F	NOAEL – dev.	7660	8.4	87500	16
Juvenile toxicity study in SD rats (post-natal day 7 to 70) (4.2.3.5.4.3, LOXO-101-TOX-021)								
2/6	12/36	BID	M	NOAEL/STD_{10}	221	0.2	1530	0.3
0.2/0.6	1.2/3.6	BID	F	NOAEL	25.7	0.03	186	0.04
2/6	12/36	BID	F	STD_{10}	444	0.5	3590	0.7
Human (adult) (2.7.2.3.9)								
100	123	BID	M/F	N/A	914	N/A	5410	N/A
Human (pediatric) (2.7.2.3.9)								
N/A	100	BID	M/F	N/A	976	N/A	5190	N/A

BID: twice daily
QD: once daily
NOAEL: no observed adverse effect level
NOAEL – mat.: NOAEL for maternal toxicity
NOAEL – dev.: NOAEL for developmental toxicity
F: Females
M: Males
MoE: multiples of exposure based on total exposure due to similar protein binding for all species
HNSTD: highest none-severely dose
STD10: severely toxic dose, 10%
N/A: not applicable

2.4.6 引用文献一覧

1) Amatu A et al., ESMO Open 2016:1:e000023 (4.3.1)
2) Vaishnavi A et al., Cancer Discov 2015:5:25-34 (4.3.18)
3) Maronpot RR et al., Toxicol Pathol 2010:38:776-795 (4.3.29)
4) Gould S et al., Food Chem Toxicol 2005:43(10):1451-1459 (4.3.39)
5) De Schaepdrijver L et al., Reprod Toxicol 2015:56:87-96 (4.3.40)
6) Crowley C et al., Cell 1994:76:1001-1011 (4.3.6)
7) Gupta VK et al., Int J Mol Sci 2013:14:10122-10142 (4.3.24)
8) Lyons WE et al., Proc Natl Acad Sci USA 1999:96:15239-15244 (4.3.28)
9) Skaper SD, CNS Neurol Disord Drug Targets 2008:7:46-62 (4.3.14)
10) Smeyne RJ et al., Nature 1994:368:246-249 (4.3.15)
11) Snider WD, Cell 1994:77:627-638 (4.3.16)
12) Patapoutian A et al., Curr Opin Neurobiol 2001:11:272-280 (4.3.36)
13) Hutchison MR, PLOS One 2013:8:e66206 (4.3.37)
14) Devi L et al., Transl Psychiatry 2015:5, e562 (4.3.9)
15) Sanchez-Ortiz E et al., J Neurosci 2012:32:4065-4079 (4.3.21)
16) Tessarollo L et al., Proc Natl Acad Sci USA 1997:94:14776-14781 (4.3.26)
17) Kalb R, Trends Neurosci 2005:28:5-11 (4.3.10)
18) Clark CG et al., J Neurosci 2011:31:12318-12329 (4.3.5)
19) Zabka TS et al., Toxicol Pathol 2011:39:664-677 (4.3.35)
20) Gray J et al., Diabetes 2006:55:3366-3371 (4.3.23)
21) Liao G-Y et al., Mol Metab 2013:2:491-497 (4.3.27)
22) Ozek C et al., Mol Metab 2015:4:867-880 (4.3.30)
23) Spaeth AM et al., Am J Physiol Endocrinol Metab 2012:302:E1252-E1260 (4.3.31)
24) Yeo GS et al., Nat Neurosci 2004:7:1187-1189 (4.3.34)
25) Vanevski F et al., Front Neurosci 2013:7:1-10 (4.3.33)
26) Bukowiecki L et al., Am J Physiol 1982:242:E353-E359 (4.3.20)
27) Doggrell SA et al., Cardiovasc Res 1998:39:89-105 (4.3.22)
28) Imaoka M et al., Toxicol Pathol 2007:35:388-394 (4.3.25)