2.6.6　毒性試験の概要文の目次

2.6.6.1　まとめ..... 3
2.6.6.1.1　ラットにおける一般毒性試験結果の要約..... 5
2.6.6.1.2　サルにおける一般毒性試験結果の要約..... 7
2.6.6.1.3　遺伝毒性..... 8
2.6.6.1.4　生殖発生毒性..... 8
2.6.6.1.5　幼若動物における試験..... 8
2.6.6.1.6　その他の毒性試験..... 9
2.6.6.2　単回投与毒性試験..... 10
2.6.6.2.1　ラット単回投与毒性試験..... 10
2.6.6.2.2　サル単回投与毒性試験..... 11
2.6.6.3　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）..... 11
2.6.6.3.1　げっ歯類における反復投与毒性..... 11
2.6.6.3.1.1　ラット 7 日間反復投与用量設定試験..... 11
2.6.6.3.1.2　ラット 28 日間反復投与用量設定試験..... 14
2.6.6.3.1.3　ラット 42 日間反復投与予備試験..... 15
2.6.6.3.1.4　ラット 4 週間回復性評価を伴う 4 週間反復経口投与毒性試験..... 16
2.6.6.3.1.5　ラット 4 週間回復性評価を伴う 13 週間反復経口投与毒性試験..... 20
2.6.6.3.2　非げっ歯類における反復投与毒性..... 24
2.6.6.3.2.1　サル 7 日間反復投与用量設定試験..... 24
2.6.6.3.2.2　サル 14 日間反復投与予備試験（1）..... 25
2.6.6.3.2.3　サル 14 日間反復投与予備試験（2）..... 26
2.6.6.3.2.4　サル 4 週間回復性評価を伴う 4 週間反復投与毒性試験..... 27
2.6.6.3.2.5　サル 4 週間回復性評価を伴う 13 週間反復経口投与毒性試験..... 30
2.6.6.4　遺伝毒性試験..... 34
2.6.6.4.1　細菌を用いる復帰突然変異予備試験..... 34
2.6.6.4.2　細菌を用いる復帰突然変異試験..... 34
2.6.6.4.3　L5178Y 細胞を用いるマウスリンフォーマ予備試験..... 35
2.6.6.4.4　L5178Y 細胞を用いるマウスリンフォーマ試験..... 35
2.6.6.4.5　マウスを用いる小核試験..... 36
2.6.6.5　がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）..... 37
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）..... 37

2.6.6.6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 37
2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験 38
2.6.6.6.2.1　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験 38
2.6.6.6.2.2　ラット胚・胎児発生に関する試験 40
2.6.6.6.2.3　非妊娠ウサギ忍容性試験 42
2.6.6.6.2.4　ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験 43
2.6.6.6.2.5　ウサギ胚・胎児発生に関する試験 46
2.6.6.6.3　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 48
2.6.6.7　幼若動物を用いた試験 48
2.6.6.7.1　幼若ラット用量設定試験（1） 48
2.6.6.7.2　幼若ラット用量設定試験（2） 51
2.6.6.7.3　幼若ラット毒性試験 53
2.6.6.8　局所刺激性試験 60
2.6.6.9　その他の毒性試験 60
2.6.6.9.1　抗原性 60
2.6.6.9.2　免疫毒性 60
2.6.6.9.3　機序検討 60
2.6.6.9.4　依存性 60
2.6.6.9.5　代謝物に関する試験 61
2.6.6.9.6　不純物に関する試験 61
2.6.6.9.7　光毒性 61
2.6.6.9.7.1　BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞ニュートラルレッド取り込み光毒性試験 61
2.6.6.10　新規添加物 62
2.6.6.10.1　ヒドロキシプロピルβシクロデキストリンの安全性に関する調査 62
2.6.6.11　考察及び結論 64
2.6.6.12　図表 73
引用文献一覧 74

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ラロトレクチニブ（LOXO-101）は、トロポミオシン受容体キナーゼ（TRK）A、TRKB 及び TRKC に対して高い選択を持つ強力な阻害剤であり、*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成人患者における臨床推奨用量での曝露量は、定常状態の C_{max} が 914ng/mL（2135nM）、AUC_{0-24} が 5410ng*h/mL であった（2.7.2.3.9）。小児患者でも臨床推奨用量で同等の曝露量が得られ、定常状態の C_{max} は 976ng/mL（2280nM）、AUC_{0-24} は 5194ng*h/mL であった（2.7.2.3.9）。

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製剤には共に硫酸塩が含有されている。非臨床毒性試験における用量及び濃度は、遊離塩基として記載する。

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（2.6.4.5.2）ことから、ラットとサルを一般毒性試験における適切な種として選択した。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、ヒトに類似した TRK への結合親和性が期待される。

ラロトレクチニブをラット、ウサギ及びサルに経口投与した時の単回投与時薬物動態（2.6.4.3.3）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 回投与を採用した。

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、反復投与毒性試験として、7 日、28 日、42 日、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、その後に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 7～28 日にかけて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 7～70 日にかけて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、トキシコキネティクスを評価した。当該申請に含まれる毒性試験の一覧を表 2.6.6.1- 1 に示す。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）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、溶媒として dimethyl sulfoxide（DMSO）を用いた。

毒性試験の中で、安全性を評価し、臨床使用を支持するための主要な試験は、米国食品医薬品局（FDA）GLP 規制（21 CFR Part 58）及び経済協力開発機構（OECD）GLP 原則

ENV/MC/CHEM(98)17 に従って実施した。加えて、本申請には、主要な GLP 毒性試験の用量設定を支持する参考資料として、ラロトレクチニブの非 GLP 用量設定試験も含めた。

試験は、全般的に医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインの原則、特に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）、安全性薬理試験ガイドライン（ICHS7A）、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）、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）〕、並びに医薬品の光安全性評価ガイドライン（ICHS10）に基づいて実施した。

表 2.6.6.1- 1　ラロトレクチニブの毒性試験一覧

Type of study	Species / strain	Method of administration	Doses [mg/kg]	GLP	Location in CTD/ Reference
Single-dose toxicity					
Single, TK	Rat: SD	Oral gavage	0, 100, 300, 600	Yes	4.2.3.1.1/ LOXO-101-TOX-001
Repeat-dose toxicity					
7 days, TK	Rat: SD	Oral gavage	0, 15, 50, 150 BID	No	4.2.3.2.1/ LOXO-101-TOX-014
28 days, TK	Rat: SD	Oral gavage	0, 10, 30, 100 BID	No	4.2.3.2.2/ LOXO-101-TOX-002
42 days, TK	Rat: SD	Oral gavage	0, 100 BID	No	4.2.3.2.3/ LOXO-101-TOX-012
4 plus 4 weeks*, TK	Rat: SD	Oral gavage	0, 10, 30, 100 BID	Yes	4.2.3.2.4/ LOXO-101-TOX-003
13 plus 4 weeks*, TK	Rat: SD	Oral gavage	Male: 0, 7.5, 25/17.5, 75/50/37.5 BID [a)] Female: 0, 7.5/5, 25/10, 75/50/20 BID [a)]	Yes	4.2.3.2.5/ LOXO-101-TOX-018
7 days, TK	Monkey: Cynomolgous	Oral gavage	0, 25, 75, 200	No	4.2.3.2.6/ LOXO-101-TOX-015
14 days, TK	Monkey: Cynomolgous	Oral gavage	0, 30, 100, 300	No	4.2.3.2.7/ LOXO-101-TOX-004
14 days, TK	Monkey: Cynomolgous	Nasogastric gavage	0, 30, 100	No	4.2.3.2.8/ LOXO-101-TOX-005
4 plus 4 weeks*, TK	Monkey: Cynomolgous	Oral gavage	0, 10, 30, 100	Yes	4.2.3.2.9/ LOXO-101-TOX-006
13 plus 4 weeks*, TK	Monkey: Cynomolgous	Oral gavage	0, 10, 30, 100	Yes	4.2.3.2.10/ LOXO-101-TOX-019

表 2.6.6.1- 1 ラロトレクチニブの毒性試験一覧（続き）

Type of study	Species / strain	Method of administra-tion	Doses [mg/kg]	GLP	Location in CTD/ Reference
Genotoxicity					
Ames test	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	Up to 5 mg/plate, with/without S9	No	4.2.3.3.1.1/ LOXO-101-TOX-007
Ames test	*Salmonella typh. / E.coli*	*In vitro*	Up to 5 mg/plate with/without S9	Yes	4.2.3.3.1.2/ LOXO-101-TOX-009
Mouse lymph. assay	L5178Y/TK$^{+/-}$ cells	*In vitro*	Up to 600 µg/mL with/without S9	No	4.2.3.3.1.3/ LOXO-101-TOX-008
Mouse lymph. assay	L5178Y/TK$^{+/-}$ cells	*In vitro*	Up to 600 µg/mL with/without S9	Yes	4.2.3.3.1.4/ LOXO-101-TOX-010
Micronucleus test	Mouse: ICR	Oral gavage	0, 125, 250 500	Yes	4.2.3.3.2.1/ LOXO-101-TOX-011
Reproductive and Developmental Toxicity					
GD 6 to 17, TK	Rat: SD	Oral gavage	0, 3, 10, 40, 120 BID	No	4.2.3.5.2.1/ LOXO-101-TOX-023
GD 6 to 17, TK	Rat: SD	Oral gavage	0, 10, 40, 120 BID	Yes	4.2.3.5.2.2/ LOXO-101-TOX-024
5 days	Rabbit: NZW	Oral gavage	7.5, 25, 75, 200 BID	No	4.2.3.5.2.3/ LOXO-101-TOX-026
GD 7 to 20, TK	Rabbit: NZW	Oral gavage	0, 10, 30, 85, 250 BID	No	4.2.3.5.2.4/ LOXO-101-TOX-027
GD 7 to 20, TK	Rabbit: NZW	Oral gavage	0, 15, 30, 75 BID	Yes	4.2.3.5.2.5/ LOXO-101-TOX-028
Juvenile Toxicity Studies					
PND 7 to 28, TK	Rat: SD	Oral gavage	0, 15, 50/0.5, 100 /1.5, 150/5 BID [a)]	No	4.2.3.5.4.1/ LOXO-101-TOX-020
PND 7 to 28, TK	Rat: SD	Oral gavage	0, 1, 3, 10 BID	No	4.2.3.5.4.2/ LOXO-101-TOX-022
PND 7 to 70, TK	Rat: SD	Oral gavage	0, 0.2/0.6, 2/6, 7.5/22.5 BID [b)]	Yes	4.2.3.5.4.3/ LOXO-101-TOX-021
Other studies					
Phototoxicity	Balb/c 3T3 cells	*In vitro*	Up to 100 µg/mL	Yes	4.2.3.7.7.1/ LOXO-101-TOX-017

* recovery period
SD: Sprague Dawley
NZW: New Zealand White
BID: twice daily
GD: gestation day
PND: post-natal day
TK: includes toxicokinetic assessment
S9: metabolic activation
a): dose reduction due to toxicity
b): increased dose on PND 28 due to significant decreases in exposure

2.6.6.1.1 ラットにおける一般毒性試験結果の要約

単回投与試験では、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。軽度の臨床病理変化がみられ、

100mg/kg 以上の群の雌で心臓重量が増加したが、いずれも関連する病理組織学的所見はみられなかった。

4 週間反復投与毒性試験では、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投与後 30 分にみられた。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みられた。30mg/kg BID 以上の群の雄及び 100mg/kg BID 群の雌で、糞量の増加がみられた。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、雌の影響が顕著であった。再生性の赤血球造血反応を示唆する網状赤血球増加を伴う、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。10mg/kg BID 以上の群で、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 以上の雄で、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の短縮が 10mg/kg BID 以上の雌雄で認められた。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（尿素窒素）及びクレアチニンが用量に伴って増加したが、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。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所見はみられなかった。病理組織学的所見として、褐色脂肪空胞化、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。唾液腺の腺房細胞肥大、表皮の過形成、びらん（sore）／痂皮及び潰瘍を伴う皮膚炎、並びに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、限局性炎症及び腺房細胞萎縮が主に 100mg/kg BID 群の雄でみられた。子宮重量減少に関連する変化として、子宮萎縮が 100mg/kg BID 群に、また黄体数減少及び発情休止期の頻度の増加が 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。中及び高用量群で重篤な皮膚病変の進行がみられたため、高用量群の雄は投与 29 日の午後から 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 に投与量を減量した。続いて、雌は 42 日目の午後から中用量を 10mg/kg BID に、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 日目から中用量を 17.5mg/kg BID に、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／又は抗生物質による治療を行い、場合によって投与を中止した。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。中及び高用量群において、顔面及び上半身に痂皮が認められ、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。血液学的検査及び凝固系検査における変化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減少、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減少、高用量群の雄で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と関連していた。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所見はみられなかった。高用量群の雄の胸腺重量が増加したが、明らかな病理組織学的所見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、髄外造血に関連していた。肝臓重量の増加は、中及び高用量群でみられた髄外造血及び肝細胞の微小胞性空胞化に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）、リンパ節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所見として、肝細胞の微小胞形成、褐色脂肪細胞における大型の脂肪滴の形成、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。

2.6.6.1.2　サルにおける一般毒性試験結果の要約

4 週間反復投与毒性試験では、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。2 日目の投与 2 時間後に 10mg/kg/日以上の群の雄で非有害性の収縮期及び／又は拡張期動脈血圧の低下が観察された。血液学的検査では、赤血球量パラメータの軽度な減少が 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に出血がみられた。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。病理組織学的所見はすべて可逆的であった。30mg/kg/日以上で、肝臓に病理組織学的所見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。

13 週間反復投与毒性試験では、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（初回の血圧測定日）に、30mg/kg/日以上の群の雄で、拡張期血圧及び動脈血圧に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増加したが、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、100mg/kg/日群の雌で CYP2B 及び CYP3A 活性の増加が、10mg/kg/日群の雌で CYP1A 活性の減少がみられた。4 週間の休薬期間終了時には、10mg/kg/日群の雄及び 30mg/kg/日群の雌で CYP1A 活性の増加がみられた以外、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すると考えられた。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 は最高用量 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。

2.6.6.1.3　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 試験）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* マウス小核試験においても陰性であった。

2.6.6.1.4　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及び幼若ラット毒性試験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、並びに発情休止期の頻度の増加及び乳腺過形成が認められた。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は時間経過に伴って進行しなかった。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 例の交尾確認雌動物が妊娠せず、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、中用量を母動物の 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投与の影響は認められなかったため、胚・胎児発生の 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。

2.6.6.1.5　幼若動物における試験

幼若ラット毒性試験では、生後 7～70 日に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 日後に剖検した。投与量は、生後 7～27 日は 0、0.2、2 及び 7.5mg/kg BID、生後 28～70 日は、用量設定試験 (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 9～16 日に、7.5mg/kg BID 群の 9 例の動物で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考えら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、眼の部分又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減少が認められた。2/6mg/kg BID 以上の群の雄及び 7.5/22.5mg/kg BID 群の雌では、体重の減少は脛骨長の減少に関連していた。機能観察総合評価（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投与の影響は、2.6.2.4.1.3.2 で議論されている。神経系組織に病理組織学的所見はみられなかった。

生後 71 日の臨床病理検査において、ラロトレクチニブ投与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所見はなく、これらの変化は高用量群の雄で休薬期間後に部分的に回復した。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所見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、被験物質投与に関連した剖検所見及び病理組織学的所見はみられなかった。

以上の結果に基づき、中用量の 2/6mg/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。

2.6.6.1.6　その他の毒性試験

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。

ラット、サル及びヒト血漿から 23 種類の代謝物が同定されたが、ヒトに特異的又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認められなかった。O-グルクロニド代謝物である M14 がすべての動物種及び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十分な量が存在しており、毒性評価されたと考えられる。

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）に含まれる量から求めた安全域は、ラットが [redacted] 倍、サルが [redacted]～[redacted] 倍であり、[redacted] 1* の安全性は担保されていると考えられる。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ラット単回投与毒性試験

参照項目 4.2.3.1.1 LOXO-101-TOX-001

SD ラットにラロトレクチニブを単回強制経口投与した時の毒性及びトキシコキネティクスを評価し、2 週間休薬後の毒性変化の可逆性、持続性及び遅発性の影響を検討した。

雌雄の SD ラット（主群：10 例／性／群、トキシコキネティクス群：6 例／性／ラロトレクチニブ群及び 3 例／性／溶媒対照群）に溶媒（Labrafac™ Lipophile WL 1349）で調製したラロトレクチニブの 0、100、300 及び 600mg/kg を 3mL/kg の容量で投与した。

瀕死状態／死亡、臨床症状、体重、摂餌量、眼科学的検査及び臨床病理検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。

曝露量は用量に依存して増加する傾向がみられたが、C_{max} の増加は用量比より少なく、AUC_{0-inf} の増加は用量比より大きかった。雌ラットの曝露量（AUC_{0-inf}）は雄の約 2 倍であった。ラロトレクチニブのトキシコキネティクスパラメータ（C_{max} 及び AUC_{0-inf}）を表 2.6.6.2- 1 に示す。

表 2.6.6.2- 1 血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-inf}

Dose (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{0-inf} (ng*h/mL)	
	Male	Female	Male	Female
100	7440	10700	32900	72900
300	15100	21500	97800	207000
600	17600	33700	264000	571000

投与日（0 日目）に 300 及び 600mg/kg 群の 1 又は 2 例／群にみられた流涎が、唯一の臨床症状であった。眼科学的検査、体重及び摂餌量にラロトレクチニブ投与に関連した影響は認められなかった。

被験物質投与に関連した血液学的所見として、2 日目に 300mg/kg 以上の群の雄及び 600mg/kg 群の雌で用量に相関した単球の増加、300mg/kg 以上の群の雄で血小板の減少がみられた。これらすべての所見は可逆的であり、毒性ではないと判断した。PT の延長及び APTT の短縮が、300mg/kg 以上の群の雄及び全用量群の雌で観察された。PT 延長は、600mg/kg 群の雌雄で 14 日目にもみられた。血清生化学的変化として、2 日目に 600mg/kg 群の雄で BUN 及びクレアチニンの増加が認められたが、腎臓に関連する病理組織学的所見は観察されなかった。また、コレステロール及びグルコースの増加が、それぞれ 600mg/kg 群の雌雄及び 100mg/kg 以上の群の雄で認められた。300mg/kg 以上の群の雄で、カリウムが増加した。600mg/kg 群の雌雄で ALT が、600mg/kg 群の雄で総ビリルビンが増加した。これらの血液生化学的変化に関連した病理組織学的所見は認められなかった。これらの変化はすべて可逆的であった。300mg/kg 以上の群の雌雄で、可逆的な尿量の増加がみられた。これらの変化に関連した腎臓の病理組織学的所見は認められなかった。

100mg/kg 以上の群の雌において、被験物質投与に関連した心臓重量の増加がみられたが、関連する病理組織学的所見はみられなかった。

ラロトレクチニブ投与に関連する、肉眼的及び病理組織学的所見は観察されなかった。

高用量の 600mg/kg における曝露量（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、SD 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。

2.6.6.2.2　サル単回投与毒性試験

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 日間反復投与予備試験（1）（2.6.6.3.2.2）及び次に高い用量（200mg/kg/日）を投与した 7 日間反復経口投与用量設定試験（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、1 群当たり雄 3 例のカニクイザルにラロトレクチニブの 0（Labrafac™ Lipophile WL 1349）、30、100 及び 300mg/kg/日（1mL/kg）を強制経口投与した。その結果、死亡はなく、1 日目及び 2 日目の臨床症状、並びに 1 日目の FOB に異常はなかった。また、7 日間投与試験では、0（コーン油）、25、75 及び 200mg/kg/日（1mL/kg）を強制経口投与した。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、カニクイザ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。

2.6.6.3　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.3.1　げっ歯類における反復投与毒性

2.6.6.3.1.1　ラット 7 日間反復投与用量設定試験

参照項目 4.2.3.2.1　LOXO-101-TOX-014

SD ラットにラロトレクチニブを 7 日間強制経口投与した時の毒性及びトキシコキネティクスを評価した。

雌雄の SD ラットを 4 群に振り分け、溶媒（コーン油）で調製したラロトレクチニブの 0、15、50 及び 150mg/kg を 1 日 2 回（0、30、100 及び 300mg/kg/日）、1mL/kg の容量で投与した。試験デザインを表 2.6.6.3- 1 に示す。

表 2.6.6.3- 1 ラット 7 日間反復投与用量設定試験デザイン

Group	Subgroup	No. of Animals Male	Female	Dose Level (mg/kg/ dose)	Dose Level[1] (mg/kg/day)	Dose Concentration (mg/mL)
1 (Control)[2]	1 (Toxicity)	5	5	0	0	0
2 (Low)	1 (Toxicity)	5	5	15	30	15
	2 (Toxicokinetic)	6	6	15	30	15
3 (Mid)	1 (Toxicity)	5	5	50	100	50
	2 (Toxicokinetic)	6	6	50	100	50
4 (High)	1 (Toxicity)	5	5	150	300	150
	2 (Toxicokinetic)	6	6	150	300	150

1 Animals were dosed BID (12 hours ± 30 minutes apart based on the last dose time for each subgroup/sex during the first daily dose) at a volume of 1 mL/kg/dose.
2 Group 1 was given vehicle control article only (corn oil).

死亡、臨床症状、体重、体重増加量、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（肝臓のみ）結果に基づき、毒性を評価した。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.3- 2 に示す。また、肝臓のサンプルを採取し、酵素誘導を評価した。

ラロトレクチニブの曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は、15 から 150mg/kg BID まで用量に相関して増加した。C_{max} 及び AUC_{0-24} の増加は、概して用量比より大きかった。C_{max} 及び AUC_{0-24} の性差は、中及び高用量では 2 倍未満であったのに対し、低用量では雌の方が雄よりも 2 倍以上曝露が高かった。反復投与後に蓄積は認められなかった。中及び高用量の 7 日目の曝露量は、1 日目よりも低かった。

表 2.6.6.3- 2 血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}： 1 及び 7 日目

Dose (mg/kg BID)	Study Day	C_{max} (ng /mL) Male	Female	AUC_{0-24} (ng*h/mL)[1] Male	Female
15	1	296	692	2420	6280
	7	397	933	2660	6480
50	1	2260	2720	17160	22600
	7	1210	1070	7120	10700
150	1	16500	18400	109200	114000
	7	8910	8870	61600	109200

1 Doses were administered BID (approximately every 12 h); AUC_{0-24} calculated as two times AUC_{0-12}

150mg/kg BID 群の動物は、全例が 8 日目の計画剖検前に死亡するか、又は瀕死状態のため屠殺した。雄 1 例は瀕死状態のため 2 日目に屠殺し、他の 1 例は 5 日目に死亡が発見された。雌 1 例は瀕死状態のため 6 日目に屠殺した。死亡／屠殺例でみられた臨床症状は、喘鳴及び数例の不規則又は努力呼吸であった。1 例のトキシコキネティクス群の雄では、臨床症状がみられなかったが 5 日目に死亡が発見された。また、1 例のトキシコキネティクス群の雌は、喘鳴及び不規則呼吸がみられたため、7 日目に屠殺した。死亡例が発生し、喘鳴が継続的にみられたため、150mg/kg BID 群の残りの動物を 7 日目に屠殺した。死亡及び瀕死状態の原因は特定できなかった。0、15 及び 50mg/kg BID 群は最終投与翌日の計画剖検まで全例が生存した。150mg/kg BID 群でみられた被験物質投与に関連した臨床症状は、喘鳴、不規則及び努力呼吸であった。15 及び 50mg/kg BID 群に、被験物質投与に関連した臨床症状は認められなかった。

15mg/kg BID 以上の群の雌及び 150mg/kg BID 群の雄で、被験物質投与に関連した体重及び体重増加量の増加が観察された。摂餌量は、150mg/kg BID 群で、1 日目から 7 日目にかけて増加傾向がみられた。

表 2.6.6.3- 3 に示すとおり、50mg/kg BID 群の雌で、CYP3A 及び CYP4A 活性の増加（それぞれ、対照群の約 5.0 及び 2.0 倍）が観察された。15 及び 50mg/kg BID 群のミクロゾーム蛋白量、総 CYP450 量、並びに CYP1A、CYP2B、CYP2E 及び UDPGT 活性には、対照群との間に差はなかった。

表 2.6.6.3- 3　肝ミクロゾーム分画における肝酵素誘導

Parameter	Group (five animals/sex) Dose Level (mg/kg BID) Sex	Percent of Control 2 15 Male	 Female	 3 50 Male	 Female
Protein yield		93.3	85.5	97.2	89.7
Total cytochrome P450 content (CYP450)		74.3	161	72.3	131
Ethoxyresorufin O-deethylase (CYP1A)		72.8	88.1	85.7	71.3
Pentoxyresorufin O-dealkylase (CYP2B)		77.6	88.4	83.1	72.8
Testosterone 6β-hydroxylase (CYP3A)		78.6	86.3	81.1	500*
Lauric acid 11-hydroxylase (CYP2E)		105	109	94.7	118
Lauric acid 12-hydroxylase (CYP4A)		141	164	145	196*
Uridine diphosphoglucuronosyltransferase (UDPGT-4-MU)		102	105	106	88.8

* Notable change (≥ 2-fold increase) or marked changed (≥ 4-fold increase) to the vehicle control values.

8 日目の臨床病理検査では、50mg/kg BID 群にラロトレクチニブ投与に関連した変化がみられた。50mg/kg BID 群の雌で、APTT の軽度な短縮がみられた。50mg/kg BID 群の雌で、BUN の軽度な増加が、雄でカリウムの軽度な減少が認められた。50mg/kg BID 群の雄で、中性脂肪の軽度な増加がみられた。50mg/kg BID 群の血液学的検査では、ラロトレクチニブ投与に関連した変化はなく、15mg/kg BID 群の臨床病理検査で影響はみられなかった。

150mg/kg BID 群で瀕死状態のため 7 日目に屠殺した 3 例の雄及び 4 例の雌でみられたラロトレクチニブ投与に関連する可能性のある臨床生化学的変化は、多くの動物における BUN の軽度な増加及び全動物におけるカリウムの軽度な減少であった。これらの変化は、瀕死状態の影響の可能性が考えられた。

50mg/kg BID 群の雌雄及び 15mg/kg BID 群の雌でみられた肝臓重量増加は、門脈周囲から中間帯の肝細胞空胞化の発現頻度及び程度の増加と関連していた。50mg/kg BID 群の雄の脾臓重量増加も、ラロトレクチニブ投与に関連した変化と考えられた。

計画又は途中剖検例に、ラロトレクチニブ投与に関連した肉眼的所見は認められなかった。

被験物質投与に関連した、肝臓の病理組織学的所見として、150mg/kg BID 群の雌雄各 3／5 例及び 50mg/kg BID 群の雄 1 例に、軽微～軽度の単巣性及び多巣性の被膜下の肝細胞変性／壊死がみられた。これらの肝臓の所見は、一般的に対照動物にも観察される所見である。軽微～軽度の門脈周囲から中間帯の肝細胞空胞化は対照動物の数例にもみられたが、15 及び 50mg/kg BID 群では、全例に軽微～中等度の肝細胞空胞化が観察された。15 及び 50mg/kg BID 群の肝臓にみられた、肝細胞空胞化の病理組織学的所見の発現頻度及び程度の増加は、被験物質投与に関連した変化と考えられた。血清肝酵素の増加はみられないことから、肝細胞の空胞化は毒性ではないと判断した。本所見は、150mg/kg BID 群には観察されなかった。

NOAEL は 50mg/kg BID と判断され、同用量の 7 日目の C_{max} は雄が 1210ng/mL、雌が 1070ng/mL、AUC_{0-24} は雄が 7120ng*h/mL、雌が 10700ng*h/mL であった。

2.6.6.3.1.2　ラット 28 日間反復投与用量設定試験

参照項目 4.2.3.2.2　LOXO-101-TOX-002

SD ラットにラロトレクチニブを 28 日間強制経口投与した時の毒性及びトキシコキネティクスを評価した。

雌雄の SD ラットを 4 群に振り分け（主群及びトキシコキネティクス群：雌雄各 3 例／群）、溶媒（Labrafac™ Lipophile WL 1349）で調製したラロトレクチニブの 0、10、30 及び 100mg/kg を 1 日 2 回（0、20、60 及び 200mg/kg/日）、1mL/kg の容量で投与した。

死亡、臨床症状、体重、体重増加量、摂餌量、神経行動評価、臨床病理検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査（皮膚、坐骨神経、膵臓、腎臓、脾臓、肝臓、胸腺、肺及び心臓）、神経病理学的検査（脊髄及び脳）結果に基づき、毒性を評価した。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。トキシコキネティクスパラメータを、表 2.6.6.3- 4 に示す。曝露量は、用量に伴って増加した。

表 2.6.6.3- 4　血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24} ：1 及び 28 日目

Dose (mg/kg BID)[1]	Study Day	C_{max} (ng /mL)		AUC_{0-24} (ng*h/mL)[2]	
		Male	Female	Male	Female
10	1	680	420	4200	3800
	28	1100	1100	4200	7200
30	1	560	4400	5600	16800
	28	4700	6900	20000	25400
100	1	1900	4000	14200	27600
	28	11400	16000	53600	89600

[1] Doses were administered BID (approximately every 12 h)

[2] AUC_{0-24} calculated as two times AUC_{0-12}

すべての動物が、投与期間終了時まで生存した。ラロトレクチニブ投与に関連した臨床症状は、全用量群にみられた皮膚病変（頭頸部のびらん）のみであった。皮膚病変は雌でより重篤であった。病変は 11 日目からみられ、22 日目に病変の広がりはピークを迎え、28 日目までには回復傾向を示した。

ラロトレクチニブ投与に関連した神経行動学的変化はみられなかった。

用量に依存し、ラロトレクチニブ投与に関連した統計学的に有意な体重増加量の増加が 30mg/kg BID 以上でみられ、摂餌量の増加に関連していた。

ラロトレクチニブ投与に関連した血液学的変化として、100mg/kg BID 群の雌雄で赤血球量パラメータの減少が認められた。単球の軽度な増加が 100mg/kg BID 群の雌雄で観察された。

ラロトレクチニブ投与に関連した血清生化学的変化として、雌雄の用量依存性のアルブミン減少がみられた。100mg/kg BID 群の雄でみられたコレステロール増加は、摂餌量の増加に関連していた。

心臓及び肝臓に、ラロトレクチニブ投与に関連した重量増加が観察された。肝臓重量の増加は、100mg/kg BID 群の雌雄に、また心臓重量の増加は 10mg/kg BID 以上の群の雌に認められた。これらの臓器重量の増加に関連する病理組織学的所見はみられなかった。

病理組織学的所見は、皮膚、肝臓、脾臓及び膵臓に認められた。臨床症状として観察された頭頸部の皮膚のびらんに関連する病理組織学的所見として、表皮から真皮にかけて拡がる重度の慢性炎症が 100mg/kg BID 群の雌雄及び 30mg/kg BID 群 1 例の雌に認められた。肝細胞の脂肪の変化（中等度）及び脾臓の髄外造血の軽度な増加が、100mg/kg BID 群の雌雄で認められた。30mg/kg BID 群（雌 1 例）の膵臓に、軽度で限局性の亜急性の炎症が膵管周囲に認められた。この所見の発現頻度は低く、毒性学的意義は不明であった。膵臓の病理組織学的所見は、その後の反復投与毒性試験でも観察された。

2.6.6.3.1.3 ラット 42 日間反復投与予備試験

参照項目 4.2.3.2.3 LOXO-101-TOX-012

SD ラットにラロトレクチニブを 42 日間強制経口投与した時の毒性及びトキシコキネティクスを評価した。この試験では、ラロトレクチニブ投与群は他の開発品の比較対照群として設定された。本章では、ラロトレクチニブ投与群及びその溶媒対照群の成績を記載する。

雌の SD ラットを 2 群に振り分け（主群及びトキシコキネティクス群：3 例／群）、溶媒（Labrafac™ Lipophile WL 1349）で調製したラロトレクチニブの 0 及び 100mg/kg を 1 日 2 回（0 及び 200mg/kg/日）、1mL/kg の容量で投与した。

死亡、臨床症状、体重、摂餌量、臨床病理検査、剖検及び病理組織学的検査結果を評価した。ロータロッドを用いて、1、7、9、16、23、30 及び 37 日目に、神経筋機能を検査した。ロータロッドの成績は、2.6.2.4.1.2 に示す。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。トキシコキネティクスパラメータを、表 2.6.6.3- 5 に示す。

表 2.6.6.3- 5 血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}：1 及び 42 日目

Dose (mg/kg BID)[1]	Study Day	C_{max} (ng /mL)	[2]AUC_{0-24} (ng*h/mL)
100	1	5640	51600
	42	8030	49600

[1] Doses were administered BID (approximately every 12 h)
[2] AUC_{0-24} calculated as two times AUC_{0-12}

全動物が投与期間終了時まで生存した。ラロトレクチニブ投与に関連した臨床症状は、頭頸部の皮膚のびらんのみであった。皮膚病変は 9 日目からみられ、投与の継続と共に重篤度が増加した。ラロトレクチニブ投与に関連した有意な体重増加量（3～42 日目）の増加が観察され、摂餌量の増加を伴っていた。体重増加率は、対照群の 18%に対し、ラロトレクチニブを投与したラットでは 60%であった。

ラロトレクチニブ投与に関連した血液学的変化として、赤血球量パラメータの有意な減少が認められた。統計学的に有意な単球、好中球及び血小板の軽度な増加がみられた。ラロトレクチニブ投与に関連した血清生化学的変化として、アルブミン及び総蛋白の統計学的に有意な減少が認められた。

ラロトレクチニブ投与に関連した臓器重量の増加が、心臓、肝臓及び腎臓に認められた。臓器重量の増加に関連した病理組織学的所見はみられなかった。脾臓に髄外造血の軽度な増加がみられた。

2.6.6.3.1.4 ラット4週間回復性評価を伴う4週間反復経口投与毒性試験

参照項目 4.2.3.2.4 LOXO-101-TOX-003

SD ラットにラロトレクチニブを 4 週間強制経口投与した時の毒性及びトキシコキネティクスを評価し、4週間休薬後の毒性変化の可逆性、持続性及び遅発性の影響を検討した。

雌雄の SD ラットを 4 群に振り分け、溶媒（Labrafac™ Lipophile WL 1349）で調製したラロトレクチニブの 0、10、30 及び 100mg/kg を 1 日 2 回（0、20、60 及び 200mg/kg/日）、1mL/kg の容量で投与した。試験デザインを表 2.6.6.3- 6 に示す。

表 2.6.6.3- 6 ラット4週間反復投与試験デザイン

Group	Subgroup[2]	No. of Animals		Dose Level (mg/kg/dose)	Dose Level[1] (mg/kg/day)	Dose Concentration (mg/mL)
		Male	Female			
1 (Control)[3]	1 (Toxicity)	15	15	0	0	0
	2 (Toxicokinetic)	5	5	0	0	0
2 (Low)	1 (Toxicity)	15	15	10	20	10
	2 (Toxicokinetic)	10	10	10	20	10
3 (Mid)	1 (Toxicity)	15	15	30	60	30
	2 (Toxicokinetic)	10	10	30	60	30
4 (High)	1 (Toxicity)	15	15	100	200	100
	2 (Toxicokinetic)	10	10	100	200	100

1 Animals were dosed BID (12 hours ± 15 minutes apart based on the last dose time for each subgroup/sex during the first daily dose) at a volume of 1 mL/kg/dose.
2 Ten animals/sex/group were terminated on Day 28/29 and the remaining five animals were terminated on Day 56 following the recovery period.
3 Group 1 was given vehicle control article only.

死亡、臨床症状、体重、体重増加量、摂餌量、眼科学的検査、神経行動学的検査、臨床病理検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査結果に基づき、毒性を評価した。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.3- 7 に示す。

雄に比べ、雌で約 2 倍の曝露（C_{max} 及び AUC）が認められた。投与量の増加に伴う曝露の増加傾向がみられ、AUC_{tau} 及び C_{max} は、投与初日（0 日目）は用量に比例したが、27 日目は用量比を上回った。30 及び 100mg/kg BID 群に蓄積性がみられた。

表 2.6.6.3- 7 血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}：0 及び 27 日目

Dose (mg/kg BID)[1]	Study Day	C_{max} (ng /mL)		AUC_{0-24} (ng*h/mL)	
		Male	Female	Male	Female
10	0	577	1200	4000	12420
	27	653	852	5600	11300
30	0	1720	3440	14140	36000
	27	4590	6100	23800	43200
100	0	5820	11200	59000	114200
	27	11300	19100	118200	198400

1 AUC_{0-24} value was obtained by multiplying AUC_{tau} (AUC_{0-12}) by 2.

4 日目に 100mg/kg BID 群の雌 1 例を瀕死状態のため安楽死させた。20 日目に 100mg/kg BID 群においてトキシコキネティクス用の雌 1 例の死亡が発見され、1 例を瀕死状態のため安楽死させた。これらの死亡／安楽死は投与過誤によるものであった。

他の動物における臨床症状として、流涎が投与後約 30 分間継続的に観察され、用量に依存して増加した。30mg/kg BID 群で 8 日目（雌雄）及び 16 日目（雌）に、また 100mg/kg BID 群の全例で 7 日目以降、当日の初回投与後 30 分間、自発運動の増加がみられた。脱毛や痂皮は、溶媒対照群の雌 3 例にも認められたが、皮膚病変（痂皮、びらん、脱毛、鼻の赤色腫脹化）の発現頻度は投与群動物で高く、用量に依存していた。皮膚病変は、主に 14 日目からみられた。更に、被毛の汚れや色素沈着がラロトレクチニブ投与群、特に雌の頸部、頭部、前肢、腹部及び／又は背部に認められた。他のラロトレクチニブ投与に関連した臨床症状は、100mg/kg BID 群の雌雄各 1 例における喘鳴及び呼吸困難であった。30mg/kg BID 群の雄全例及び 100mg/kg BID 群の雌雄全例にみられた糞量の増加は、摂餌量の増加に関連していた。

用量に相関した有意な、体重増加量（表 2.6.6.3- 8）及び摂餌量の増加が、全用量群で認められ、雌の方が影響が大きかった。摂餌量の減少及び体重減少が休薬期間中にみられた。雌の体重は、休薬期間終了後も全用量群で対照群に比べてやや高かった。

表 2.6.6.3- 8　体重増加量

Group (mg/kg BID)	Mean Body weight (g) (Day 27)		% Gain[1] (Dosing Phase Days 0-27)		Mean Body Weight (g) (Day 55)		% Gain[1] Recovery Phase (Days 27-55)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
1 (0)	426.5	255.9	56.0	48.7	512.0	272.6	19.7	9.0
2 (10)	457.6**	282.7**	66.1	62.9	523.5	295.5	12.8	-1.2
3 (30)	491.0**	324.9**	77.6	89.0	515.9	291.4	6.5	-9.2
4 (100)	541.1**	372.4**	97.5	118.8	532.6	307.3*	-2.5	-19.8

[1] % gain = % body weight gain between base period (Day 0) and end of dosing phase or recovery phase. Statistics done for body weights - *p ≤ 0.05 and **p ≤ 0.01

ラロトレクチニブ投与に関連した眼科学的所見はみられなかった。神経行動学的検査における、唯一のラロトレクチニブ投与に関連した変化として、ラロトレクチニブ投与群に体重増加に関連した軽度な握力の増強がみられた。

ラロトレクチニブ投与に関連する血液学的変化として、統計学的に有意な赤血球量パラメータの減少が、14 及び 28/29 日目に雌雄で、また網状赤血球数の増加が 14 日目の雌雄及び 28 日目の雄に認められた。網状赤血球数の増加は、赤血球量減少に対する再生反応を示唆していた。骨髄に病理組織学的所見はみられなかった。また、雄の全用量群に、白血球数の軽度な減少と関連するリンパ球の減少がみられた。有意な単球の増加が、14 日目に 100mg/kg BID 群の雄及び 10mg/kg BID 以上の群の雌、29 日目に 100mg/kg BID 群の雌に観察された。いずれの血液学的変化も、休薬期間終了時に回復していた。

ラロトレクチニブ投与に関連した PT 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、14 日目及び 28/29 日目に認められた。臨床的に出血性障害はみられなかった。フィブリノーゲンの増加が、14 日目に 100mg/kg BID 群の雌雄で、投与期間終了時に 10mg/kg BID 以上の群の雌及び 30mg/kg BID 以上の群の雄にみられた。いずれの凝固系の変化も軽度であり、可逆性が認められた。

用量に依存した有意な BUN 及びクレアチニンの増加が、10mg/kg BID 以上の群の雌雄に認められた（表 2.6.6.3- 9）が、腎臓に病理組織学的所見はなかった。雄の 10mg/kg BID 以上及び雌の 30mg/kg BID 以上の群でみられたコレステロールの増加は、摂餌量の増加に関連していた。100mg/kg BID 群の雄のコレステロールの増加を除き、いずれの変化も休薬期間終了時に回復していた。

表 2.6.6.3- 9 BUN 及びクレアチニン：28/29 日目

Parameter	Controls- 0 mg/kg BID		10 mg/kg BID		30 mg/kg BID		100 mg/kg BID	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
BUN (mmol/L)	3.97	5.76	4.69**	6.55*	4.96**	6.81**	5.47**	8.10**
	(0.17)	(0.63)	(0.48)	(1.03)	(0.73)	(0.85)	(0.69)	(1.16)
Difference from controls			+18%	+14%	+25%	+18%	+38%	+41%
Creatinine (micromoles/L)	38.2	44.7	44.4**	52.0**	49.0**	53.4**	55.0**	54.7**
	(2.1)	(2.2)	(2.9)	(4.7)	(6.7)	(1.6)	(4.6)	(5.2)
Difference from controls			+16%	+16%	+28%	+19%	+44%	+22%

* $p \leq 0.05$
** $p \leq 0.01$; Standard deviation in parentheses

アルブミンの減少が 10mg/kg BID 以上の群の雌及び 30mg/kg BID 以上の群の雄で認められた（表 2.6.6.3- 10）。用量に依存したグロブリンの増加が、30mg/kg BID 以上の群の雌及び 100mg/kg BID 群の雄にみられ、アルブミン／グロブリン比が低下した。その他、ALT の増加（対照群の 2 倍未満）が、30mg/kg BID 以上の群の雌及び 100mg/kg BID 群の雄にみられた。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。

表 2.6.6.3- 10 血清アルブミン：28/29 日目

Mean Serum Albumin (g/L)							
Controls- 0 mg/kg BID		10 mg/kg BID		30 mg/kg BID		100 mg/kg BID	
Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
32.07	35.08 (2.13)	31.24	32.81**	30.36**	33.07**	28.04**	32.10**
(0.98)		(1.95)	(2.28)	(1.31)	(1.44)	(1.02)	(1.18)
Difference from controls		-3%	-6%	-5%	-6%	-13%	-8%

** $p \leq 0.01$; Standard deviation in parentheses

尿量が 30mg/kg BID の雌（28 日目）及び 100mg/kg BID の雌雄（14 及び 28 日目）で軽度に増加した。29 日目には、高用量群の雌で尿量は約 2 倍であった。休薬期間終了時に、尿量の変化は完全に回復していた。

剖検で、ラロトレクチニブ投与群の肝臓において病理組織学的検査で認められた門脈周囲の脂肪の存在に起因すると考えられる斑点がみられた。ラロトレクチニブ投与群の皮膚（頸部、肩部及び前肢）にびらん／痂皮がみられた。

ラロトレクチニブ投与に関連する臓器重量の変化として、肝臓（表 2.6.6.3- 11）、甲状腺、心臓（表 2.6.6.3- 12）及び脾臓重量の増加、並びに子宮重量の減少が認められた。休薬期間終了時に、臓器重量の変化には回復性がみられた。肝臓重量のすべてのパラメータ（絶対重量、対体重重量及び対脳重量）が用量に依存して増加した。心臓の絶対重量及び対脳重量に増加又は増加傾向が認められたが、重量増加に関連する病理組織学的所見はみられなかった。

表 2.6.6.3- 11 絶対及び相対肝臓重量：28/29 日目

Group (mg/kg BID)	Absolute Liver Weight (g)		Liver Weight to Body Weight (%)		Liver Weight to Brain Weight (%)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
1(0)	14.03	8.30	3.62	3.60	659	432
2(10)	15.04	9.15*	3.64	3.75	737	477
Difference from controls			+0.6%	+4.0%	+12%	+10%
3(30)	18.66**	11.90**	4.15**	4.07**	878	630
Difference from controls			+15%	+13%	+33%	+46%
4(100)	23.83**	16.93**	4.91**	5.11**	1139	857
Difference from controls			+36%	+42%	+73%	+98%

*p ≤ 0.05 and **p ≤ 0.01; No statistics were done on relative liver-to-brain weight as Loxo Oncology calculated % difference from controls only.

表 2.6.6.3- 12 絶対及び相対心臓重量：28/29 日目

Group (mg/kg BID)	Absolute heart weight (grams)		Heart weight to body weight (%)		Heart weight to brain weight (%)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female
1 (0)	1.34	0.910	0.346	0.393	62.9	47.2
2 (10)	1.42*	0.967	0.344	0.397	69.7	50.4
Difference from controls			+0.58%	+1.02%	+10.6%	+6.3%
3 (30)	1.59**	1.14**	0.354	0.390	75.0	60.3
Difference from controls			+2.31%	-0.76%	+19.2%	+27.3%
4 (100)	1.71**	1.26**	0.354	0.382	81.8	63.6
Difference from controls			+2.31%	-2.80%	+30.1%	+35%

*p ≤ 0.05 and **p ≤ 0.01. No statistics were done on relative heart to brain weight as Loxo Oncology calculated % difference from controls only.

主要な病理組織学的所見は次の臓器／組織に認められた：〔褐色脂肪細胞、肝臓、唾液腺、皮膚、脾臓〕（雌雄）、膵臓（雄）、雌性生殖器、甲状腺（雌）及び乳腺（雌）。

軽微～中等度の褐色脂肪細胞空胞化が、全用量群の雄及び 30mg/kg BID 以上の群の雌にみられた。肝臓重量増加に関連した変化として、30mg/kg BID 以上の群の雌及び 100mg/kg BID 群の雄に、軽微～軽度の小葉中心性肝細胞肥大が観察された。門脈周囲の脂肪細胞空胞化が対照群を含む全群で認められ、ラロトレクチニブ投与群では用量に依存して程度が増加した。対照群を含む全群の雌で肝細胞の単細胞壊死が認められ、30mg/kg BID 以上の群で発現頻度及び程度が軽度に増加した。30mg/kg BID 以上の群の雌雄でみられた唾液腺の軽微～軽度のびまん性腺房細胞肥大は、流涎に起因すると考えられた。皮膚の臨床的及び肉眼的所見は、限局性皮膚炎及び表皮過形成と関連していた。表皮の痂皮及び／又は潰瘍は、ラロトレクチニブ投与群にのみ観察された。脾臓の髄外造血が、10mg/kg BID 以上の群の雄及び 30mg/kg BID 以上の群の雌に認められ、皮膚炎症の二次的変化と考えられた。膵臓で、軽微～中等度のチモーゲン顆粒のびまん性減少が、主に 100mg/kg BID 群の雌雄の腺房細胞にみられた。100mg/kg BID 群の雄で、膵臓の外分泌部の軽微～重度の限局性炎症及び軽度な限局性の腺房細胞萎縮がみられた。子宮重量減少に関連した子宮萎縮が 100mg/kg BID 群にみられた。加えて 30mg/kg BID 以上の群で、黄体数減少及び発情休止期頻度の増加が認められた。甲状腺重量の増加は、100mg/kg BID 群の雌でみられた濾胞上皮のびまん性肥大の増加と関連していた。100mg/kg BID 群の雌では、乳腺の軽微なびまん性過形成の発現頻度が増加した。

次の組織の病理組織学的所見は、4 週間の休薬期間終了時に完全、又は部分的に回復していた。完全回復：褐色脂肪、雌性生殖器、肝臓（雄）、唾液腺（雌）、皮膚及び脾臓（雌）、部分的回

復（4 週間休薬期間後の発現頻度及び程度の低下）：肝臓（雌）、膵臓（雌雄）、唾液腺（雄）、脾臓（雄）、乳腺（雌）及び甲状腺（雌）。

本試験で認められた特記すべき所見として、造血組織、褐色脂肪、肝臓、心臓、唾液腺、皮膚、膵臓、雌性生殖器、乳腺及び甲状腺の変化が挙げられる。一般的に、これらの組織の影響は休薬期間中に回復していた。成績を総括すると、低用量から認められた皮膚の所見に基づき、NOAEL は 10mg/kg BID（20mg/kg/日）未満と結論された。同用量の 27 日目の C_{max} は、雄で 653ng/mL、雌で 852ng/mL、AUC_{0-24} は雄で 5600ng*h/mL、雌で 11300ng*h/mL であった。最高用量の 100mg/kg BID は、STD_{10} と判断した。同用量の定常状態の AUC_{0-24} は、雄で 118200ng*h/mL、雌で 198400ng*h/mL であった。

2.6.6.3.1.5 ラット 4 週間回復性評価を伴う 13 週間反復経口投与毒性試験

参照項目 4.2.3.2.5 LOXO-101-TOX-018

SD ラットにラロトレクチニブを 13 週間強制経口投与した時の毒性及びトキシコキネティクスを評価し、4 週間休薬した後の毒性変化の可逆性、持続性及び遅発性の影響を検討した。

雌雄の SD ラットを 4 群に振り分け、群番号 2～4 の動物には、溶媒（コーン油）で調製したラロトレクチニブを、雄は 0（溶媒対照）、7.5（低用量）、25/17.5（中用量）及び 75/50/37.5mg/kg BID（高用量）の用量で、雌は 0、7.5/5（低用量）、25/10（中用量）及び 75/50/20mg/kg BID（高用量）の用量で、1mL/kg の容量で投与した。試験デザインを表 2.6.6.3-13 に示す。

表 2.6.6.3- 13 ラット 13 週間反復投与試験デザイン

Group	Subgroup	No. of Animals[1,2]		Dose Level (mg/kg/dose)		Dose Level (mg/kg/day)	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
1 (Control)[3]	1 (Toxicity)	15	15	0	0	0	0
	2 (Toxicokinetic)	3	3	0	0	0	0
2 (Low)	1 (Toxicity)	15	15	7.5	7.5/5[4]	15	15/10[4]
	2 (Toxicokinetic)	9	9	7.5	7.5/5[4]	15	15/10[4]
3 (Mid)	1 (Toxicity)	15	15	25/17.5[5]	25/10[6]	50/35[5]	50/20[6]
	2 (Toxicokinetic)	9	9	25/17.5[5]	25/10[6]	50/35[5]	50/20[6]
4 (High)	1 (Toxicity)	15	15	75/50/37.5[7]	75/50/20[8]	150/100/75[7]	150/100/40[8]
	2 (Toxicokinetic)	9	9	75/50/37.5[7]	75/50/20[8]	150/100/75[7]	150/100/40[8]

1 Animals were dosed twice daily (12 hours ± 30 minutes apart based on the last dose time for each subgroup/sex during the first daily dose). The dose was volume of 1 mL/kg/dose, with a few exceptions on transition days.
2 Animals designated for terminal necropsy (10 animals/sex/group, dependent on survival) underwent 91 days of dosing. Animals designated for recovery necropsy (five/sex/group, depending on survival) underwent 91 days of dosing followed by 28 days of recovery.
3 Group 1 was administered vehicle control article (corn oil) only.
4 Days: 1-42 AM/ 42 PM-91
5 Days: 1-52/53-91
6 Days: 1-42 AM/ 42 PM-91
7 Days: 1-29 AM/ 29 PM-52/ 53-91
8 Days: 1-23 AM/ 27-42 AM/42 PM-91 (Note: dosing holiday Day 23 PM through Day 26)
Footnotes 4 through 8 are all days based on the male initiation

中及び高用量群で重篤な皮膚病変が進行したため、試験デザイン（表 2.6.6.3- 13）に示すとおり、投与量を減量した。高用量群の雄は 29 日目の午後から、雌は 27 日目に 50mg/kg BID に減量した。雌では、減量に先んじて 23 日目の午後から 26 日目にかけて休薬した。その後、42 日

目の午後に雌の中用量を 10mg/kg BID に、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 日目の午後に 5mg/kg BID に減量した。53 日目に雄の中用量を 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は、重篤な皮膚病変のため獣医師が抗炎症鎮痛薬及び／又は抗生物質で治療した。

死亡、臨床症状、体重、体重増加量、摂餌量、眼科学的観察、FOB、自発運動量、精子検査、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基づき、毒性を評価した。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.3- 14 に示す。

雌の曝露は雄に比べて高く（1 日目）、C_{max} 及び AUC_{0-24} に 2 倍以上の性差が認められた。42 日目から、雄には雌より高い用量のラロトレクチニブが投与された。曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は、1 日目雌雄の 7.5～75mg/kg BID、91 日目雌の 5～20mg/kg BID 及び 91 日目雄の 7.5～37.5mg/kg BID で、用量に伴って増加した。1 日目において、雌雄のラロトレクチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} は、概して用量に比例していた。91 日目の雄においては、曝露量の増加は用量比よりも大きく、雌では概して用量に比例していた。雄ラットに 7.5mg/kg BID の用量で反復投与した時、ラロトレクチニブの蓄積は観察されなかった。

表 2.6.6.3- 14　血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}：1 及び 91 日目

Interval (Day)	Dose Group	Dose Level		Sex	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (ng*h/mL)
		(mg/kg/dose)	(mg/kg/day)			
1	2	7.5	15	M	370	1380
				F	1180	5910
	3	25	50	M	980	5910
				F	3440	14400
	4	75	150	M	3410	21900
				F	8940	62700
91	2	7.5	15	M	433	2250
		5	10	F	500	3060
	3	17.5	35	M	2180	11000
		10	20	F	1410	6520
	4	37.5	75	M	5510	36700
		20	40	F	2230	14400

投与期間中、中及び高用量群で、9 例の被験物質投与に関連した死亡／安楽死（毒性動物 8 例及びトキシコキネティクス動物 1 例）が発生した。7 例の瀕死動物のうち 6 例は、皮膚病変が治癒しなかったために安楽死させた。残りの 1 例は、眼の蒼白化、触診による体温低下及び歯周囲の血餅などがみられたため、安楽死させた。2 例の高用量群の雄で、死亡が発見された。これら 2 例の雄動物のうち 1 例には、皮膚病変に対する獣医学的治療が施されていたが、他の 1 例に前兆となるような臨床症状はみられなかった。死亡が発見された 2 例の死因は特定できなかったが、1 例の主因は潰瘍性の皮膚病変と考えられた。

被験物質投与に関連した臨床症状として、中及び高用量群の動物数例で顔面及び上半身の痂皮がみられた。いくつかの痂皮は開放創に進行した。前述のとおり、重篤な病変のため、用量を減量し、影響がみられた動物は休薬した。これらの動物に対しては、獣医師が検査し、抗炎症鎮痛薬及び／又は抗生物質により治療した。数例は回復したが、他は完全に回復しないか、開放創が再発したため、動物福祉の観点から安楽死させた。

FOB において、全用量群の雌の各 1 例で、その他の異常行動として挙尾（中等度）が認められた。自発運動量に影響はなかった。

本試験においては、先に実施済みのラット反復投与試験で過食がみられたため、ラロトレクチニブ投与群各動物への連日の給餌量が、対照群における前日の摂餌量の約 120±5%となるよう、摂餌制限を行った。全用量群の雄、並びに中及び高用量群の雌において、摂餌量の増加に関連した体重及び体重増加量の増加（特に高用量群の雄：表 2.6.6.3- 15）が認められた。体重増加量及び摂餌量の減少が、休薬期間の 1 週目にみられた。総じて、摂餌量制限は効果的で、体重の増加は有害なものではなかった。

表 2.6.6.3- 15　体重の推移

Group (mg/kg BID)	Mean Body Weight (g) (Day 91)		% Gain[1] (Dosing Phase Days 1-91)		Mean Body Weight (g) (Day 28[2])		% Gain[1] Recovery Phase (Days 1-28)	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
1 (control)	649	325	79	34	651	351	8	10
2 (low)	665	315	86	33	682	319	3	6
3 (mid)	708*	339	96*	42	659	326	0	3
4 (high)	769*	374*	116*	58*	743	373	-4	1

[1] % gain = % body weight gain between base period (Day 1 of dosing phase or recovery phase) and end of dosing phase or recovery phase. [2]Day 28 of recovery. Statistics done for body weights - *p ≤ 0.05

投与期間終了時及び休薬期間終了時の剖検において、いずれの群でも精子数、密度、運動性及び形態へのラロトレクチニブ投与に関連した影響は認められなかった。加えて、精子形成ステージへの影響は観察されなかった。

ラロトレクチニブ投与の臨床病理検査への影響は、ほとんどの途中剖検例にみられ、また計画剖検動物に観察されたラロトレクチニブ投与の影響と同様か、数例ではより重度であった。

36 及び 92 日目における、血液学的検査及び凝固系検査におけるラロトレクチニブの影響は軽度であり、休薬期間終了時にはみられず、進行性ではなかった。低用量から赤血球量パラメータの減少がみられ、この変化に対する初期の再生性造血反応として、中及び高用量群で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、高用量群の雄で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及び平均血小板容積の増加がみられた。これらの再生性の造血反応は、病理組織学的に脾臓及び／又は肝臓の髄外造血と関連していた。加えて、高用量群の雌でフィブリノーゲンの増加、中及び／又は高用量群で、好中球数、リンパ球数及び／又は単球数の増加による白血球数の増加が認められ、皮膚における炎症性病変に関連していると考えられた。全用量群の雄で、APTT 短縮が 92 日目に認められた。臨床的に出血性障害はみられなかった。

臨床生化学パラメータへのラロトレクチニブ投与の軽度な影響として、中及び／又は高用量群における血清グルコースの増加、中及び高用量雄におけるアルブミン減少（表 2.6.6.3- 16）及びアルブミン／グロブリン比の減少、中及び高用量群の雌におけるアルブミンの減少とグロブリンの増加並びにアルブミン／グロブリン比の減少が観察された。血清蛋白の変動は、炎症性反応を示唆するもので、血液学的及び凝固系検査結果と同様に、臨床的及び病理組織学的に認められた皮膚病変に関連すると考えられた。リンパ球数減少（瀕死動物のみ）及び／又は血清グルコースの増加は、ストレス反応を示唆するものと考えられた。尿検査において、高用量群の雌に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所見はみられなかった。

表 2.6.6.3- 16 血清アルブミン：92 日目

Mean Serum Albumin (g/dL) – Day 92							
Controls- 0 mg/kg BID		7.5 mg/kg BID	7.5/5 mg/kg BID	25/17.5 mg/kg BID	25/10 mg/kg BID	75/50/37.5 mg/kg BID	75/50/20 mg/kg BID
Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
4.2 (0.16)	5.7 (0.32)	4.0 (0.18)	5.7 (0.46)	3.8* (0.24)	5.3 (0.52)	3.8* (0.21)	5.0* (0.76)
Difference from controls				-10%	-7%	-10%	-12%

*:p ≤ 0.05; Standard deviation in parentheses.

ラロトレクチニブ投与に関連した、臨床病理検査結果への影響は、軽度で、非進行性であり、休薬期間終了時には回復しており、毒性ではないと判断した。なお、用量の減量及び個々の動物における休薬や抗炎症鎮痛薬及び／抗生物質による治療が、臨床及び解剖病理所見に影響した可能性がある。

胸腺重量が高用量群の雄で増加したが、関連する病理組織学的所見はなかった。脾臓重量が、中及び高用量群の雌雄で増加し（表 2.6.6.3- 17）、中及び高用量群の雌では病理組織学的な髄外造血の増加に関連していた。肝臓重量増加（表 2.6.6.3- 17）は、中及び高用量群でみられた肝臓の髄外造血及び門脈周囲の微小胞性肝細胞空胞化と関連していた。休薬期間終了時には、臓器重量の変化は認められなかった。

表 2.6.6.3- 17 肝臓及び脾臓重量：剖検時

Sex	Larotrectinib							
	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/dose)	0	7.5	25/17.5	75/50/37.5	0	7.5/5	25/10	75/50/20
Liver								
Absolute Weight (g)	15.6012	107	118*	128*	8.3639	99	109	119*
Body Weight Ratio (%)	2.4683	106	106	107	2.7382	102	104	103
Brain Weight Ratio (%)	697.3262	108	117	132*	404.6049	100	112	120*
Spleen								
Absolute Weight (g)	0.8977	107	133*	152*	0.5258	102	120	142*
Body Weight Ratio (%)	0.1423	106	120	127*	0.1743	105	112	122
Brain Weight Ratio (%)	40.1961	108	131*	156*	25.5431	103	122*	144*

* Statistically significant difference (absolute or relative) compared with respective control mean value.
Note: Values for absolute weight and ratio of organ weights (relative to body or brain) for dosed groups expressed as percentage control mean value.

剖検時に認められた皮膚病変（痂皮又はびらん）は、被験物質を投与した動物にみられた臨床所見と一致していた。投与期間終了時には、雌雄の全用量群に病変がみられた。肉眼的所見は、表皮肥厚／過角化、潰瘍／びらん及び混合型細胞浸潤などの病理組織学的所見に関連していた。病変は、休薬期間終了時には、雌の全用量群及び雄の低用量群では回復した。雄の中及び高用量群では継続して認められ、部分的な回復性が示された。

中途安楽死／早期死亡例における病理組織学的所見は、投与期間終了時の計画剖検動物の所見に類似していた。中途安楽死例において、皮膚病変は動物の瀕死状態に強く影響していたことから、中及び高用量群の雌雄において毒性と判断した。更に、前述のとおり、皮膚病変は全用量群の雌雄の計画剖検動物に観察され、また用量増加に伴い、その程度が重症化する傾向があった。びらん／潰瘍が、低用量群の雄で認められたが、1 例のみの軽微な変化であり、毒性ではないと考えられた。

皮膚／皮下組織に関連する病理組織学的所見として脾臓及び肝臓における髄外造血、リンパ節におけるリンパ球過形成及び骨髄細胞過形成がみられた。これらは、炎症性皮膚病変の二次的な変化と考えられた。被験物質投与に関連した他の病理組織学的所見として、門脈周囲の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（macrovesiculation）、膵臓における膵島線維化、色素沈着及び出血、乳腺過形成がみられた。低頻度の滑膜過形成が、投与期間終了時及び休薬期間終了時剖検における雄の後膝関節に認められたが、この所見の被験物質投与との関連性は明確ではなかった。乳腺過形成は、休薬期間終了時に部分的な回復が認められた。

中及び高用量群における皮膚の所見に基づき、NOAEL は、低用量である 7.5mg/kg BID（雄）及び 7.5/5mg/kg BID（雌）であった。また、STD_{10} は、中用量である 25/17.5mg/kg BID（雄）及び 25/10mg/kg BID（雌）であった。NOAEL におけるラロトレクチニブの曝露量（91 日目の AUC_{0-24}）は、7.5mg/kg BID 投与時の 2250ng*h/mL（雄）及び 5mg/kg BID 投与時の 3060ng*h/mL（雌）であった。また、STD_{10} におけるラロトレクチニブの曝露量（91 日目の AUC_{0-24}）は、17.5mg/kg BID 投与時の 11000ng*h/mL（雄）及び 10mg/kg BID 投与時の 6520ng*h/mL（雌）であった。

2.6.6.3.2　非げっ歯類における反復投与毒性

2.6.6.3.2.1　サル 7 日間反復投与用量設定試験

参照項目：4.2.3.2.6　LOXO-101-TOX-015

カニクイザルにラロトレクチニブを 7 日間連日強制経口投与した時の毒性及びトキシコキネティクスを評価した。

雌雄のサルを 4 群に振り分け、溶媒（コーン油）に調製したラロトレクチニブの 0、25、75 及び 200mg/kg/日を、1mL/kg の容量で投与した。試験デザインを表 2.6.6.3- 18 に示す。

表 2.6.6.3- 18　サル 7 日間反復投与用量設定試験デザイン

Group	No. of Animals		Dose Level[1] (mg/kg/day)	Dose Concentration (mg/mL)
	Male	Female		
1 (Control)[2]	3	3	0	0
2 (Low)	3	3	25	25
3 (Mid)	3	3	75	75
4 (High)	3	3	200	200

1　Animals were dosed once daily at a volume of 1 mL/kg.
2　Group 1 was given vehicle control article only (corn oil).

死亡、臨床症状、摂餌量、体重、獣医師による検診、心拍数、体温、呼吸数、動脈血酸素濃度、血圧及び臨床病理検査に基づき、毒性を評価した。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.3- 19 に示す。

ラロトレクチニブの曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は、用量に伴って増加した。C_{max} 及び AUC_{0-24} の増加は、用量比よりも概して大きく、性差は 2 倍未満であった。反復投与後にラロトレクチニブの蓄積は、観察されなかった。7 日目の曝露量は、1 日目より概して低かった。

表 2.6.6.3- 19　血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}（雌雄平均）：1 及び 7 日目

Day	Group	Dose Level (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (ng*h/mL)
1	2	25	4660	16900
	3	75	31150	170500
	4	200	68250	567000
7	2	25	1755	4885
	3	75	13400	59300
	4	200	49600	373500

すべての動物が、投与終了翌日まで生存した。25 及び 75mg/kg/日群におけるラロトレクチニブの忍容性は概して良好であったが、200mg/kg/日群は良好ではなかった。

25mg/kg/日群において、被験物質投与に関連した臨床症状はみられなかった。

75 及び 200mg/kg/日群では、吐物又は嘔吐及び自発運動低下などの臨床症状がみられた。75mg/kg/日群で、自発運動低下及び液状便の頻度が増加し、200mg/kg/日群では、これらの症状が更に高頻度になり、吐物の頻度が増加した。200mg/kg/日群の雌 1 例では、1 日目に嘔吐の治療が必要であった。群として体重への影響は認められなかったが、200mg/kg/日群の雄 1 例で、血清ナトリウム及び塩素の軽度な低下を伴う、体重減少（1 日目の体重から 13%減少）が認められた。

動脈血酸素濃度の軽度な低下が、全用量で認められたが、臨床症状や血液学的検査における変化は軽微であることから、毒性ではないと考えられた。心拍数、体温及び呼吸数に顕著な変化はなかった。

8 日目の臨床病理検査において 75mg/kg/日以上の群の動物で、いくつかの臨床病理パラメータの変化がみられた。200mg/kg/日群の雌で赤血球量パラメータの減少、75mg/kg/日以上の群の動物で網状赤血球数及びアルブミンの減少、75mg/kg/日以上の群の雄及び 200mg/kg/日群の雌でリンの減少及びフィブリノーゲンの増加、並びに 200mg/kg/日群の雄 1 例で血清ナトリウム及び塩素の軽度減少がみられた。これらの変化は軽度であり、毒性ではないと考えられた。

本試験結果から、200mg/kg/日（コーン油で調製）は、7 日間を超える連日投与に対する忍容性がないことが示唆された。最大耐量である 75mg/kg/日群における、7 日目の曝露量（雌雄平均 C_{max} 及び AUC_{0-24}）は、それぞれ 13400ng/mL 及び 59300ng*h/mL であった。

2.6.6.3.2.2　サル 14 日間反復投与予備試験（1）

参照項目：4.2.3.2.7　LOXO-101-TOX-004

被験前歴のある雄カニクイザルにラロトレクチニブを 14 日間強制経口投与した時の毒性及びトキシコキネティクスを評価した。

雄のカニクイザルを 4 群（3 例／群）に振り分け、溶媒（Labrafac™ Lipophile WL 1349）で調製したラロトレクチニブの 0、30、100 及び 300mg/kg を 1 日 1 回、1mL/kg の容量で投与した。

死亡、臨床症状、体重、臨床病理検査、トロポニン（2 日目及び 15 日目）、FOB 評価（1 日目及び 14 日目）、剖検（各用量群の最初の動物）、病理組織学的検査（坐骨神経、肺、脳、腎臓、肝臓及び心臓）に基づき、毒性を評価した。剖検しなかった動物は、ストックコロニーへ移した。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.3- 20 に示す。

表 2.6.6.3- 20 血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}：1 及び 14 日目

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (ng /mL)	AUC_{0-24} (ng*h/mL)
30	1	823	6440
	14	494	5430
100	1	2730	31000
	14	4150	42200
300	1	20100	126000
	14	19800	144000

すべての動物が、投与終了時まで生存した。ラロトレクチニブ投与に関連する臨床症状は、300mg/kg/日群にみられ、摂餌低下、削痩及び体重減少であった。300mg/kg/日群の 14 日目の FOB で、次の症状が観察された：体温低下（2 例）、振戦（2 例）、円背位（2 例）及び麻痺（1 例）。振戦、円背位及び麻痺は有害であり、体温低下の二次的な影響の可能性があると考えられた。体重減少は、300mg/kg/日の全動物に認められた。1 例は 2 週目の終わりまでに、体重減少がほとんど回復したが、他の雄 2 例は試験前値に対し、体重が 12%及び 16%低下した。

ラロトレクチニブ投与に関連する臨床病理学的変化として、300mg/kg/日群の 15 日目に網状赤血球減少（-64%）、血小板増加（+45%）及びフィブリノーゲン増加（+51%）、並びに血清アルブミンの減少及びグロブリンの増加が認められた。

肉眼的検査で、異常所見はみられなかった。病理組織学的検査において、評価した組織に異常所見は認められなかった。

2.6.6.3.2.3 サル 14 日間反復投与予備試験（2）

参照項目：4.2.3.2.8 LOXO-101-TOX-005

雄カニクイザルにラロトレクチニブを 14 日間経鼻胃投与した時の忍容性に関する予備的な情報を得るために実施した。10 例の雄を 3 群（3 又は 4 例／群）に振り分け、溶媒（Labrafac™ Lipophile WL 1349）で調製したラロトレクチニブの 0、30 及び 100mg/kg/日を 1 日 1 回、1mL/kg の容量で経鼻カテーテルを用いて投与した。

死亡、臨床症状、体重、摂餌量、臨床病理検査、心毒性バイオマーカー（トロポニン I 及び脳性ナトリウム利尿ペプチド前駆体）、剖検及び病理組織学的検査（心臓、肺、結腸及び肝臓）に基づき、毒性を評価した。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.3- 21 に示す。

表 2.6.6.3- 21 血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}：1 及び 14 日目

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (ng /mL)	AUC_{0-24} (ng*h/mL)
30	1	8880	38400
	14	6130	17000
100	1	11400	86800
	14	37000	159000

30mg/kg/日群及び 100mg/kg/日群の各 1 例を、それぞれ 4 日目及び 14 日目に、瀕死状態のため、動物福祉の観点から途中剖検した。臨床病理検査結果（30mg/kg/日群のみ実施）並びに両動物の剖検及び病理組織学的所見から、両動物が軽度な壊死性結腸炎を発症していたことが示唆された。結腸炎の原因として、細菌によりエンドトキシン血症及び敗血症性ショックが引き起こされた可能性が考えられた。

残りの動物の臨床症状、摂餌量及び体重に、ラロトレクチニブ投与に関連した変化はなかった。15 日目の値を投与前値又は試験終了時の対照群の値と比較した時、100mg/kg/日群に血清アルブミンの減少傾向がみられた。他に臨床病理学的変化はなかった。100mg/kg/日群で肝臓重量増加が認められたが、関連する病理組織学的所見はなかった。剖検時に意義のある肉眼的所見はなく、病理組織学的な変化は、2 例の瀕死動物に認められた所見のみであった。これら 2 例の動物の瀕死状態は、エンドトキシン血症／敗血病性ショックの原因と考えられた壊死性結腸炎と関連しており、生存例に同様の変化がなかったこと、用量に相関した反応ではなかったこと、並びに結腸炎は毒性試験に使用するサルに自然発生する可能性があることから、ラロトレクチニブ投与に関連しないと考えられた。

2.6.6.3.2.4　サル 4 週間回復性評価を伴う 4 週間反復投与毒性試験

参照項目：4.2.3.2.9　LOXO-101-TOX-006

カニクイザルにラロトレクチニブを 4 週間強制経口投与した時の毒性及びトキシコキネティクスを評価し、4 週間休薬した後の毒性変化の可逆性、持続性及び遅発性の影響を検討した。

雌雄のカニクイザルを 4 群に振り分け、溶媒（Labrafac™ Lipophile WL 1349）で調製したラロトレクチニブの 0、10、30 及び 100mg/kg を 1 日 1 回、1mL/kg の容量で投与した。主群の動物を、28 日（雄）又は 29 日（雌）の投与終了翌日に剖検し、回復群の動物を 56 日に休薬期間終了時に剖検した。試験デザインを表 2.6.6.3- 22 に要約する。

表 2.6.6.3- 22　サル 4 週間反復投与試験デザイン

Group	Dose (mg/kg/day)	Dose volume (mL/kg/day)	Dose concentration (mg/mL)	Number of Animals			
				Dosing Phase[1]		Recovery Phase[2]	
				Males	Females	Males	Females
1[3]	0	1	0	3	3	2	2
2	10	1	10	3	3	2	2
3	30	1	30	3	3	2	2
4	100	1	100	3	3	2	2

1　euthanized at the end of treatment period; Day 28/29
2　euthanized at the end of recovery period; Day 56
3　controls received vehicle (Labrafac™ Lipophile WL 1349) only

死亡、臨床症状、心血管系検査、体重、体重増加量、摂餌量、眼科学的検査、心電図、神経行動学的検査、臨床病理検査、心毒性バイオマーカー（ノルエピネフリン、pro-ANP）、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査に基づき、毒性を評価した。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.3- 23 に示す。

曝露量（AUC_{0-24} 及び C_{max}）は、両性でほぼ同じであった。投与量の増加に伴って曝露量が増加する傾向が認められた。曝露の増加は、用量比よりも大きかった。27 日目の曝露は、いずれの用量でも 0 日目に比べて明らかに減少した。すべての用量における蓄積比（0 日目に対する 27 日目の C_{max} 及び AUC_{0-24} の比）も、0.158～0.463 の範囲であり、曝露の減少が示された。

表 2.6.6.3- 23 血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}：0 及び 27 日目

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (ng /mL)	AUC_{0-24} (ng*h/mL)
10	0	817	2990
	27	182	1290
30	0	8100	25600
	27	994	6050
100	0	27900	116000
	27	6560	32200

投与期間及び休薬期間を通じて、動物の死亡はなかった。液状便及び嘔吐が、対照群を含む全群に観察されたが、これらの変化は投与前にもみられており、サルで一般的にみられる所見であることから、ラロトレクチニブ投与との関連性は明らかではなかった。投与期間及び休薬期間を通じて、投与に関連する神経行動検査及び眼科学的検査に影響はみられなかった。体重や摂餌量にも、ラロトレクチニブ投与に関連した影響は認められなかった。

収縮期及び拡張期血圧の統計学的に有意な低下が、10mg/kg/日群の雄の拡張期血圧を除いて、全用量群の雄で 2 日目の投与 2 時間後にみられた（表 2.6.6.3- 24）。投与前値と 2 日目の成績を比較すると、減少は収縮期で 5%～16%、拡張期で 3%～19%であった。これらの血圧低下は軽度であり、また個別の投与前値及び対照群の値との乖離も少ないことから、毒性ではないと判断した。なお、4／5 例の対照群動物において、同期間の血圧は上昇していた。このような変化は、14 及び 23 日目の投与 2 時間後及び休薬期間終了時には観察されなかった。以上のとおり、一過性の変化が、ラロトレクチニブ投与に関連した雄への影響として、投与初期のみに発現したと考えられた。2 日目の投与 2 時間後に、100mg/kg/日群の雌雄各 1 例で心拍数の減少がみられた（雄：230 から 160 回／分に減少、雌：230 から 150 回／分に減少）。投与期間の他の測定ポイントでは、同様の所見はみられなかった。心電図の変化はなかった。

表 2.6.6.3- 24 雄性サルの動脈血圧

Dose (mg/kg/day)	Arterial Blood Pressure Mean Values (change from pretest) (mmHg)			
	Pretest (Day -12)		Day 2	
	Systolic	Diastolic	Systolic	Diastolic
0	163.0	97.8	180.0	104.0
10	159.4	91.8	152.0* (-5%)	88.6 (-3%)
30	167.2	91.6	140.6* (-16%)	85.8* (-6%)
100	158.4	91.6	142.8* (-10%)	74.2** (-19%)

*p ≤ 0.05, p** ≤ 0.01; % difference from pretest value

血液学的変化として、14 日目及び投与期間終了時に、主に 30 及び 100mg/kg/日群で、赤血球量パラメータの減少がみられた。変化は軽度で、また関連した病理組織学的所見が骨髄にみられなかったことから、毒性学的な意義はないと考えられた。赤血球量パラメータへの影響は、可逆的と判断された。

ラロトレクチニブ投与に関連した凝固系パラメータの変化として、PT 延長が 10mg/kg/日群以上の雄で 14 日目及び 26 日目にみられた。変化は可逆的であり、臨床的な出血性変化は認められなかった。

血清生化学的変化として、30 及び 100mg/kg/日群で 14 日目及び 26 日目にみられたアルブミンの減少（表 2.6.6.3- 25）がみられた。用量に依存した変化であり、雌で顕著であった。更に雌

では、総蛋白の減少に関連していた。血清アルブミンの変化は、完全に可逆的であった。尿中蛋白への影響は認められなかったことから、アルブミンが尿中にないことが示唆された。

表 2.6.6.3- 25 血清アルブミン：26 日目

Mean Serum Albumin (g/L) - Day 26							
0 mg/kg/day		10 mg/kg/day		30 mg/kg/day		100 mg/kg/day	
Males	Females	Males	Females	Males	Females	Males	Females
44.82	43.96	43.30	42.30	40.96	39.14	40.94	34.90
(4.71)	(2.00)	(3.66)	(4.82)	(2.49)	(3.55)*	(1.39)	(1.66)**
Difference from controls				-9%	-11%*	-9%	-21%**
Difference from pretest				-8%	-10%	-12%	-15%

*: p ≤ 0.05 **: p ≤ 0.01; Standard deviation in parentheses

BUN の軽度な増加が投与期間終了時に低用量群の 1／10 例、中用量群の 3／5 例及び高用量群の 2／5 例の雄でみられた。明確な用量相関性はなく、軽度な増加であり、また関連する病理組織学的所見もみられないことから、投薬起因かどうかは明らかではなかった。BUN の増加は可逆的であった。

100mg/kg/日群の雄で、26 日目に AST 及び ALT が投与前値に比べて約 2 倍に増加した。増加は、主に回復群の 2 例に起因するものであった。この 2 例の雄では、26 日目にかけて投与前値に比べて約 4 倍の増加が認められた。休薬期間終了時に、これらの動物の AST 及び ALT は投与前値と同レベルに回復した。

心毒性バイオマーカー（pro-ANP、エピネフリン）への投与の影響はなかった。

全用量群で、ラロトレクチニブ投与に関連する、用量依存的な肝臓重量（絶対及び相対）の増加がみられた。影響は、雌で顕著であった（表 2.6.6.3- 26）。肝臓重量への影響は、4 週間の休薬期間終了時に完全に回復していた。

表 2.6.6.3- 26 肝臓重量

Group (dose in mg/kg/day)		Absolute Liver Weight (g)		Relative Liver Weight (liver: body weight) (%)	
		Males	Females	Males	Females
1 (0)	Mean	73.12	51.57	2.22	2.25
2 (10)	Mean	80.18	63.68*	2.45*	2.56*
	% difference from controls group	+ 10%	+ 24%	+10%	+ 14%
3 (30)	Mean	82.59	73.42**	2.63**	2.76**
	% difference from controls group	+ 13%	+ 42%	+19%	+ 23%
4 (100)	Mean	100.89	84.96**	3.00**	3.22**
	% difference from controls group	+ 38%	+ 65%	+35%	+ 43%

*: p ≤ 0.05 **: p ≤ 0.01

投与期間終了時及び休薬期間終了時に、意義のある剖検所見は観察されなかった。

ラロトレクチニブ投与による、主な標的臓器は肝臓であった。肝臓重量増加に関連する変化として、軽微～軽度の肝細胞肥大がみられた。肝細胞肥大は門脈周囲で認められ、主に胆嚢隣接部位にみられた。この変化は雌雄の全用量群でみられ、100mg/kg/日群で発現頻度と程度が高かっ

た。軽微～軽度の実質の出血が、30 及び 100mg/kg/日群の雌及び／又は雄で、胆嚢隣接部位に認められた。30 及び 100mg/kg/日群でみられた門脈周囲の色素沈着は、出血に関連すると考えられた。軽微～中等度の門脈周囲のリンパ球細胞浸潤及び軽度～中等度の胆管過形成が、全用量群でみられたが、30 及び 100mg/kg/日群では主に胆嚢隣接部位で認められた。軽微な単細胞壊死が 30mg/kg/日群の雄 1 例及び 100mg/kg/日群の雌 1 例にみられた。休薬期間終了時（56 日目）に、肝臓に意義のある病理組織学的所見はみられなかった。

30 及び／又は 100mg/kg/日群の腸間膜リンパ節及び脾臓において、軽微～中等度の二次リンパ濾胞数の増加が観察された。100mg/kg/日群における脾臓の病理組織学的所見は脾臓重量の増加と関連している可能性がある。休薬期間終了時（56 日目）に、脾臓及び腸間膜リンパ節に意義のある病理組織学的所見はなかった。

ラロトレクチニブを 10、30 及び 100mg/kg/日の用量で 4 週間経口投与した時の雌雄のカニクイザルにおける臨床的な忍容性は良好であった。用量に相関した軽度な動脈血圧低下が、投与群の雄で 2 日目にみられたが、他の測定ポイントには認められず、ラロトレクチニブの反復投与後に心毒性を示唆する病理組織学的所見はなかった。その他、血清アルブミンの減少が 30mg/kg/日以上の群の雌雄で、また、AST 及び ALT の増加が 100mg/kg/日群の雄で低頻度に認められた。これらの生化学的変化は、完全に可逆的であった。ラロトレクチニブ投与後の主要な標的臓器は肝臓であった。肝臓重量増加及びそれに関連する肝細胞肥大が全用量でみられた。30mg/kg/日以上の群の肝臓で、病理組織学的所見がみられたことから、本試験の NOAEL は、10mg/kg/日であった。27 日目における、同用量の雌雄平均 C_{max} 及び AUC_{0-24} は、それぞれ 182ng/mL 及び 1290ng*h/mL であった。高用量の 100mg/kg 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。

2.6.6.3.2.5　サル 4 週間回復性評価を伴う 13 週間反復経口投与毒性試験

参照項目：4.2.3.2.10　LOXO-101-TOX-019

カニクイザルにラロトレクチニブを 13 週間強制経口投与した時の毒性及びトキシコキネティクスを評価し、4 週間休薬した後の毒性変化の可逆性、持続性及び遅発性の影響を検討した。

雌雄のカニクイザルを 4 群に振り分け、溶媒（コーン油）で調製したラロトレクチニブを表 2.6.6.3- 27 に示す用量で 1 日 1 回、1mL/kg の容量で投与した。

表 2.6.6.3- 27　サル 13 週間反復投与試験デザイン

Group	No. of Animals[1]		Dose Level[2] (mg/kg/day)	Dose Concentration (mg/mL)
	Male	Female		
1 (Control)[3]	5	5	0	0
2 (Low)	5	5	10	10
3 (Mid)	5	5	30	30
4 (High)	5	5	100	100

1　Animals designated for the terminal necropsy (three animals/sex/group) underwent 13 weeks of dosing. Animals designated for the recovery necropsy (all surviving animals) underwent 13 weeks of dosing, followed by 4 weeks of recovery.
2　Animals were dosed once daily at a volume of 1 mL/kg.
3　Group 1 was administered vehicle control article only (corn oil).

死亡、臨床症状、体重、摂餌量、眼科学的観察、心電図、身体検査、バイタルサイン（体温、心拍数、パルスオキシメトリ）、呼吸数、血圧、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基づき、毒性を評価した。血液サンプルを採取し、トキシコキネティクスを評価した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.3- 28 に示す。

C_{max} 及び AUC_{0-24} の性差は 2 倍未満であった。雌雄平均曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は、10～100mg/kg/日で用量に依存して増加した。増加は、10～30mg/kg/日では概して用量比を上回り、30～100mg/kg/日では概して用量に比例していた。反復投与後の蓄積は観察されなかった。100mg/kg/日群の 91 日目の C_{max} 及び AUC_{0-24} は 1 日目の約 1／2 であり、肝酵素誘導に起因した可能性がある（表 2.6.6.3- 28）。

表 2.6.6.3- 28　血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}：1、46 及び 91 日目

Interval (Day)	Dose Group	Dose Level (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (ng*h/mL)
1	2	10	1000	2940
	3	30	7760	21900
	4	100	32500	158000
46	2	10	898	2730
	3	30	3180	12200
	4	100	16000	70600
91	2	10	740	2620
	3	30	6400	18100
	4	100	16400	73700

すべての動物が、計画剖検時まで生存した。ラロトレクチニブの忍容性は良好であり、被験物質投与に関連した唯一の軽度な臨床症状は、100mg/kg/日群の雄における嘔吐／吐物の発現頻度の増加であった。雌の対照群に、これらの症状は認められなかったが、ラロトレクチニブ投与群における嘔吐及び吐物の発現頻度は極めて低く、被験物質投与との関連性は明らかではなかった。

30 及び 100mg/kg/日群の雄で、拡張期血圧及び動脈血圧の一過性の低下が、初回測定日（7 日目）に認められた（表 2.6.6.3- 29 及び表 2.6.6.3- 30）。この一過性の変化は、ラロトレクチニブ投与に関連した影響と考えられた。その後の測定ポイント（85 日目又は休薬期間）において血圧の変化はなかった。動物の行動や外観に対して、これらの血圧の変化による明確な影響がないことから、毒性変化ではないと考えられた。

表 2.6.6.3- 29　拡張期血圧

Dose (mg/kg/day)	Mean Diastolic Blood Pressure (mmHg)					
	Predose Day 20		Day 7		Day 85	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
0	91	76	74	68	91	91
10	68	78	54	71	89	60
30	68	75	52* (-23.5%)	59	62 (-8.8%)	86
100	89	72	52* (-41.6%)	56 (-22.2%)	91 (+2.2%)	56 (-22.2%)

An * indicates the original mean values were significantly different from their respective control means; parenthetical values indicate % differences from pretest value.

表 2.6.6.3- 30 動脈血圧

Dose (mg/kg/day)	Mean Arterial Blood Pressure (mmHg)					
	Predose Day 20		Day 7		Day 85	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
0	111	97	93	90	102	109
10	89	92	74	88	102	81
30	89	93	71* (-20.2%)	79 (-15.1%)	76 (-14.6%)	99 (+6.5%)
100	105	90	73* (-30.5%)	72 (-20.0%)	105 (0%)	77 (-14.4%)

An * indicates the original mean values were significantly different from their respective control means; parenthetical values indicate % differences from pretest value.

眼科学的検査、摂餌の確認（臨床症状観察として実施）、身体検査、心拍数、体温、動脈血酸素濃度及び呼吸数に、被験物質投与に関連した影響は認められなかった。

100mg/kg/日群の雄の投与期間終了時の累積体重増加量は、対照群に比べて高かった。

心電図評価において、ラロトレクチニブ投与に起因したリズム異常及び心電図の変化は観察されなかった。群平均の投与前値と後値並びに対照群との比較において、いずれの用量でも、被験物質投与に関連した心拍数、RR 間隔、PR 間隔、QRS 幅、QT 間隔及び補正 QT（QTc）間隔への影響はみられなかった。

肝ミクロゾーム分画分析の結果、100mg/kg/日群の雌において、CYP2B 及び CYP3A 活性の変化（それぞれ約 2.7 及び約 3.0 倍の増加）がみられた。10mg/kg/日群の雌においても、CYP1A の減少（対照群の約 47%）が観察された。休薬期間では、雄の 10 及び雌の 30mg/kg/日群で CYP1A 活性が、それぞれ約 2.4 及び約 2.1 倍に増加したことを除き、雌雄いずれにおいても特記すべき変化は示されなかった。肝薬物代謝酵素分析の結果を表 2.6.6.3- 31 に示す〔投与期間終了時及び休薬期間終了時における、それぞれの対照群の値に対する割合（%）〕。

表 2.6.6.3- 31 肝薬物代謝酵素活性

	Percent of Control					
Sex	**Male**			**Female**		
Dose Level (mg/kg/day)	**10**	**30**	**100**	**10**	**30**	**100**
Terminal Sacrifice						
Protein yield	**84.4**	**100**	**113**	**108**	**74.4**	**74**
Total cytochrome P450 content (CYP450)	132	108	93.2	102	158	193
Ethoxyresorufin O-deethylase (CYP1A)	142	81.7	60.8	47.4*	122	136
Testosterone 16β-hydroxylase (CYP2B)	149	109	142	90.5	153	269*
Testosterone 6β-hydroxylase (CYP3A)	172	154	181	129	187	302*
Lauric acid 11-hydroxylase (CYP2E)	135	104	89.9	101	128	160
Lauric acid 12-hydroxylase (CYP4A)	87.8	91.3	64	111	130	170
Uridine diphosphoglucuronosyltransferase (UDPGT-4-MU)	89.9	86	105	97.9	150	158
Recovery Sacrifice						
Protein yield	94.7	106	91.8	102	104	89.3
Total cytochrome P450 content (CYP450)	102	93	85.6	117	119	116
Ethoxyresorufin O-deethylase (CYP1A)	243*	143	161	103	213*	101
Testosterone 16β-hydroxylase (CYP2B)	99.8	105	93.6	111	141	102
Testosterone 6β-hydroxylase (CYP3A)	102	103	84.8	100	104	81.1
Lauric acid 11-hydroxylase (CYP2E)	109	94.6	90.1	82.9	151	102
Lauric acid 12-hydroxylase (CYP4A)	171	81.9	82.9	57	70.1	100
Uridine diphosphoglucuronosyltransferase (UDPGT-4-MU)	69.3	98.4	100	93.8	76.4	91.9

*: Represents a notable change, which was a ≥2-fold increase or less than half compared with control values.

軽度な臨床病理変化が、30mg/kg/日以上の群で、36 日目又は 92 日目に観察された。赤血球数（100mg/kg/日群の雌）、ヘモグロビン、ヘマトクリット、アルブミン（30mg/kg/日群の雌を除く、表 2.6.6.3- 32）及びアルブミン／グロブリン比の減少が認められた。100mg/kg/日群で、グロブリン（雌雄）及びフィブリノーゲン（雌）の増加がみられた。これらの変化は、概して 36 日目に比べ、92 日目の方がわずかに大きい傾向があった。これらの変化は可逆的であり、また軽度であったことから、毒性ではないと考えられた。

表 2.6.6.3- 32 血清アルブミン：92 日目

Mean Serum Albumin (g/dL) – Day 92							
Controls (0 mg/kg/day)		**10 mg/kg/day**		**30 mg/kg/day**		**100 mg/kg/day**	
Males	**Females**	**Males**	**Females**	**Males**	**Females**	**Males**	**Females**
4.1 (0.13)	4.1 (0.26)	4.1 (0.36)	4.0 (0.13)	3.7 (0.48)	3.9 (0.38)	3.7 (0.29)	3.2* (0.36)
Difference from controls				-10%	-5%	-10%	-22%*
Difference from pretest (Day 17)				-21%	-15%	-16%	-27%

*: p ≤ 0.05; Standard deviation in parentheses

30mg/kg/日以上の群で、ラロトレクチニブ投与に関連した肝臓重量の増加が認められた（表 2.6.6.3- 33）。病理組織学的検査でみられた 30mg/kg/日以上の群における肝細胞空胞化の増加が、肝臓重量増加の原因と推察された。肝臓重量増加は、CYP2B 及び CYP3A 活性の誘導（100mg/kg/日群の雌）にも関連すると考えられた。

表 2.6.6.3- 33 肝臓重量：剖検時

Sex	Larotrectinib							
	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	10	30	100	0	10	30	100
			Liver					
Absolute Weight (g)	48.083	122	152*	149*	55.000	114	128	146*
Body Weight Ratio (%)	1.7946	119	145*	145*	2.0582	109	126*	143*
Brain Weight Ratio (%)	70.3562	116	140	141	86.5220	110	116	145*

*: Statistically significant difference (absolute or relative) compared with respective control mean value.
Note: Values for absolute weight and ratio of organ weights (relative to body or brain) for dosed groups expressed as percentage control mean value

100mg/kg/日群の雌で、褐色脂肪細胞における軽微な大型の脂肪滴形成の発現頻度のわずかな増加がみられた。

休薬期間終了時に、ラロトレクチニブに関連した臓器重量の変化、並びに肉眼的及び病理組織学的所見は認められなかった。

結論として、ラロトレクチニブを 100mg/kg/日までの用量で、13 週間強制経口投与した時の忍容性は良好であった。投与期間中にみられた、被験物質投与に関連した変化は、100mg/kg/日群の雄における間欠的な嘔吐／吐物の発現と体重増加量の軽度な増加のみであった。30mg/kg/日以上の群でみられた、血圧及び臨床病理パラメータの変化、並びに病理組織学的所見は軽度であり、毒性を示唆するものではなかった。したがって、NOAEL は最高用量である、100mg/kg/日であった。91 日目における、同用量の雌雄平均 C_{max} 及び AUC_{0-24} は、それぞれ 16400ng/mL 及び 73700ng*h/mL であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異予備試験

参照項目：4.2.3.3.1.1 LOXO-101-TOX-007

ネズミチフス菌株を用いて、ラロトレクチニブの復帰突然変異作用を、代謝活性化系〔Aroclor 誘導ラット肝ミクロソーム（S9 mix）〕の存在下又は非存在下で予備的に評価した。ラロトレクチニブをジメチルスルホキシド（DMSO）中に溶解し、ネズミチフス菌株 TA98 及び TA100 に曝露した。濃度は 10、50、100、500、1000 及び 5000μg/plate とし、菌株ごとに各濃度 2 枚のプレートで実施した。S9 mix 存在下では両菌株において、5000μg/plate の濃度で析出が観察された。S9 mix 非存在下では両菌株において、5000μg/plate の濃度で背景細菌叢に毒性が認められた。有意なコロニー数の増加はなかった。本試験条件下で、ラロトレクチニブは S9 mix の有無にかかわらず、変異原性を誘発しなかった（2.6.7.8.1）。

2.6.6.4.2 細菌を用いる復帰突然変異試験

参照項目：4.2.3.3.1.2 LOXO-101-TOX-009

ネズミチフス菌株及び大腸菌試験菌株 WP2*uvr*A を用いて、ラロトレクチニブの復帰突然変異作用を、S9 mix の存在下又は非存在下条件で評価した。

プレート法により、S9 mix の存在下又は非存在下で、ネズミチフス菌株 TA1535、TA1537、TA98 及び TA100、並びに大腸菌株 WP2*uvr*A を、標準的限界濃度である 5000μg/plate までの濃度範囲のラロトレクチニブに曝露させた。

溶媒は、ラロトレクチニブの溶解性及び標的細胞との適合性に基づき、DMSO を選択した。溶解性検討の結果、27℃、20 分間超音波処理により、試験実施可能なラロトレクチニブの DMSO 懸濁液の濃度は約 400mg/mL、ラロトレクチニブが溶解した透明な溶液の濃度は約 350mg/mL であった。

検討試験における最大用量は、5000μg/plate（100mg/mL 濃度液をプレート当たり 50μL 添加）とし、1.5、5.0、15、50、150、500、1500 及び 5000μg/plate について評価した。陽性反応は観察されず、また析出や明らかな毒性も認められなかった。検討試験の結果に基づき、確認試験の最大用量は 5000μg/plate とした。

確認試験で、陽性反応は観察されなかった。用量は、50、150、500、1500 及び 5000μg/plate とした。析出や明らかな毒性は認められなかった。

本試験条件下において、ラロトレクチニブはプレート法による検討及び確認試験のどちらにおいても、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの試験菌株でもプレート当たりの平均復帰変異数を増加させず、遺伝毒性を示さなかった（2.6.7.9.1）。

2.6.6.4.3　L5178Y 細胞を用いるマウスリンフォーマ予備試験

参照項目：4.2.3.3.1.3　LOXO-101-TOX-008

L5178Y 細胞を用いて、S9 mix 存在下で 4 時間、S9 mix 非存在下で 24 時間、ラロトレクチニブに曝露させ、ラロトレクチニブの変異原性を予備的に評価した。溶媒には DMSO を選択した。ラロトレクチニブは、DMSO に最大 430mg/mL の濃度で可溶であった。S9 mix 存在下で 4 時間曝露した実験では、25～1500μg/mL に、また S9 mix 非存在下で 24 時間曝露した実験では、10～1500μg/mL に設定した。いずれの濃度でも、処理培地中に析出はみられなかった。S9 mix 存在下でクローニングに選んだ濃度（25、50、100、150、250、400 及び 600μg/mL）における、懸濁細胞増殖率は 42%～105%であった。S9 mix 非存在下では、クローニング後の増殖率が低く評価できなかった。

S9 mix 非存在下で 24 時間曝露する実験を、2.5～1000μg/mL の濃度で再度実施した。いずれの濃度でも、処理培地中に析出はみられなかった。S9 mix 非存在下でクローニングに選んだ濃度（5.0、10、25、50、100、200、300 及び 400μg/mL）における、懸濁細胞増殖率は 22%～90%であった。

いずれも、溶媒対照を超える、10^6個のクローン細胞当たり 90 以上の変異はみられなかった。S9 mix の存在下又は非存在下で、用量に相関した変異率の増加は認められなかった。S9 mix 存在下の 4 時間曝露における総増殖率は、25～600μg/mL の濃度で 43%～118%であった。S9 mix 非存在下の 24 時間曝露における総増殖率は、5.0～400μg/mL の濃度で 17%～88%であった。

陽性対照及び溶媒対照における、TFT（トリフルオロチミジン）抵抗性コロニーのサイズは、約 0.2～1.1mm の範囲であった。MMS（メチルメタンスルフォネート）陽性対照における、コロニーサイズ計測の結果、小サイズコロニー及び大サイズコロニーの増加が認められ、試験系の妥当性が確認された。

本試験条件下において、ラロトレクチニブは、L5178Y 細胞を用いるマウスリンフォーマ予備試験で陰性と結論された（2.6.7.8.2）。

2.6.6.4.4　L5178Y 細胞を用いるマウスリンフォーマ試験

参照項目：4.2.3.3.1.4　LOXO-101-TOX-010

L5178Y 細胞を用いて、S9 mix 存在及び非存在下で、ラロトレクチニブの変異原性を評価した。

本試験内で実施した予備検討の結果に基づき、濃度範囲を決定した。被験物質は、DMSO 中で最大約 400mg/mL の濃度で試験実施可能であり、350mg/mL で可溶であった。

予備検討における培地中のラロトレクチニブ最大濃度は 4000μg/mL であり、4000μg/mL でのみ視認できる析出が認められた。溶媒対照に対する懸濁細胞増殖率の低下を基に、変異原性試験の濃度を決定した。溶媒対照に対する懸濁細胞増殖率は、S9 mix 非存在下の 4 時間曝露では 1500μg/mL 以上、S9 mix 存在下での 4 時間曝露では 500μg/mL 以上、S9 mix 非存在下の 24 時間曝露では 500μg/mL 以上の濃度で 0%であった。予備検討の結果に基づき、最初の試験（4 時間曝露）における濃度は、S9 mix 非存在下で 100～1000μg/mL、S9 mix 存在下で 100～800μg/mL とした。いずれの濃度でも、処理培地中に視認できる析出は認められなかった。クローニングにおける濃度は、S9 mix 非存在下で 300、500、600、650、700 及び 750μg/mL、S9 mix 存在下で 100、200、300 及び 400μg/mL とした。いずれにおいても、10^6 のクローン細胞当たり 90 以上の変異はみられなかった。用量に相関した変異率の増加は認められなかった。

予備検討の結果に基づき、S9 mix 非存在下の 24 時間曝露における濃度は、25～500μg/mL とした。いずれの濃度においても、処理培地中に視認できる析出は認められなかった。クローニングにおける濃度は、100、200、250、300 及び 350μg/mL とした。いずれにおいても、10^6 のクローン細胞当たり 90 以上の変異はみられなかった。用量に相関した変異率の増加は認められなかった。

最初の試験の結果に基づき、独立した再試験（S9 mix 存在下 4 時間曝露）における処理濃度を、100～725μg/mL の範囲とした。いずれの濃度でも、処理培地中に視認できる析出は認められなかった。クローニングにおける濃度は、S9 mix 存在下で 300、400、450、475 及び 500μg/mL とした。いずれにおいても、10^6 のクローン細胞当たり 90 以上の変異はみられなかった。用量に相関した変異の増加は認められなかった。

陽性対照及び溶媒対照における、TFT 抵抗性コロニーサイズは、約 0.2～1.1mm の範囲であった。MMS 及び 7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン（DMBA）陽性対照における、コロニーサイズ計測の結果、小サイズコロニー及び大サイズコロニーの増加が認められ、試験系の妥当性が確認された。

本試験条件下において、ラロトレクチニブは、L5178Y 細胞を用いるマウスリンフォーマ試験で陰性と結論された（2.6.7.9.2）。

2.6.6.4.5　マウスを用いる小核試験

参照項目：4.2.3.3.2.1　LOXO-101-TOX-011

雌雄 ICR マウス骨髄中の有小核多染性赤血球（MPCE）出現頻度の増加能を指標として、ラロトレクチニブの遺伝毒性（染色体異常誘発性／異数誘発性）を評価した。小核試験は、用量設定試験と主試験に分けて実施した。用量設定試験では、ICR マウスにおけるラロトレクチニブの毒性を評価し、主試験（主小核試験）では、ラロトレクチニブが骨髄における MPCE の頻度を増加させる可能性を評価した。

ラロトレクチニブは、溶媒（Labrafac™ Lipophile WL 1349）に懸濁した。主試験においては、溶媒を陰性対照物質、シクロホスファミド一水和物（CP、50mg/kg）を陽性対照物質として使用した。

両試験とも、被験物質及び対照物質は、10mL/kg の容量で単回強制経口投与し、臨床症状を観察した。

用量設定試験では、5 例／性／群の動物に、100、500、1000、1500 及び 2000mg/kg のラロトレクチニブを投与した。100mg/kg 群に異常はみられなかった。500mg/kg 群では、雄の全例で立毛がみられたが、雌に異常はみられなかった。1000mg/kg 以上の群の雌雄では、嗜眠、立毛、円背位及び／又は眼瞼閉鎖がみられ、触診により体温低下が認められた。加えて、2000mg/kg 群では、振戦及び不規則呼吸が観察された。また、1000mg/kg 以上の用量で死亡が認められた（1000mg/kg：3／10 例、1500mg/kg：4／10 例、2000mg/kg：7／10 例）。これらの結果に基づき、主小核試験の最高用量に、最大耐量と推察される 500mg/kg を選択した。中及び低用量には 250 及び 125mg/kg を設定した。

主小核試験では、5 例／性／群からなる 7 群を設けた。7 群中 5 群には、陰性対照及び陽性対照物質、並びにラロトレクチニブの 125、250 及び 500mg/kg を投与し、24 時間後に安楽死させた。残り 2 群には、陰性対照物質及びラロトレクチニブの 500mg/kg を投与し、48 時間後に安楽死させた。安楽死時に、大腿骨骨髄を採取し、骨髄塗抹標本（スライド）を作製した。骨髄細胞中の多染性赤血球（PCE）2000 個／例について、MPCE の存在を病理組織学的に検査した。

いずれの投与群においても死亡は観察されなかった。陰性対照及び陽性対照物質、並びにラロトレクチニブの 125 及び 250mg/kg を投与した全動物及び 500mg/kg 群の雌に異常は観察されなかった。500mg/kg 群の雄の全例に立毛が認められた。陰性対照群に比べて、ラロトレクチニブ投与群に、総赤血球数に対する多染性赤血球数の割合の明らかな減少はみられず、ラロトレクチニブは赤血球造血を顕著に抑制しないことが示唆された。投与 24 時間及び 48 時間のいずれにおいても、陰性対照群と比較してラロトレクチニブ投与群に統計学的に有意な MPCE の頻度増加は認められなかった。陽性対照物質である CP を投与した群では、雌雄マウスとも統計学的に有意な MPCE の頻度増加が認められた。

本試験において、ラロトレクチニブを最大耐量と考えられる 500mg/kg まで単回経口投与しても、骨髄中 MPCE 頻度の有意な増加はみられなかったことから、ラロトレクチニブはマウス小核試験において陰性と結論された（2.6.7.10.1）。

2.6.6.5 がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

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）。

2.6.6.6 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 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ICHS9 により、進行がん患者の治療を目的とした医薬品の臨床試験実施又は製造販売承認申請のためには、雌雄の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は要求されない。したがって、独立した、ラロトレクチニブの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかった。一方、「一般毒性試験で得られた当該医薬品の生殖器官に及ぼす影響を、雌雄の受胎能障害の評価の根拠として用いるべき」との ICHS9 に従い、以下の評価を行った。

雄性生殖器への影響は、ラットを用いた 13 週間反復投与試験（2.6.6.3.1.5）の一部として評価した。計画剖検時に右側輸精管及び右側精巣上体を切開し、精子総数（総精子数／採取サンプル）、密度、精子運動率及び精子形態を分析した。精巣及び精巣上体組織スライドを用い、病理組織学的に精子形成ステージ分類（精子形成サイクルステージの正常な発達、細胞の会合及び正

常精子形成に期待される比率の質的検査）を実施した。投与期間及び休薬期間において、ラットの総精子数、密度、運動性及び形態に対するラロトレクチニブ投与に関連した影響はなかった。他の反復投与試験においても、雄性生殖器への影響は認められなかった。

週齢、精巣及び／又は精巣上体における成熟精子の存在に基づき、投与及び休薬期間中の全雄動物は性成熟していたことが確認された。投与及び休薬期間後の全雄動物の精巣及び左側精巣上体を病理組織学的に評価した結果、全動物で精子形成サイクルステージの正常な進行及び正常な細胞の会合が観察され、正常な精子形成時にみられる多様なステージが予想された比率で認められた。

雌性生殖器に対するラロトレクチニブ投与の影響も、反復投与試験で検討された。ラットの 4 週間反復投与毒性試験において、中及び高用量群の子宮重量が減少したが、影響は可逆的であった。子宮重量減少は、子宮の萎縮に関連した変化と考えられた。他の雌性生殖器への影響として、黄体数減少、発情休止期の発現頻度の増加及び乳腺過形成がみられた。乳腺過形成は、13 週間反復投与毒性試験でも認められた。4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験のいずれも軽微な過形成であり、部分的に回復した。また、過形成の発現頻度及び程度は 13 週間投与しても進展しなかった。サルに雌性生殖器への影響はみられなかった。

生殖能及び初期胚・胎児発生への影響は、幼若ラットにラロトレクチニブを生後 7～70 日にかけて 1 日 2 回、経口投与した GLP 反復投与試験内で評価した。各群の一部の動物を、休薬 28 日後（生後 99 日）に交配させた。妊娠 15 日に剖検を行った。用量は、生後 7～27 日にかけては 0.2、2 及び 7.5mg/kg BID、生後 28～70 日にかけては 0.6、6 及び 22.5mg/kg BID であった。試験の詳細を 2.6.6.7.3 に記載した。中及び高用量群で、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、その他の生殖能に関するパラメータに影響はみられなかったが、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。同用量の AUC_{0-24} は、雄で 12900ng*h/mL、雌で 22300ng*h/mL であった。

2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験

参照項目：4.2.3.5.2.1　LOXO-101-TOX-023

妊娠 SD ラットの器官形成期にラロトレクチニブを投与し、ラロトレクチニブの妊娠及び胚・胎児発生への影響を予備的に評価し、ラットにおける胚・胎児発生に関する本試験の用量設定のための情報を得た。加えて、妊娠ラットにおける、ラロトレクチニブのトキシコキネティクスを評価した。

表 2.6.6.6- 1 に示すように、各群 8 例の妊娠雌 SD ラットからなる 5 群の動物に、溶媒（コーン油）中のラロトレクチニブを、妊娠 6～17 日にかけて 1 日 2 回、約 12 時間±30 分間隔で強制経口投与した。

表 2.6.6.6- 1 ラット胚・胎児発生用量設定試験デザイン

Group Number	Treatment	Total Daily Dosage Level (mg/kg/day) [1]	BID Dosage Level (mg/kg/dose) [1]	Dose Volume (mL/kg/dose)	Number of Females	
					Embryo/ Fetal Development Phase	Toxico-kinetic Phase
1	Vehicle Control	0	0	1	8	8
2	Larotrectinib	6	3	1	8	8
3	Larotrectinib	20	10	1	8	8
4	Larotrectinib	80	40	1	8	8
5	Larotrectinib	240	120	1	8	8

[1] Animals were dosed twice daily (BID) (12 hours ± 30 minutes apart based on the last dose time for each group).

臨床症状、体重、妊娠子宮重量及び摂餌量を評価した。妊娠 20 日に剖検を行い、子宮、胎盤及び卵巣を検査した。また、胎児数、早期及び後期吸収胚数、着床数及び黄体数を記録した。胎児の重量測定、性別判定及び外表検査を行った。

別途、各群 8 例のラットに、胚・胎児発生試験用雌ラットと同様の投与レジメンで、溶媒又は被験物質を投与し、トキシコキネティクスを評価した。妊娠 6 及び 17 日の各投与後約 1、4 及び 12 時間に血液を採取した。切迫安楽死させた 1 例のトキシコキネティクス動物については、投与過誤の可能性を検査すると共に、開腹し妊娠状態を調べた。すべてのトキシコキネティクス用動物の生存例は、妊娠 18 日に安楽死させ、妊娠状態を調べた。

ラロトレクチニブの最大血中濃度は、1 日 2 回投与の初回又は 2 回目投与の 1 時間後に観察された。妊娠 6 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、用量に比例して増加し、妊娠 17 日では用量比以上に増加した。各群の曝露量は妊娠 6 日と 17 日で類似していたが、120mg/kg BID 群の妊娠 17 日の AUC_{0-24} は、妊娠 6 日の約 2 倍であった。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.6- 2 に要約する。

表 2.6.6.6- 2 妊娠ラット血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}：妊娠 6 及び 17 日

Dose (mg/kg/dose BID)	3	10	40	120
Gestation Day 6				
C_{max} (ng/mL)	325	1280	4460	16,100
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	1800	7240	35,000	97,000
Gestation Day 17				
C_{max} (ng/mL)	237	972	4410	20,500
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	1790	8090	45,800	221,000
Gestation Day 17: Gestation Day 6 Ratio				
C_{max}	0.7	0.8	1.0	1.3
AUC_{0-24}	1.0	1.1	1.3	2.3

Animals were dosed twice daily (BID) (12 hours ± 30 minutes apart based on the last dose time for each group during the first daily dose).

投与過誤の可能性があったため、1 例のトキシコキネティクス用動物（120mg/kg BID 群）を、妊娠 7 日に切迫安楽死させた。他のトキシコキネティクス用動物及びすべての胚・胎児発生試験用動物は、計画安楽死まで生存していた。臨床症状としては、ラッセル音が 40 及び 120mg/kg BID 群に散発的に認められたのみであった。

摂餌量の増加に関連して、体重及び体重増加量の増加が、主として 10mg/kg BID 以上の群で用量相関傾向を伴って観察された。120mg/kg BID 群では、当初、初回の投与後、妊娠 6～7 日に体重減少が認められた。全投与期間（妊娠 6～18 日）を通じて評価すると、40 及び 120mg/kg BID 群の体重及び体重増加量は増加した。投与期間終了後には、10、40 及び 120mg/kg BID 群で、代償性の体重増加量の減少が認められ、結果として、妊娠 20 日には全用量群の体重が対照群と同等であった。全用量群の妊娠子宮重量は、対照群と同等であった。

120mg/kg BID 群の 1 例で、計画剖検時に肝臓の蒼白化が認められた。

子宮内発育及び胎児の生存性に影響はなく、また胎児の外表奇形及び変異は観察されなかった。

結論として、ラロトレクチニブを 3～120mg/kg BID の用量で、妊娠 6～17 日にかけて 1 日 2 回、経口投与した時、母動物の生存性及び臨床症状に毒性変化は認められなかった。初回の投与後、120mg/kg BID 群で体重減少及び摂餌量の減少がみられたが、その後、主に 10、40 及び 120mg/kg BID 群で、用量依存性の体重、体重増加量及び／又は摂餌量の増加が認められた。いずれの用量でも、胚・胎児発生への影響はなかった。

2.6.6.6.2.2　ラット胚・胎児発生に関する試験

参照項目：4.2.3.5.2.2　LOXO-101-TOX-024

妊娠 SD ラットの器官形成期にラロトレクチニブを投与し、母体へのラロトレクチニブ曝露による母体毒性及び胚・胎児発生毒性を評価し、NOAEL を検討した。加えて、ラロトレクチニブの母動物及び胎児血漿中濃度に関するトキシコキネティクスを評価した。

表 2.6.6.6- 3 に示すように、各群 22 例の妊娠雌 SD ラットからなる 4 群の動物に、溶媒（コーン油）中のラロトレクチニブを、妊娠 6～17 日にかけて 1 日 2 回、強制経口投与した。

表 2.6.6.6- 3　ラット胚・胎児発生試験デザイン

Group Number	Treatment	Total Daily Dosage Level (mg/kg/ day)[1]	BID Dosage Level (mg/kg/ dose)[1]	Dose Volume (mL/kg/ dose)	Number of Females	
					Embryo/ Fetal Development Phase	Toxico- kinetic Phase
1	Vehicle Control	0	0	1	22	8
2	Larotrectinib	20	10	1	22	8
3	Larotrectinib	80	40	1	22	8
4	Larotrectinib	240	120	1	22	8

[1] Animals were dosed twice daily (BID) (12 hours apart ± 30 minutes based on the last dose time for each group during the first daily dose).

臨床症状、体重、妊娠子宮重量及び摂餌量を評価した。妊娠 21 日に剖検し、子宮、胎盤及び卵巣を検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数、着床数及び黄体数を記録した。胎児は体重を測定し、性別、外表、内臓及び骨格奇形及び変異について検査した。

トキシコキネティクス評価のために、別途、各群 8 例のラットに、胚・胎児発生試験用雌ラットと同様の投与レジメンで、溶媒又は被験物質を投与した。妊娠 6 及び 17 日の各投与後約 1、4 及び 12 時間（次の投与前）に、それぞれ 4 例／群の動物から血液を採取した。加えて、妊娠 18 日の投与後約 1 及び 4 時間後に、それぞれ 4 例／群の動物から血液を採取した。妊娠 18 日の血液採取後、速やかにトキシコキネティクス用動物を安楽死させ、胎児血液を採取し、同腹児ごと

にまとめて保管すると共に、妊娠状況を記録した。母動物及び胎児の死体は、それ以上の評価を行わず廃棄した。

妊娠 6 及び 17 日のそれぞれ最初の投与後 1～24 時間の全血漿サンプルについて、ラロトレクチニブ濃度を測定した。いずれの測定日も投与後 1 時間で最大血漿中濃度に達しその後、徐々に低下した。妊娠 18 日の投与後 1 及び 4 時間における、母動物及び胎児の全サンプルでラロトレクチニブ濃度が測定可能であった。母動物／胎児血漿中濃度比は、いずれの用量においても、約 2～3 であった。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.6- 4 に要約する。

表 2.6.6.6- 4　妊娠ラット血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC：妊娠 6 及び 17 日

Gender:	Females		
Larotrectinib Dosage BID (mg/kg/dose):	**10**	**40**	**120**
Parameter (Units)		**Gestation Day 6**	
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	4640	21,100	56,500
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	2590	9800	26,900
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	2050	11,300	29,600
$C_{max\,1}$ (ng/mL)	864	3320	6970
$C_{max\,2}$ (ng/mL)	665	3980	3640
		Gestation Day 17	
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	9870	49,700	175,000
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	4750	25,200	101,000
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	5120	24,500	74,600
$C_{max\,1}$ (ng/mL)	1220	5700	18,600
$C_{max\,2}$ (ng/mL)	1230	3260	15,800

$C_{max\,1}$ are following the first daily dose, $C_{max\,2}$ are following the second daily dose

母動物及び胎児における、妊娠 18 日の血漿中ラロトレクチニブ濃度及び母動物／胎児血漿中濃度比を表 2.6.6.6- 5 に示す。

表 2.6.6.6- 5　母動物及び胎児血漿中ラロトレクチニブ濃度及び母動物／胎児比：妊娠 18 日

Dose Level (mg/kg BID)	10		40		120	
Gestation Day (GD)	**Time (h)**	**Mean (ng/mL)**	**Time (h)**	**Mean (ng/mL)**	**Time (h)**	**Mean (ng/mL)**
GD18-Maternal	1	1230	1	5960	1	21800
	4	706	4	3560	4	5510
GD18- Fetal	1	445	1	2700	1	8680
	4	326	4	1870	4	2980
Maternal:Fetal Ratio GD18	1	2.9	1	2.4	1	2.6
	4	2.2	4	1.9	4	1.8

被験物質投与に関連した生存性への影響は、120mg/kg BID 群にのみ認められた。ラッセル音、努力呼吸及び喘ぎ呼吸などの毒性所見を含む臨床状態の悪化が、連日の検査や投与後観察でみられたため、胚・胎児発生試験用動物の 3 例及びトキシコキネティクス評価用動物の 1 例を、妊娠 12～17 日の間に切迫安楽死させた。切迫安楽死させた胚・胎児発生試験用の動物には、顕著な体重減少及び重度の摂餌量減少が認められた。他の全動物には、被験物質投与に関連した死亡及び安楽死はみられなかった。

120mg/kg BID 群の生存動物で、被験物質投与に関連した特記すべき臨床症状はラッセル音であった。その他、被験物質投与に関連した低頻度で一過性の臨床症状として、妊娠 20 日に 1 例

で喘ぎ呼吸、妊娠 13～14 日又は 20～21 日に 2 例で努力呼吸、妊娠 13 日及び 14 日に 2 例で運動失調、妊娠 13 日に 1 例で立毛及び頭部傾斜、妊娠 19～21 日に 2 例で蒼白又は体温低下が認められた。更に、被験物質投与に関連した様々な体表面における非有害性の痂皮形成の頻度増加が、全用量群に認められた。10 及び 40mg/kg BID 群の雌には、被験物質投与に関連したその他の臨床症状はみられなかった。

被験物質投与に関連した、軽微な体重及び摂餌量減少が、120mg/kg BID 群で妊娠 6～7 日に認められた。10、40 及び 120mg/kg BID 群において、全投与期間（妊娠 6～18 日）に、被験物質投与に関連した体重増加量及び摂餌量の増加が認められ、これらの群における妊娠 9～18 日の体重は増加した。これらの増加は、被験物質の薬理作用に関連する変化と考えられた。投与中止後（妊娠 18～21 日）の全群の体重、体重増加量及び摂餌量は、対照群と同様又は対照群より減少した。いずれの被験物質投与群においても、妊娠子宮重量に対する、被験物質投与の影響はみられなかった。

被験物質投与に関連した、母動物の剖検所見はみられなかった。

子宮内発育及び生存性に影響はなく、被験物質投与に関連した胎児の奇形及び変異は認められなかった。

以上の結果に基づき、40mg/kg BID が母体毒性に対する NOAEL と考えられた。同用量の妊娠 17 日における AUC_{0-24} は 49700ng*h/mL であった。胎児の発育や生存性に影響はなく、また被験物質投与に関連した胎児の奇形及び変異も認められなかったことから、120mg/kg BID が胚・胎児発生に対する NOAEL と考えられた。妊娠 17 日における同用量の AUC_{0-24} は、175000ng*h/mL であった。

2.6.6.6.2.3　非妊娠ウサギ忍容性試験

参照項目：4.2.3.5.2.3　LOXO-101-TOX-026

妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生毒性用量設定試験（4.2.3.5.2.4）の用量設定のため、非妊娠ニュージーランド白色種（NZW）ウサギに 1 日 2 回、5 日間経口投与した時のラロトレクチニブの忍容性を評価した。加えて、非妊娠ウサギにおける、ラロトレクチニブのトキシコキネティクスを評価した。

表 2.6.6.6- 6 に示すように、溶媒（コーン油）中のラロトレクチニブを 1 日 2 回、5 日間（0～4 日目）、4 群の非妊娠 NZW ウサギ（各群 3 例）に経口投与した。

表 2.6.6.6- 6　非妊娠ウサギ忍容性試験デザイン

Group Number	Treatment	Total Daily Dosage Level (mg/kg/day)[1]	BID Dosage Level (mg/kg/dose)[1]	Dose Volume (mL/kg/dose)	Number of Females
1	Larotrectinib	15	7.5	1	3
2	Larotrectinib	50	25	1	3
3	Larotrectinib	150	75	1	3
4	Larotrectinib	400	200	1	3

[1] Animals were dosed twice daily (BID) (12 hours ± 30 minutes apart based on the last dose time for each group).

死亡、瀕死状態、臨床症状、体重及び摂餌量を評価した。トキシコキネティクス評価のために、0 及び 4 日目にすべての動物から血液サンプルを採取した。全動物を 5 日目に安楽死させ、廃棄した。

ラロトレクチニブの C_{max} 及び AUC_{0-24} は、10 及び 27 倍の用量増加比以上に増加した。総じて、反復投与後のラロトレクチニブの曝露量は、7.5～200mg/kg BID にかけて 2 倍程度増加した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.6- 7 に示す。

表 2.6.6.6- 7　非妊娠ウサギ血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC：0 及び 4 日目

Dose (mg/kg/dose BID)	7.5	25	75	200
Dose (mg/kg/day)	15	50	150	400
			Study Day 0	
C_{max} (ng/mL)	62.4	276	2070	8220
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	238	1140	6860	30,500
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	314	1290	8690	55,400
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	552	2430	15,600	86,000
			Study Day 4	
C_{max} (ng/mL)	96.3	613	3040	20,800
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	342	1880	9590	123,000
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	469	1430	9280	28,100
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	811	3310	18,900	151,000

7.5、25、75 及び 200mg/kg BID 群の全動物が 5 日目の計画安楽死まで生存した。糞便量の減少が、75 及び 200mg/kg BID 群のそれぞれ 1 及び 2 例で、2～4 日目に認められた。

全投与期間（0～5 日目）で、200mg/kg BID 群の 1 例に体重減少（-320g）及び摂餌量減少（投与前日の 158g に対して 0～5 日目は平均 20g/日）が認められた。200mg/kg BID 群の他の 1 例においても、1～3 日目に、体重減少（1～2 日目が-60g、2～3 日目が-130g）及び関連する摂餌量の減少（投与前日の 124g に対して 1～2 日目が 6g／日、2～3 日目が 76g／日）がみられた。7.5、25 及び 75mg/kg BID 群の全例及び 200mg/kg BID 群の残りの動物における投与期間中の体重増加量及び摂餌量に顕著な影響はみられなかった。

結論として、7.5、25、75 及び 200mg/kg BID の経口投与の非妊娠ウサギにおける忍容性は、5 日間の投与を通じて良好であった。高用量の 200mg/kg BID における、定常状態（4 日目）C_{max} 及び AUC_{0-24} は、それぞれ 20800ng/mL 及び 151000ng*h/mL であった。

2.6.6.6.2.4　ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験

参照項目：4.2.3.5.2.4　LOXO-101-TOX-027

妊娠 NZW ウサギの器官形成期にラロトレクチニブを投与し、胚・胎児発生に関する試験の用量設定のためのデータを取得し、妊娠及び胚・胎児発生に対するラロトレクチニブの影響を予備的に評価した。加えて、妊娠ウサギにおけるラロトレクチニブのトキシコキネティクスを評価した。

表 2.6.6.6- 8 に示すように、溶媒（コーン油）中のラロトレクチニブを、4 群（各群 5、又は 6 例）の妊娠 NZW ウサギに 1 日 2 回、妊娠 7～20 日にかけて経口投与した。

表 2.6.6.6- 8 ウサギ胚・胎児発生用量設定試験デザイン

Group Number	Treatment	Total Daily Dosage Level (mg/kg/day)[1]	BID Dosage Level (mg/kg/dose)[1]	Dose Volume (mL/kg/dose)	Number of Females	
					EFD phase	TK phase
1	Vehicle Control	0	0	1	6	4
2	Larotrectinib	20	10	1	6	4
3	Larotrectinib	60	30	1	6	4
4	Larotrectinib	170	85	1	6	4
5	Larotrectinib	500	250	1	6	4

[1] Animals were dosed twice daily (BID) (12 hours ± 30 minutes apart based on the last dose time for each group).
EFD= Embryo/fetal development
TK= Toxicokinetic

臨床症状、体重、妊娠子宮重量、摂餌量及び剖検所見を評価した。妊娠 29 日に剖検を行った。子宮、胎盤及び卵巣を検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数、着床数及び黄体数を記録した。胎児は、体重を測定し、外表検査を行った。

別途、各群 4 例のウサギに、溶媒又は被験物質を胚・胎児発生試験と同じレジメンで投与し、トキシコキネティクスを評価した。妊娠 7 及び 20 日の初回及び 2 回目投与後、それぞれ約 1、4 及び 12（次の投与前）時間に、すべての動物からトキシコキネティクス評価用血液サンプルを採取した。加えて、2 例／群については、妊娠 21 日の投与後 1 及び 4 時間に母動物の血液サンプルを採取した。妊娠 21 日の母動物血液採取後速やかに、胎児血液を採取し、同腹児でプールした。血液採取後、トキシコキネティクス評価用生存動物は安楽死させ、廃棄し、以降の検査は行わなかった。

C_{max} 及び AUC_{0-24} は、10～250mg/kg BID で用量比以上に増加した。妊娠 20 日の曝露量は、妊娠 7 日に比べ、多くで 2 倍以上高く、反復投与による蓄積が示唆された。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.6- 9 に示す。

表 2.6.6.6- 9 妊娠ウサギ血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC_{0-24}：妊娠 7 及び 20 日

Dose (mg/kg/dose BID):	10	30	85	250
Dose (mg/kg/day):	**20**	**60**	**170**	**500**
		Gestation Day 7		
C_{max} (ng/mL)	159	503	2710	17,400
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	1330	4130	26,100	169,000
		Gestation Day 20		
C_{max} (ng/mL)	354	2250	7360	36500[1]
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	820	5560	27,600	209,000[1]
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	1720	11,300	60,700	NA
		Gestation Day 20: Gestation Day 7 Ratio		
C_{max}	2.2	4.5	2.7	NA
AUC_{0-24}	1.3	2.7	2.3	NA

[1] N = 2; samples were collected on Gestation Day 16 or 17.
NA Not applicable

胎児におけるラロトレクチニブの血漿中濃度の投与 1 及び 4 時間後の値は母動物と同様に推移しており、母動物の血漿中濃度の約 7%～10%の範囲であった。母動物及び胎児血漿中ラロトレクチニブ濃度、並びに胎児／母動物比を表 2.6.6.6- 10 に示す。

表 2.6.6.6- 10 母動物及び胎児血漿中ラロトレクチニブ濃度及び胎児／母動物比

Dose Level (mg/kg/dose BID)	10		30		85		250	
Gestation Day (GD)	Time (h)	Mean (ng/mL)	Time (h)	Mean (ng/mL)	Time (h)	Mean (ng/mL)	Time (h)	Mean (ng/mL)
GD21-Maternal	1	195	1	964	1	8530	1	NA
	4	83.7	4	284	4	2970	4	NA
GD21- Fetal*	1	12.6	1	71.6	1	846	1	NA
	4	5.88	4	15.9	4	249	4	NA
Fetal: Maternal	1	6.52	1	7.49	1	9.92	1	NA
Ratio (%) (GD21)	4	6.53	4	6.84	4	8.42	4	NA

* Blood samples were collected and pooled from each viable fetus in the litter from the specified doe on GD21.
NA: Not applicable

250mg/kg BID 群において、4 例の胚・胎児試験用動物及び 2 例のトキシコキネティクス用動物を、過度の体重減少又は有害な臨床症状のために、妊娠 12～15 日に切迫安楽死させた。以下の臨床症状が、早いものは妊娠 12 日から観察された：粘液便、自発運動低下、後肢又は前肢不全、運動失調、頭部傾斜、ラッセル音、体温低下、呼吸数減少又は増加及び／又は肛門生殖器への褐色物付着。体重減少及び関連する摂餌量減少が、250mg/kg BID 群で妊娠 7～10 日に認められた。250mg/kg BID 群の胚・胎児試験用動物の残り 2 例は、瀕死状態及び有害な臨床症状のために、妊娠 16 及び 17 日に安楽死させた。更に 250mg/kg BID 群のトキシコキネティクス用動物の残り 2 例も、妊娠 17 及び 18 日に安楽死させた。

85mg/kg BID 群の主試験用動物 1 例は、妊娠 10 日から観察された右後肢不全のために、妊娠 17 日に切迫安楽死させた。剖検において右後肢に骨格損傷は認められなかった。この動物には、妊娠 13 日からラッセル音や糞便量低下及び関連する摂餌量低下がみられていた。85mg/kg BID 群のトキシコキネティクス用動物 1 例は、左後肢不全のため、妊娠 18 日に切迫安楽死させた。剖検において、左脛骨骨折が認められた。他の全例は妊娠 29 日の計画剖検日まで生存した。

ラッセル音の発現頻度が、対照群に比べ 85mg/kg BID 群の生存動物で、投与時又は投与約 2 時間後に増加した。30mg/kg BID 群では、1 例に喘ぎ呼吸、努力呼吸、呼吸数増加及びラッセル音が観察された。

10mg/kg BID 群では、目立った臨床症状はなかった。

250mg/kg BID 群で、妊娠 7～11 日に体重減少がみられた。この変化は、同群の 2 例に特異的に認められた体重減少によるもので、摂餌量減少と関連していた。しかしながら、10、30 及び 85mg/kg BID 群では、体重増加量及び摂餌量は全投与期間（妊娠 7～21 日）を通じて多くの場合、増加した。摂餌量増加は、被験物質の薬理作用に関連した変化と考えられた。投与終了後の妊娠 29 日の体重及び休薬した妊娠 21～29 日の摂餌量は、対照群と類似していた。10、30 及び 85mg/kg BID 群において、妊娠子宮重量は、対照群と同等であった。

10、30 及び 85mg/kg BID 群において、被験物質投与に関連する剖検所見はなかった。

30 及び 85mg/kg BID 群で、対照群に比べ胎児体重が低下した。30 及び 85mg/kg BID 群の胎児体重は、対照群に比べてそれぞれ 5.5%及び 11.9%低下した。85mg/kg BID 群の胎児体重は、試験施設の背景データの下限値より低かった。10mg/kg BID 群では、子宮内発育への影響はなかった。

250mg/kg BID 群は早期（妊娠 16／17 日）に投与を中止し、全例を切迫安楽死させたため、子宮及び胎児を評価できなかった。10、30 及び 85mg/kg BID 群の子宮内生存性に対する被験物質投与の影響はなかった。10、30 及び 85mg/kg BID 群において、胎児外表奇形及び変異は認められなかった。

これらの結果を基に、ウサギ胚・胎児発生に関する試験の投与量として、15、30 及び 75mg/kg BID（それぞれ 30、60 及び 150mg/kg/日）を選択した。

2.6.6.6.2.5　ウサギ胚・胎児発生に関する試験

参照項目：4.2.3.5.2.5　LOXO-101-TOX-028

妊娠 NZW ウサギの器官形成期にラロトレクチニブを投与し、母体へのラロトレクチニブ曝露による、母体毒性及び胚・胎児発生毒性を評価し、NOAEL を検討した。加えて、ラロトレクチニブの母動物及び胎児血漿中濃度に関するトキシコキネティクスを評価した。

表 2.6.6.6- 11 に示すように、溶媒（コーン油）中のラロトレクチニブを 1 日 2 回、4 群の妊娠 NZW ウサギ（22～24 例／群）に妊娠 7～20 日にかけて強制経口投与した。

表 2.6.6.6- 11　ウサギ胚・胎児発生試験デザイン

Group Number	Treatment	Total Daily Dosage Level (mg/kg/ day)[1]	BID Dosage Level (mg/kg/ dose)[1]	Dose Volume (mL/kg/ dose)	Number of Females	
					Embryo/Fetal Development Phase	Toxico-kinetic Phase
1	Vehicle control	0	0	1	22	4
2	Larotrectinib	30	15	1	22	4
3	Larotrectinib	60	30	1	22	4
4	Larotrectinib	150	75	1	24	4

[1] Animals were dosed twice daily (BID) (12 hours apart ± 30 minutes based on the last dose time for each group during the first daily dose).

臨床症状、体重、妊娠子宮重量及び摂餌量を評価した。妊娠 29 日に剖検を行った。子宮、胎盤及び卵巣を検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数、着床数及び黄体数を記録した。胎児は、体重測定、性別判定を行い、外表、内臓及び骨格の奇形及び変異を検査した。

トキシコキネティクス評価のために、別途、各群 4 例の動物に、胚・胎児試験用動物と同様に溶媒又は被験物質を投与した。加えて、妊娠 21 日の午前にも投与を実施した。トキシコキネティクス評価用血液サンプルを、妊娠 7 及び 20 日の初回及び 2 回目投与後、それぞれ約 1、4 及び 12（次の投与前）時間に、4 例／群の動物（全群）から採取した。加えて、2 例／群については、妊娠 21 日の投与後 1 及び 4 時間に母動物の血液サンプルを採取した。妊娠 21 日の母動物血液採取後、速やかに胎児血液を採取し、同腹児でプールした。血液採取後、トキシコキネティクス評価用生存動物は妊娠 21 日に安楽死させ、妊娠状況を検査した。母動物及び胎児の死体は廃棄し、その後の評価は実施しなかった。

妊娠 7 及び 20 日のラロトレクチニブの曝露量は、用量に伴って増加した。妊娠 7 日の AUC_{0-12} は用量にほぼ比例しており、妊娠 20 日は用量比よりも大きく増加した。最高血漿中濃度は、投与 1～4 時間後にみられた。75mg/kg BID 群では、妊娠 20 日のラロトレクチニブへの個体別の曝露が、妊娠 7 日に比べて 2～6 倍高かったが、他の群では、投与日間の AUC_{0-12} の相違は概して 2 倍未満であった。15、30 及び 75mg/kg BID 群の蓄積率は、それぞれ 1.3、2.8 及び 2.9 であった。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.6- 12 に示す。

表 2.6.6.6- 12 妊娠ウサギ血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC：妊娠 7 及び 20 日

Gender:		Females	
Larotrectinib Dosage BID (mg/kg/dose BID):	**15**	**30**	**75**
		Gestation Day 7	
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	2510	7020	31,200
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	1400	3190	14,900
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	1100	3830	16,300
$C_{max\ 1}$	256	530	3780
$C_{max\ 2}$	173	692	2430
		Gestation Day 20	
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	3170	17,700	87,500
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	1580	6130	51,900
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	1580	11,500	35,600
$C_{max\ 1}$	238	1570	7660
$C_{max\ 2}$	218	2410	5610

C_{max1} is following the first daily dose, $C_{max\ 2}$ is following the second daily dose

妊娠 21 日の投与後 1 及び 4 時間にける母動物及び胎児の全サンプルで、ラロトレクチニブが検出された。母動物／胎児血漿中濃度比は、投与後 1 時間で約 20、4 時間で約 13～17 であった。母動物及び胎児血漿中ラロトレクチニブ濃度、並びに母動物／胎児血漿中濃度比を表 2.6.6.6-13 に示す。

表 2.6.6.6- 13 ラロトレクチニブを 1 日 2 回、妊娠ウサギに投与した時の母動物及び胎児血漿中ラロトレクチニブ濃度、並びに胎児／母動物比

Dose Level (mg/kg BID)	15		30		75	
Gestation Day (GD)	**Time (h)**	**Mean (ng/mL)**	**Time (h)**	**Mean (ng/mL)**	**Time (h)**	**Mean (ng/mL)**
GD21-Maternal	1	231	1	1170	1	13400
	4	215	4	748	4	4740
GD21- Fetal	1	12.0	1	63.4	1	489
	4	12.8	4	55.1	4	386
Maternal:Fetal Ratio (GD21)	1	20	1	18	1	21
	4	17	4	13	4	13

75mg/kg BID 群で毒性変化が認められた。同群の胚・胎児試験用動物 2 例を、妊娠 11 及び 22 日に切迫安楽死させた。1 例は、後肢不全及び脛骨骨折がみられたため、他の 1 例は、運動失調、衰弱、並びに体重及び摂餌量減少のため、安楽死させた。胚・胎児試験用の対照群の 2 例及びトキシコキネティクス用の 30mg/kg BID 群の 1 例が、妊娠 13～18 日の間に死亡発見又は切迫安楽死されたが、いずれも投与過誤であったことが確認された。また、胚・胎児試験用対照群動物 1 例が、計画剖検前の妊娠 24 日に流産した。他の胚・胎児試験用動物及びトキシコキネティクス用動物は全例、計画剖検日まで生存した。75mg/kg BID 群では、有害な臨床症状として、右後肢不全、運動失調、衰弱、糞便量減少及び保定時の振戦が観察された。後肢不全の発現頻度は低かったが、高用量群で認められ、用量設定試験でもみられていたことから、被験物質投与に関連した変化と考えられた。不全の原因は不明であった。30mg/kg BID 群では、投与後約 2 時間に、保定時の振戦、運動失調及び右後肢不全が認められたが、翌日にはみられなかったことから、毒性とは判断しなかった。

妊娠 7～21 日に 15、30 及び 75mg/kg BID 群の体重増加量及び摂餌量の増加がみられ、これらの群の妊娠 21 日の体重は対照群に対して、それぞれ 9.0%、12.1%及び 10.0%高かった。摂餌

量増加は、ラロトレクチニブの薬理作用に基づく変化であり、体重増加もそれに関連した変化であり、有害ではないと考えられた。投与終了後、15、30 及び 75mg/kg BID 群の摂餌量は、対照群と同等であり、体重増加量又は体重は減少したことから、摂餌量増加及び体重増加は可逆的と考えられた。全用量群の妊娠子宮重量は対照群と同等であった。

15、30 及び 75mg/kg BID 群で、被験物質投与に関連した母動物の剖検所見はなかった。

子宮内発育、生存性及び胎児観察（外表、内臓及び骨格）で、ラロトレクチニブ投与の影響はみられなかった。

75mg/kg BID 群の母動物に、運動失調、保定時振戦、後肢不全、衰弱及び糞便量減少などの有害な臨床症状が認められた。その他のラロトレクチニブ投与に関連した変化として、体重及び体重増加量の増加、関連する摂餌量の増加が 15、30 及び 75mg/kg BID 群でみられた。有害な臨床症状が 75mg/kg BID 群でみられたことから、30mg/kg BID が母体毒性に対する NOAEL と考えられた。同用量の妊娠 20 日における AUC_{0-24} は、17700ng*h/mL であった。いずれの用量においても、子宮内発育、生存性及び胎児観察（外表、内臓及び骨格）に影響は認められなかったことから、胚・胎児発生に対する NOAEL は、75mg/kg BID と考えられた。同用量の妊娠 20 日における AUC_{0-24} は 87500ng*h/mL であった。

2.6.6.6.3　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

ICHS9 により、進行がん患者の治療を目的とした医薬品の臨床試験実施又は製造販売承認申請のためには、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は要求されない。したがって、ラロトレクチニブの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は実施しなかった。

2.6.6.7　幼若動物を用いた試験

1 ヵ月齢から 12 歳までの小児進行がん患者においてラロトレクチニブを 1 日 1 回経口投与する単剤治療を支持するため、幼若ラットを用いた 2 つの用量設定試験及び毒性試験を実施した。

2.6.6.7.1　幼若ラット用量設定試験（1）

参照項目：4.2.3.5.4.1　LOXO-101-TOX-020

幼若 SD ラットにラロトレクチニブを生後 7～28 日にかけて経口投与した時の発育及び発達に対する毒性を予備的に評価した。

溶媒（コーン油）中のラロトレクチニブ又は溶媒を、無処置の交配済雌ラットから得た 5 群の雌雄幼若 SD ラット（10 例／性／群）に、生後 7～28 日にかけて 1 日 2 回、強制経口投与した。2～5 群の開始用量は、15、50、100 及び 150mg/kg BID（それぞれ 30、100、200 及び 300mg/kg/日）であった。また、投与容量は 1mL/kg（2mL/kg/日）とした。予期しなかった毒性発現のため、3、4 及び 5 群の用量を、主試験動物で生後 10 又は 11 日、トキシコキネティクス動物で生後 8～10 日に、それぞれ 0.5、1.5 及び 5.0mg/kg BID（1、3 及び 10mg/kg/日）に減らした。対照群（雌雄各 10 例）には、同様のレジメン及び投与容量で溶媒を投与した。試験デザインを表 2.6.6.7- 1 に示す。

表 2.6.6.7- 1　幼若ラット用量設定試験（1）デザイン

Group Number	Treatment	Total Dosage Level (mg/kg/day)[1]	BID Dosage Level (mg/kg/dose)[1]	Dose Volume (mL/kg/ dose)	Number of Animals/Sex Main Study Phase	Toxico-kinetic Phase
1	Vehicle Control	0	0	1	10	36
2	Larotrectinib	30	15	1	10	36
3	Larotrectinib	100/1 [2]	50/0.5 [2]	1	10	36
4	Larotrectinib	200/3 [2]	100/1.5 [2]	1	10	36
5	Larotrectinib	300/10 [2]	150/5.0 [2]	1	10	36

[1] Animals were dosed twice daily (BID) (12 hours ± 30 minutes apart based on the last dose time for each group/sex).
[2] Dosage levels for Groups 3, 4, and 5 were lowered from 50, 100, and 150 mg/kg/dose BID (100, 200, and 300 mg/kg/day), respectively, to 0.5. 1.5, and 5.0 mg/kg/dose BID (1, 3, and 10 mg/kg/day), respectively (PND 10–11 for the main study phase; PND 8–10 for the toxicokinetic phase).

雌雄各 1 例の同腹児が各群に割り当てられるように、群分けを行った。死亡、瀕死状態、臨床症状及び体重を評価した。トキシコキネティクス用動物が生後 7～14 日にかけて各投与群で 8～16 例が死亡したため、主試験用動物の 3～9 例の雄及び／又は雌から、生後 28 又は 29 日の剖検前にトキシコキネティクス評価用血液を採取した。全生存動物を生後 28 又は 29 日に剖検した。

血漿中被験物質のトキシコキネティクス評価のために、別途、36 例／性／群の動物をトキシコキネティクス群に設定した。その際、すべての同腹児を同じ群に割り当てた。生後 7 日は麻酔下で、また生後 28 日は安楽死後に、投与後時間ごとに 3 例／性／群の動物から血液を採取した。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.7- 2 に示す。

表 2.6.6.7- 2 幼若ラット血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC：生後 7 日及び 28 日

Group	Dose (mg/kg/ dose)	PND	Gender	C_{max1} (ng/mL)	C_{max2} (ng/mL)	AUC_{0-12} (ng*h/mL)	AUC_{12-24} (ng*h/mL)	AUC_{0-24} (ng*h/mL)
2	15	7	Male	1260	1500	8250	11,400	19,700
			Female	1110	2910	7700	12,900	20,600
			Combined	1190	2210	7980	12,100	20,100
2	15	28	Male	713	607	2470	1650	4110
			Female	1080	940	4880	2900	7780
			Combined	895	773	3670	2270	5950
3	50	7	Male	6560	5790	41,200	51,200	92,400
			Female	7830	16,100	51,700	116,000	168,000
			Combined	7190	10,900	46,400	83,800	130,000
3	0.5	28	Male	27.2	68.9	134	154	288
			Female	41.2	62.6	159	161	320
			Combined	34.2	65.7	147	158	304
4	100	7	Male	12,500	31,200	112,000	224,000	336,000
			Female	15,400	14,300	145,000	131,000	276,000
			Combined	13,900	22,700	128,000	178,000	306,000
4	1.5	28	Male	106	133	433	300	733
			Female	96.2	135	420	370	789
			Combined	101	134	426	335	761
5	150	7	Male	54,300	50,100	387,000	407,000	794,000
			Female	57,700	46,800	369,000	241,000	610,000
			Combined	56,000	48,400	378,000	324,000	702,000
5	5	28	Male	342	87.4	925	611	1540
			Female	256	243	962	1790	2750
			Combined	299	165	944	1200	2140

15、50/0.5、100/1.5 及び 150/5mg/kg BID 群で、それぞれ 15、21、10 及び 27 例（主試験及びトキシコキネティクス用動物の合計）が、生後 7～17 日の間に死亡するか、状態悪化により切迫安楽死させた。対照群の動物はすべて計画剖検日まで生存した。これらの中で、15、50、100 及び 150mg/kg BID 群のそれぞれ 0、8、5 及び 15 例は減量前の生後 7～11 日に、15、13、5 及び 12 例は減量後に、死亡するか又は切迫安楽死させた。ほとんどの死亡は減量後 3 日以内（生後 10～12 日）にみられ、最後の死亡例は 15mg/kg BID 群の生後 17 日であった。15、50/0.5、100/1.5 及び 150/5mg/kg BID 群の死亡動物又は瀕死状態のため安楽死させた動物に関連する臨床症状は、体温低下及び／又は体表蒼白、削痩及び肛門生殖器の赤色又は黄色物付着であった。また、50/0.5、100/1.5 及び 150/5mg/kg BID 群で、呼吸数減少及び／又は喘ぎ呼吸、自発運動低下及び衰弱が観察された。腹部膨満が 15 及び 150/5mg/kg BID 群でみられた。低体長（small stature）が 150/5mg/kg BID 群で、また粗毛が 15mg/kg BID 群で観察された。

生存動物では、減量前の臨床所見として、体温低下及び／又は体表蒼白、自発運動低下及び／又は削痩が 50mg/kg BID 以上の群で観察された。腹部膨満が 150mg/kg BID 群でみられた。減量後も、腹部膨満が 15、50/0.5、100/1.5、150/5mg/kg BID 群で、散発的であるものの継続していた。首振り及び部分的閉眼が、15 及び 150/5mg/kg BID 群で、主として投与最終週（生後 20～29 日）に認められた。

体重減少及び／又は体重増加量の低下が、50、100 及び 150mg/kg BID 群で、減量前（生後 7～11 日）に認められた。50/0.5、100/1.5 及び 150/5mg/kg BID 群の体重及び体重増加量は、減量

後（生後 11～28 日）も対照群に比べ、概して有意に低かった。体重増加量の減少は、15mg/kg BID 群でも生後 7～11 日及び生後 11～28 日の間に認められた。

死亡発見動物、切迫安楽死動物及び計画剖検時に安楽死させた動物のいずれにも、特記すべき剖検所見はなかった。

2.6.6.7.2　幼若ラット用量設定試験（2）

参照項目：4.2.3.5.4.2　LOXO-101-TOX-022

幼若 SD ラットにラロトレクチニブを生後 7～28 日にかけて経口投与した時の生育及び発達への影響を評価した。また、試験結果に基づき、幼若ラット GLP 毒性試験の用量を設定した。なお、本用量設定試験は、先に実施した用量設定試験（1）（2.6.6.7.1）において過度の毒性が発現したため、より低用量を用いて同様の用量設定試験を実施したものである。本用量設定試験（2）の用量は、用量設定試験（1）の成績及びトキシコキネティクス評価に基づき、1、3 及び 10mg/kg BID（それぞれ 2、6 及び 20mg/kg/日）とした。

溶媒（コーン油）中のラロトレクチニブを、10 例の無処置の交配済雌ラットから得た 3 群の雌雄幼若 SD ラット（10 例／性／群）に、生後 7～28 日にかけて 1 日 2 回、強制経口投与した。用量は 1、3 及び 10mg/kg BID とし、1mL/kg BID の容量で投与した。対照群（雌雄各 10 例）には、同様に溶媒を投与した。試験デザインを表 2.6.6.7- 3 に示す。

表 2.6.6.7- 3　幼若ラット用量設定試験（2）デザイン

Group Number	Treatment	Total Dosage Level (mg/kg/day)[1]	BID Dosage Level (mg/kg/dose)[1]	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals/Sex	
					Main Study Phase	Toxicokinetic Phase
1	Vehicle Control	0	0	1	10	36
2	Larotrectinib	2	1	1	10	36
3	Larotrectinib	6	3	1	10	36
4	Larotrectinib	20	10	1	10	36

[1] Animals were dosed twice daily (BID) (12 hours ± 30 minutes apart based on the last dose time for each group/sex).

雌雄各 1 例の同腹児が主試験の各群に割り当てられるように、群分けを行った。死亡、瀕死状態、臨床症状及び体重を評価した。安楽死させた日に 5 例／性／群の動物について、臨床病理検査を実施した。生後 29 日に全生存児を剖検し、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

血漿中被験物質のトキシコキネティクス分析のために、別途、36 例／性／群の動物をトキシコキネティクス群に設定した。その際、全同腹を同じ群に割り当てた。生後 7 日に、投与後時間ごとに 3 例／性／群の動物から麻酔下で血液を採取した。生後 21 日及び 28 日にも、投与後時間ごとに 3 例／性／群の動物から血液を採取した。

1、3 及び 10mg/kg BID の用量で、ラロトレクチニブを強制経口投与した雌雄の幼若ラットに、ラロトレクチニブの全身曝露が認められた。曝露に雌雄差はみられず、いずれの測定日においても、用量に伴って増加した。曝露（AUC_{0-12}）の増加は、1～10mg/kg BID の範囲で、用量比より小さい場合と大きい場合が混在していた。1 日の初回又は 2 回目の投与 1 又は 4 時間後に、最高血漿中濃度に達した。明確な終末消失相が認められなかったため、消失半減期は算出できなかった。

ほとんどの群で、生後 21 日及び 28 日の曝露は、生後 7 日に比べて低かった。生後 21 日及び 28 日の蓄積比は、雄でそれぞれ 0.34～1.2 及び 0.20～0.55、雌で 0.28～1.3 及び 0.30～0.76 の範囲であった。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.7- 4 に示す。

表 2.6.6.7- 4 幼若ラット血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC：生後 7 日、21 日及び 28 日

Gender	PND	Dose Level	AUC_{0-12}	AUC_{12-24}	AUC_{0-24}[1]	C_{max1}	C_{max2}
		(mg/kg/day)	(ng*h/mL)	(ng*h/mL)	(ng*h/mL)	(ng/mL)	(ng/mL)
Male	7	2	324	565	889	37.8	122
		6	2280	1350	3630	499	261
		20	3250	13500	16700	519	1990
Female	7	2	397	507	904	72.4	112
		6	1030	2620	3650	163	443
		20	8460	17500	25900	1100	2730
Combined	7	2	360	536	896	55.1	117
		6	1660	1980	3640	331	352
		20	5860	15500	21300	810	2360
Male	21	2	376	NA	752	77.5	NA
		6	770	NA	1540	118	NA
		20	2670	NA	5340	453	NA
Female	21	2	331	NA	662	78.2	NA
		6	1390	NA	2780	203	NA
		20	2390	NA	4780	495	NA
Combined	21	2	354	NA	NA	77.9	NA
		6	1080	NA	NA	161	NA
		20	2530	NA	NA	474	NA
Male	28	2	143	NA	286	31.8	NA
		6	465	NA	930	121	NA
		20	1790	NA	3580	605	NA
Female	28	2	174	NA	348	52.4	NA
		6	784	NA	1568	231	NA
		20	2540	NA	5080	845	NA
Combined	28	2	159	NA	NA	42.1	NA
		6	624	NA	NA	176	NA
		20	2170	NA	NA	725	NA

[1] For post-natal day 21 and 28, $AUC_{0-24} = 2 \times AUC_{0-12}$, due to blood collection time points only through 12 hours following the first daily dose.
C_{max1} is following the first daily dose; C_{max2} is following the second daily dose
NA = Not applicable; last blood collection at 12 hours following the first dose administration

トキシコキネティクス用動物のうち、3mg/kg BID 群の雌 1 例及び 10mg/kg BID 群の雄 2 例の死亡が、生後 14～17 日の間に発見された。例数が用量に伴って増加したため、主試験群の死亡はみられなかったが、被験物質投与の影響と考えられた。臨床症状として、腹部膨満及び／又は腹部の痂皮形成及び／又は肛門生殖器周辺への褐色物の付着がみられた。特記すべき剖検所見はなかった。偶発的と考えられる損傷（腹側躯幹の裂傷）のため、10mg/kg BID 群のトキシコキネティクス用動物の雌 1 例を生後 21 日に安楽死させた。

主試験用動物はすべて計画剖検日まで生存した。3 及び 10mg/kg BID 群で、部分的閉眼及び削痩の頻度が増加した。腹部膨満が、3mg/kg BID 群の雄 1 例及び雌 3 例、10mg/kg BID 群の雄 1 例に認められ、被験物質投与に関連した所見と考えられた。

体重増加量の減少が、3 及び 10mg/kg BID 群で投与期間（生後 7～29 日）を通じて観察された。生後 28 日の 3 及び 10mg/kg BID 群の体重及び体重増加量は、対照群に比べて、雄でそれぞれ

12.5%及び 23.4%、雌でそれぞれ 6.4%及び 17.6%低かった。1mg/kg BID 群の体重は対照群と同等であった。

10mg/kg BID 群で、赤血球量パラメータの減少がみられた。より低い用量では、より軽度であった。全用量群の雄及び 3mg/kg BID 以上の群の雌で、網状赤血球数の減少が認められた。骨髄に病理組織学的所見がないことから、有害ではないと判断した。3mg/kg BID 以上の用量で、総蛋白、グロブリン、カルシウム及びアルブミンが減少した。A/G 比は 3mg/kg BID 以上の群の雌で増加した。その他の変化として、3mg/kg BID 以上の群の雄でコレステロールの減少が、3mg/kg BID 以上の群の雌雄で中性脂肪の減少がみられた。これらの変化は軽度であり毒性とは考えられなかった。

1、3 及び 10mg/kg BID 群で、肺重量の低下がみられた。この変化は、肺における鼓脹の減少及び気腫と関連しており毒性変化と考えられた。これらの変化の機序は不明であった。投与群に呼吸困難は観察されなかった。10mg/kg BID 群で腎臓重量の軽度な減少がみられ、3mg/kg BID 以上の群で尿細管変性が認められ、全用量群で腎の間質線維化が観察された。これらの変化は軽微又は軽度であり、BUN やクレアチニンに変化はなかったことから、毒性ではないと考えられた。10mg/kg BID 群で、脳重量の低下が観察された。動物の日齢や発達段階を考慮すると、発育の遅延に関連するものと考えられた。

以上の成績に基づき、幼若ラット GLP 毒性試験の用量として 0.2、2 及び 7.5mg/kg BID を選択した。

2.6.6.7.3　幼若ラット毒性試験

参照項目：4.2.3.5.4.3　LOXO-101-TOX-021

幼若 SD ラットにラロトレクチニブを 1 日 2 回、生後 7～70 日にかけて投与し、その後 28 日間の休薬期間を設け、生後 99 日に安楽死させた時の全身毒性、神経行動及び生殖能への影響、並びにトキシコキネティクスを評価した。一部の動物を交配し、発情周期及び生殖能を評価した。投与期間終了後 28 日間以上休薬させた後（生後 99 日）、最長 15 日間交配させた。すべての生存雌動物について、交尾 15 日後に剖検を施し、その後雄動物を生後 130 日までに安楽死させた。

溶媒（コーン油）中のラロトレクチニブを、無処置交配済雌ラットから得た 3 群の雌雄幼若 SD ラット（45 例／性／群）に、生後 7～70 日にかけて 1 日 2 回、強制経口投与した。用量は、生後 7～27 日は 0.2、2 及び 7.5mg/kg BID（それぞれ 0.4、4 及び 15mg/kg/日）とした。先に実施した幼若ラット用量設定試験（2）（2.6.6.7.2）で、生後 7 日に比べ生後 21～28 日に曝露量の低下が認められたことを考慮し、生後 28～70 日は、用量を 0.6、6 及び 22.5mg/kg BID（それぞれ 1.2、12 及び 45mg/kg/日）に増量した。対照群（雌雄各 45 例）には、同様に溶媒を投与した。試験デザインを表 2.6.6.7- 5 及び表 2.6.6.7- 6 に示す。

表 2.6.6.7- 5　幼若ラット反復投与試験デザイン（生後 7～27 日）

Group Number	Treatment	Total Dosage Level (mg/kg/day)[1]	BID Dosage Level (mg/kg/dose)[1]	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals			
					Main		TK	
					M	F	M	F
1	Vehicle Control	0	0	1	45	45	33	33
2	Larotrectinib	0.4	0.2	1	45	45	33	33
3	Larotrectinib	4	2	1	45	45	33	33
4	Larotrectinib	15	7.5	1	45	45	33	33

[1] Animals were dosed twice daily (BID), 12 hours ± 30 minutes apart based on the last dose time for each group/sex.

表 2.6.6.7- 6 幼若ラット反復投与試験デザイン（生後 28～70 日）

Group Number	Treatment	Total Dosage Level (mg/kg/day)[1]	BID Dosage Level (mg/kg/dose)[1]	Dose Volume (mL/kg)	Number of Animals			
					Main		TK	
					M	F	M	F
1	Vehicle Control	0	0	1	45	45	33	33
2	Larotrectinib	1.2	0.6	1	45	45	33	33
3	Larotrectinib	12	6	1	45	45	33	33
4	Larotrectinib	45	22.5	1	45	45	33	33

[1] Animals were dosed twice daily (BID), 12 hours ± 30 minutes apart based on the last dose time for each group/sex.

F_0 児を投与期間評価用と休薬期間評価用とに振り分けた。主試験の投与期間評価用（主試験）には 15 例／性／群（同腹児から 1 例／性）、休薬期間評価用には 30 例／性／群（同腹児から 2 例／性）を振り分けた。休薬期間評価動物の 20 例／性／群を神経行動及び生殖能評価用に使用した。

全 F_0 児において、分娩から試験終了時までの死亡及び瀕死状態、臨床症状、体重及び摂餌量、脛骨長、身体生育の指標（亀頭包皮分離及び膣開口）及び眼科学的検査について評価した。主試験動物（15 例／性／群）で、聴覚驚愕反応評価を生後 60 日、FOB を生後 61 日、自発運動量評価を生後 61 日に実施し、また学習及び記憶の評価（Biel 迷路遊泳試験）を生後 62 日に開始した。主試験動物は生後 71 日（最終投与日翌日）に安楽死させた。主試験動物は、安楽死日に臨床病理評価及び動脈血ガス測定を実施し、剖検に供した。臓器重量を測定し、また対照群及び高用量群の全動物について病理組織学的検査を実施した。

残りの 30 例／性／群の動物で、休薬期間の評価を実施した。20 例／性／群については、聴覚驚愕反応を生後 85 日、FOB を生後 86 日、自発運動量を生後 86 日に評価し、学習及び記憶の評価を生後 87 日に開始した。休薬期間の FOB の終了後、これら 20 例／性／群の動物を交配させ、交配率、受胎能、交尾率及び受精率への被験物質投与の影響を評価すると共に、交配開始 14 日前から膣スメアを採取し、性周期を判定した。交尾を確認した FOB 及び生殖能評価雌動物すべてについて、妊娠 15 日（生後 130 日まで）に剖検した。交尾が確認されなかった雌動物は同居期間終了後 15 日に安楽死させた。FOB 及び生殖能評価用 F_0 雄動物は、最後の雌動物剖検が終了した後（最長生後 130 日）に安楽死させ、精子形成項目を評価した。10 例／性／群については、生後 99 日（28 日間の休薬期間終了後）に安楽死させ、剖検日に臨床病理学的評価及び動脈ガス測定を実施し、剖検及び臓器重量測定を行った。

血漿中被験物質のトキシコキネティクス評価のために、別途、33 例／性／群の動物をトキシコキネティクス群に設定した。その際、全同腹児を同じ群に割り当てた。生後 7 日、28 日及び 70 日の各日初回及び 2 回目の投与約 1、4 及び 12 時間（次回投与の前に採取）後に、3 例／性／群の動物から、血液を採取した。

生後 7 日、28 日及び 70 日におけるラロトレクチニブの曝露は、用量に伴って増加した。雌雄の曝露（AUC_{0-24}）は、生後 7 日は 2 及び 7.5mg/kg BID 群で、また生後 28 日は全群で、大差なかった。生後 7 日の 0.2mg/kg BID 群では、雄の曝露が雌の約 2 倍であった。生後 70 日は全群（0.6、6 及び 22.5mg/kg BID）で、雄が雌の約半分であった。

最高血漿中濃度は、雌雄のいずれの用量においても投与後 1 時間又は 4 時間であった。

生後 70 日の曝露（AUC_{0-24}）を生後 28 日と比較した蓄積率は、0.6、6 及び 22.5mg/kg BID 群の雄でそれぞれ 0.56、1.2 及び 1.3、雌で 1.7、2.2 及び 2.4 であった。トキシコキネティクスパラメータを表 2.6.6.7- 7 に示す。

表 2.6.6.7- 7 幼若ラット血漿中ラロトレクチニブ C_{max} 及び AUC：生後 7 日、28 日及び 70 日

Gender	PND	Group	Dose Level (mg/kg BID)[1]	AUC_{0-24} (ng*h/mL)	AUC_{0-12} (ng*h/mL)	AUC_{12-24} (ng*h/mL)	C_{max1} (ng/mL)	C_{max2} (ng/mL)
Male	7	2	0.2	169	58.0	111	8.77	21.1
		3	2	3060	1880	1180	248	162
		4	7.5	13,900	5790	8130	704	1020
	28	2	0.6	146	45.8	100	12.6	38.3
		3	6	1280	715	560	186	196
		4	22.5	9900	4100	5810	1040	1910
	70	2	0.6	81.4	28.0	53.4	4.92	12.3
		3	6	1530	832	694	217	221
		4	22.5	12,900	6880	6050	1710	1580
Female	7	2	0.2	85.0	23.9	61.1	3.47	18.5
		3	2	2360	1570	790	247	109
		4	7.5	18,500	6600	11,900	839	1820
	28	2	0.6	112	76.7	35.4	15.6	12.2
		3	6	1630	876	751	180	250
		4	22.5	9300	4350	4950	998	1680
	70	2	0.6	186	60.1	126	17.9	25.7
		3	6	3590	1600	1990	239	444
		4	22.5	22,300	11,200	11,100	3310	2690
Gender Combi-ned	7	2	0.2	127	41.0	86.2	6.12	19.8
		3	2	2710	1720	987	248	136
		4	7.5	16,200	6200	10,000	772	1420
	28	2	0.6	129	61.2	67.9	14.1	25.3
		3	6	1450	795	656	183	223
		4	22.5	9600	4230	5380	1020	1800
	70	2	0.6	134	44.1	89.6	11.4	19.0
		3	6	2560	1220	1340	228	333
		4	22.5	17,600	9060	8570	2510	2140

[1] Animals were dosed twice daily (BID), 12 hours ± 30 minutes apart

C_{max1} is following the first daily dose, C_{max2} is following the second daily dose

被験物質投与に関連した死亡及び瀕死状態が 7.5mg/kg BID 群に認められた。主試験群の雄 4 例及び雌 3 例、並びにトキシコキネティクス評価用の雌雄各 1 例は、生後 9～16 日の間に死亡が発見されるか又は切迫安楽死させた。7.5mg/kg BID 群の死亡が発見されるか又は安楽死させた動物に認められた臨床症状は、頭部傾斜、平衡不全、体温低下、腹部膨満及び肛門生殖器への赤色又は黄色物の付着であった。加えて、4 例中 2 例の雄及び 3 例の雌すべてに、体重減少も認められた。概して、これらの動物に明らかな剖検所見はみられず、死亡原因は特定できなかったが、これら死亡発見や切迫安楽死は、被験物質投与に関連したものと考えられた。2mg/kg BID 群の

雌 1 例で、生後 15 日に死亡が発見された。臨床症状が限定されており（肛門生殖器の黄色物のみ）、体重に影響がないことから、ラロトレクチニブ投与に起因した死亡ではないと考えられたが、関連性を完全には否定できなかった。用量を増量した生後 28 日以降は、被験物質投与に関連した死亡や瀕死状態はみられなかった。

生存動物において、ラロトレクチニブ投与に関連した、眼の部分又は完全閉鎖の頻度増加が、2/6mg/kg BID 以上の群で用量に伴って、ほぼ投与期間を通じて認められた。これらの変化は、投与期間中の連日の観察で、翌朝まで継続的にみられることが多く、休薬期間中の連日の観察においても継続的に認められた。7.5/22.5mg/kg BID 群に認められ、被験物質投与に関連した臨床症状として、一過性の中枢神経系症状（首振り及び旋回）が低頻度で認められた。雌動物では、腹部膨満、脱毛、並びに背側頭部、頸部、躯幹、腹側頸部及び顔面（耳介を含む）の痂皮形成の頻度が増加した。

7.5/22.5mg/kg BID 群の雄では、ラロトレクチニブ投与に関連する摂餌量の減少に伴って、対照群に対する体重及び体重増加量の減少が、投与期間（生後 7～70 日）を通じてみられ、休薬期間（生後 71～130 日）にも認められた。7.5/22.5mg/kg BID 群の雌では、生後 7～28 日に対照群に比べて体重が減少したが、生後 70 日では対照群より増加し、休薬期間中に対照群と同等になった。体重増加量及び摂餌量は、当初（生後 7～28 日）、対照群より減少したが、投与期間後半（生後 32～70 日）は対照群と同等又は増加し、結果として投与期間（生後 7～70 日）を通じた体重増加量は増加した。体重増加量及び摂餌量の増加は、被験物質の薬理作用によるものと考えられた。雌の体重への影響は、被験物質投与に関連したものであるが、投与終了までに回復性がみられており毒性ではないと考えられた。

2/6mg/kg BID 群では、雌雄の体重及び体重増加量が、生後 7～28 日の間、対照群よりわずかに減少した。投与期間終了時（生後 70 日）及び休薬期間終了時（生後 99 日及び 130 日）は、雄の体重及び体重増加量の減少は対照群よりわずかに低い程度であり、雌では対照群と同等であった。同群の体重及び体重増加量の減少は被験物質投与に関連した変化であるが、軽度であり、毒性ではないと考えられた。

0.2/0.6mg/kg BID 群の体重及び体重増加量に、被験物質投与の影響はなかった。体重を表 2.6.6.7- 8 に示す。

表 2.6.6.7- 8 体重及び体重推移

	Larotrectinib Doses (mg/kg BID):							
	0		0.2/0.6		2/6		7.5/22.5	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Mean Body Weight, g (%)[a]								
PND 28	87.8	83.0	86.7 (-1.3)	83.0 (0.0)	82.8* (-5.7)	77.4** (-6.7)	76.0** (-13.4)	71.8** (-13.5)
PND 70	416	247	410 (-1.3)	242 (-1.9)	401 (-3.6)	249 (+0.9)	394** (-5.4)	265* (+7.1)
PND 98	509	279	488 (-4.1)	273 (-2.2)	474* (-6.9)	277 (-0.7)	449** (-11.8)	270 (-3.2)
PND 130	607	NA	579 (-4.6)	NA	541** (-10.9)	N/A	514** (-15.3)	NA
Mean Body Weight Change, g								
PND 7–28	71.8	67.6	70.7	67.5	66.9**	62.2**	59.9**	56.5**
PND 28–70	328.2	163.8	323.7	159.2	318.1	171.5	317.7	193**
PND 7–70	400.0	231.6	394.4	226.8	385.0	233.8	377.6**	249.3**
PND 71-98	79	35	73	35	68	27	48**	5**
PND 71–130	172	NA	155	NA	134**	NA	110**	NA

M = Male
F = Female
PND = Post-natal day
NA = Not applicable
[a] For all groups, means are shown. For test article-treated groups, % differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not % differences)
*= p ≤ 0.05 and **= p ≤ 0.01

いずれの用量でも、被験物質投与に関連した眼科学的所見は認められなかった。

表 2.6.6.7- 9 に示すように、7.5/22.5mg/kg BID 群の脛骨長は、雄で生後 14～52 日、雌で生後 24～52 日の間、対照群より短かった。更に、2/6mg/kg BID 群の雄の脛骨長は、生後 49～52 日の間、対照群より短かった。脛骨長の変化は、これらの群で同じ期間に認められた被験物質投与に関連する体重への影響に続発したものと考えられた。0.2/0.6mg/kg BID 群の雌雄及び 2/6mg/kg BID 群の雌においては、脛骨長への被験物質投与の影響は認められなかった。

表 2.6.6.7- 9 脛骨長

	Larotrectinib Doses (mg/kg BID):							
	0		0.2/0.6		2/6		7.5/22.5	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Mean Tibial Length, mm								
PND 21	21.6	NA	21.5	NA	21.2	NA	20.9**	NA
PND 24	NA	22.7	NA	22.7	NA	22.4	NA	21.9**
PND 28	25.4	25.3	25.5	25.3	25.5	25.3	24.8**	24.9*
PND 31	NA	28.0	NA	28.1	NA	27.8	NA	27.4*
PND 35	32.5	NA	32.7	NA	32.4	NA	31.9**	NA
PND 42	37.3	NA	37.3	NA	36.9	NA	36.6**	NA
PND 49	39.0	35.8	38.3	35.9	37.9*	35.2	37.0**	34.9**
PND 52	NA	36.9	NA	37.3	NA	36.6	NA	36.1**
PND 56	41.1	NA	41.2	NA	40.8	NA	40.6	NA
PND 74	44.8	NA	44.8	NA	44.7	NA	44.5	NA
PND 81	NA	42.1	NA	41.9	NA	41.6**	NA	41.5**
PND 85	45.5	NA	45.3	NA	45.3	NA	44.9*	NA
PND 130	49.5	NA	49.5	NA	49.1	NA	49.4	NA

M = Male
F = Female
PND = Post-natal day
NA = Not applicable
* = p ≤ 0.05 and **= p ≤ 0.01

2/6mg/kg BID 以上の群の雄の亀頭包皮分離完了日及び 7.5/22.5mg/kg BID 群の雌の膣開口完了日は、対照群より遅延したが、試験実施施設（[redacted]）の背景データの範囲内であった。完了日の体重は、全群で同等であったことから、亀頭包皮分離及び膣開口完了日の軽度な遅延は、これらの群で完了前に認められていた被験物質投与に起因する体重の減少の二次的な影響によるものであり、被験物質の直接的な作用とは考えられなかった。0.2/0.6mg/kg BID 以上の群における膣開口完了日、0.2/0.6mg/kg BID 群の亀頭包皮分離完了日及び完了日の体重に、被験物質投与の影響は認められなかった。

FOB において、軽度の眼瞼下垂、眼瞼下垂（半分閉鎖）又は完全な眼瞼閉鎖が、7.5/22.5mg/kg BID 群で、生後 61 日及び／又は生後 86 日のホームケージ内観察及びハンドリング観察時に認められた。これらの所見は、連日の観察及び／又は投与後 1～2 時間の観察で認められた症状に関連するものであった。神経筋への影響として、生後 61 日に、2/6mg/kg BID 以上の群の雄で後肢の着地開足幅の平均値低下が、7.5/22.5mg/kg BID 群で後肢の握力の平均値低下が認められた。2/6mg/kg BID 以上の群の雄では、生後 86 日においても後肢の着地開足幅の平均値低下が継続していた。これらは体重への影響の二次的な変化と考えられた。いずれの用量においても、他の FOB パラメータに被験物質投与に関連した影響は認められなかった。更に、神経系組織に病理組織学的所見はみられなかった。いずれの用量でも、聴覚驚愕反応、学習及び記憶の評価（Biel 迷路）への被験物質投与に関連した影響はなかった。

自発運動量に関して 2/6mg/kg BID 以上の群の雄で、生後 61 日の平均総運動数及び平均歩行運動数が有意に増加した。これらの変化は、休薬期間後（生後 86 日）には認められなかった。雌では、生後 61 日の自発運動量は、いずれの用量においても影響はみられなかったが、生後 86 日の休薬期間終了時における平均総運動数は有意に増加した。しかしながら、馴化（時間経過に伴う運動活性の減少）は概して全群で認められたことから、これらの変化は生物学的に意義のあるものではなく、被験物質投与に関連した影響ではないと考えられた。

雌雄の受精率及び受胎率の低下が、2/6 及び 7.5/22.5mg/kg BID 群で認められ、それぞれ 2 及び 4 組の動物では胚が得られなかった。これらの変化は背景データの範囲内であり、0.2/0.6mg/kg BID 群において、生殖能への被験物質投与に関連した影響はなく、また、いずれの用量においても、交配までの期間、性周期及び精子検査に影響はなかった。生殖器重量に変化はなく、生殖器に病理組織学的所見はみられなかった。子宮内の胚の生存性にも被験物質投与の影響はなかった。更に、生殖発生毒性試験で他の生殖能に関するパラメータへの影響はなかった（2.6.6.6）が、この試験の高用量における受精率及び受胎率の低下が被験物質投与に関連した可能性は、否定できない。生殖能に関する結果を表 2.6.6.7- 10 に示す。

表 2.6.6.7- 10　生殖能

Parameter	Dosage Level (mg/kg BID)				[redacted] HC[a]
	0	0.2/0.6	2/6	7.5/22.5	Mean (Range)
Male Mating Index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	96.8 (83.3–100.0)
Female Mating Index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	98.1 (83.3–100.0)
Male Fertility Index (%)	100.0	100.0	90.0	76.5	91.9 (60.0–100.0)
Female Fertility Index (%)	100.0	100.0	90.0	76.5	93.4 (60.0–100.0)
Male Copulation Index (%)	100.0	100.0	90.0	76.5	95.1 (70.0–100.0)
Female Conception Index (%)	100.0	100.0	90.0	76.5	95.3 (65.2–100.0)
Estrous Cycle Length (days)	3.8	3.2	3.6	4.4	4.3 (3.2–7.6)
Pre-Coital Interval (days)	3.2	2.7	2.3	2.9	2.9 (1.8–4.8)

[a] [redacted] historical control data

生後 71 日における、ラロトレクチニブ投与に関連した主な臨床病理学的変化は、2/6mg/kg BID 以上の群の雌雄にみられた、BUN、クレアチニン及びリンの有意な増加であった。腎臓に関連する病理組織学的所見は認められなかった。軽度な AST の増加が、2/6mg/kg BID 群の雌及び 7.5/22.5mg/kg BID 群の雌雄で認められたが、被験物質投与との関連性は不明であった。AST 活性のみの変化は、非特異的な組織損傷又は保定手順によるストレスの可能性がある。また、2/6mg/kg BID 以上の群でアルブミン濃度、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少が認められたが、これらは背景データの範囲内であった。また、骨髄に関連する病理組織学的所見はみられなかった。

休薬期間終了時（生後 99 日）においては、2/6mg/kg BID 群以上の群の雄で AST の有意な増加がみられた事を除いて、他の変化は可逆的であった。軽度な変化であり、いずれも毒性を示唆するものではないと考えられた。

投与期間終了時剖検（生後 71 日）において、被験物質投与に関連した心臓及び肝臓重量の増加が 7.5/22.5mg/kg BID 群に、また脾臓重量の増加が 2/6mg/kg BID 群及び 7.5/22.5mg/kg BID 群でみられたが、関連する病理組織学的所見はなく、毒性ではないと判断した。休薬期間終了時に、心臓及び肝臓重量の増加には完全な回復性が、また脾臓重量の増加には部分的な回復性がみられた。

いずれの用量でも、被験物質投与に関連した肉眼的所見及び病理組織学的所見はなかった。

以上の結果に基づき、幼若ラットにおける STD_{10} は、中用量の 2/6mg/kg BID と考えられた。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。幼若ラットにおける NOAEL は、雄が中用量の 2/6mg/kg BID、雌が低用量の 0.2/0.6mg/kg BID 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。

2.6.6.8　局所刺激性試験

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。剖検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。

2.6.6.9　その他の毒性試験

2.6.6.9.1　抗原性

抗原性試験は実施していない。

2.6.6.9.2　免疫毒性

ICHS9 に記載されているとおり、一般毒性試験において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軽度な変化が認められた。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。

2.6.6.9.3　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に肝臓重量が増加し、4 週間反復投与試験において、肝細胞肥大が原因と考えられた。これら肝臓への影響は、ラット（2.6.6.3.1.1）及びサル（2.6.6.3.2.5）で確認されたように、肝酵素誘導[1)]と一致しており、酵素誘導が原因の可能性がある。ラット 7 日間投与試験及びサル 13 週間投与試験で採取し、調製した肝ミクロゾーム分画を用いて、肝ミクロゾーム蛋白質量、総チトクローム P450（CYP450）量及び各種薬物代謝酵素活性を測定した。

ラットにおいて、100mg/kg/日（50mg/kg BID）群の雌で、CYP3A 及び CYP4A の顕著な増加（それぞれ約 5.0 及び約 2.0 倍）がみられた。30 及び 100mg/kg/日（それぞれ、15mg/kg BID 及び 50mg/kg BID）群のミクロゾーム蛋白質量、総 CYP450 量、並びに CYP1A、CYP2B、CYP2E 及び UDPGT 活性に、対照群と比べ特記すべき変化は認められなかった。

サルにおいて、100mg/kg/日群の雌で CYP2B 及び CYP3A 活性の顕著な増加（それぞれ約 2.7 及び約 3.0 倍）がみられた。休薬期間では、CYP1A が 10mg/kg/日群の雄で約 2.4 倍、30mg/kg 群の雌で約 2.1 倍増加していたことを除き、特記すべき変化はなかった。

2.6.6.9.4　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）で示されており、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。

2.6.6.9.5 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、ヒトに特異的又はヒトで特に多く検出される（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。すべての動物種で O-グルクロニド代謝物である M14 が主要代謝物であった。また、M14 は、健常人血漿中の総薬物由来物質の約 30%を占める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 のラロトレクチニブを 1 日 2 回投与したがん患者におけるヒトの AUC に比べて、それぞれ 2 倍、1 倍及び 20 倍に相当することから（2.6.4.5.3）、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。ヒト血漿中に少量存在する他の代謝物も、ラット又はサルの血漿中に、ヒトの曝露量の 0.2～661 倍存在していた。これらの成績から、ヒトにおけるラロトレクチニブの代謝物は、非臨床試験に使用した動物種で適切に評価されたと考えられた。

2.6.6.9.6 不純物に関する試験

ラロトレクチニブの GLP 毒性試験では、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（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と考えられる。

2.6.6.9.7 光毒性

2.6.6.9.7.1 BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞ニュートラルレッド取り込み光毒性試験

参照項目：4.2.3.7.7.1 LOXO-101-TOX-017

BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いて、ラロトレクチニブの光毒性を *in vitro* で評価した。陽性対照として、プロメタジンを使用した。

溶解性評価の結果、1% DMSO／細胞培地中の被験物質溶解限界は 100μg/mL であった。用量設定試験において、細胞毒性及び光毒性に対する IC_{50} は得られなかった。

本試験に用いたラロトレクチニブ及びプロメタジン濃度を表 2.6.6.9- 1 に示す。

表 2.6.6.9- 1 プロメタジン及びラロトレクチニブ濃度（μg/mL）

Test Material	Definitive Assays 1 and 2							
Promethazine	0.100	0.316	1.00	3.16	10.0	31.6	100	178
Larotrectinib	1.78	3.16	5.62	10.0	17.8	31.6	56.2	100

本試験において、細胞を 5 J/cm^2 の UVA 及び 21 mJ/cm^2 の UVB に曝露させた。結果を表 2.6.6.9- 2 に示す。

表 2.6.6.9- 2 試験結果

Test Material	IC_{50} (μg/mL) –UVR	IC_{50} (μg/mL) +UVR	PIF	MPE	Phototoxic Potential	UVR Percent Survival	OD_{540}
Promethazine	45.260	0.665	68.123	0.546	Phototoxic	84	0.885
Larotrectinib (Assay 1)	-	-	*1	-0.023	Non-Phototoxic	84	0.877
Larotrectinib (Assay 2)	-	-	*1	-0.015	Non-Phototoxic	84	0.822

+ UVR: Phototoxicity: with UVR exposure.
– UVR: Cytotoxicity: without UVR exposure
–: IC_{50} not achieved.
PIF: Photoirritancy Factor: The criterion for “phototoxic” is PIF > 5.
PIF =*1: Both IC_{50}(-UVR) and IC_{50}(+UVR) could not be calculated (test article did not show cytotoxicity or phototoxicity), this indicates a lack of phototoxic potential. In this case, a formal PIF = *1 is used to characterize the result.
MPE: Mean Photo Effect. The criterion for “phototoxic” is MPE > 0.15.
UVR Percent Survival: OECD criterion is > 80%.
OD_{540}: OECD criterion is ≥ 0.400

本試験でラロトレクチニブは光毒性を示さなかった。

本試験において細胞生存性、OD_{540}、並びにプロメタジンの細胞毒性及び光毒性は OECD 432 ガイドラインで推奨される基準に適合しており、試験の妥当性が確認された。

2.6.6.10 新規添加物

2.6.6.10.1 ヒドロキシプロピルβシクロデキストリンの安全性に関する調査

ヒドロキシプロピルβシクロデキストリン（HPBCD）は、7 つのグルコース残基を有するβシクロデキストリンの水酸基を 2-ヒドロキシプロピル化したものであり、医薬・化粧品・工業分野などの非食品用に使用されている。ラロトレクチニブの臨床推奨用量である 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］）。一日当たり 1.746g の HPBCD 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。

成体ラット及びイヌに 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した結果が以下のとおり報告されている[2)]。

ラットに 450、2250 及び 4500mg/kg/日の HPBCD を 28 日間経口投与したところ、450mg/kg/日からヘモグロビンの低下、ALT の増加、クレアチニン及び中性脂肪の低下が、4500mg/kg/日では飲水量の増加、軟便、白血球増加、血小板の増加、網状赤血球及びヘマトクリットの低下、アルカリフォスファターゼ、AST 及びグルタミン酸デヒドロゲナーゼの増加、並びにグルコースの低下が認められた。病理組織学的所見はみられず、4500mg/kg/日まで毒性学的に問題ないと考えられた。ラットに 500、2000 及び 5000mg/kg/日の HPBCD を 12 ヵ月間混餌投与したところ、500mg/kg/日には毒性変化がなかった。2000mg/kg/日では、雄の体重の軽度な減少、血清中のクロライド及び血漿中の肝酵素の増加、尿 pH 及び尿量の低下、膵臓重量のわずかな増加、並びに病理組織学的所見（尿管上皮腫大、肝臓の小葉中心の腫大、膵臓の巣状過形成）がみられた。5000mg/kg/日では、更に雌の体重増加、摂餌及び飲水量増加、白血球増加、血小板減少、脂質低下、雌の尿潜血、膵臓、腎臓及び肺重量増加、並びに肺の泡沫細胞の増加がみられた。

イヌに 2250/kg/日の HPBCD を 28 日間強制経口投与しても毒性変化はみられなかった。また、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、1000mg/kg/日まで影響はなかった。2000mg/kg/日では、軟便と尿管の病理組織学的所見がみられた。

遺伝毒性に関しては、Ames 試験（1000μg/plate まで）、*in vivo* 小核試験（5000mg/kg/日まで）、不定期 DNA 合成試験、マウスリンフォーマ試験及びヒトリンパ球を用いた染色体異常試験で陰性であった。

ラットの発生毒性試験では、妊娠 6～16 日に 400mg/kg/日まで投与しても、母体毒性、胚毒性及び催奇形性はみられなかった。ウサギの発生毒性試験では、妊娠 6～18 日に 1000mg/kg/日まで投与すると、軽度な母体毒性及び胚毒性が認められたが、催奇形性はみられなかった。

また、幼若ラットの生後 4～46 日に 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なかった。NOAEL は、軟便がみられず、雌のみに軽度な体重増加抑制が認められた 500mg/kg/日であった[3)]。

HPBCD は 12 ヵ月間、成体ラットでは 500mg/kg/日を混餌投与、イヌでは 1000mg/kg/日まで経口投与しても毒性変化はみられず、遺伝毒性もなかった。また、ラット及びウサギでは、それぞれ 400mg/kg/日及び 1000mg/kg/日まで経口投与しても催奇形性は認められず、幼若ラットに経口投与した時の NOAEL は、500mg/kg/日であった。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 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。

2.6.6.11　考察及び結論

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（LOXO-101）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（表 2.6.6.1- 1）。代謝に関する *in vitro* 評価に基づき、動物種を選択した。ヒトミクロゾーム及び肝細胞を用いた *in vitro* 試験において、ヒトに特異的な代謝物は認められず、ヒトミクロゾーム及び肝細胞に検出されたすべての代謝物は SD ラット及び／又はカニクイザル由来の相当する分画によっても生成された（2.6.4.5.2）。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。

成体ラットにおけるラロトレクチニブ投与に関連した変化を以下に要約する。ラロトレクチニブを 1 日 1 回 600mg/kg まで単回経口投与した結果、死亡はみられなかった。臨床病理変化及び心臓重量の増加がみられたが、可逆的な変化であり、いずれも軽度であった。ラロトレクチニブを 7 日間経口投与した時、50mg/kg BID 以下の忍容性は良好であった。15 及び 50mg/kg BID において、有害ではない体重及び体重増加量の増加がみられた。150mg/kg BID では、忍容性が認められず、投与 7 日までに死亡及び呼吸異常による早期剖検例が生じた。15mg/kg BID 以上で肝臓重量が増加し、50mg/kg BID 群の雄では脾臓重量が増加した。50mg/kg BID 以上で、被膜下領域の肝細胞壊死が認められた。この所見は、使用したラットの系統に自然発生病変としてみられることから、毒性ではないと判断した。また、15mg/kg BID 以上の用量で、肝細胞空胞化の発現頻度及び程度の増加がみられた。これらの動物において、肝酵素の増加は認められず、肝臓への影響は毒性ではないと考えられた。

ラット 4 週間反復投与試験における特記すべき臨床症状は、用量依存性の皮膚病変であった。加えて、体重増加量及び摂餌量の用量依存性の増加が全用量で認められ、影響は雌でより顕著であった。可逆的な赤血球量パラメータの減少及び網状赤血球数の増加がみられた。骨髄に影響はなかった。PT の延長が 30mg/kg BID 以上の群の雄で、APTT の短縮が 10mg/kg BID 以上の群の雌雄で認められた。10mg/kg BID 以上の群で、フィブリノーゲンの増加がみられた。10mg/kg BID 以上の群で、BUN 及びクレアチニンの増加が認められたが、腎臓に関連する病理組織学的所見はみられなかった。10mg/kg BID 以上の群で、摂餌量増加に関連したコレステロールの増加がみられた。10mg/kg BID 以上の群の雌及び 30mg/kg BID 以上の群の雄で、アルブミンの減少が認められた。30mg/kg BID 以上の群で、ALT の増加が認められた。肝臓、甲状腺、心臓及び脾臓重量の可逆的な増加、並びに子宮重量の可逆的な減少がみられた。心臓重量増加に関連する病理組織学的所見はなかった。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 未満と判断した。ラットを用いた 13 週間反復投与試験において、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はなかった。潰瘍性皮膚病変が瀕死状態の主因であり、用量の低減、並びに獣医師の治療又は休薬を必要とした。一方、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、皮膚病変に伴う炎症性反応を反映したものと考えられ、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（MoE：約 0.4～0.6、表 2.6.6.11- 1）、STD_{10} は雄で 25/17.5mg/kg BID、雌で 25/10mg/kg BID であった（MoE：約 1～2、表 2.6.6.11- 1）。

サルにおける 7 日間反復投与用量設定試験において、ラロトレクチニブの忍容性は 25 及び 75mg/kg/日では良好であったが、200mg/kg/日は良好ではなかった。75mg/kg/日以上の用量でみられた臨床症状は、吐物、嘔吐、液状便及び自発運動低下であった。200mg/kg/日群の雌 1 例では、嘔吐の治療が必要であった。200mg/kg/日群の雄 1 例で体重減少がみられた。75mg/kg/日以

上でみられた軽度な臨床病理学的変化は、赤血球量パラメータ、網状赤血球数、アルブミン及び／又はリンの減少、並びにフィブリノーゲンの増加であった。75mg/kg/日を最大耐量と判断した（推奨臨床用量におけるヒト AUC の約 11 倍）。14 日間反復投与予備試験（1）において、300mg/kg/日の臨床的な忍容性は良好ではなかったが、100mg/kg/日は良好であった（MoE：約 8）。この試験の結果を基に、4 週間反復投与試験の高用量として、100mg/kg/日を選択した。

4 週間反復投与試験において、ラロトレクチニブの忍容性は 100mg/kg/日まで良好であった。雄において、用量に依存した軽度な動脈血圧低下が 2 日目に認められたが、変化は一過性でその後の測定ではみられなかった。アルブミンが 30mg/kg/日以上の用量で減少し、AST 及び ALT の増加が、100mg/kg/日の雄に低頻度でみられた。これらの変化は、可逆的であった。全用量で、肝細胞肥大に起因する肝臓重量の増加が認められた。NOAEL は 10mg/kg/日であった（MoE：約 0.2、表 2.6.6.11- 1）。13 週間反復投与試験において、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。30mg/kg/日以上の群の雄で、7 日目に拡張期血圧及び動脈血圧の一過性の低下が認められた。4 週間反復投与試験と同様に、この一過性の変化は投与初期にのみ発現し、その後の測定ポイントではみられなかった。軽度な体重増加量の増加が、100mg/kg/日群の雄で認められた。赤血球量パラメータ、アルブミン及びアルブミン／グロブリン比の減少などの臨床病理学的所見は、可逆的であった。グロブリン及びフィブリノーゲンの増加が 100mg/kg/日でみられた。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、また褐色脂肪細胞における大型の脂肪滴の増加が 100mg/kg/日群の雌で観察された。NOAEL は 100mg/kg/日であった（MoE：約 14、表 2.6.6.11- 1）。

ラット（成体及び幼若）及びサルの両方で認められた赤血球量パラメータの減少、血清アルブミンの減少、血清トランスアミナーゼの増加、肝臓重量増加、摂餌量増加の二次的変化としての体重増加、並びにリンパ系組織の変化について以下に考察した。

赤血球量パラメータ

成体ラット及び幼若ラット毒性試験の生後 71 日における血液学的変化として、赤血球量パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少がみられ、多くは網状赤血球数の増加を伴っていた。13 週間反復投与試験の 36 日目では、赤血球容積（MCV）の増加、赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）の減少、並びに血小板容積及び血小板数の増加が成体ラットにみられた。総じて、MCV、MCHC 及び網状赤血球数の変化は、赤血球量パラメータ減少に対する二次的な造血反応を示唆していた。これに対し、幼若ラット用量設定試験（2）の生後 29 日においては、網状赤血球数の減少を伴う赤血球量パラメータの減少が認められた。サルの 4 週間及び 13 週間反復投与試験における、赤血球量パラメータの減少は軽度であった。また、両動物種のすべての試験で、骨髄毒性を示唆する病理組織学的所見はみられなかった。すべての動物種で、赤血球量パラメータへの影響は軽度であり、毒性ではないと考えられた。成体ラットにおける、赤血球量パラメータの減少に付随する変化として、脾臓（4 週間及び 13 週間反復投与試験）及び肝臓（13 週間反復投与試験）の髄外造血が観察された。髄外造血も、ラットにおける皮膚病変の二次的変化と考えられた。

血清アルブミンの減少

成体ラットにおいて、4 週間及び 13 週間反復投与試験でアルブミンの減少が観察され、グロブリンの増加及びアルブミン／グロブリン比の減少を伴っていた。幼若ラットでは、生後 29 日（用量設定試験）及び生後 71 日（毒性試験）でアルブミンの減少がみられた。サルの 4 週間反復投与試験において、血清アルブミンは用量に依存して減少し、雌でより顕著であった。また、総蛋白の減少を伴っていた。サルの 13 週間反復投与試験では、軽度な血清アルブミンの減少がみられた。成体ラットにおいては、アルブミンの減少は 28 日間又はより長期の反復投与試験で

みられ、また慢性的な皮膚炎症に関連することから、複合要因的によるものと考えられた。サルでは、アルブミンの減少は炎症性の変化には関連していなかった。いずれの動物種においても、アルブミン減少の程度は軽度で、臨床的意義はないと考えられた。

肝臓

肝臓重量の増加が、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みられた。4 週間反復投与試験において、肝細胞肥大が重量増加の原因と考えられた。これら肝臓への影響は、成体ラット（2.6.6.3.1.1）及びサル（2.6.6.3.2.5）で確認されたように、肝臓の酵素誘導[1)]と一致していた。また、甲状腺重量の増加が、ラット 4 週間反復投与試験及び幼若ラット毒性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と関連すると考えられる[4)]。ラット及びサルの反復投与試験において、肝臓重量の変化は可逆的であった。

サルを用いた 4 週間反復投与試験の 26 日目に、100mg/kg/日群の雄で ALT 及び AST は約 2 倍に増加し、同群の 2 例では投与前値から 26 日目にかけて約 4 倍に増加した。休薬期間終了後、これら 2 例の雄における血清トランスアミナーゼは投与前値と同等であった。病理組織学的所見として 30 及び 100mg/kg/日群で、胆嚢隣接部位に軽微～軽度の実質の出血、主に胆嚢周囲で軽度～中等度の門脈周囲のリンパ球細胞浸潤及び胆管過形成が認められ、軽微な単細胞壊死がみられた。サルの 13 週間反復投与試験では、30mg/kg/日以上の群で肝細胞空胞化が増加したが、ALT 及び AST の増加はみられなかった。

ラットの 4 週間反復投与試験では、ALT は 30mg/kg BID 以上の群の雌及び 100mg/kg BID 群の雄で増加した（対照群の 2 倍未満）。しかしながら、30mg/kg BID 群の雌及び 100mg/kg BID 群の雄の個体値は、背景データの範囲内又は範囲に近似していた。病理組織学的検査で単細胞壊死が対照群及び全用量群の雌でみられ、30mg/kg BID 以上の用量で発現頻度及び程度が軽度に増加した。肝臓の病理組織学的所見と ALT の変化に明確な関連性はなかった。ラットの 13 週間反復投与試験では、ALT 及び AST の意義のある増加は認められなかった。幼若ラット毒性試験では、AST の変化のみがみられた。しかしながら、AST は肝臓に特異的ではなく、幼若ラットにみられた軽度な増加は肝臓への影響に起因したものではない可能性があると考えられた。

肝酵素の変化は、可逆的で、13 週間反復投与後には消失する軽度な肝臓への影響と結論された。

体重増加

体重変動がラット、ウサギ及びサルにみられた。体重増加はラットで最も顕著であった。ラットの 4 週間反復投与試験において、ラロトレクチニブ投与による有意な摂餌量及び体重の増加が観察された。摂餌量増加は、ラロトレクチニブ投与に関連した、視床下部における TRK 阻害による過食[5)]に起因すると考えられた。血清コレステロールの増加及び褐色脂肪組織の病理組織学的所見（空胞化及び大型の脂肪滴形成など）は、摂餌量及び体重増加の二次的変化であると考えられた[6)]。

過食と TRK 阻害の関連性は、脳由来神経栄養因子（BDNF）とその TRKB 受容体が、摂餌行動及びエネルギー恒常性のコントロールに関連するとの報告[7, 8)]によって説明することができる。過食による肥満は、ヒト *BDNF* 遺伝子の変異を伴う[9)]。TRKB 欠乏は過食による肥満の原因となり[10, 11)]、マウス脳における TRKB 発現の欠損は過食性肥満を引き起こす[5, 12)]。BDNF の mRNA は通常、腹側内側視床下部に発現している[13)]。以上、ラロトレクチニブの反復投与試験で観察された、体重及び摂餌量の増加は、脳視床下部における TRKB 受容体の阻害に基づく、過度な薬理作用に起因すると考えられた。

褐色脂肪細胞はヒトとげっ歯類に存在するが、ヒトと異なり、げっ歯類では成長後も存在する。褐色脂肪細胞の主な存在部位は、肩甲骨間褐色脂肪細胞組織（IBAT）である。IBAT の主要な機能は、蓄積したエネルギーを熱として発散し、体重をコントロールする機序を提供することである[14]。ラロトレクチニブを投与したラットにおける褐色脂肪細胞の変化は、エネルギー消費を増加させ、それによって体重を制御する IBAT 介在性の熱発生機構に関連すると考えられる[6]。このような背景から、ラットを用いた 13 週間反復投与試験では、摂餌制限を行い、また、IBAT を採取し評価した。摂餌制限により体重増加が軽減され、肥満の二次的影響が軽減された。ラロトレクチニブ投与ラットには、対照群における前日の一日当たりの摂餌量平均値の約 120±5%を連日給餌した。ラット 13 週間反復投与試験において、体重は増加したが有害なものではなかった。コレステロールの増加及び IBAT における大型の脂肪滴形成は、軽微であった。

サルの 4 週間及び 13 週間反復投与試験において、摂餌量の増加は認められなかったが、13 週間反復投与試験における 100mg/kg/日群の雄の体重増加量は、対照群より増加した。この体重増加は、軽微であり毒性ではないと考えられた。また、100mg/kg/日群の雌における軽度な IBAT の大型脂肪滴形成と同様にラロトレクチニブ投与に関連した変化と判断した。

また、ラロトレクチニブ投与に関連した摂餌量及び体重増加量の増加は、胚・胎児発生試験において妊娠ラット及びウサギにも認められた。

リンパ系組織

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 週間反復投与試験において、胸腺及びリンパ節（腸間膜、下顎）に影響が認められた。可逆性の胸腺重量増加（高用量群の雄）がみられたが、関連する病理組織学的所見はなかった。リンパ節におけるリンパ球過形成は、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、成体ラットの増加は赤血球量パラメータの減少と関連した変化の可能性が考えられた。サルでは、4 週間反復投与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、脾臓重量が増加した。これらの変化は可逆的であった。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

消化管は、サルでのみ標的臓器である可能性が示された。7 日間反復投与試験で、嘔吐及び液状便が 75mg/kg/日以上でみられた。これらの所見は 200mg/kg/日では投与を制限するものであり、1 例の雌では 1 日目に嘔吐の治療が必要であった。13 週間反復投与試験において、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り、臨床症状としては、100mg/kg/日群の雄で嘔吐／吐物の頻度増加がみられたのみであった。また、関連する病理組織学的所見はみられなかった。

一般毒性試験において、ラットはサルよりも死亡及び瀕死状態、並びに標的組織／臓器の数に関して感受性が高かった。ラット特異的な所見を以下に記載する。

皮膚

複数のラット反復投与試験で観察された皮膚病変は、13 週間反復投与毒性試験でみられた瀕死状態及び死亡の主因であった。なお、ラロトレクチニブ投与に関連したと考えられるそう痒症、発疹及び皮膚乾燥などの皮膚所見が臨床試験で報告されている（2.7.4.2.1.1.3　表 2.7.4.2-5）。ラット 4 週間反復投与毒性試験において、皮膚病変は頸部及び頭部に局在し、忍容性は総じて良好で、4 週間の休薬期間後に回復した。病変は、主に初回投与の 14 日目から認められた。病変の病理組織学的特徴は、4 週間及び 13 週間反復投与試験で類似しており、軽微で限局性の

皮膚炎から表皮の潰瘍及び痂皮形成に至る慢性的な炎症であった。また、病変の発現頻度及び程度は用量に依存していた。13 週間反復投与試験では、休薬後に雌は完全な、雄は部分的な回復がみられた。炎症性病変の二次的所見として、脾臓（髄外造血）、肝臓（髄外造血）、骨髄（過細胞充実性）及びリンパ節（過形成）がみられた。幼若ラット毒性試験において、背側頭部、頸部及び躯幹、腹側頸部、顔面及び耳の痂皮形成、並びに脱毛の頻度増加が、高用量である 7.5/22.5mg/kg BID 群で認められた。ラロトレクチニブを投与したラットにおいて、皮膚を反復してひっかく行動はみられておらず、皮膚病変発生の理由は不明であった。更に、[^{14}C]-ラロトレクチニブを 10mg/kg（210mCi/kg）の用量で単回経口投与した時の、LE 有色ラットにおける組織分布を、全身オートラジオグラフによって定量的に検討した（2.6.4.4.1.3）ところ、有色及び非有色皮膚は、C_{max} が最も低い組織に含まれていた。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が、皮膚における高濃度のラロトレクチニブによって誘発された可能性は低いと考えられた。ラロトレクチニブを投与した正常 SD ラットに観察された変化と対照的に、アトピー性皮膚炎病態モデル（Nc/Nga 近交系マウス）におけるラロトレクチニブの投与は紅斑、浮腫、耳腫脹及びひっかき行動のスコアを減少させた（2.6.2.3.2.9）。

心臓

成体及び幼若ラットを用いた複数の反復投与試験において、心臓重量の増加がみられた。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。休薬期間終了時の心臓重量は対照群と同等であった。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、心肥大に最も共通する原因は高血圧である[15]が、ラロトレクチニブに関しては、ラットに高用量（300mg/kg）を単回投与した時に、軽度な収縮期血圧の増加が認められたのみであった（2.6.2.4.2.2.1）。この軽度な血圧上昇が心臓重量の変化の原因とは考えられず、ラットにおける心臓重量増加の機序は不明であるが、関連する病理組織学的所見はみられなかった。

膵臓

4 週間反復投与毒性試験において、腺房細胞におけるチモーゲン顆粒の減少が、主に高用量群の雌雄で認められた。高用量群の雄では、膵臓の外分泌部の限局性の炎症及び腺房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、膵臓の内分泌部に変化がみられ、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[16]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。

尿素窒素及びクレアチニンの増加

血清 BUN 及びクレアチニンが、ラット成体及び幼若動物で増加した。4 週間反復投与試験において、BUN 及びクレアチニンの用量に依存した増加が、10mg/kg BID 以上の群で認められた。この変化は、13 週間反復投与試験では再現されなかった。幼若ラット毒性試験において、軽微～軽度の BUN、クレアチニン及びリンの増加が、生後 71 日にみられた。これに対し、幼若ラット用量設定試験の生後 29 日においては、BUN とクレアチニンの増加は認められなかった。BUN 及びクレアチニンが増加したいずれの試験においても、腎臓に病理組織学的所見はみられなかったことから、これらの臨床生化学的変化は、有害ではないと考えられた。

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 *in vitro* 哺乳動物細胞を用いた変異原性（マウスリンフォーマ TK）試験の結果、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。

雄性生殖器への影響は、反復投与毒性試験において評価した。加えて、精子形成に関する評価を、ラット 13 週間反復投与試験及び幼若ラット毒性試験の一部として実施した。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投与に関連した影響は観察されなかった。また、いずれの試験でも、雄性生殖器にラロトレクチニブ投与に関連した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活性は、他の組織に比べて極めて低かった（2.6.4.4.1.3）。サルでは雄性生殖器に所見は見られなかった。

雌性生殖器に対するラロトレクチニブ投与の影響を、反復投与毒性試験において評価した。ラット 4 週間反復投与試験において、子宮重量の可逆的な減少が、中及び高用量群で認められ、高用量では子宮萎縮がみられた。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 週間反復投与試験においても認められた。4 週間及び 13 週間反復投与試験のいずれも影響は軽微であり、部分的な回復性がみられた。各試験における発現頻度及び程度を考慮すると、乳腺過形成は進行性の変化とは考えられなかった。サルでは雌性生殖器に所見は見られなかった。

幼若ラット毒性試験（2.6.6.7.3）において、交配を実施し、生殖能及び胚・胎児発生を評価した。交配は、投与期間終了後 28 日（生後 99 日）に開始した。生存していたすべての雌ラットについて、交尾確認 15 日後に剖検した。中及び高用量群のそれぞれ 2 及び 4 組の動物で胚を得ることができなかったため、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った。同時に評価した、交配までの期間、発情周期の長さ、精子評価、生殖器の重量及び病理組織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も影響はなかった。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・胎児発生毒性試験において、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。妊娠ラットを用いた胚・胎児発生試験では、120mg/kg BID 群の 4 例でラッセル音、努力呼吸、喘ぎ呼吸及び運動失調がみられ、瀕死状態となった。ウサギの胚・胎児発生試験では、母動物に運動失調、振戦、後肢不全、衰弱及び糞便量減少などが 75mg/kg BID 群で認められた。これらの所見に基づき、母動物に対する NOAEL はラットが 40mg/kg BID （MoE：約 9、表 2.6.6.11- 1）、ウサギが 30mg/kg BID（MoE：約 3、表 2.6.6.11- 1）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。ラット及びウサギの胎児血漿で、ラロトレクチニブの曝露が確認された。胚・胎児発生に対する NOAEL は、ラットで 120mg/kg BID（MoE：約 32、表 2.6.6.11- 1）、ウサギで 75mg/kg BID（MoE：約 16、表 2.6.6.11- 1）であった。動態の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された（2.6.4.4.1.4 及び 2.6.4.4.1.5）

幼若ラットを用いた毒性試験では、成体ラットの試験と比べて新たな標的臓器はみられなかった。生後 7～70 日に投与した幼若ラット毒性試験において、高用量 7.5mg/kg BID 群で生後 9～16 日に死亡／切迫安楽死がみられたが、生後 28 日以降は、いずれの群にも死亡／切迫安楽死はみられなかった。臨床症状として、2/6mg/kg BID 以上の群で、部分的又は完全な閉眼が観察された。高用量（7.5/22.5mg/kg BID）において、低頻度で一過性の中枢神経系症状（首振り及び旋回）が認められた。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 以上の用量でみられた体重及び摂餌量の減少は、高用量群の雄では毒性と考えられ、脛骨長の減少に関連していた。雌では投与期間終了時（生後 70 日）に体重の増加がみられ、

成体ラットで認められる過食に関連する変化と考えられた。2/6 及び 7.5/22.5mg/kg BID 群の雌雄に、腎機能変動を示唆する BUN、クレアチニン及びリンの増加が認められた。これらの変化は、回復性があり、腎臓に関連する病理組織学的所見はみられなかった。心臓、肝臓及び脾臓重量の増加が 2/6mg/kg 及び／又は 7.5/22.5mg/kg BID 以上の用量でみられたが、回復性があり、関連する病理組織学的所見は認められなかった。幼若ラット用量設定試験（2）で肺及び腎臓に所見が認められた（2.6.6.7.2）ことから、生後 29 日に、対照群及び高用量群のそれぞれ 5 例／性を剖検し、肺及び腎臓のみ病理組織学的に検査した。しかしながら、用量設定試験（2）でみられた肺及び腎臓の変化は、この試験では再現されなかった。理由は明確ではないが、肺に関しては、この試験で剖検時に固定液を用いて肺を一定圧で膨張させる方法を採用したが、用量設定試験（2）ではこの方法が用いられていなかったことが原因となった可能性がある。FOB におけるラロトレクチニブの中枢神経系への影響は軽度であり、毒性ではないと考えられた（2.6.2.4.1.3.2）。幼若ラット毒性試験において、学習及び記憶への影響はみられなかった。これらの結果から、両性とも 2/6mg/kg BID が STD_{10} と考えられた（MoE：雄で約 0.3、雌で約 0.7、表 2.6.6.11- 1）。また、NOAEL は、雄が中用量の 2/6mg/kg BID、雌が低用量の 0.2/0.6mg/kg BID と判断した（MoE：雄で約 0.3、雌で約 0.04、表 2.6.6.11- 1）。

脳の発生における TRK 受容体の役割を考慮すると、これらの脳受容体抑制の影響を理解することが、TRK 阻害薬の開発にとって重要である。3 種類の TRK 受容体はいずれも、神経発生に重要な役割を果たしている可能性が高い。したがって、ラロトレクチニブの開発初期に、運動失調などの中枢神経系臨床症状を誘発する可能性を探索する一連の試験が実施された。ラロトレクチニブに関する成績及び中枢神経系への影響については、薬理試験の概要文（2.6.2）に記載されている。

一般毒性試験では、サル及び成体ラット（雄及び非妊娠雌）に意義のある中枢神経系所見は報告されていない。ラット 4 週間反復投与試験において、中枢神経系の臨床症状として、投与後 30 分間持続する自発運動の増加が観察された。中枢神経系症状は妊娠ラット及びウサギ（胚・胎児発生試験）においても高用量で報告されており、高用量でみられる毒性症状と考えられる。運動失調、頭部傾斜及び／又は振戦が報告されているが、これらは一過性で低頻度であった。120mg/kg BID 群において、2／30 例の妊娠ラットで妊娠 13 日及び 14 日に運動失調が、また 1 例の雌で妊娠 13 日に頭部傾斜が観察された。75mg/kg BID 群において、1／24 例の妊娠ウサギに、振戦が計 3 回、また 2／24 例に運動失調（1 例は 1 回、他の 1 例は 6 回）がみられた。幼若ラットにおける毒性試験では、首振り及び旋回が、高用量群の雄 3 例及び雌 2 例（試験総数：45 例／性／群）で生後 21～23 日の間にそれぞれ 1～2 回、観察された。これらの成績、並びに成体ラット及びサルと比較すると、幼若ラットは中枢神経系影響に対する感受性がわずかに高いことが示唆された。ラットにおけるラロトレクチニブの中枢神経系への通過性を検討した試験で、脳における非結合ラロトレクチニブ濃度は、血漿中の非結合濃度よりも低かった（2.6.4.4.1.2）。更に、ラットを用いた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の放射活性は、脳血液関門を通過せず、脳室周囲を除く中枢神経系組織に分布していなかった（2.6.4.4.1.3）。この結果は、ラロトレクチニブの非臨床試験で認められた中枢神経系症状が軽度であったことを裏付けるものである。

ラロトレクチニブは、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、光毒性を示さなかった（2.6.6.9.7.1）。

[^{14}C]-ラロトレクチニブを経口投与した健常人の血漿における、ラロトレクチニブ未変化体及びグルクロニド代謝物 M14 は、血漿中総薬物由来物質に対して、それぞれ約 22%及び 30%であった。したがって、M14 は主要代謝物と考えられる。がん患者における定常状態での M14 曝露量を、ラット及びサルの曝露量と比較した混合マトリックス代謝試験（2.6.4.5.3）の結果、M14 は非臨床毒性試験に使用した動物種において十分なレベルで存在し、M14 の安全性が確認されていることが示された。すなわち、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、ヒト AUC（100mg BID）のそれぞれ 2 倍、1 倍及び 20 倍であった。その他のヒト代謝物（10%未満）もすべて、ラット又はサルの血漿中に、ヒトの曝露量の 0.2 倍～661 倍存在していた。

主要な試験の NOAEL 及び STD_{10} における、動物の全身性曝露量とヒトの曝露量（AUC_{0-24}、C_{max}）との曝露比を表 2.6.6.11- 1 に示す。成人患者に 100mg BID（123mg/m^2/日）を投与後、定常状態の総ラロトレクチニブ血漿中 C_{max}（914ng/mL）及び AUC（5410ng*h/mL）を、曝露量比の算出に使用した。小児患者については、100mg/m^2 BID（最高 100mg BID）の用量におけるラロトレクチニブへの曝露量は、100mg BID 投与時の成人患者と同様であり、同じく定常状態の C_{max} 及び AUC を曝露比の算出に使用した。ラットの 4 週間反復投与試験で用いた最高用量であり、また STD_{10} である、100mg/kg BID（1200mg/m^2/日）における AUC は、推奨臨床用量におけるヒト AUC の約 22～37 倍に相当した。ラットの 13 週間反復投与試験における STD_{10} は、雄で 25/17.5mg/kg BID（210mg/m^2/日）、雌で 25/10mg/kg BID（120mg/m^2/日）であり、推奨臨床用量におけるヒト AUC の約 1.2～2.0 倍に相当した。サルの 13 週間反復投与試験における NOAEL は、100mg/kg/日（1200mg/m^2/日）であり、同用量の曝露量は、推奨臨床用量におけるヒト AUC の約 10～17 倍（雌雄平均値：14 倍）に相当した。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験における NOAEL は、それぞれ 120mg/kg BID（1440mg/m^2/日）及び 75mg/kg BID（1800mg/m^2/日）であり、推奨臨床用量におけるヒト AUC の約 32 倍及び 16 倍であった。幼若ラット毒性試験では、2/6mg/kg BID（24/72mg/m^2/日）が STD_{10} と考えられ、推奨臨床用量におけるヒト AUC に対して雄は 0.3 倍、雌は 0.7 倍であった。

ラロトレクチニブの毒性は、毒性試験において広範囲に確認されている。ラットとサルで比較すると、顕著な毒性はラットにのみ認められたことから、ラットがより感受性の高い種であると考えられた。用量制限性の皮膚病変はラット特異的であり、13 週間反復投与試験における死亡や瀕死状態の主因であった。ラロトレクチニブ投与に関連したと考えられる皮膚病変はサルでは認められなかったが、臨床試験ではそう痒症、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）。病理組織学的所見を伴わない消化管毒性を示唆する臨床症状が、サルにおける用量制限性の変化であった。更に、報告された主な変化は以下のとおり：TRK 阻害薬の薬理作用に関連すると考えられる体重増加（全動物種）；過食性肥満に関連すると考えられる褐色脂肪の変化；肝臓における主に適応性の反応、及び肝トランスアミナーゼの増加（両動物種、高用量）；肝臓の適応性反応の二次的変化としてのラットの甲状腺の変化；白血球百分率数の変化を伴わないリンパ系組織における病理組織学的所見（両動物種）；ラットの 4 週間及び 13 週間反復投与試験における膵臓の変化；骨髄毒性を伴わない軽度で可逆性の赤血球量パラメータの変化（両動物種）；ラットの唾液腺の変化；ラット 4 週間反復投与試験における病理組織学的所見を伴わない心臓重量の増加。ラットでは雌性生殖器（子宮及び乳腺）への影響もみられたが、サルに影響はなかった。ラット及びサルのいずれも雄性生殖器への影響はみられなかった。幼若ラットにおいて、中枢神経系症状が高用量でみられた。幼若ラットでは、成体ラットに比べて新たな標的臓器は確認されなかったが、忍容性が認められた用量はより低かった。反復投与試験における所見は、回復性又は回復傾向を示した。ラット及びサルのいずれにおいても、長期投与（13 週間）による新たな変化はみられなかった。ラロトレクチニブは、母動物の毒性用量よりも高い用量でラット及びウサギに催奇形性を示さなかった。ラロトレクチニブに遺伝毒性（*in vitro* 及び *in vivo*）及び光毒性（*in vitro*）は認められなかった。

以上より、ラロトレクチニブの非臨床安全性評価に適していると考えられるラット及びサルを用いた単回投与及び反復投与毒性試験において、毒性プロファイルが明らかにされ、遺伝毒性、生殖毒性、代謝物及び不純物の影響も検討された。得られた成績は、*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進行がん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 2.6.6.11- 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主要な試験における、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	AUC_{0-24} [µg·h/L]	AUC_{0-24} MoE
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
Embryo/fetal 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
Embryo/fetal 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	61.7 (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	5194	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
STD_{10}: severely toxic dose, 10%
N/A: not applicable
*: mg/m^2/day

2.6.6.12　図表

図表は適切に記載した。

引用文献一覧

1) Maronpot RR et al., Toxicol Pathol 2010:38:776-795 (4.3.29)
2) Gould S et al., Food Chem Toxicol 2005:43(10):1451-1459 (4.3.39)
3) De Schaepdrijver L et al., Reprod Toxicol 2015:56:87-96 (4.3.40)
4) Zabka TS et al., Toxicol Pathol 2011:39:664-677 (4.3.35)
5) Liao G-Y et al., Mol Metabolism 2013:2: 491-497 (4.3.27)
6) Bukowiecki L et al., Am J Physiol 1982;242:E353-E359 (4.3.20)
7) Tsao D et al., Endocrinology 2008:149:1038-1048 (4.3.32)
8) Spaeth AM et al., Am J Physiol Endocrinol Metab 2012:302:E1252-E1260 (4.3.31)
9) Gray J et al., Diabetes 2006:55:3366-3371 (4.3.23)
10) Yeo GS et al., Nat Neurosc. 2004:7:1187-1189 (4.3.34)
11) Gupta VK et al., Int J Mol Sci 2013:14:10122-1-142 (4.3.24)
12) Ozek C et al., Mol Metab 2015:4:867-880 (4.3.30)
13) Lyons WE et al., PNAS U.S.A. 1999:96:15239-15244 (4.3.28)
14) Vanevski F et al., Frontiers in Neuroscience 2013:7:1-10 (4.3.33)
15) Doggrell SA, Brown et al., Cardiovasc Res 1998:39:89-105 (4.3.22)
16) Imaoka Met al., Toxicol Pathol 2007:35:388-394 (4.3.25)

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表

Test Article: larotrectinib

Overview of Toxicology Studies

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose mg/kg/day (mg/kg/dose BID[3]) [1]	GLP[2]	Testing Facility	Study Number / Bayer Report Number (Location)
Single-Dose Toxicity						
Single dose with TK Rat/Sprague-Dawley	Oral Gavage	1 day	0, 100, 300, 600	Yes	[redacted] France	LOXO-101-TOX-001/ R-12399 (4.2.3.1.1)
Repeated-Dose Toxicity						
7-day DRF with TK Rat/Sprague-Dawley	Oral Gavage	7 days	0, 30 (15), 100 (50), 300 (150)	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-014/ R-12401 (4.2.3.2.1)
28-day DRF with TK Rat/Sprague-Dawley	Oral Gavage	28 days	0, 20 (10), 60 (30), 200 (100)	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-002/ R-12398 (4.2.3.2.2)
42-day with TK Rat/Sprague-Dawley	Oral Gavage	42 days	0, 200 (100)	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-012/ R-12446 (4.2.3.2.3)
4-week with TK with 4-week recovery period Rat/Sprague-Dawley	Oral Gavage	4 weeks	20 (10), 60 (30), **200 (100)**	Yes	[redacted] France	LOXO-101-TOX-003/ R-12422 (4.2.3.2.4)
13-Week with TK and 4-week recovery period Rat/Sprague-Dawley	Oral Gavage	13 weeks	Males: 0, 15 (7.5), **50/35 (25/17.5)** [4], 150/100/75 (75/50/37.5) [4] Females: 0, 15/10 (7.5/5) [4], **50/20 (25/10)** [4], 150/100/40 (75/50/20) [4]	Yes	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-018/ R-12400 (4.2.3.2.5)

Test Article: larotrectinib

Overview of Toxicology Studies (continued)

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose mg/kg/day (mg/kg/dose BID[3]) [1]	GLP[2]	Testing Facility	Study Number / Bayer Report Number (Location)
7-day DRF with TK Monkey/Cynomolgus	Oral Gavage	7 days	0, 25, 75, 200	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-015/ R-12431 (4.2.3.2.6)
14-day with TK Monkey/Cynomolgus (1)	Oral Gavage	14 days	0, 30, 100, 300	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-004/ R-12423 (4.2.3.2.7)
14-day with TK Monkey/Cynomolgus (2)	Nasogastric Gavage	14 days	0, 30, 100	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-005/ R-12447 (4.2.3.2.8)
4-week with TK with 4-week recovery period Monkey/Cynomolgus	Oral Gavage	4 weeks	10, 30, 100	Yes	[redacted] France	LOXO-101-TOX-006/ R-12414 (4.2.3.2.9)
13-Week with TK and 4-week recovery period Monkey/Cynomolgus	Oral Gavage	13 weeks	0, 10, 30, 100	Yes	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-019/ R-12410 (4.2.3.2.10)
Genotoxicity						
Salmonella/Mammalian Microsome assay – *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100)	*In Vitro*	NA	10, 50, 100, 500, 1000, 5000 µg per plate (±S9)	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-007/ R-12413 (4.2.3.3.1.1)
Bacterial reverse mutation assay - *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, TA100) *Escherichia coli* (WP2*uvr*A)	*In Vitro*	NA	Initial assay: 1.5, 5.0, 15, 50, 150, 500, 1500, 5000 µg per plate (±S9) 50, 150, 500, 1500, 5000 µg per plate (±S9)	Yes	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-009/ R-12445 (4.2.3.3.1.2)

Test Article: larotrectinib

Overview of Toxicology Studies (continued)

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose mg/kg/day (mg/kg/dose BID[3]) [1]	GLP[2]	Testing Facility	Study Number / Bayer Report Number (Location)
L5178Y/TK$^{+/-}$ Mouse lymphoma assay	*In Vitro*	NA	Confrimatory assay: 25, 50, 100, 150, 250, 400, 600, 800 µg/mL (+S9), 5.0, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL (-S9)	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-008/ R-12411 (4.2.3.3.1.3)
L5178Y/TK$^{+/-}$ Mouse lymphoma assay	*In Vitro*	NA	4-hr independent assay: 300, 400, 450, 475, 500, 600, µg/mL (+S9), 24-hr extended treatment assay: 100, 200, 250, 300, 350, 400 µg/mL (-S9)	Yes	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-010/ R-12412 (4.2.3.3.1.4)
Mouse micronucleus test Mouse/ICR	Oral gavage	1 day	0, 125, 250, 500	Yes	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-011/ R-12444 (4.2.3.3.2.1)
Reproductive and Developmental Toxicity						
DRF Embryo/Fetal Development with TK Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	GD6-17	0, 6 (3), 20 (10) 80 (40), 240 (120)	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-023/ R-12419 (4.2.3.5.2.1)
Embryo/Fetal Development with TK Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	GD6-17	0, 20 (10) 80 (40)[5], 240, (120)[6]	Yes	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-024/ R-12420 (4.2.3.5.2.2)

Test Article: larotrectinib

Overview of Toxicology Studies (continued)

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose mg/kg/day (mg/kg/dose BID[3]) [1]	GLP[2]	Testing Facility	Study Number / Bayer Report Number (Location)
5-day Tolerability Non-pregnant New Zealand White Rabbits [Hra:(NZW)SPF]	Oral gavage	5 days	15(7.5), 50 (25) 150 (75), 400 (200)	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-026/ R-12393 (4.2.3.5.2.3)
DRF Embryo/Fetal Development with TK New Zealand White Rabbits [Hra:(NZW)SPF]	Oral gavage	GD7-20	0, 20 (10), 60 (30), 170 (85), 500 (250)	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-027/ R-12421 (4.2.3.5.2.4)
Embryo/Fetal Development with TK New Zealand White Rabbits [Hra:(NZW)SPF]	Oral gavage	GD7-20	0, 30 (15), 60 (30)[5], 150 (75)[6]	Yes	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-028/ R-12402 (4.2.3.5.2.5)
Juvenile Toxicity						
DRF with TK in Juvenile Rats/Sprague Dawley	Oral gavage	PND7-28	0, 30 (15), 100/1 (50/0.5)[4] 200/3 (100/1.5)[4] 300/10 (150/5)[4]	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-020/ R-12416 (4.2.3.5.4.1)
DRF with TK in Juvenile Rats/Sprague Dawley	Oral gavage	PND7-28	0, 2 (1), 6 (3) 20 (10)	No	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-022/ R-12418 (4.2.3.5.4.2)
Juvenile toxicity with TK Rats/Sprague Dawley	Oral gavage	PND7-70	0, 0.4/1.2(0.2/0.6)[7] **4/12 (2/6)[7]** 15/45 (7.5/22.5)[7]	Yes	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-021/ R-12417 (4.2.3.5.4.3)

Test Article: larotrectinib

Overview of Toxicology Studies (continued)

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose mg/kg/day (mg/kg/dose BID[3]) [1]	GLP[2]	Testing Facility	Study Number / Bayer Report Number (Location)
Other Toxicity Studies						
Phototoxicity	*In vitro*	NA	1.78, 3.16, 5.62, 10.0, 17.8, 31.6, 56.2 and 100 µg/mL	Yes	[redacted] USA	LOXO-101-TOX-017/ R-12415 (4.2.3.7.7.1)

[1] Unless otherwise specified. For pivotal repeated-dose studies, the no observed adverse effect level (NOAEL) is underlined, and the severely toxic dose in 10% of Animals (STD_{10}) in rats is given in bold.
[2] Study conducted according to GLP regulations.
[3] Twice daily dosing in rats and rabbits.
[4] Doses were lowered as indicated. Initial dose/lowered dose (first time)/lowered dose (second time), if applicable.
[5] The no observed adverse effect level (NOAEL) for maternal toxicity.
[6] The no observed adverse effect level (NOAEL) for embryo-fetal developmental toxicity.
[7] Due to significant decreases in exposures after PND 28, doses were increased by 3-fold on PND 28 to account for exposure loss.
NA Not Applicable
BID Twice daily
DRF dose range finding
GD Gestation day
PND postnatal day
S9 Rat liver S9-fraction, metabolic activation

2.6.7.2 トキシコキネティクス： トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: larotrectinib

Overview of Toxicokinetic Studies

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg/day)	GLP[1]	Study Number (Location)
Single-dose toxicity	Rat	Oral	100, 300, 600	Yes	LOXO-101-TOX-001 (4.2.3.1.1)
7-day toxicity	Rat	Oral	30, 100, 300	No	LOXO-101-TOX-014 (4.2.3.2.1)
28-day toxicity	Rat	Oral	20, 60, 200	No	LOXO-101-TOX-002 (4.2.3.2.2)
42-day toxicity	Rat	Oral	200	No	LOXO-101-TOX-012 (4.2.3.2.3)
4-week toxicity	Rat	Oral	20, 60, 200	Yes	LOXO-101-TOX-003 (4.2.3.2.4)
13-week toxicity	Rat	Oral	Day 1:15, 50, 150 Day 91 (males): 15, 35, 75 Day 91 (females): 10, 20, 40	Yes	LOXO-101-TOX-018 (4.2.3.2.5)
7-day toxicity	Monkey	Oral	25, 75, 200	No	LOXO-101-TOX-015 (4.2.3.2.6)
14-day toxicity	Monkey	Oral	30, 100, 300	No	LOXO-101-TOX-004 (4.2.3.2.7)
14-day toxicity	Monkey	Oral	30, 100	No	LOXO-101-TOX-005 (4.2.3.2.8)
4-week toxicity	Monkey	Oral	10, 30, 100	Yes	LOXO-101-TOX-006 (4.2.3.2.9)
13-week toxicity	Monkey	Oral	10, 30, 100	Yes	LOXO-101-TOX-019 (4.2.3.2.10)
Reproductive and Developmental toxicity	Rat	Oral	6, 20, 80, 240	No	LOXO-101-TOX-023 (4.2.3.5.2.1)
Reproductive and Developmental toxicity	Rat	Oral	20, 80, 240	Yes	LOXO-101-TOX-024 (4.2.3.5.2.2)
Reproductive and Developmental toxicity - tolerability	Rabbit (non-pregnant)	Oral	15, 50, 150, 400	No	LOXO-101-TOX-026 (4.2.3.5.2.3)
Reproductive and Developmental toxicity	Rabbit	Oral	20, 60, 170, 500	No	LOXO-101-TOX-027 (4.2.3.5.2.4)
Reproductive and Developmental toxicity	Rabbit	Oral	30, 60, 150	Yes	LOXO-101-TOX-028 (4.2.3.5.2.5)

Test Article: larotrectinib

Overview of Toxicokinetic Studies (continued)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg/day)	GLP[1]	Study Number (Location)
Juvenile toxicity	Rat	Oral	30, 100/1, 200/3, 300/10	No	LOXO-101-TOX-020 (4.2.3.5.4.1)
Juvenile toxicity	Rat	Oral	2, 6, 20	No	LOXO-101-TOX-022 (4.2.3.5.4.2)
Juvenile toxicity	Rat	Oral	PND 7-PND 27: 0.4, 4, 15 PND 28-PND 70: 1.2, 12, 45	Yes	LOXO-101-TOX-021 (4.2.3.5.4.3)

[1] Indicates study includes a GLP compliance statement
PND Postnatal day

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Test Article: larotrectinib

Overview of Toxicokinetics Data in Pivotal Studies

	Steady State AUC_{0-24} (µg*h/mL) (Males/Females)			Steady State C_{max} (µg/mL) (Males/Females)		
Species	**Rat/Sprague-Dawley**	**Rabbit/ New Zealand White**	**Monkey/ Cynomolgus**	**Rat/Sprague-Dawley**	**Rabbit/ New Zealand White**	**Monkey/ Cynomolgus**
Method of Administration	PO	PO	PO	PO	PO	PO
Dose (mg/kg/day)						
1.2	0.0814/0.186 (PND 70)[l]			0.0123/0.0257 (PND 70)[l]		
10	3.06 (F)[e]		1.29 (M+F)[h]	0.500 (F)[e]		0.182 (M+F)[h]
			2.93/2.31[i]			0.701/0.779[i]
12	1.53/3.59 (PND 70)[l]			0.221/0.444 (PND 70)[l]		
15	2.25 (M)[e]			0.433 (M)[e]		
20	4.2/7.2[a, b]			1.1/1.1[b]		
	5.6/11.3[a, c]			0.653/0.852[c]		
	6.52(F)[e]			1.41(F)[e]		
	9.87 (F, GD 17)[j]			1.23 (F, GD 17)[j]		
30		3.17 (F, GD 20)[k]	5.43 (M)[f]		0.238 (F, GD 20)[k]	0.494 (M)[f]
			17.0 (M)[g]			6.13 (M)[g]
			6.05 (M+F)[h]			0.994 (M+F)[h]
			19.6/16.6[i]			6.80/6.01[i]
35	11.0(M)[e]			2.18(M)[e]		
40	14.4 (F)[e]			22.3 (F)[e]		
45	12.9/22.3 (PND 70)[l]			1.71/3.31 (PND 70)[l]		
60	20.0/25.4[a, b]	17.7 (F, GD 20)[k]		4.7/6.9[b]	2.41(F, GD 20)[k]	
	23.8/43.2[a, c]			4.59/6.10[c]		
75	36.7 (M)[e]			5.51 (M)[e]		
80	49.7 (F, GD 17)[j]			5.70(F, GD 17)[j]		
100			42.2 (M)[f]			4.15 (M)[f]
			159 (M)[g]			37.0 (M)[g]
			32.2 (M+F)[h]			6.56 (M+F)[h]
			53.6/93.8[i]			13.5/19.3[i]

Test Article: larotrectinib

Overview of Toxicokinetics Data in Pivotal Studies (continued)

	Steady State AUC_{0-24} (µg*h/mL) (Males/Females)			Steady State C_{max} (µg/mL) (Males/Females)		
Species	**Rat/Sprague-Dawley**	**Rabbit/ New Zealand White**	**Monkey/ Cynomolgus**	**Rat/Sprague-Dawley**	**Rabbit/ New Zealand White**	**Monkey/ Cynomolgus**
Method of Administration	PO	PO	PO	PO	PO	PO
Dose (mg/kg/day)						
150		87.5 (F, GD 20)[k]			7.66 (F, GD 20)[k]	
200	53.6/89.6[a, b]			11.4/16.0[b]		
	118/198[a, c]			11.3/19.1[c]		
	49.6 (F)[a, d]			8.03 (F)[d]		
240	175 (F, GD 17)[j]			18.6 (F, GD 17)[j]		
300			144 (M)[f]			19.8 (M)[f]

[a] Calculated as AUC_{0-12} multiplied by 2
[b] LOXO-101-TOX-002
[c] LOXO-101-TOX-003
[d] LOXO-101-TOX-012
[e] LOXO-101-TOX-018
[f] LOXO-101-TOX-004
[g] LOXO-101-TOX-005
[h] LOXO-101-TOX-006
[i] LOXO-101-TOX-019
[j] LOXO-101-TOX-024
[k] LOXO-101-TOX-028
[l] LOXO-101-TOX-021

GD: Gestation day
PND: Postnatal day

2.6.7.4 毒性試験： 被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: larotrectinib

Drug Substance – Characteristics of Batches used in Toxicological Pivotal Studies

Batch No.	Total Impurities (area %)	Individual Specified Impurities 1 (不純物－1*), 2 (不純物－2*), 3 (不純物－3*)			Chiral Impurities キラル不純物－1* キラル不純物－2* キラル不純物－3*	Type of Study (Study Number)	
		1	2	3			
Proposed Specification:	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]% [redacted]% [redacted]%		
AR00457470-24	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%[1]	1	In vitro hERG assay (LOXO-101-SPHARM-001)
						2	Cardiovascular study in telemetry-instrumented conscious monkey (LOXO-101-SPHARM-003)
						3	Gastrointestinal motility in rat (LOXO-101-SPHARM-008)
						4	Gastric irritation in rat (LOXO-101-SPHARM-009)
						5	Gastric secretion in rat (LOXO-101-SPHARM-010)
						6	Respiratory function in rat (LOXO-101-SPHARM-011)
						7	Irwin profile (CNS) in rat (LOXO-101-SPHARM-012)
						8	Single dose oral toxicity study in rat (LOXO-101-TOX-001)
						9	4-week repeat-dose study in rat (LOXO-101-TOX-003)
						10	4-week repeat-dose in monkey (LOXO-101-TOX-006)
						11	In vitro bacterial reverse mutation assay (LOXO-101-TOX-009)
						12	In vitro mouse lymphoma gene mutation test (LOXO-101-TOX-010)
						13	Mouse micronucleus test (LOXO-101-TOX-011)
L-ARR10-118	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]	[redacted]%	[redacted]% [redacted]%	1	In vitro phototoxicity assay (LOXO-101-TOX-017)

＊新薬承認情報提供時に置換

Test Article: larotrectinib

Drug Substance – Characteristics of Batches used in Toxicological Pivotal Studies (continued)

Batch No.	Total Impurities (area %)	Individual Specified Impurities 1 (不純物－1*), 2 (不純物－2*), 3 (不純物－3*)			Chiral Impurities キラル不純物－1* キラル不純物－2* キラル不純物－3*	Type of Study (Study Number)	
		1	2	3			
Proposed Specification:	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]% [redacted]% [redacted]%		
WDK17-55B-P	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]	[redacted]% [redacted]% [redacted]%	1	13-week repeat-dose study in rat (LOXO-101-TOX-018)
						2	13-week repeat-dose study in monkey (LOXO-101-TOX-019)
						3	Embryo-fetal developmental study in rat (LOXO-101-TOX-024)
						4	Embryo-fetal developmental study in rabbit (LOXO-101-TOX-028)
						5	Juvenile toxicity study in rat (LOXO-101-TOX-021)

ND not detected

NT not tested

NMT not more than

[1] The chiral method used to test AR00457470-24 was later enhanced to better resolve all diastereomers. The individual chiral impurity content using the new method is as follows: キラル不純物－1* ([redacted]%), キラル不純物－2* ([redacted]%) and キラル不純物－3* ([redacted])

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.5 単回投与毒性試験： 重要な試験

2.6.7.5.1 ラット単回投与毒性試験

Test Article: larotrectinib

Single-Dose Toxicity - Pivotal Study

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number/ Report Number (Location)
Rat/ Sprague-Dawley	Oral Gavage Labrafac Lipophile WL 1349 (3 mL/kg)	0, 100, 300, 600	M/10 F/10	600 mg/kg	None	**Clinical signs:** Hypersalivation at 300 and 600 mg/kg on Day 0 ***Day 2 Results*** **Hematology:** Increase in monocytes in M at ≥ 300 mg/kg and in F at 600 mg/kg; decrease in platelets in M at ≥ 300 mg/kg. **Coagulation:** Prolonged prothrombin time (PT) and shortened activated partial thromboplastin time (APTT) in M at ≥ 300 mg/kg and all larotrectinib dose groups in F. **Serum Chemistry:** Increased BUN and creatinine in M at 600 mg/kg; increase in cholesterol at 600 mg/kg; Increase in glucose in M at ≥ 100 mg/kg; Increased potassium in M at ≥ 300 mg/kg; increased alanine transaminase (ALT) in both sexes and Total-bilirubin in M at 600 mg/kg. **Urine analysis:** Increased at ≥ 300 mg/kg **Organ Weight:** Increased heart weights in F in all larotrectinib dose groups.	LOXO-101-TOX-001 R-12399 (4.2.3.1.1)

M Male
F Female

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験

2.6.7.6.1 ラット7日間反復投与用量設定試験

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Study)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation - Dose Volume)	Dura-tion of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Report Number (Location)
Rat/ Sprague-Dawley	Oral Gavage/ Corn Oil (1 mL/kg)	7 Days	0, 30, 100, 300 mg/kg/day (0, 15, 50, 150 mg/kg/dose) BID	M5/F5	100 mg/kg/day	**Mortality: 150 mg/kg/dose BID:** 1M sacrificed on Day 2 in moribund condition; 1M found dead on Day 5; 1F sacrificed in moribund condition on Day 6. Group sacrificed on Day 7. **Clinical Signs: 150 mg/kg/dose BID**: Audible respiration and irregular or labored respiration (some animals) **Body Weight:** Increase in mean body weight gain at ≥ 15 mg/kg/dose BID for F and 150 mg/kg/dose BID for M animals. **Food Consumption:** Increase at 150 mg/kg/dose BID **Hepatic Induction:** Increase in CYP3A and CYP4A in females at 50 mg/kg/dose BID **Coagulation:** Shorter APTT in F at 50 mg/kg/dose BID. **Serum chemistry:** Increase in BUN in F and decrease in K for M at 50 mg/kg/dose BID; higher TRIG for M at 50 mg/kg/dose BID.	LOXO-101-TOX-014 R-12401 (4.2.3.2.1)

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Study) (continued)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation - Dose Volume)	Dura-tion of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Report Number (Location)
						Organ Weight: Increased absolute and relative liver weights at 50 mg/kg/dose BID in M and at ≥ 15 mg/kg/dose BID in F. Increase in spleen weights in M at 50 mg/kg/dose BID **Microscopic findings:** Liver: mildly severe focal to multifocal subcapsular degeneration/necrosis of hepatocytes at 150 mg/kg/dose BID and 1M at 50 mg/kg/dose BID. Periportal to midzonal hepatocyte vacuolation at 15 and 50 mg/kg/dose BID	

M	Male
F	Female
BID	twice daily dosing
BUN	blood urea nitrogen
K	potassium
TRIG	triglycerides

2.6.7.6.2 ラット 28 日間反復投与用量設定試験

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Study)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation - Dose Volume)	Dura-tion of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Report Number (Location)
Rat/ Sprague-Dawley	Oral Gavage/ Labrafac™ Lipophile WL 1349 (1 mL/kg)	28 Days	0, 20, 60, 200 mg/kg/day (0, 10, 30, 100 mg/kg/dose)BID	M3/F3	Not established	**Clinical Signs:** Skin lesions (sores on head and neck regions) – all larotrectinib treated groups. Onset of lesions was Day 11, peaked Day 22, resolving by Day 28. **Body Weight:** Increase in mean body weight gain at ≥ 60 mg/kg/day. **Food Consumption:** Increase at all doses. **Hematology:** Decreased red cell mass parameters at 200 mg/kg/day. Slight increase in monocytes at 200 mg/kg/day. **Serum chemistry**: Dose-dependent decrease in albumin in all larotrectinib-treated groups. Slight increase in cholesterol in M at 200 mg/kg/day. **Organ Weight:** Increased absolute and relative liver weights at 200 mg/kg/day and heart weights in F at ≥ 20 mg/kg/day.	LOXO-101-TOX-002 R-12398 (4.2.3.2.2)

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Study) (continued)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation - Dose Volume)	Dura-tion of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Report Number (Location)
						Microscopic findings: skin, spleen, pancreas and liver. Liver: fatty change of hepatocytes at 200 mg/kg. Skin: Chronic, severe inflammation from epidermis to dermis at 200 mg/kg/day and 60 mg/kg/day (1 F) Spleen: EMH in the spleen at 200 mg/kg/day. Pancreas: Focal, subacute periductal inflammation at 60 mg/kg/day (1F).	

M Male
F Female
EMH extramedullary hematopoiesis

2.6.7.6.3 ラット 42 日間反復投与予備試験

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Study)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation - Dose Volume)	Dura-tion of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Report Number (Location)
Rat/ Sprague-Dawley	Oral Gavage/ Labrafac™ Lipophile WL 1349 (1 mL/kg)	42 Days	0, 100 mg/kg/dose BID (0, 200)	F/3	Not established	**Clinical Signs:** Skin lesions (head and neck) with onset on Day 9 and lesion severity increased with continued dosing. **Body Weight:** Increase in body weight gain versus control group. **Food Consumption:** Increase versus control group **Hematology:** Decreased red cell mass parameters. Increase in monocytes, neutrophils and platelets. **Serum chemistry**: Decrease in albumin and total protein. **Organ Weight:** Increased absolute and relative kidney, liver and heart weights. **Microscopic findings:** Increase in EMH in spleen.	LOXO-101-TOX-012 R-12446 (4.2.3.2.3)

F Female
EMH extramedullary hematopoiesis

2.6.7.6.4 サル7日間反復投与用量設定試験

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Study)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation - Dose Volume)	Dura-tion of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Report Number (Location)
Monkey/ Cynomolgus	Oral Gavage/ Corn oil (1 mL/kg)	7 Days	0, 25, 75, 200	3/sex/ group	Not established	**Clinical Signs:** At 75 and 200 mg/kg/day: vomitus/emesis, liquid feces and hypoactivity. 1F at 200 mg/kg/day required treatment for emesis on Day 1. **Body Weight:** At 200 mg/kg/day: 1 M lost 13% of Day 1weight. **Pulse oximetry:** Slight decrease in values at all doses. Not adverse. **Hematology:** Decreased red cell mass in F at 200 mg/kg/day; decrease reticulocyte count at ≥ 75 mg/kg/day. **Coagulation:** Increase fibrinogen in M at ≥ 75 mg/kg/day and F at 200 mg/kg/day. **Serum chemistry**: Decreased serum albumin at ≥ 75 mg/kg/day, decrease P in M at ≥ 75 mg/kg/day and F at 200 mg/kg/day, decreased sodium and chloride in 1M at 200mg/kg/day.	LOXO-101-TOX-015 R-12431 (4.2.3.2.6)

2.6.7.6.5 サル 14 日間反復投与予備試験（1）

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Study)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation - Dose Volume)	Dura-tion of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Report Number (Location)
Monkey/ Cynomolgus	Oral Gavage/ Labrafac™ Lipophile WL 1349 (1 mL/kg)	14 Days	0, 30, 100, 300	M/3	Not established	**Clinical Signs:** At 300 mg/kg/day: thin body appearance and inappetence **FOB:** At 300 mg/kg/day: lower body temperatures, tremors, hunched posture (multiple animals) and paraparesis (one animal) **Body Weight:** At 300 mg/kg/day: body weight loss. **Hematology:** At 300 mg/kg/day: Decreased reticulocytes, increased platelets. **Coagulation:** At 300 mg/kg/day: increased fibrinogen **Serum chemistry:** At 300 mg/kg/day: Increased globulin and decreased serum albumin.	LOXO-101-TOX-004 R-12423 (4.2.3.2.7)

M	Male		
FOB	functional observational battery	CNS	central nervous system

2.6.7.6.6 サル 14 日間反復投与予備試験（2）

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Study)

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation - Dose Volume)	Dura-tion of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number/ Report Number (Location)
Monkey/ Cynomolgus	Nasogastric Gavage/ Labrafac™ Lipophile WL 1349 (1 mL/kg)	14 Days	0 30 100	M/3 M/4 M/3	Not established	**Serum chemistry**: At 100 mg/kg/day: Decrease in serum albumin. **Organ Weight:** At 100 mg/kg/day: Increase in liver weights (absolute and relative)	LOXO-101-TOX-005 R-12447 (4.2.3.2.8)

M Male

2.6.7.7 反復投与毒性試験： 重要な試験

2.6.7.7.1 ラット 4 週間回復性評価を伴う 4 週間反復経口投与毒性試験

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study)

Report Title: ARRY-470- 4-week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat followed by a 4-Week Recovery Period

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley Crl: CD (SD)
Initial Age: 7 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 28 days for males and 29 days for females
Duration of Postdose: 4 weeks
Method of Administration: oral (gavage)
Dosing Regimen: Twice daily (BID)
Dose volume: 1 mL/kg/dose (BID) or 2 mL/kg/day
Vehicle/Formulation: Labrafac™ Lipophile WL 1349

Study No. LOXO-101-TOX-003 (AA82278) R-12422
Location: 4.2.3.2.4

GLP Compliance: Yes

Special Features: BID dosing approximately 12 hours apart

No Observed Adverse Effect Level: <20 mg/kg/day (<10 mg/kg/dose BID)

Severely Toxic Dose in 10 % of Animals (STD 10): 200 mg/kg/day (100 mg/kg/dose BID)

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		20 (low)		60 (mid)		200 (high)	
Number of Animals	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main Study	10	10	10	10	10	10	10	10
Recovery	5	5	5	5	5	5	5	4
(Toxicokinetic)	(5)	(5)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Toxicokinetics:								
Day 0								
$AUC_{(0\text{-}12)}$ (µg*hr/mL)	-	-	2.00	6.21	7.07	18.0	29.5	57.1
C_{max} (µg/mL)	-	-	0.577	1.20	1.72	3.44	5.82	11.2
Day 27								
$AUC_{(0\text{-}12)}$ (µg*hr/mL)	-	-	2.80	5.65	11.9	21.6	59.1	99.2
C_{max} (µg/mL)	-	-	0.653	0.852	4.59	6.10	11.3	19.1

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: ARRY-470- 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat followed by a 4-Week Recovery Period **Study No.** LOXO-101-TOX-003, (AA82278) R-12422, Location: 4.2.3.2.4

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20 (low)**		**60 (mid)**		**200 (high)**	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
Main Study	10	10	10	10	10	10	10	10
Recovery	5	5	5	5	5	5	5	4
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund Dosing Phase (Day 28/29)	0	0	0	0	0	0	0	1[e]
Body Weight (%[a])	426.53g	255.99g	+7**	+10**	+15**	+27**	+27**	+45**
Body Weight Gain (g)	153.18	83.87	182.09**	109.28**	214.55**	152.76**	267.11**	201.96**
Food Consumption (%[b]) (Days 21-27)	33.22	24.35	+9**	+15	+25**	+39*	+57**	+92**
Clinical Observations								
Hypersalivation	-	-	P	P	P	P	P	P
Increased activity	-	-	-	-	P	P	P	P
Scabs	-	P	P	P	P	P	P	P
Sores	-	-	-	-	-	P	P	P
Hairloss	-	P	P	P	-	P	P	P
Dirty/stained fur	-	-	-	P	-	-	P	P
Breathing difficulties	-	-	-	-	-	-	P	P
Increased amount of feces	-	-	-	-	P	-	P	P
Functional Operational Behaviour (Day 22)								
Grip strength (N)	7.357	5.776	9.933**	7.151*	9.579**	6.711	8.303**	6.147
Hematology – Day 14								
Red blood cell (T/L)	7.619	7.512	7.286*	-	7.344*	6.951**	7.150**	6.726**
Hemoglobin (g/L)	149.9	146.9	-	-	-	138.9**	-	137.1**
Packed cell volume (%)	46.12	43.89	-	-	-	42.21*	-	41.43**
Reticulocyte (%)	3.67	3.36	-	-	4.82**	5.22**	4.95**	5.55**
Monocytes (abs) (g/L)	0.254	0.153	-	0.246*	-	0.254*	0.403*	0.334**

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: ARRY-470- 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat followed by a 4-Week Recovery Period **Study No.** LOXO-101-TOX-003, (AA82278) R-12422, Location: 4.2.3.2.4

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20 (low)**		**60 (mid)**		**200 (high)**	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
Main Study	10	10	10	10	10	10	10	10
Recovery	5	5	5	5	5	5	5	4
Coagulation – Day 14								
Prothrombin Time (seconds)	14.93	15.40	15.33	-	15.56*	-	15.84**	-
Activated partial thromboplastin time (seconds)	17.29	15.62	16.03*	14.07*	15.26**	13.57**	14.05**	12.83**
Fibrinogen (g/L)	2.844	2.469	-	-	-	-	3.589**	3.138**
Hematology – Day 28								
Red blood cell (T/L)	7.983	7.281	7.577**	-	7.407**	-	6.849**	6.779**
Hemoglobin (g/L)	154.8	146.9	150.4*	-	147.8**	-	136.0**	142.0
Packed cell volume (%)	48.70	44.16	47.07*	-	46.21**	-	43.03**	42.56*
Reticulocyte (%)	2.82	2.60	-	-	3.46**	-	3.94**	-
White blood cell count (g/L)	12.09	8.85	10.17*	-	9.93*	-	10.32*	-
Lymphocytes (abs) (g/L)	10.22	7.441	8.33**	5.62	7.96**	5.35	7.88**	5.77
Monocytes (abs) (g/L)	0.231	0.126	-	-	-	-	-	0.257**
Coagulation – Day 28								
Prothrombin Time (seconds)	15.64	16.12	15.98	-	16.36*	-	16.22*	-
Activated partial thromboplastin time (seconds)	19.02	17.47	16.72**	16.54*	16.24**	14.85**	14.06**	14.52**
Fibrinogen (g/L)	2.930	2.412	3.184	3.006*	3.512**	2.967**	4.262**	3.170**
Serum Chemistry – Day 14								
Urea (mmol/L)	4.130	5.45	-	6.288*	4.266	6.889**	5.425**	7.722**
Creatinine (µmol/L)	39.5	41.6	44.6**	48.5**	46.9**	51.3**	52.6**	52.0**
Total cholesterol (mmol/L)	1.615	1.936	1.975*	-	2.027*	2.254	2.480**	2.557**
Alanine aminotransferase (IU p)	27.0	20.4	-	-	-	25.7**	31.9*	32.5**
Albumin (g/L)	31.40	35.06	-	33.88**	32.46	33.13**	30.83	32.39**
Globulin (g/L)	26.87	27.17	-	-	-	-	29.35**	30.01**
A/G ratio	1.17	1.30	-	1.22*	-	1.17**	1.05**	1.08**

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: ARRY-470- 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat followed by a 4-Week Recovery Period **Study No.** LOXO-101-TOX-003, (AA82278) R-12422, Location: 4.2.3.2.4

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20 (low)**		**60 (mid)**		**200 (high)**	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
Main Study	10	10	10	10	10	10	10	10
Recovery	5	5	5	5	5	5	5	4
Serum Chemistry – Day 28/29								
Urea (mmol/L)	3.968	5.759	4.692**	6.548*	4.961**	6.813**	5.469**	8.103**
Creatinine (µmol/L)	38.2	44.7	44.4**	52.0**	49.0**	53.4**	55.0**	54.7**
Total cholesterol (mmol/L)	1.548	1.911	1.866*	2.040	1.986**	2.419**	2.136**	2.641**
Alanine aminotransferase (IU p)	24.4	21.0	-	-	-	-	36.6**	28.9**
Albumin (g/L)	32.07	35.08	-	32.81**	30.36**	33.07**	28.04**	32.10**
Globulin (g/L)	30.59	28.82	-	-	-	32.17**	34.13**	35.57**
A/G ratio	1.04	1.23	-	1.08**	-	1.03**	0.82**	0.91**
Urinalysis – Day 14								
Urine volume (mL)	10.58	7.22	11.68	6.18	12.22	8.89	13.44*	10.25**
Urinalysis – Day 28								
Urine volume (mL)	14.05	6.96	14.99	8.18	16.18	11.58**	17.56*	14.70**
Absolute Organ Weights[c] (%) – Main Study								
Liver	14.03 g	8.30 g	-	+10*	+33**	+43**	+70**	+104**
Heart	1.34 g	0.910 g	+6*	+6	+19**	+25**	+28**	+38**
Thyroid glands	0.0173 g	0.0104 g	-	-	+15	+50*	+38**	+131**
Spleen	0.832 g	0.5337 g	-	-	+18*	+33**	+28**	+66**
Uterus	NA	0.5433 g	NA	-21	NA	-15	NA	-15
Organ Weights Relative to Body Weight – Main Study (%)								
Liver	3.6152	3.6030	-	-	+15**	+13**	+36**	+42**
Heart	0.3464	0.3935	-	-	-	-	-	-
Thyroid glands	0.0044	0.0045	-	-	-	-	-	+60*
Spleen	0.2155	0.2321	-	-	-	-	-	+15*
Uterus	NA	0.2357	NA	-25**	NA	-32**	NA	-40**
Organ Weights Relative to Brain Weights – Main Study (%)[f]								
Liver	659 g	432 g	+12	+10	+34	+46	+73	+97
Heart	62.9 g	47.4 g	+11	+6.3	+19	+27	+30	+35

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: ARRY-470- 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat followed by a 4-Week Recovery Period **Study No.** LOXO-101-TOX-003, (AA82278) R-12422, Location: 4.2.3.2.4

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20 (low)**		**60 (mid)**		**200 (high)**	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
Main Study	10	10	10	10	10	10	10	10
Recovery	5	5	5	5	5	5	5	4
Gross Pathology								
Liver								
Mottled surface	1	0	6	1	7	6	9	5
Skin								
Sore/Crust	0	0	1	3	0	3	3	2
Histopathology								
Brown fat								
Macrovesicular vacuolation (aorta)	1/10	0/10	5/10	0/10	8/10	8/10	10/10	9/10
Macrovesicular vacuolation (kidneys)	1/10	0/10	2/10	1/10	7/10	10/10	10/10	10/10
Liver								
Periportal fat vacuolation								
Minimal	9	7	4	2	1	0	0	1
Mild	1	3	6	8	9	5	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	5	9	7
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Hypertrophy of centrilobular hepatocytes	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	5/10	3/10	10/10
Centrilobular single cell necrosis	0/10	1/10	0/10	3/10	0/10	7/10	1/10	9/10
Salivary gland								
Diffuse acinar hypetrophy	0/10	4/10	0/10	6/10	5/10	8/10	8/10	9/10
Skin								
Focal dermatitis	0/10	1/10	2/10	3/10	0/10	3/10	3/10	3/10
Focal epidermal hyperplasia	0/10	1/10	2/10	3/10	1/10	3/10	3/10	4/10
Epidermal crust formation	0/10	0/10	2/10	3/10	0/10	3/10	2/10	4/10
Focal ulceration	0/10	0/10	0/10	2/10	0/10	3/10	0/10	2/10

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: ARRY-470- 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat followed by a 4-Week Recovery Period **Study No.** LOXO-101-TOX-003, (AA82278) R-12422, Location: 4.2.3.2.4

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20 (low)**		**60 (mid)**		**200 (high)**	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
Main Study	10	10	10	10	10	10	10	10
Recovery	5	5	5	5	5	5	5	4
Spleen								
Extramedulary hematopoisesis	2/10	0/10	5/10	0/10	9/10	7/10	10/10	10/10
Pancreas								
Diffuse decrease in zymogen granules	0/10	0/10	0/9	1/10	1/10	2/10	10/10	5/10
Focal inflammation	0/10	0/10	0/9	0/10	0/10	0/10	6/10	0/10
Focal acinar atrophy	2/10	1/10	0/9	0/10	0/10	0/10	5/10	0/10
Ovaries								
No. of corpora lutea (11-20)	NA	0/10	NA	1/10	NA	4/10	NA	5/10
(21-30)	NA	7/10	NA	6/10	NA	4/10	NA	5/10
(31-45)	NA	3/10	NA	3/10	NA	2/10	NA	0/10
Vagina								
Anestrus	NA	1/10	NA	2/10	NA	7/10	NA	4/10
Uterus								
Atrophy	NA	0/10	NA	0/10	NA	0/10	NA	3/10
Thyroid gland								
Diffuse hypertrophy of the follicular epithelium	9/10	4/10	7/10	2/10	9/10	5/10	6/9	9/10
Mammary gland								
Diffuse lobular hyperplasia	0/9	1/10	0/9	2/9	0/10	2/10	0/10	6/10
Recovery Period								
Number Evaluated	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 4
Body Weight (%[d])	511.96 g	272.62 g	-	+8	-	+7	-	+13*
Serum Chemistry								
Total cholesterol (mmol/L)	1.422	2.032	-	-	-	-	1.818	-
Albumin (g/L)	30.90	37.30	-	33.92*	-	32.54*	-	33.90*
Globulin (g/L)	32.62	32.36	-	-	-	-	-	37.55**
A/G ratio	0.94	1.16	-	1.04*	-	0.98**	-	0.90**

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: ARRY-470- 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat followed by a 4-Week Recovery Period **Study No.** LOXO-101-TOX-003, (AA82278) R-12422, Location: 4.2.3.2.4

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20 (low)**		**60 (mid)**		**200 (high)**	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
Main Study	10	10	10	10	10	10	10	10
Recovery	5	5	5	5	5	5	5	4
Histopathology:								
Liver								
Hypertrophy of centrilobular hepatocytes	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/4
Pancreas								
Focal acinar atrophy	0/5	0/5	2/5	0/5	0/5	0/5	3/5	1/4
Focal inflammatory cell infiltration	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	0/5	2/5	0/4
Focal inflammation	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/4
Salivary gland								
Diffuse acinar hypertrophy	0/5	2/5	1/5	1/5	1/5	0/5	1/5	0/4
Spleen								
Extramedullary hematopoiesis	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/4
Thyroid gland								
Diffuse hypertrophy of follicular epithelium	5/5	0/5	3/5	3/5	5/5	1/5	5/5	1/4
Mammary gland								
Diffuse lobular hyperplasia	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/4

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: ARRY-470- 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Sprague-Dawley Rat followed by a 4-Week Recovery Period

Study No. LOXO-101-TOX-003, (AA82278) R-12422, Location: 4.2.3.2.4

- No noteworthy findings
P Present
NA Not applicable
* - $p \leq 0.05$ ** - $p \leq 0.01$
[a] At end of dosing period. 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] During the last week of treatment. 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).
[c] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights.
[d] At end of the treatment-free period. 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).
[e] Death in this animal due to gavage error and not larotrectinib-related
[f] No statistics were done on relative heart to brain weights.

2.6.7.7.2 ラット 4 週間回復性評価を伴う 13 週間反復経口投与毒性試験

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study)		
Report Title:	A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase	
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley Crl: CD (SD)	**Duration of Dosing:** 13 weeks	**Study No.** LOXO-101-TOX-018 (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5
Initial Age: 10 - 11 weeks	**Duration of Postdose:** 28 days	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (males), 19 October 2016 (females)	**Method of Administration:** oral (gavage) **Dosing Regimen:** Twice daily (BID) approximately 12 hours apart **Dose volume:** 1 mL/kg/dose (BID) or 2 mL/kg/day	
	Vehicle/Formulation: corn oil	**GLP Compliance:** Yes
Special Features:	functional observations battery, locomotor activity, staging of spermatogenesis, and male reproductive assessment	
No Observed Adverse Effect Level:	7.5 mg/kg/dose BID (males) and 7.5/5 mg/kg/dose BID (females)	
Severely Toxic Dose in 10 % of Animals (STD 10):	25/17.5 mg/kg/dose BID (males) and 25/10 mg/kg/dose BID (females).	

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Number of Toxicokinetic Animals	3	9	9	9	3	9	9	9
Dosing Phase Toxicokinetics:								
Day 1								
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	BLQ	1380	5910	21900	BLQ	5910	14400	62700
C_{max} (ng/mL)	BLQ	370	980	3410	BLQ	1180	3440	8940
Day 91								
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	BLQ	2250	11000	36700	BLQ	3060	6520	14400
C_{max} (ng/mL)	BLQ	433	2180	5510	BLQ	500	1410	2230

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No.** LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund								
Toxicity Animals[b]	0	0	0	4	0	0	1	3
Toxicokinetic Animals[b]	0	0	0	0	0	0	0	1
Clinical Observations								
Skin and pelage								
scab, dorsal cervical	0	0	1	0	0	2	2	1
scab, dorsal thorax	0	0	0	0	0	4	2	1
scab, ears	0	0	0	1	0	0	1	0
scab, front feet	0	0	0	0	0	0	1	0
scab, front legs	0	0	1	0	0	0	0	0
scab, left cervical	0	0	0	1	0	0	5	4
scab, left ear	0	0	0	1	0	0	1	0
scab, left front leg	0	0	0	0	0	1	0	0
scab, left lumbar	0	0	0	0	1	0	1	0
scab, left shoulder	0	0	2	3	0	0	7	6
scab, left side head	0	0	0	0	0	2	3	4
scab, nose	0	0	0	1	0	1	1	0
scab, oral mucosa	0	1	2	1	0	0	2	1
scab, partial left ear	0	0	0	1	0	0	0	0
scab, perioral	0	2	2	6	0	0	5	5
scab, periorbital	0	0	0	1	0	0	0	0
scab, right cervical	0	0	0	1	0	0	4	2
scab, right dorsal thorax	0	0	0	0	0	0	0	1
scab, right ear	0	0	0	2	0	1	2	0
scab, right front foot	0	0	1	0	0	0	1	0
scab, right shoulder	0	0	4	3	0	1	7	8

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No.** LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
scab, right side head	0	0	0	0	0	3	3	4
scab, rostral head	0	0	0	1	0	0	0	0
scab, tail distal	0	1	0	1	0	0	0	0
scab, ventral cervical	0	0	2	5	0	4	8	8
scab, ventral thorax	0	0	0	0	0	0	1	0
sore, dorsal cervical	0	0	0	1	0	0	1	0
sore, dorsal thorax	0	0	0	1	0	1	0	0
sore, left cervical	0	0	0	0	0	0	4	2
sore, left ear	0	0	0	0	0	0	1	0
sore, left front leg	0	0	0	0	0	1	1	0
sore, left lumbar	0	0	0	0	0	0	1	0
sore, left scrotum	0	0	0	0	0	0	0	1
sore, left shoulder	0	0	1	2	0	0	5	1
sore, left side head	0	0	0	1	0	0	1	0
sore, midline cervical	0	0	0	1	0	0	0	0
sore, oral mucosa	0	0	0	0	0	0	0	1
sore, right cervical	0	0	0	1	0	0	1	1
sore, right ear	0	0	0	1	0	0	0	0
sore, right front leg	0	0	1	0	0	0	1	0
sore, right shoulder	0	0	3	3	0	0	3	2
sore, right side head	0	0	0	1	0	0	1	1
sore, ventral cervical	0	0	3	4	0	1	6	8
sore, ventral thorax	0	0	0	0	0	0	1	0
Ophthalmic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No.** LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Body Weight (%)[c]								
Day 8	406 g	-0.7	3.0	5.2*	252 g	-1.2	4.8	7.5*
Day 22	478 g	0.8	6.3*	8.8*	279 g	-2.2	7.5*	9.7*
Day 29	505 g	1.6	7.1*	11.5*	287 g	-1.7	6.6*	10.8*
Day 36	506 g	1.8	10.3*	14.6*	276 g	-0.7	9.8*	17.0*
Day 91	649 g	2.5	9.1*	18.5*	325 g	-3.1	4.3	15.1*
Body Weight Change (g)								
Day 1 to 8	44	45	57*	71*	9	13	26*	34*
Day 36 to 43	40	39	35	30	21	16	8	17
Day 57 to 64	17	16	18	29*	12	7	7	8
Day 88 to 91	5	6	5	-8*	-2	0	-2	-8
Day 1 to 91	287	307	347*	411*	83	80	102	132*
Food Consumption (%)[c]								
Day 1 to 2	29 g/animal/day	-34.5*	-37.9*	-100.0*	17 g/animal/day	-11.8	0.0	5.9
Day 30 to 31	22 g/animal/day	4.5	22.7*	40.9*	19 g/animal/day	5.3	10.5	15.8*
Day 60 to 61	27 g/animal/day	-3.7	14.8*	18.5*	17 g/animal/day	-17.6	0.0	5.9
Day 90 to 91	28 g/animal/day	0.0	0.0	-10.7	16 g/animal/day	12.5	18.8*	18.8*
Functional Observations Battery	-	-	-	-	0	1[d]	1[d]	1[d]
Locomotor Activity	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Day 36								
Red blood cell count (E6/uL)	8.95	8.44*	8.47*	8.03*	8.58	8.24*	7.27*	7.79*
Hemoglobin (g/dL)	15.7	15.0*	15.2*	14.7*	15.7	15.3	13.8*	14.7*
Hematocrit (%)	50.6	48.5*	49.5	48.0*	48.6	47.4	43.5*	46.5

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No.** LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Mean corpuscular volume (fL)	56.6	57.6	58.4*	59.9*	56.6	57.6	60.3*	59.7*
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL)	31.0	31.0	30.7	30.5*	32.3	32.2	31.6*	31.6*
Reticulocyte count (E3/uL)	207.5	209.9	216.9	262.2*	-	-	-	-
Percent reticulocyte (%)	2.3	2.5	2.6	3.3*	-	-	-	-
Mean platelet volume (fL)	7.1	7.4	7.5*	7.6*	7.4	7.4	7.8*	7.4
Platelet Count (E3/uL)	-	-	-	-	1024	1038	1212*	1094
White blood cell count (E3/uL)	9.25	8.78	11.01	11.86*	7.10	8.10	11.88*	10.78*
Absolute neutrophils (E3/uL)	1.42	1.18	2.06	2.12*	1.05	1.76	4.30*	2.64*
Absolute lymphocytes (E3/uL)	7.36	7.23	8.42	9.15*	5.73	5.89	6.75	7.51*
Absolute monocytes (E3/uL)	0.26	0.19	0.32	0.35*	0.14	0.22*	0.49*	0.36*
Day 92								
Red blood cell count (E6/uL)	9.30	9.11	8.90	8.61*	-	-	-	-
Hemoglobin (g/dL)	16.4	16.2	15.8	15.4*	-	-	-	-
Hematocrit (%)	50.2	49.8	49.2	48.1	-	-	-	-
Mean corpuscular volume (fL)	54.0	54.7	55.3	55.9	56.8	57.4	58.0	58.4
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL)	32.7	32.4	32.1*	32.1*	32.6	32.3	32.3	31.9
White blood cell count (E3/uL)	7.28	7.00	9.54*	9.13	5.81	5.86	7.43	8.66*
Absolute neutrophils (E3/uL)	1.62	1.25	2.24	1.43	1.02	1.08	2.15*	3.02*
Absolute lymphocytes (E3/uL)	5.19	5.29	6.68	7.18*	4.45	4.42	4.80	5.09
Absolute monocytes (E3/uL)	0.27	0.25	0.38	0.31	0.18	0.18	0.27	0.27
Coagulation								
Day 92								
Fibrinogen (mg/dL)	-	-	-	-	194	197	225	233*
Activated partial thromboplastin time (sec)	20.4	18.5*	17.6*	17.6*	-	-	-	-

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No.** LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Clinical Chemistry								
Day 36								
Glucose (mg/dL)	100	109	112*	119*	-	-	-	-
Albumin (g/dL)	4.4	4.2	4.2*	4.1*	5.4	5.3	4.4*	4.7*
Albumin:globulin ratio	-	-	-	-	2.3	2.2	1.6*	1.7*
Globulin (g/dL)	-	-	-	-	2.4	2.5	2.9*	2.8*
Total cholesterol (mg/dL)	88	99	114*	120*	97	97	93	126*
Triglycerides (mg/dL)	75	93	142*	120*	54	52	60	92*
Day 92								
Glucose (mg/dL)	-	-	-	-	103	109	110	112*
Albumin (g/dL)	4.2	4.0	3.8*	3.8*	5.7	5.7	5.3	5.0*
Albumin:globulin ratio	1.5	1.5	1.4*	1.3*	2.2	2.1	1.9*	1.7*
Globulin (g/dL)	-	-	-	-	2.6	2.8	2.9	3.1*
Total cholesterol (mg/dL)	89	103	105	131*	-	-	-	-
Triglycerides (mg/dL)	85	85	125*	92	-	-	-	-
Urinalysis								
Day 92								
Urine qualitative protein[e]	-	-	-	-	6	4	6	7
Urine blood/occult[e]	-	-	-	-	1	2	4	6
Organ Weights								
Thymus								
Absolute Organ Weight (%)[c]	0.3365 g	6.9242	16.3150	43.8336*	-	-	-	-
Organ to Body Weight (%)	0.0534	0.0568	0.0555	0.0640	-	-	-	-
Organ to Brain Weight (%)	15.0538	16.2944	17.3808	22.4818*	-	-	-	-

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No.** LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Spleen								
Absolute Organ Weight (%)[c]	0.8977 g	6.6280	32.7058*	51.5317*	0.5258 g	2.4724	20.2739	42.4116*
Organ to Body Weight (%)	0.1423	0.1510	0.1702	0.1808*	0.1743	0.1822	0.1948	0.2125
Organ to Brain Weight (%)	40.1961	43.3608	52.7223*	62.6315*	25.5431	26.2697	31.2705*	36.7922*
Liver								
Absolute Organ Weight (%)[c]	15.6012 g	6.8655	18.4960*	27.6671*	8.3639 g	-0.7819	9.3497	18.7580*
Organ to Body Weight (%)	2.4683	2.6152	2.6273	2.6336	2.7382	2.8011	2.8358	2.8277
Organ to Brain Weight (%)	697.3262	752.2313	816.2513	919.7203*	404.6049	404.4277	452.0043	487.3862*
Macroscopic Observations[f]								
Skin								
Scab	0	1	2	4	0	1	4	8
Sore	0	0	1	3	0	0	2	3
Histopathology[f]								
Number of Animals Examined[g]	10	10	10	12 (8/4)	10	10	11 (10/1)	12 (8/4)
Skin/subcutis								
Acanthosis/hyperkeratosis								
Slight	0	0	0	3 (3/0)	0	0	3 (3/0)	2 (1/1)
Moderate	0	1	2	2 (0/2)	0	1	1 (0/1)	5 (2/3)
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Infiltrate, mixed cell								
Minimal	0	0	0	1 (0/1)	0	0	2 (2/0)	0
Slight	0	0	0	1 (0/1)	0	0	0	2 (1/1)
Moderate	0	0	2	1 (0/1)	0	1	1 (0/1)	3 (2/1)

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No.** LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Erosion/ulcer								
Minimal	0	1	0	0 (0/0)	0	0	0 (0/0)	3 (1/2)
Slight	0	0	0	0	0	0	2	0
Moderate	0	0	1	4 (1/3)	0	1	1 (0/1)	3 (2/1)
Marked	0	0	1	0	0	0	0	1
Spleen								
Hematopoiesis, extramedullary, increased								
Minimal	0	0	0	2 (0/2)	0	0	3 (3/0)	2 (2/0)
Slight	0	0	0	0 (0/0)	0	0	0	3 (1/2)
Moderate	0	0	0	0 (0/0)	0	0	0	2 (0/2)
Liver								
Hematopoiesis, extramedullary, increased								
Minimal	0	0	0	1 (0/1)	0	0	0 (0/0)	3 (1/2)
Slight	0	0	0	0 (0/0)	0	0	0	2 (0/2)
Vaculolation, microvesicular, periportal								
Minimal	0	0	4	3 (3/0)	0	1	0 (0/0)	2 (1/1)
Adipose, Brown								
Macrovesiculation								
Minimal	0	0	2	2 (2/0)	0	0	0 (0/0)	3 (2/1)
Marrow, Femur								
Hypercellular								
Minimal	0	0	0	1 (0/1)	0	0	0 (0/0)	0 (0/0)
Marrow, Sternum								
Hypercellular								
Minimal	0	0	0	2 (0/2)	0	0	0 (0/0)	0 (0/0)

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No.** LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Lymph nodes, mandibular								
Hyperplasia, lymphocytes								
Minimal	0	0	1	0 (0/0)	0	0	0 (0/0)	6 (3/3)
Lymph nodes, mesenteric								
Hyperplasia, lymphocytes								
Minimal	0	0	1	0 (0/0)	0	0	0 (0/0)	1 (1/0)
Pancreas								
Fibrosis, islet								
Minimal	0	0	3	2 (2/0)	-	-	-	-
Slight	1	2	2	4 (3/1)	-	-	-	-
Hemorrhage, islet								
Minimal	0	2	2	2 (1/1)	-	-	-	-
Pigment, islet								
Minimal	0	0	2	1 (1/0)	-	-	-	-
Slight	1	0	1	5 (4/1)	-	-	-	-
Mammary gland								
Number of Animals Examined	NA	NA	NA	NA	10	10	11	12
Hyperplasia								
Minimal	NA	NA	NA	NA	0	0	3 (2/1)	5 (3/2)
Staging of Spermatogenesis	-	-	-	-	NA	NA	NA	NA
Male Reproductive Assessment	-	-	-	-	NA	NA	NA	NA

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No.** LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Recovery Period								
Number of Animals in Recovery	5	5	5	3	5	5	4	3
Died or Sacrificed Moribund[h]	0	0	0	0	0	1	0	0
Body Weight (%)[c]								
Day 1	601 g	9.8	9.5	28.6*	319 g	-6.0	-0.6	16.3
Day 8	624 g	6.3	4.3	19.2*	335 g	-6.6	-3.9	9.9
Day 15	643 g	5.4	2.6	16.8*	337 g	-8.3	-4.5	8.9
Body Weight Change (g)								
Day 1 to 8	23	3*	-6*	-29*	-	-	-	-
Day 1 to 28	49	22*	2*	-30*	-	-	-	-
Food Consumption (%)[c]								
Day 1 to 2	20 g/ animal/day	-45.0*	-30.0	-30.0	15 g/ animal/day	-13.3	-6.7	-20.0
Day 15 to 16	35 g/ animal/day	-20.0*	-17.1	-25.7*	19 g/ animal/day	-10.5	-21.1	5.3
Day 25 to 26	33 g /animal/day	-15.2	-18.2*	-21.2*	22 g/ animal/day	-18.2	-22.7*	-27.3*
Macroscopic Observations								
Skin								
Scab	0	0	0	1	0	0	0	0
Sore	0	0	1	0	0	0	0	0
Histopathology								
Skin/subcutis								
Number of Animals Examined	3	3	5	3	5	5	4	3
Acanthosis/hyperkeratosis								
Slight	0	0	1	0	-	-	-	-
Marked	0	0	0	1	-	-	-	-

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No.** LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

Sex	**Male**				**Female**			
Twice Daily Dose (mg/kg/dose)[a]	0 (Control)	7.5 (Low)	25/17.5 (Mid)	75/50/37.5 (High)	0 (Control)	7.5/5 (Low)	25/10 (Mid)	75/50/20 (High)
Number of Animals at Study Start	15	15	15	15	15	15	15	15
Infiltrate, mixed cell								
Minimal	0	0	0	1	-	-	-	-
Moderate	0	0	1	0	-	-	-	-
Erosion/ulcer								
Minimal	0	0	0	1	-	-	-	-
Marked	0	0	1	0	-	-	-	-
Marrow, Femur								
Number of Animals Examined	5	5	5	3	5	5	4	3
Hypercellular								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Mammary gland								
Number of Animals Examined	0	0	0	0	5	5	4	3
Hyperplasia								
Minimal	NA	NA	NA	NA	0	0	2	1

- No noteworthy findings
$AUC_{(0-24)}$ Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose
BID twice daily
BLQ Below the limit of quantitation (< 1.00 ng/mL)
$C_{max0-24}$ Maximum observed concentration (0-24 h)
GLP Good Laboratory Practices
NA Not applicable
* Statistically significant based on actual data (not on percent difference) P≤0.05.

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Twice Daily Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Rats followed by a 28-Day Recovery Phase

Study No. LOXO-101-TOX-018, (8309211) R-12400, Location: 4.2.3.2.5

[a] Due to the progression of serious skin lesions in the mid and high dose groups, doses were lowered as indicated in the table. Specifically, the dose level for high-dose males and females was lowered to 50 mg/kg/dose BID (twice daily) on Days 29 and 27, respectively, after females completed a dosing holiday from Day 23 (PM) through Day 26. Then on Day 42, the low, mid, and high-dose levels for females were lowered to 5, 10 and 20 mg/kg/dose, BID, respectively. On Day 53, dose levels for mid- and high-dose males were lowered (a second time for the high dose group) to 17.5 and 37.5 mg/kg/dose BID, respectively.

[b] Nine test article-related deaths occurred in the mid- and high-dose groups. Seven of the affected animals were sacrificed in a moribund condition and two were found dead. Moribunidty in six of the sacrificed animals were related to ulcerated skin lesions that failed to resolve and one animal was sacrificed because of veterinary findings including pale eyes, cold to touch, and blood clots around the teeth. The cause of death was not established for the two males found dead.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent difference from controls is shown.

[d] In the open field observations, one female in each of the test article-treated groups was noted under other unusual behavior to have elevated tail, moderate. The significance of this finding was unclear.

[e] The number represents the number of animals with at least trace amounts of findings.

[f] Includes terminal sacrifice animals and animals that died or were sacrificed at an unscheduled interval; (terminal/unscheduled or early death)

[g] Number of animals examined unless otherwise noted.

[h] One female died immediately following clinical pathology blood collection on Day 29 of the recovery phase and the death was considered accidental

2.6.7.7.3 サル 4 週間回復性評価を伴う 4 週間反復投与毒性試験

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study)		
Report Title:	ARRY-470 - 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey followed by a 4-Week Recovery Period	
Species/Strain: Cynomolgus monkey	**Duration of Dosing:** 28/29 days	**Study No.** LOXO-101-TOX-006 (AA83181) R-12414, Location: 4.2.3.2.9
Initial Age: 32 to 35 months (males); 33 to 40 months (females)	**Duration of Postdose:** 4 weeks	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** oral (gavage) **Dose volume:** 1 mL/kg **Vehicle/Formulation:** Labrafac™ Lipophile WL 1349.	**GLP Compliance:** Yes
Special Features:	None	
No Observed Adverse Effect Level:	10 mg/kg/day	

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10 (Low)		30 (Mid)		100 (High)	
Number of Animals	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main Study	3	3	3	3	3	3	3	3
Recovery	2	2	2	2	2	2	2	2
Toxicokinetics (male and female pooled) :								
Day 0								
C_{max} (µg/ml)		ND		0.817		8.1		27.9
T_{max} (hour)		ND		1.5		1		2
AUC_{last} (h.µg/ml)		ND		2.99		25.6		116
Day 27								
C_{max} (µg/ml)		ND		0.182		0.994		6.56
T_{max} (hour)		ND		6		6		4
AUC_{last} (h.µg/ml)		ND		1.29		6.05		32.2

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Studies) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: ARRY-470 - 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey followed by a 4-Week Recovery Period			**Study No.** LOXO-101-TOX-006, (AA83181) R-12414, Location: 4.2.3.2.9					
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30		100	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
Main Study	3	3	3	3	3	3	3	3
Recovery	2	2	2	2	2	2	2	2
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemodynamic Parameters								
Systolic blood pressure (mmHg) (Day 2) – [% difference to pre-test (Day -12)]	180.0	-	152.0* (-5)	-	140.6* (-16)	-	142.8* (-10)	-
Diastolic blood pressure (mmHg) (Day 2) – [% difference to pre-test (Day -12)]	104.0	-	88.6 (-3)	-	85.8*(-6)	-	74.2** (-19)	-
Heart rate (beats/min) (Day 2)	256.0	250.0	-	-	-	-	226.0[a]	230.0[a]
Hematology – Day 14								
Red blood cell count (T/L)	6.500	6.128	6.338	5.972	6.108*	5.620	5.864*	5.834
Hemoglobin (g/L)	126.6	117.8	-	115.6	118.6	110.4*	112.6**	107.2*
Packed cell volume (%)	42.08	40.54	-	39.66	39.60*	37.90*	37.78**	36.40**
Hematology – Day 26								
Red blood cell count (T/L)	6.854	6.614	6.758	6.272	6.588	6.074	6.356*	6.324
Hemoglobin (g/L)	130.4	124.0	-	119.6	123.6	115.6*	116.6*	111.8*
Packed cell volume (%)	45.30	44.38	44.64	42.12	42.88	41.60	41.40*	39.66*
Coagulation – Day 14								
Prothrombin Time (seconds)	10.06	10.40	10.46*	-	10.98**	-	10.54**	-
Coagulation – Day 26								
Prothrombin Time (seconds)	9.84	10.20	10.60*	-	10.68*	-	10.80*	-

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Studies) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: ARRY-470 - 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey followed by a 4-Week Recovery Period			**Study No.** LOXO-101-TOX-006, (AA83181) R-12414, Location: 4.2.3.2.9					
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30		100	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
Main Study	3	3	3	3	3	3	3	3
Recovery	2	2	2	2	2	2	2	2
Serum Chemistry – Day 14								
Albumin (g/L)	44.86	42.36	-	-	40.02*	38.62**	40.02*	34.58**
Total protein (g/L)	-	77.80	-	-	-	73.42*	-	74.42*
Blood Urea Nitrogen (mmol/L)	4.156	5.480	5.050	-	6.402*	-	6.196*	-
Serum Chemistry – Day 26								
Albumin (g/L)	44.82	43.96	-	-	40.96	39.14*	40.94	34.90**
Total protein (g/L)	-	82.30	-	-	-	75.88*	-	77.14*
Blood Urea Nitrogen (mmol/L)	6.976	7.898	7.994	-	10.272	-	9.432	-
Alanine aminotransferase (IU p)	40.4	39.8	-	-	-	-	88.2**	-
Aspartate aminotransferase (IU p)	47.4	49.2	-	-	-	-	85.6*	-
Cardiac biomarker	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[b] (%)								
Liver	73.12 g	51.57 g	+10	+24*	+13	+42**	+38	+65**
Spleen	-	5.92 g	-	-2	-	+34*	-	+50*
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Liver[c]								
Hepatocellular hypertrophy	0/3	0/3	1/3	1/3	3/3	2/3	3/3	3/3
Lymphoid cell infiltration	0/3	0/3	0/3	1/3	2/3	1/3	3/3	3/3
Hemorrhage	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	1/3	0/3	2/3
Bile duct hyperplasia	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	1/3	2/3	1/3
Pigment deposits	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	1/3	3/3	3/3
Single cell necrosis	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	1/3

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Studies) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: ARRY-470 - 4-week Oral Gavage Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey followed by a 4-Week Recovery Period

Study No. LOXO-101-TOX-006, (AA83181) R-12414, Location: 4.2.3.2.9

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		30		100	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
Main Study	3	3	3	3	3	3	3	3
Recovery	2	2	2	2	2	2	2	2
Mesenteric Lymph Node								
Development of lymphoid follicles								
Mminimal	2/3	3/3	2/3	3/3	1/3	1/3	1/3	1/3
Slight	1/3	0/3	1/3	0/3	2/3	2/3	0/3	2/3
Moderate	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	0/3
Spleen								
Development of lymphoid follicles								
Mminimal	1/3	3/3	3/3	2/3	2/3	2/3	1/3	0/3
Slight	2/3	0/3	0/3	1/3	1/3	1/3	1/3	3/3
Moderate	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3
Recovery Period								
Number Evaluated	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F:2
Hematology								
Red blood cell count (T/L)	7.365	7.135	7.210	6.710	7.260	6.560	6.835	6.990
Hemoglobin (g/L)	135.0	131.0	137.0	128.5	128.5	122.5	125.0	132.0
Packed cell volume (%)	47.30	46.50	47.15	44.80	45.45	43.40	44.40*	46.10

ND Not Determined N Not applicable - No noteworthy findings

* - p < 0.05 ** - p < 0.01

[a] On Day 2, two hours after dosing, high dose male no. 2275 and high dose female no. 2277 had a decreased heart rate, when compared with pretest (160 vs. 230 and 150 vs. 230 beats/min, respectively).

[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights.

[c] Findings were mainly observed near gallbladder

2.6.7.7.4 サル 4 週間回復性評価を伴う 13 週間反復経口投与毒性試験

Test Article: larotrectinib

Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study)

Report Title: A 13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Cynomolgus Monkeys followed by a 28-Day Recovery Phase

Species/Strain: Cynomolgus monkey

Duration of Dosing: 13 weeks

Study No. LOXO-101-TOX-019, (8309212) R-12410, Location: 4.2.3.2.10

Initial Age: 30 to 41months

Duration of Postdose: 4 weeks

Date of First Dose: [redacted]20[redacted]

Method of Administration: oral (gavage)

Dose volume: 1 mL/kg

Vehicle/Formulation: corn oil

GLP Compliance: Yes

Special Features: Hepatic Drug Metabolism Enzyme Analysis, physical examinations, vital signs, respiration rates, blood pressure measurements

No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10 (Low)	30 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	10 (Low)	30 (Mid)	100 (High)
Number of Animals at Study Start	5	5	5	5	5	5	5	5
Dosing Phase								
Toxicokinetics:								
Day 1								
$AUC_{(0\text{-}24)}$ (ng·hr/mL)	NC	3390	26900	149000	NC	2480	16900	167000
C_{max} (ng/mL)	BLQ	1110	10400	29600	BLQ	896	5150	35300
Day 46								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)	NC	3270	12600	73400	NC	2200	11800	67800
C_{max} (ng/mL)	BLQ	1140	3240	17900	BLQ	657	3110	14200
Day 91								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)	NC	2930	19600	53600	NC	2310	16600	93800
C_{max} (ng/mL)	BLQ	701	6800	13500	BLQ	779	6010	19300

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Cynomolgus Monkeys followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No**. LOXO-101-TOX-019, (8309212) R-12410, Location: 4.2.3.2.10

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10 (Low)	30 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	10 (Low)	30 (Mid)	100 (High)
Number of Animals at Study Start	5	5	5	5	5	5	5	5
Hepatic Drug Metabolism Enzyme Analysis:								
CYP2B (%)[a]	-	-	-	-	500 pmol/ min/mg protein	90.5	153	269
CYP3A (%)[a]	-	-	-	-	7170 pmol/ min/mg protein	129	187	302
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations								
Behavior, emesis	1	1	2	4	0	2	2	1
Behavior, retching	0	0	0	1	0	0	0	1
Vomitus, group observation, clear, foamy	0	0	0	0	0	0	2	0
Vomitus, group observation, containing food	0	0	0	0	0	2	0	3
Vomitus, group observation, foamy	0	0	0	0	0	0	2	0
Vomitus, group observation, foamy, white	0	0	0	0	0	0	2	0
Vomitus, group observation, foamy, yellow	0	0	0	2	0	0	0	0
Vomitus, group observation, yellow	0	0	0	2	0	0	0	0
Vomitus, individual observation	0	1	0	0	0	0	0	0
Vomitus, individual observation, brown, containing food	0	0	1	0	0	0	1	0
Vomitus, individual observation, brown, foamy	0	1	0	0	0	1	0	0

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Cynomolgus Monkeys followed by a 28-Day Recovery Phase

Study No. LOXO-101-TOX-019, (8309212) R-12410, Location: 4.2.3.2.10

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10 (Low)	30 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	10 (Low)	30 (Mid)	100 (High)
Number of Animals at Study Start	5	5	5	5	5	5	5	5
Vomitus, individual observation, clear	1	0	0	0	0	0	0	0
Vomitus, individual observation, containing food, yellow	0	0	0	1	0	1	0	0
Vomitus, individual observation, containing food	0	0	0	1	0	0	0	0
Vomitus, individual observation, foamy, white	0	0	0	0	0	1	0	1
Vomitus, individual observation, foamy, yellow	1	1	2	1	0	1	0	0
Vomitus, individual observation, red	0	0	0	1	0	0	0	0
Vomitus, individual observation, yellow	0	1	1	2	0	1	1	1
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight Change (kg)								
Days 1-91	0.1	0.2	0.2	0.4*	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiographic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Physical Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Vital Signs	-	-	-	-	-	-	-	-
Respiration Rates	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure Measurements (%)[a]								
Day 7								
Diastolic Blood Pressure	74 mm Hg	-27.0	-29.7*	-29.7*	-	-	-	-
Arterial Blood Pressure	93 mm Hg	-20.4	-23.7*	-21.5*	-	-	-	-

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Cynomolgus Monkeys followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No**. LOXO-101-TOX-019, (8309212) R-12410, Location: 4.2.3.2.10

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10 (Low)	30 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	10 (Low)	30 (Mid)	100 (High)
Number of Animals at Study Start	5	5	5	5	5	5	5	5
Hematology and Coagulation								
Day 36								
Hemoglobin (g/dL)	13.8	13.1	12.8*	12.4*	13.6	13.0	12.4	11.7*
Hematocrit (%)	46.3	43.1	42.4*	41.6*	45.2	43.0	42.0	39.8*
White blood cell count (E3/uL)	-	-	-	-	13.98	14.32	15.24	14.20
Neutrophils (E3/uL)	-	-	-	-	6.02	6.55	7.85	5.46
Day 92								
Red blood cell count (E6/uL)	-	-	-	-	5.18	5.16	5.15	4.94
Hemoglobin (g/dL)	12.7	12.4	11.6	12.0	12.6	12.4	11.7	10.8
Hematocrit (%)	41.3	40.2	38.2	39.5	41.0	40.0	39.0	36.7
White blood cell count (E3/uL)	-	-	-	-	14.55	13.07	12.30	18.22
Neutrophils (E3/uL)	-	-	-	-	6.37	6.00	6.01	11.16
Fibrinogen (mg/dL)	-	-	-	-	198	218	185	298
Clinical Chemistry								
Day 36								
Albumin (g/dL)	4.5	4.4	4.3	4.0	4.5	4.3	4.2	4.0*
Alkaline phosphatase (U/L)	547	407	478	345	517	500	440	371
Calcium (mg/dL)	10.9	10.3*	10.3*	10.5*	-	-	-	-
Potassium (mmol/L)	5.6	4.7*	4.8*	4.9*	-	-	-	-
Day 92								
Albumin (g/dL)	4.1	4.1	3.7	3.7	4.1	4.0	3.9	3.2*
Globulin (g/dL)	2.8	3.0	3.4	3.6*	2.8	2.9	3.2	3.4
Albumin:globulin ratio	1.5	1.4	1.1*	1.1*	1.5	1.4	1.2	1.0*
Alkaline phosphatase (U/L)	551	500	499	345	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A 13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with LOXO-101 in Cynomolgus Monkeys followed by a 28-Day Recovery Phase **Study No**. LOXO-101-TOX-019, (8309212) R-12410, Location: 4.2.3.2.10

Sex	**Male**				**Female**			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10 (Low)	30 (Mid)	100 (High)	0 (Control)	10 (Low)	30 (Mid)	100 (High)
Number of Animals at Study Start	5	5	5	5	5	5	5	5
Organ Weights								
Liver								
Absolute Organ Weight (%)[a]	48.083 g	21.6	52.5*	49.4*	55.000 g	14.4	28.1	45.9*
Organ to Body Weight (%)	1.7946	2.1422	2.6008*	2.5935*	2.0582	2.2444	2.5857*	2.9397*
Organ to Brain Weight (%)	70.3562	81.7884	98.3829	99.0808	86.5220	95.2518	100.7576	125.3611*
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Adipose, brown								
Number of Animals Examined	3	3	3	2	3	3	3	3
Macrovesiculation								
Minimal	2	2	2	2	1	2	2	3
Liver								
Number of Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Vacuolation, increased, hepatocyte								
Minimal	0	0	2	2	0	0	2	2
Recovery Phase								
Number of Animals in Recovery	2	2	2	2	2	2	2	2
Hepatic Drug Metabolism Enzyme Analysis:								
CYP1A (%)[a]	56.5 pmol/ min/mg protein	243	143	161	65.1 pmol/ min/mg protein	103	213	101

-	No noteworthy findings	$AUC_{(0-24)}$	Area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours postdose
BLQ	Below the lower limit of quantitation (< 1.00 ng/mL)	C_{max}	Maximum (peak) observed drug concentration
CYP1A	ethoxyresorufin *O*-deethylase	CYP2B	Testosterone 16β-hydroxylase
CYP3A	Testosterone 6β-hydroxylase	GLP	Good Laboratory Practices
NA	Not applicable	NC	Not calculated

* Statistically significant based on actual data (not on percent difference).

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, percent difference from controls is shown

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験： 重要な試験以外の試験

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異予備試験

Test Article: larotrectinib

Genotoxicity: In Vitro (Nonpivotal Study)
Report Title: Salmonella/Mammalian Microsome Assay

Study No. LOXO-101-TOX-007, R-12413, Location: 4.2.3.3.1.1

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Strains: *Salmonella typhimurium*
Metabolizing System: Aroclor™ 1254 induced rat liver S9
Vehicles: for Test Article: DMSO
Treatment: Plates incubated at 37°C for 48 hours

No. of Independent Assays: 1
No. of Replicate Cultures: 2
No. of Cells Analyzed/Cultured: NA
For Positive Controls: DMSO
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

GLP Compliance: No

Cytotoxic Effects: Background lawn toxicity observed at 5000 µg per plate without metabolic activation in both strains.
Genotoxic Effects: None

Genotoxicity: In Vitro (Nonpivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: Salmonella/Mammalian Microsome Assay **Study No.** LOXO-101-TOX-007, R-12413, Location: 4.2.3.3.1.1

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level or Concentration (µg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean of Duplicate Plates)	
			TA98	TA100
Without S9 Activation	DMSO	50 µL	28	119
	Positive Control 2-NF (TA98)	2.5	436*	-
	Positive Control SA (TA100)	1.0	-	961*
	Larotrectinib	10	34	128
		50	30	98
		100	26	117
		500	31	114
		1000	22	106
		5000[a]	0	0
With S9 Activation	DMSO	50 µL	31	121
	Positive Control (2-AA)	2.5	2965*	3053*
	Larotrectinib	10	30	130
		50	31	105
		100	22	116
		500	28	111
		1000	32	112
		5000[b]	29	103

2-NF 2-Nitrofluorene
SA Sodium Azide
2-AA Aminoanthracene
DMSO Dimethylsulfoxide
[a] Cytotoxicity (reduction in the background lawn and/or number of revertant colonies)
[b] Precipitates present
* Indicates an increase over vehicle mean by at least 2-fold for TA100 or 3-fold for TA98

2.6.7.8.2 L5178Y 細胞を用いるマウスリンフォーマ予備試験

Test Article: larotrectinib

Genotoxicity: In Vitro (Nonpivotal Study)
Report Title: *In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test for Screening (L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Assay)
Study No. LOXO-101-TOX-008, R-12411, Location: 4.2.3.3.1.3
Test for Induction of: mutagenic potential of larotrectinib in presence and absence of rat liver S9
No. of Independent Assays: 2
Strains: L5178Y $TK^{+/-}$ cells
No. of Replicate Cultures: 3
GLP Compliance: No
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
No. of Cells Analyzed/Cultured: 10^6 clonable cells
Vehicles for Test Article: DMSO
Vehicle for Positive Controls: DMSO
Treatment: 4-hour exposure for S9-activated cultures & 24-hour exposure for non-activated cultures
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects: 4 hours +S9: Decreased growth rate (118% to 43%) at 25-600 µg/mL
24 hours -S9: Decreased growth rate (88% to 17%) at 5-400 µg/mL
Genotoxic Effects: None

L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Cells Treated with larotrectinib with Metabolic Activation – 4-hour exposure

Dose Level (µg/mL)	% Susp. Growth	TFT Colonies (plate counts) Mean	VC Colonies (plate counts) Mean	Total Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)	Induced Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)
Solvent 1	100	34	151	45	NA
Solvent 2		49	140	70	
25	105	47	164	57	-1
50	73	43	165	53	-5
100	97	49	158	62	4
150	94	46	148	63	5
250	82	32	157	40	-17
400	71	47	149	63	5
600	42	44	149	59	1
800	0	NC	NC	NC	NC
Positive Control –DMBA (µg/mL)					
1.25	12	130	75	347	289
1	20	184	104	352	294

TFT trifluorothymidine
VC Viable Counts
NC Not calculated
DMBA 7,12-Dimethyl-benz(a)anthracene
NA Not applicable

Genotoxicity: In Vitro (Nonpivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: *In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test for Screening (L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Assay) **Study No.** LOXO-101-TOX-008, R-12411, Location: 4.2.3.3.1.3

L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Cells Treated with larotrectinib without Metabolic Activation – 24-hour exposure

Dose Level (µg/mL)	% Susp. Growth	TFT Colonies (plate counts) Mean	VC Colonies (plate counts) Mean	Total Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)	Induced Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)
Solvent 1		25	157	31	NA
Solvent 2	100	30	204	29	
5	90	20	176	22	-8
10	85	28	177	32	2
25	86	21	174	24	-7
50	73	21	151	27	-3
100	79	19	160	23	-7
200	66	18	167	22	-8
300	49	18	199	18	-12
400	22	12	140	17	-13
500	9	NC	NC	NC	NC
Positive Control – Methyl methanesulfonate (MMS) (µg/mL)					
7.5	40	97	60	320	290
5	62	125	106	235	205

TFT trifluorothymidine
NA Not applicable
VC Viable Counts
NC Not calculated

2.6.7.9 In Vitro 遺伝毒性試験： 重要な試験

2.6.7.9.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

Test Article: larotrectinib

Genotoxicity: In Vitro (Pivotal Study)
Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Strains: *Salmonella typhimurium* tester strains TA98, TA100, TA1535 and TA1537 and *Escherichia coli* tester strain WP2 *uvr*A
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9

Study No. LOXO-101-TOX-009, R-12445
Location: 4.2.3.3.1.2
No. of Independent Assays: 2
No. of Replicate Cultures: 3
No. of Cells Analyzed/Culture: NA
Treatment: Plate Incorporation
GLP Compliance: Yes
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Testing Facility: [redacted] Corporation, Rockville, MD

Vehicles: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** Water for SA, DMSO for all other positive controls

Treatment: Test article and vehicle/ positive controls were plated with overnight cultures of TA98, TA100, TA1535, TA1537 and WP2 *uvr*A on selective minimal agar in the presence and absence of Aroclor-induced rat liver S9.

Cytotoxic Effects: None **Genotoxic Effects:** None

Genotoxicity: In Vitro (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay **Study No.:** LOXO-101-TOX-009, R-12445, Location: 4.2.3.3.1.2

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Revertants/plate (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA*
Without Activation	DMSO	50 µL	22 ± 6	95 ± 6	16 ± 2	6 ± 3	32 ± 6
	larotrectinib	1.5	16 ± 3	102 ± 15	20 ± 1	3 ± 4	50 ± 7
		5.0	10 ± 1	92 ± 13	20 ± 1	5 ± 0	43 ± 4
		15	8 ± 4	104 ± 4	16 ± 4	7 ± 4	50 ± 14
		50	13 ± 6	105 ± 8	13 ± 0	6 ± 4	35 ± 5
		150	15 ± 5	104 ± 9	14 ± 1	4 ± 1	36 ± 3
		500	13 ± 2	102 ± 4	17 ± 0	8 ± 2	47 ± 1
		1500	18 ± 7	110 ± 11	14 ± 1	10 ± 1	37 ± 12
		5000	16 ± 2	84 ± 2	10 ± 1	5 ± 1	40 ± 4
	SA	1.0	NA	533 ± 2	422 ± 58	NA	NA
	9AAD	75	NA	NA	NA	750 ± 40	NA
	2NF	1.0	197 ± 1	NA	NA	NA	NA
	MMS	1000	NA	NA	NA	NA	544 ± 11

NA Not applicable
9AAD 9-Aminoacridine
DMSO dimethyl sulfoxide
2NF 2-Nitrofluorene
SA Sodium azide
MMS methyl methanesulfonate

Genotoxicity: In Vitro (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay **Study No.** LOXO-101-TOX-009, R-12445, Location: 4.2.3.3.1.2

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Revertants/plate (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA*
With Activation	DMSO	50 µL	21 ± 1	109 ± 2	11 ± 11	6 ± 4	35 ± 2
	larotrectinib	1.5	23 ± 0	118 ± 11	15 ± 1	5 ± 0	34 ± 0
		5.0	23 ± 8	123 ± 11	12 ± 2	6 ± 3	38 ± 1
		15	25 ± 3	120 ± 16	11 ± 1	5 ± 6	45 ± 0
		50	22 ± 2	111 ± 12	11 ± 4	5 ± 6	47 ± 10
		150	22 ± 2	101 ± 6	20 ± 0	7 ± 1	37 ± 1
		500	22 ± 0	94 ± 0	14 ± 1	5 ± 0	32 ± 8
		1500	27 ± 1	106 ± 1	15 ± 1	7 ± 1	39 ± 11
		5000	28 ± 2	104 ± 4	9 ± 1	3 ± 0	35 ± 16
	2AA	1.0	488 ± 52	NA	85 ± 4	48 ± 19	195 ± 30
	2AA	2.0	NA	1258 ± 83	NA	NA	NA

NA Not applicable
DMSO dimethyl sulfoxide
2AA 2-Aminoanthracene

Genotoxicity: In Vitro (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay

Study No. LOXO-101-TOX-009, R-12445, Location: 4.2.3.3.1.2

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Revertants/plate (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA*
Without Activation	DMSO	50 µL	32 ± 4	122 ± 21	15 ± 0	9 ± 3	45 ± 4
	larotrectinib	50	32 ± 6	120 ± 6	16 ± 3	10 ± 7	43 ± 5
		150	35 ± 7	126 ± 7	15 ± 4	9 ± 1	49 ± 8
		500	36 ± 7	116 ± 15	19 ± 6	8 ± 2	47 ± 5
		1500	37 ± 6	137 ± 19	17 ± 4	9 ± 4	42 ± 12
		5000	31 ± 8	136 ± 16	20 ± 3	8 ± 5	51 ± 1
	SA	1.0	NA	813 ± 50	646 ± 117	NA	NA
	9AAD	75	NA	NA	NA	239 ± 27	NA
	2NF	1.0	176 ± 26	NA	NA	NA	NA
	MMS	1000	NA	NA	NA	NA	533 ± 37

NA Not applicable
DMSO dimethyl sulfoxide
SA Sodium azide
9AAD 9-Aminoacridine
2NF 2-Nitrofluorene
MMS methyl methanesulfonate

Genotoxicity: In Vitro (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay **Study No.** LOXO-101-TOX-009, R-12445, Location: 4.2.3.3.1.2

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Revertants/plate (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA*
With Activation	DMSO	50 µL	46 ± 13	136 ± 10	13 ± 6	10 ± 6	52 ± 12
	larotrectinib	50	41 ± 10	125 ± 5	8 ± 4	8 ± 1	57 ± 3
		150	51 ± 8	137 ± 6	11 ± 3	9 ± 4	53 ± 13
		500	37 ± 8	130 ± 10	15 ± 5	7 ± 1	45 ± 11
		1500	48 ± 7	126 ± 10	14 ± 2	6 ± 3	45 ± 3
		5000	51 ± 1	131 ± 6	16 ± 2	6 ± 4	50 ± 4
	2AA	1.0	555 ± 53	NA	84 ± 25	57 ± 11	NA
	2AA	2.0	NA	1244 ± 214	NA	NA	NA
	2AA	10	NA	NA	NA	NA	230 ± 15

NA Not applicable
DMSO dimethyl sulfoxide
2AA 2-Aminoanthracene

2.6.7.9.2 L5178Y 細胞を用いるマウスリンフォーマ試験

Test Article: larotrectinib

Genotoxicity: In Vitro (Pivotal Study)

Report Title: *In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test (L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Assay)

Study No.: LOXO-101-TOX-010, R-12412, Location: 4.2.3.3.1.4

Test for Induction of: Genotoxic potential of larotrectinib mutations on L5178Y/TK $^{+/-}$ mouse lymphoma cells

No. of Independent Assays: 2

Strains: L5178Y TK$^{+/-}$ Cells

No. of Replicate Cultures: 3

GLP Compliance: Yes

Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9

No. of Cells Analyzed/Cultured: 10^6 clonable cells

Vehicles: for Test Article: DMSO

Vehicle for Positive Controls: DMSO

Treatment: 4-hour exposure with or without S9 and 24-hour exposure without S9

Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic Effects: 4 hours -S9: Decreased growth rate (67% to 17%) at 300-700 µg/mL
4 hours +S9: Decreased growth rate (115% to 62%) at 100-400 µg/mL
24 hours -S9: Decreased growth rate (85% to 14%) at 100-350 µg/mL

Genotoxic Effects: None

Genotoxicity: In Vitro (Pivotal Study) (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: *In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test (L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Assay) **Study No.:** LOXO-101-TOX-010, R-12412, Location: 4.2.3.3.1.4

L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Cells Treated with larotrectinib without Metabolic Activation – 4-hour exposure
Initial Assay

Dose Level (µg/mL)	% Susp. Growth	TFT Colonies (plate counts) Mean	VC Colonies (plate counts) Mean	Total Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)	Induced Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)
Solvent 1	100	58	235	50	NA
Solvent 2		71	223	64	
300A	89	67	174	77	20
300B	80	90	186	97	40
500A	65	74	186	80	23
500B	58	64	197	65	8
600A	43	62	179	69	12
600B	47	67	209	64	7
650A	29	74	188	79	22
650B	30	85	193	88	31
700A	22	95	174	109	52
700B	19	73	202	73	16
750A	9	NC	NC	NC	NC
750B	10	NC	148	NC	NC
Positive Control – Methyl methanesulfonate (MMS) (µg/mL)					
20	41	89	25	724	668
15	55	150	58	518	462

1/2 or A/B	Duplicated cultures	NA	Not applicable
NC	Not calculated	TFT	trifluorothymidine
VC	Viable Counts		

Genotoxicity: In Vitro (Pivotal Study) (continued) **Test Article:** larotrectinib

Report Title: *In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test (L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Assay) **Study No.:** LOXO-101-TOX-010, R-12412, Location: 4.2.3.3.1.4

L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Cells Treated with larotrectinib with Metabolic Activation – 4-hour exposure
Initial Assay

Dose Level (µg/mL)	% Susp. Growth	TFT Colonies (plate counts) Mean	VC Colonies (plate counts) Mean	Total Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)	Induced Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)
Solvent 1	100	54	174	62	NA
Solvent 2		65	201	65	
100A	113	59	191	62	-1
100B	110	47	175	54	-9
200A	111	49	168	59	-5
200B	104	50	187	53	-10
300A	88	62	172	73	9
300B	97	75	197	76	13
400A	62	82	188	87	24
400B	68	52	182	57	-6
500A	0	NC	NC	NC	NC
500B	0	NC	NC	NC	NC
Positive Control – 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) (µg/mL)					
1.25	9	173	77	447	383
1	16	181	99	364	301

1/2 or A/B	Duplicated cultures	NA	Not applicable
NC	Not calculated	TFT	trifluorothymidine
VC	Viable Counts		

Genotoxicity: In Vitro (Pivotal Study) (continued) **Test Article:** larotrectinib

Report Title: *In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test (L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Assay) **Study No.:** LOXO-101-TOX-010, R-12412, Location: 4.2.3.3.1.4

L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Cells Treated with larotrectinib without Metabolic Activation – 24-hour exposure Extended Treatment Assay

Dose Level (µg/mL)	% Susp. Growth	TFT Colonies (plate counts) Mean	VC Colonies (plate counts) Mean	Total Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)	Induced Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)
Solvent 1	100	65	188	69	NA
Solvent 2		45	152	60	
100A	100	86	146	118	54
100B	98	45	147	61	-3
200A	77	68	122	111	47
200B	86	26	121	44	-21
250A	48	37	142	52	-13
250B	57	31	144	43	-21
300A	24	72	137	105	40
300B	23	40	202	40	-25
350A	17	44	137	64	0
350B	19	43	170	51	-14
400A	9	NC	NC	NC	NC
400B	8	NC	NC	NC	NC
Positive Control – Methyl methanesulfonate (MMS) (µg/mL)					
7.5	54	161	63	512	448
5	68	159	97	327	263

1/2 or A/B Duplicated cultures
NA Not applicable
NC Not calculated
TFT trifluorothymidine
VC Viable Counts

Genotoxicity: In Vitro (Pivotal Study) (continued) **Test Article:** larotrectinib

Report Title: *In Vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test (L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Assay) **Study No.:** LOXO-101-TOX-010, R-12412, Location: 4.2.3.3.1.4

L5178Y/TK+/- Mouse Lymphoma Cells Treated with larotrectinib with Metabolic Activation –4-hour exposure Independent Repeat Assay

Dose Level (µg/mL)	% Susp. Growth	TFT Colonies (plate counts) Mean	VC Colonies (plate counts) Mean	Total Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)	Induced Mutant Frequency (Per 10^6 Cells)
Solvent 1	100	56	199	56	NA
Solvent 2		35	171	41	
300A	91	49	167	59	10
300B	92	34	232	29	-20
400A	75	52	176	59	11
400B	63	60	155	78	29
450A	60	34	216	31	-18
450B	54	47	228	41	-8
475A	46	52	176	59	11
475B	28	56	200	56	8
500A	29	54	187	58	9
500B	13	40	173	46	-3
600A	0	NC	NC	NC	NC
600B	0	NC	NC	NC	NC
Positive Control – Methyl methanesulfonate (MMS) (µg/mL)					
1.25	23	210	140	299	250
1	34	196	190	206	157

1/2 or A/B	Duplicated cultures	NA	Not applicable
NC	Not calculated	TFT	trifluorothymidine
VC	Viable Counts		

2.6.7.10 In Vivo 遺伝毒性試験： 重要な試験

2.6.7.10.1 マウスを用いる小核試験

Test Article: larotrectinib

Genotoxicity: In Vivo (Pivotal Study)
Report Title: Mouse Bone Marrow Erythrocyte Micronucleus Test Following Oral Administration of ARRY-470
Study No. LOXO-101-TOX-011, R-12444, Location: 4.2.3.3.2.1
Test for Induction of: Increase MPCE in bone marrow
Treatment Schedule: Single dose (QD)
Species / Strain: ICR Mice
Sampling Time: 24 and 48 h post-dose
GLP Compliance: Yes
Age: 6-8 weeks old
Method of Administration: Oral Gavage
Dose volume: 10 mL/kg
No. of Cells Evaluated / Animal: Bone marrow cells [polychromatic erythrocytes (2000 PCEs/animal)]
Control vehicle: Labrafac Lipophile WL 1349
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Toxic / Cytotoxic Effects: Mortality at ≥ 1000 mg/kg/ Not cytotoxic
Genotoxic Effects: None

Summary of Bone Marrow Micronucleus Analysis Following a Single Oral Administration of larotrectinib in ICR Mice

Treatment	Sex	Time (h)	Number of Animals	PCE/Total Erythrocytes (Mean ± SD)	Change from Control (%)	Number of MPCE/1000 PCE (Mean ± SD)	Number of MPCE/PCE Scored
Labrafac Lipophile WL 1349	M	24	5	0.507 ± 0.01	---	0.1 ± 0.22	1 / 10000
(control vehicle)	F	24	5	0.526 ± 0.01	---	0.2 ± 0.27	2 / 10000
larotrectinib	M	24	5	0.525 ± 0.02	4	0.1 ± 0.22	1 / 10000
125 mg/kg	F	24	5	0.517 ± 0.01	-2	0.0 ± 0.00	0 / 10000
larotrectinib	M	24	5	0.511 ± 0.03	1	0.2 ± 0.27	2 / 10000
250 mg/kg	F	24	5	0.506 ± 0.01	-4	0.2 ± 0.27	2 / 10000
larotrectinib	M	24	5	0.532 ± 0.02	5	0.3 ± 0.27	3 / 10000
500 mg/kg	F	24	5	0.499 ± 0.03	-5	0.5 ± 0.00	5 / 10000
Cyclophosphamide (positive	M	24	5	0.532 ± 0.02	5	8.6 ± 2.22	*86 / 10000
control), 50 mg/kg	F	24	5	0.530 ± 0.03	1	11.8 ± 4.70	*118 / 10000
Labrafac Lipophile	M	48	5	0.509 ± 0.02	---	0.0 ± 0.00	0 / 10000
WL 1349	F	48	5	0.510 ± 0.01	---	0.1 ± 0.22	1 / 10000
larotrectinib	M	48	5	0.514 ± 0.02	1	0.1 ± 0.22	1 / 10000
500 mg/kg	F	48	5	0.502 ± 0.01	-2	0.2 ± 0.27	2 / 10000

* Statistically significant increase compared to negative control, $p \leq 0.05$

2.6.7.11 がん原性試験

Not applicable

2.6.7.12 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験

2.6.7.12.1 ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験

Test Article: larotrectinib

Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Study
Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Embryo/Fetal Development Study with LOXO-101 in Rats
Duration of Dosing: GD 6–17 (twice daily) **Day of Mating:** GD 0 **Study No.** LOXO-101-TOX-023 (WIL-428503) R-12419, Location: 4.2.3.5.2.1
Day of Laparohysterectomy: GD 20
Species/Strain: Sprague Dawley [Crl:CD(SD)] **Method of Administration:** Oral (gavage)
Initial Age: ~12 weeks **Dose volume:** 1 mL/kg/dose (BID) or 2 mL/kg/day
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] **Vehicle/Formulation:** Corn oil **GLP Compliance:** No

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**80**	**240**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**40**	**120**
Dams: Toxicokinetics:					
GD 6					
T_{max} (h)	NA	13.0	1.00	1.00	1.00
C_{max} (ng/mL)	NA	325	1280	4460	16,100
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	NA	1,800	7,240	35,000	97,000
GD 17					
T_{max} range (h)	NA	13.00	13.00	1.0	13.0
C_{max} (ng/mL)	NA	237	972	4410	20,500
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	NA	1,790	8,090	45,800	221,000

Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Embryo/Fetal Development Study with LOXO-101 in Rats			**Study No.** LOXO-101-TOX-023, (WIL-428503) R-12419, Location: 4.2.3.5.2.1		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**80**	**240**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**40**	**120**
Dams: Toxicity Females					
No. Evaluated	8	8	8	8	8
No. Pregnant	8	8	8	8	8
No. Died or Euthanized in Extremis/Due to Early Group Termination	0	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0	0
Clinical Observations [a]					
Daily Examinations					
Rales	0/0	0/0	0/0	0/0	3/1
Postdosing Observations [a]					
Dose 1: 1-2 Hours Postdosing					
Rales	0/0	0/0	0/0	1/1	4/2
Dose 2: 1-2 Hours Postdosing					
Rales	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1
Body Weight, g (%) [b]					
GD 0	253	246(-2.8)	247 (-2.4)	246 (-2.8)	249 (-1.6)
GD 6	285	278 (-2.5)	277 (-2.8)	278 (-2.5)	276 (-3.2)
GD 7	285	282 (-1.1)	281 (-1.4)	278 (-2.5)	273 (-4.2)
GD 18	364	368 (1.1)	373 (2.5)	389 (6.9)	409 (12.4)**
GD 20	400	399 (-0.3)	398 (-0.5)	406 (1.5)	424 (6.0)
Body Weight Changes, g					
GD 6–7	0	4	4	0	-3
GD 6–9	6	14	17*	21**	18*
GD 9–12	17	18	18	21	39**
GD 12–18	55	57	61	69	76**
GD 6–18	78	90	96	111**	133**
GD 18–20	36	31	25*	18**	15**

Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Embryo/Fetal Development Study with LOXO-101 in Rats

Study No. LOXO-101-TOX-023, (WIL-428503) R-12419, Location: 4.2.3.5.2.1

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**6**	**20**	**80**	**240**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**40**	**120**
Dams: **Food Consumption, g/animal/day**					
GD 6–7	20	22	20	20	15*
GD 6–9	21	22	22	25	21
GD 9–12	23	25	25	27	29
GD 12–18	25	25	26	28	31**
GD 6–18	23	24	25	27	28**
Necropsy Observations					
Pale liver	0	0	0	0	1
Gravid Uterine weight	81.5	85.6	82.9	80.3	79.5
Mean No. of Corpora Lutea	14.9	16.0	16.3	15.5	14.6
Mean No. of Implantations	14.5	15.8	15.4	14.5	14.0
Mean % Pre-implantation Loss	2.4	1.4	5.3	6.2	4.1
Litters:					
No. Litters Evaluated	8	8	8	8	8
Mean No. of Viable Fetuses	13.6	14.8	15.1	14.1	13.5
Mean No. Resorptions (early)	0.9	1.0	0.3	0.4	0.5
Mean No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Post-implantation Loss	6.3	6.2	1.7	2.8	3.9
Mean % Viable Fetuses	93.7	93.8	98.3	97.2	96.1
Mean Fetal Body Weight, g (%) [b]	3.9	3.7 (-5.1)	3.4 (-12.8)**	3.6 (-7.7)*	3.7 (-5.1)
External Fetal Anomalies	-	-	-	-	-

\- No noteworthy findings GD Gestation day NA Not applicable
g Grams Dunnett's Test * -p < 0.05 ** -p < 0.01
[a] Presented as the total occurrence/number of animals.
[b] For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.12.2 非妊娠ウサギ忍容性試験

Test Article: larotrectinib

Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Study

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation – Dose Volume)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number (Location)
Rabbit/ New Zealand White	Oral (Gavage) (Corn oil/ 1 mL/kg/dose)	Study Days 0–4	15, 50, 150, 400 (7.5, 25, 75, 200 mg/kg/dose BID)	F/3	Not established	Oral dosage levels of 7.5, 25, 75 and 200 mg/kg/dose BID were well tolerated in nonpregnant rabbits over 5 days of dose administration. All females survived to the scheduled necropsy. Limited occurrences of decreased defecation were noted at 75 and 200 mg/kg/dose BID, and body weight losses and reduced food consumption (compared to pretest values) were noted at 200 mg/kg/dose BID. Body weight gains and food consumption values similar to pretest values were noted for all other females on study. The high dose of 200 mg/kg/dose BID was associated with a steady-state (Day 4) C_{max} and AUC_{0-24} of 20,800 ng/mL and 151,000 ng*h/mL, respectively.	LOXO-101-TOX-026 R-12393 (4.2.3.5.2.3)

F Female

2.6.7.12.3 ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験

Test Article: larotrectinib

Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Study
Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in New Zealand White Rabbits
Duration of Dosing: GD 7–20 (twice daily) **Day of Mating:** GD 0 **Study No.** LOXO-101-TOX-027 (WIL-428507) R-12421, Location: 4.2.3.5.2.4
Day of Laparohysterectomy: GD 29
Species/Strain: Rabbit/Hra:(NZW)SPF **Method of Administration:** Oral (gavage)
Initial Age: 6.5 months **Dose volume:** 1 mL/kg/dose (BID) or 2 mL/kg/day
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] **Vehicle/Formulation:** Corn oil **GLP Compliance:** No

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**170**	**500**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**85**	**250**
Dams: Toxicokinetics:					
GD 7					
T_{max} range (h)	NA	13.0-16.0	1.00-16.0	4.00-16.0	4.00-16.0
C_{max} (ng/mL)	NA	159	503	2710	17,400
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	NA	1330	4130	26,100	169,000
GD 20					
T_{max} range (h)	NA	1.00-13.0	1.00-13.0	13.0-13.0	4.00[ab]
C_{max} (ng/mL)	NA	354	2250	7360	36,500[ab]
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	NA	1720	11,300	60,700	NA

Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in New Zealand White Rabbits			**Study No.** LOXO-101-TOX-027, (WIL-428507) R-12421, Location: 4.2.3.5.2.4		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**170**	**500**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**85**	**250**
Dams: **Toxicokinetic Animals**					
No. Evaluated	4	4	4	4	4
No. Died or Euthanized in Extremis/Due to Early Group Termination	0	0	0	1	4
Toxicity Animals					
No. Evaluated	6	6	6	6	6
No. Pregnant	6	5	6	5	6
No. Died or Euthanized in Extremis/Due to Early Group Termination	0	0	0	1	6
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0	0
Clinical Observations [c]					
Daily Examinations					
Impaired use of right hindlimb	0/0	0/0	0/0	2/1	0/0
Impaired use of left hindlimb	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Impaired use of left forelimb	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Impaired use of right forelimb	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Hypoactivity	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2
Ataxia	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2
Head tilt	0/0	0/0	0/0	0/0	2/1
Rales	9/1	0/0	0/0	10/2	3/2
Cool body	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Decreased respiration rate	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Decreased defecation	16/3	8/3	5/4	17/3	13/4
Mucoid feces	0/0	2/2	2/2	4/3	1/1

Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in New Zealand White Rabbits			**Study No.** LOXO-101-TOX-027, (WIL-428507) R-12421, Location: 4.2.3.5.2.4		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**170**	**500**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**85**	**250**
Dams: Postdosing Observations					
Dose 1: At Time of Dosing					
Labored respiration	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Gasping	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Dose 1: 2 Hours Postdosing					
Rales	5/1	1/1	1/1	1/1	1/1
Increased respiration rate	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Dose 2: At Time of Dosing					
Rales	1/1	0/0	0/0	1/1	0/0
Dose 2: 2 Hours Postdosing					
Rales	6/1	0/0	1/1	6/4	4/2
Ataxia	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Body Weight, g (%) [d]					
GD 0	3211	3212 (0.0)	3254 (1.3)	3234 (0.7)	3208 (-0.1)
GD 21	3452	3737 (8.3)	3933 (13.9)**	3870 (12.1)*	NA
GD 29	3689	3705 (0.4)	3797 (2.9)	3745 (1.5)	NA
Body Weight Changes, g					
GD 7–10	36	75	119	19	-71
GD 10–13	98	119	113	55	220
GD 13–21	8	163*	278**	433**	NA
GD 7–21	141	357	510*	535*	NA
GD 21–29	237	-33*	-137**	-125**	NA
Food Consumption, g/animal/day					
GD 7–10	125	152	161	131	70
GD 10–13	117	160	170	102	122

Reproductive and Developmental Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in New Zealand White Rabbits

Study No. LOXO-101-TOX-027, (WIL-428507) R-12421, Location: 4.2.3.5.2.4

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**20**	**60**	**170**	**500**
Dose (mg/kg/dose BID)		**0 (Control)**	**10**	**30**	**85**	**250**
Dams:	GD 13–21	82	142	171**	160*	NA
	GD 7–21	99	148	168	142	NA
	GD 21–29	108	90	85	113	NA
	Necropsy Observations	-	-	-	-	-
	Gravid Uterine Weight	477.5	453.9	459.0	446.9	NA
	Mean No. of Corpora Lutea	8.8	9.4	9.3	9.3	NA
	Mean No. of Implantations	8.7	8.6	8.5	8.8	NA
	Mean % Pre-implantation Loss	3.3	7.3	8.5	4.8	NA
Litters:	**No. Litters Evaluated**	6	5	6	4	NA
	Mean No. of Viable Fetuses	8.3	8.0	8.3	8.8	NA
	Mean No. Resorptions	0.3	0.6	0.2	0.0	NA
	Mean No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0	NA
	Mean % Post-implantation Loss	3.5	7.9	2.1	0.0	NA
	Mean % Viable Fetuses	96.5	92.1	97.9	100.0	NA
	Mean Fetal Body Weight, g (%) [d]	42.0	41.3 (-1.7)	39.7 (-5.5)	37.0 (-11.9)	NA
	External Fetal Anomalies	-	-	-	-	NA

- No noteworthy findings
NA Not applicable
GD Gestation day
g Grams

Dunnett's Test * -p < 0.05 ** -p < 0.01

[a] N = 2; samples were collected on Gestation Day 16 or 17

[b] Maximum concentration and time of maximum concentration was determined using 0–12 hour concentrations.

[c] Presented as the total occurrence/number of animals.

[d] For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Not applicable

2.6.7.14 生殖発生毒性試験： 胚・胎児発生に関する試験（重要な試験）

2.6.7.14.1 ラット胚・胎児発生に関する試験

Test Article: larotrectinib

Reproductive and Developmental Toxicity: Pivotal Study
Report Title: A Twice Daily (12 Hours Apart) Oral (Gavage) Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in Rats
Duration of Dosing: GD 6–17 **Day of Mating/ Insemination:** GD 0 **Study No.** LOXO-101-TOX-024 (WIL-428504) R-12420, Location: 4.2.3.5.2.2
Design similar to ICH 4.1.3?: Yes
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) **Day of Laparohysterectomy:** GD 21
Initial Age: 11.5–13 weeks **Method of Administration:** Oral (gavage)
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] **Dose volume:** 1 mL/kg/dose (BID) or 2 mL/kg/day **GLP Compliance:** Yes
Special Features: Toxicokinetics **Vehicle/Formulation:** Corn oil
No Observed Adverse Effect Level (NOAEL): **F_0 Females:** 40 mg/kg/dose BID (80 mg/kg/day)
F_1 Litters: 120 mg/kg/dose BID (240 mg/kg/day)

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**80**	**240**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**10**	**40**	**120**
Dams: Toxicokinetics:				
AUC_{0-24} (ng*h/mL)				
GD 6	NA	4640	21,100	56,500
GD 17	NA	9870	49,700	175,000
AUC_{0-12} (ng*h/mL)				
GD 6	NA	2590	9800	26,900
GD 17	NA	4750	25,200	101,000
AUC_{12-24} (ng*h/mL)				
GD 6	NA	2050	11,300	29,600
GD 17	NA	5120	24,500	74,600
C_{max1}[a] (ng/mL)				
GD 6	NA	864	3320	6970
GD 17	NA	1220	5700	18,600
C_{max2}[a] (ng/mL)				
GD 6	NA	665	3980	3640
GD 17	NA	1230	3260	15,800

Reproductive and Developmental Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 Hours Apart) Oral (Gavage) Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in Rats		**Study No.** LOXO-101-TOX-024 (WIL-428504) R-12420, Location: 4.2.3.5.2.2		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**80**	**240**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**10**	**40**	**120**
Dams: **Toxicokinetics**				
Mean Concentration (ng/mL), GD 18				
Maternal				
1 hour following dosing	NA	1230	5960	21,800
4 hours following dosing	NA	706	3560	5510
Mean Concentration (ng/mL), GD 18				
Fetal				
1 hour following dosing	NA	445	2700	8680
4 hours following dosing	NA	326	1870	2980
Mean Concentration (ng/mL), GD 18				
Maternal:Fetal Ratio				
1 hour following dosing	NA	2.9	2.4	2.6
4 hours following dosing	NA	2.2	1.9	1.8
Toxicokinetic Animals				
No. Evaluated	8	8	8	8
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	1
Toxicity Animals				
No. Evaluated	22	22	22	22
No. Pregnant	22	22	22	22
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	4[b]
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations[c]				
Daily Examinations				
Ataxia	0/0	0/0	0/0	3/2
Piloerection	0/0	0/0	0/0	1/1

Reproductive and Developmental Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 Hours Apart) Oral (Gavage) Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in Rats		**Study No.** LOXO-101-TOX-024 (WIL-428504) R-12420, Location: 4.2.3.5.2.2		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**80**	**240**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**10**	**40**	**120**
Dams: Head Tilt	0/0	0/0	0/0	1/1
Rales	0/0	0/0	0/0	36/13
Labored Respiration	0/0	0/0	0/0	5/4
Gasping	0/0	0/0	0/0	3/3
Pale Body	0/0	0/0	0/0	4/2
Cool Body	0/0	0/0	0/0	2/2
Scabbing Dorsal Trunk	0/0	5/3	12/5	5/3
Scabbing Facial Area	0/0	2/1	10/5	5/2
Scabbing Ventral Neck	0/0	19/6	36/11	39/8
Postdosing Observations				
Dose 1				
Rales	0/0	0/0	0/0	27/12
Labored Respiration	0/0	0/0	0/0	4/3
Gasping	0/0	0/0	0/0	1/1
Dose 2				
Rales	0/0	0/0	0/0	12/8
Body Weight, g (%) [d]	344	365 (6.1)**	379 (10.2)**	383 (11.3)**
Body Weight Change, g				
GD 6-7	4	7	5	-1**
GD 6-9	14	21**	24**	23**
GD 9-12	25	28	33	38**
GD 12-18	59	68*	73**	74**
GD 6-18	98	117**	131**	139**
GD 18-21	50	40	31**	20**
Food Consumption, g/animal/day				
GD 6-7	17	19	18	15
GD 6-9	18	20*	21**	20**

Reproductive and Developmental Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 Hours Apart) Oral (Gavage) Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in Rats		**Study No.** LOXO-101-TOX-024 (WIL-428504) R-12420, Location: 4.2.3.5.2.2			
Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**20**	**80**	**240**
Dose (mg/kg/dose BID)		**0 (Control)**	**10**	**40**	**120**
Dams:	GD 9-12	21	22	26**	28**
	GD 12-18	23	24	28**	32**
	GD 6-18	21	22	26**	28**
	GD 18-21	23	22	20*	20
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Gravid Uterine Weight	97.1	101.5	99.9	97.5
	Mean No. of Corpora Lutea	13.4	13.6	13.6	14.6
	Mean No. of Implantations	12.8	13.3	12.7	13.3
	Mean % Pre-implantation Loss	4.7	2.6	6.2	7.5
Litters:	**No. Litters Evaluated**	22	22	22	18
	Mean No. of Viable Fetuses	12.0	12.8	12.1	12.3
	Mean No. Resorptions				
	Early	0.8	0.5	0.6	0.9
	Late	0.0	0.0	0.0	0.1
	Mean No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean % Post-implantation Loss	6.0	3.4	5.1	7.2
	Mean % Viable Fetuses	94.0	96.6	94.9	92.8
	Mean Fetal Body Weight, g (%) [e]				
	Males	6.2	5.9 (-4.8)*	6.0 (-3.2)	5.7 (-8.1)**
	Females	6.0	5.6 (-6.7)*	5.7 (-5.0)	5.4 (-10.0)**
	Combined	6.1	5.7 (-6.6)**	5.9 (-3.3)	5.6 (-8.2)**
	Mean Sex Ratio (% Males per Litter)	53.7	49.4	44.2	54.3
	Fetal Anomalies	-	-	-	-
	External Anomalies [f]	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	Visceral Anomalies [f]	1 (1)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	Skeletal Anomalies [f]	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Reproductive and Developmental Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 Hours Apart) Oral (Gavage) Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in Rats

Study No. LOXO-101-TOX-024 (WIL-428504) R-12420, Location: 4.2.3.5.2.2

-	No noteworthy findings	GD	Gestation day
NA	Not applicable	g	Grams

Dunnett's Test * -p < 0.05 ** -p < 0.01

[a] C_{max1} is following the first daily dose, C_{max2} is following the second daily dose.

[b] Including one animal that died by intubation error.

[c] Presented as the total occurrence/number of animals.

[d] At end of dosing period. For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[e] For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[f] Number of fetuses with anomalies (litters)

2.6.7.14.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

Test Article: larotrectinib

Reproductive and Developmental Toxicity: Pivotal Study
Report Title: A Twice Daily (12 Hours Apart) Oral (Gavage) Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in Rabbits
Duration of Dosing: GD 7–20 **Day of Mating/ Insemination:** GD 0 **Study No.** LOXO-101-TOX-028 (WIL-428508) R-12402, Location: 4.2.3.5.2.5
Design similar to ICH 4.1.3?: Yes
Species/Strain: Rabbit/Hra:(NZW)SPF **Day of Laparohysterectomy:** GD 29
Initial Age: 6-7 months **Method of Administration:** Oral (gavage)
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] **Dose volume:** 1 mL/kg/dose (BID) or 2 mL/kg/day **GLP Compliance:** Yes
Special Features: Toxicokinetics **Vehicle/Formulation:** Corn oil
No Observed Adverse Effect Level (NOAEL): **F_0 Females:** 60 mg/kg/day (30 mg/kg/dose BID)
F_1 Litters: 150 mg/kg/day (75 mg/kg/dose BID)

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	30	60	150
Dose (mg/kg/dose BID)	0 (Control)	15	30	75
Dams: Toxicokinetics: AUC				
AUC_{0-24} (ng*h/mL)				
GD 7	NA	2510	7020	31,200
GD 20	NA	3170	17,700	87,500
AUC_{0-12} (ng*h/mL)				
GD 7	NA	1400	3190	14,900
GD 20	NA	1580	6130	51,900
AUC_{12-24} (ng*h/mL)				
GD 7	NA	1100	3830	16,300
GD 20	NA	1580	11,500	35,600
C_{max1}[a] (ng/mL)				
GD 7	NA	256	530	3780
GD 20	NA	238	1570	7660
C_{max2}[a] (ng/mL)				
GD 7	NA	173	692	2430
GD 20	NA	218	2410	5610

Reproductive and Developmental Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 Hours Apart) Oral (Gavage) Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in Rabbits		**Study No.** LOXO-101-TOX-028 (WIL-428508) R-12402, Location: 4.2.3.5.2.5		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**	**60**	**150**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**15**	**30**	**75**
Dams: **Toxicokinetics**				
Mean Concentration (ng/mL), GD 21				
Maternal				
1 h following dosing	NA	231	1170	13,400
4 h following dosing	NA	215	748	4740
Mean Concentration (ng/mL), GD 21				
Fetal				
1 h following dosing	NA	12.0	63.4	489
4 h following dosing	NA	12.8	55.1	386
Maternal:Fetal Ratio				
1 h following dosing	NA	20	18	21
4 h following dosing	NA	17	13	13
Toxicokinetic Animals				
No. Evaluated	4	4	4	4
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	1[b]	0
Toxicity Animals				
No. Evaluated	22	22	22	24
No. Pregnant	21	22	21	24
No. Died or Euthanized in Extremis	2[b]	0	0	2
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	1	0	0	0
Clinical Observations[c]				
Daily Examinations				
Tremors Upon Handling	0/0	0/0	0/0	3/1
Ataxia	0/0	0/0	0/0	6/2
Decreased Defecation	11/3	7/4	6/3	83/14

Reproductive and Developmental Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 Hours Apart) Oral (Gavage) Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in Rabbits		**Study No.** LOXO-101-TOX-028 (WIL-428508) R-12402, Location: 4.2.3.5.2.5		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**	**60**	**150**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**15**	**30**	**75**
Dams: **2 Hours Postdosing**				
Dose 1				
Impaired Use of Right Hindlimb	0/0	0/0	2/2	3/3
Tremors Upon Handling	0/0	0/0	6/6	5/5
Ataxia	0/0	0/0	1/1	6/3
Prostrate	0/0	0/0	0/0	3/3
Dose 2				
Tremors Upon Handling	0/0	0/0	0/0	2/1
Ataxia	0/0	0/0	0/0	5/2
Body Weight, g (%) [d]				
GD 7	3374	3420 (1.4)	3379 (0.1)	3357 (-0.5)
GD 10	3384	3530 (4.3)	3494 (3.3)	3467 (2.5)
GD 13	3442	3646 (5.9)	3635 (5.6)	3570 (3.7)
GD 21	3515	3833 (9.0)**	3942 (12.1)**	3867 (10.0)**
GD 24	3605	3892 (8.0)**	3910 (8.5)**	3807 (5.6)
GD 29	3734	3875 (3.8)	3884 (4.0)	3763 (0.8)
Body Weight Change, g				
GD 7-10	10	110*	115*	110*
GD 10-13	58	116*	141**	116*
GD 13-21	83	187	307**	297**
GD 7-21	152	413**	563**	518**
GD 21-29	210	42**	-58**	-131**
Food Consumption, g/animal/day				
GD 7-10	125	174*	173*	147
GD 10-13	110	152	158*	127
GD 13-21	94	152**	185**	156**
GD 7-21	105	156**	177**	147*

Reproductive and Developmental Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 Hours Apart) Oral (Gavage) Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in Rabbits		**Study No.** LOXO-101-TOX-028 (WIL-428508) R-12402, Location: 4.2.3.5.2.5		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**	**60**	**150**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**15**	**30**	**75**
Dams: GD 21-29	118	110	107	106
Necropsy Observations	-	-	-	-
Gravid Uterine Weight	515.7	485.4	522.1	480.6
Mean No. of Corpora Lutea	10.2	9.3	10.5	10.2
Mean No. of Implantations	9.6	8.3	9.6	9.1
Mean % Pre-implantation Loss	6.7	11.1	8.0	10.5
Litters: **No. Litters Evaluated**	18	22	21	22
Mean No. of Viable Fetuses	9.2	8.2	9.2	8.9
Mean No. Resorptions				
Early	0.4	0.1	0.3	0.1
Late	0.0	0.0	0.1	0.1
Mean No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Post-implantation Loss	4.7	1.3	4.2	2.3
Mean % Viable Fetuses	95.3	98.7	95.8	97.7
Mean Fetal Body Weight, g (%) [d]				
Males	42.7	44.2 (3.5)	42.0 (-1.6)	39.8 (-6.8)
Females	42.1	43.2 (2.6)	41.1 (-2.4)	39.4 (-6.4)
Combined	42.3	43.7 (3.3)	41.6 (-1.7)	39.7 (-6.1)
Mean Sex Ratio (% Males per Litter)	45.2	49.9	52.7	52.6
Fetal Anomalies	-	-	-	-
External Anomalies [e]	0 (0)	4 (2)	0 (0)	0 (0)
Visceral Anomalies [e]	4 (3)	1 (1)	4 (4)	4 (3)
Skeletal Anomalies [e]	1 (1)	3 (3)	3 (3)	3 (3)

Reproductive and Developmental Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 Hours Apart) Oral (Gavage) Study of the Effects of LOXO-101 on Embryo/Fetal Development in Rabbits	**Study No.** LOXO-101-TOX-028 (WIL-428508) R-12402, Location: 4.2.3.5.2.5

-	No noteworthy findings	GD	Gestation day
NA	Not applicable	g	Grams

Dunnett's Test * -p < 0.05 ** -p < 0.01

[a] C_{max1} is following the first daily dose, C_{max2} is following the second daily dose.

[b] Died by intubation error.

[c] Presented as the total occurrence/number of animals.

[d] For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[e] Number of fetuses with anomalies (litters)

2.6.7.15 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

Not applicable

2.6.7.16 幼若動物を用いた試験： 重要な試験以外の試験

2.6.7.16.1 幼若ラット用量設定試験（1）

Test Article: larotrectinib

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study
Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats
Duration of Dosing: PND 7-28 **Study No.** LOXO-101-TOX-020 (WIL-428501) R-12416, Location: 4.2.3.5.4.1
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) **Method of Administration:** Oral (gavage)
Initial Age: 7 days **Dose volume:** 1 mL/kg/dose (BID) or 2 mL/kg/day
Date of First Dose: [redacted]20[redacted] **Vehicle/Formulation:** Corn oil **GLP Compliance:** No
Special Features: Toxicokinetics **Litters Culled/Not Culled:** Culled

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**	**30**	**100/1[a]**	**200/3[b]**	**300/10[c]**
Dose (mg/kg/dose BID)		**0 (Control)**	**15**	**50/0.5**	**100/1.5**	**150/5.0**
Males:	**Toxicokinetics:**					
	PND 7					
	AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	8250	41,200	112,000	387,000
	C_{max1} (ng/mL)	NA	1260	6560	12,500	54,300
	C_{max2} (ng/mL)	NA	1500	5790	31,200	50,100
	PND 28					
	AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	2470	134	433	925
	C_{max1} (ng/mL)	NA	713	27.2	106	342
	C_{max2} (ng/mL)	NA	607	68.9	133	87.4
Females:	**Toxicokinetics:**					
	PND 7					
	AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	7700	51,700	145,000	369,000
	C_{max1} (ng/mL)	NA	1110	7830	15,400	57,700
	C_{max2} (ng/mL)	NA	2910	16,100	14,300	46,800
	PND 28					
	AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	4880	159	420	962
	C_{max1} (ng/mL)	NA	1080	41.2	96.2	256
	C_{max2} (ng/mL)	NA	940	62.6	135	243

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats			**Study No.** LOXO-101-TOX-020 (WIL-428501) R-12416, Location: 4.2.3.5.4.1		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**	**100/1[a]**	**200/3 [b]**	**300/10[c]**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**15**	**50/0.5**	**100/1.5**	**150/5.0**
Males and Females:					
Toxicokinetic Animals					
No. Evaluated (Males and Femals Total)	72	72	72	72	72
No. Died or Euthanized in Extremis[d]	0	0	7	4	6
No. Died or Euthanized in Extremis[e]	0	11	9	4	8
Toxicity Animals					
No. Evaluated (Males and Femals Total)	20	20	20	20	20
No. Died or Euthanized in Extremis[d]	0	0	1	1	9
No. Died or Euthanized in Extremis[e]	0	4	4	1	4
Males: **No. Evaluated**	10	10	10	10	10
Clinical Observations [d,f]					
Daily Examinations					
Hypoactivity	0/0	0/0	0/0	0/0	3/2
Cool body	0/0	0/0	0/0	1/1	3/3
Decreased respiration rate	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2
Dose 1: 1 to 2 Hours Post-Dosing					
Hypoactivity	0/0	0/0	0/0	0/0	5/5
Cool body	0/0	0/0	0/0	0/0	6/6
Decreased respiration rate	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Pale body	0/0	0/0	1/1	0/0	6/5
Dose 2: 1 to 2 Hours Post-Dosing					
Hypoactivity	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Clinical Observations [e,f]					
Daily Examinations					
Head flick	0/0	19/5	0/0	0/0	1/1
Thin	0/0	3/2	6/2	2/2	4/4

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats			**Study No.** LOXO-101-TOX-020 (WIL-428501) R-12416, Location: 4.2.3.5.4.1		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**	**100/1[a]**	**200/3[b]**	**300/10[c]**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**15**	**50/0.5**	**100/1.5**	**150/5.0**
Swollen abdominal area	0/0	1/1	0/0	2/1	0/0
Partial closure left eye	0/0	49/8	0/0	2/1	18/4
Partial closure right eye	0/0	50/8	0/0	2/1	21/4
Wet red material anogenital area	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0
Wet yellow material anogenital area	1/1	1/1	1/1	1/1	0/0
Small stature	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0
Unkempt appearance	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Dose 1: 1 to 2 Hours Post-Dosing					
Hypoactivity	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Dose 2: 1 to 2 Hours Post-Dosing					
Swollen abdominal area	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Body Weight, g (%)[g]					
PND 11	21.4	19.6 (-8.4)	18.3 (-14.5)	17.5 (-18.2)*	15.6 (-27.1)**
PND 28	85.4	65.1 (-23.8)**	72.2 (-15.5)*	65.6 (-23.2)**	57.0 (-33.3)**
Body Weight Change, g					
PND 7-11	6.5	4.2	3.1*	2.6**	1.3**
PND 11-28	64.0	44.6**	53.6	48.2**	40.4**
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-
Females: No. Evaluated	10	10	10	10	10
Clinical Observations[d,f]					
Daily Examinations					
Hypoactivity	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Cool body	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Prostrate	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Dose 1: Time of Dosing					
Gasping	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats			**Study No.** LOXO-101-TOX-020 (WIL-428501) R-12416, Location: 4.2.3.5.4.1		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**	**100/1[a]**	**200/3[b]**	**300/10[c]**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**15**	**50/0.5**	**100/1.5**	**150/5.0**
Cool body	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Decreased respiration rate	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Dose 1: 1 to 2 Hours Post-Dosing					
Hypoactivity	0/0	0/0	0/0	0/0	7/4
Prostrate	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0
Cool body	0/0	0/0	1/1	0/0	4/3
Decreased respiration rate	0/0	0/0	1/1	0/0	2/2
Pale body	0/0	0/0	2/1	1/1	5/4
Dose 2: 1 to 2 Hours Post-Dosing					
Hypoactivity	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2
Clinical Observations [e,f]					
Daily Examinations					
Head flick	0/0	30/8	0/0	0/0	0/0
Thin	0/0	4/1	5/3	0/0	11/3
Swollen abdominal area	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0
Partial closure left eye	0/0	55/8	0/0	0/0	11/3
Partial closure right eye	0/0	53/8	0/0	0/0	12/3
Complete closure of right eye	0/0	2/1	0/0	0/0	0/0
Wet red material anogenital area	1/1	0/0	2/2	0/0	2/1
Wet yellow material anogenital area	0/0	2/2	0/0	1/1	1/1
Small stature	0/0	0/0	0/0	1/1	5/4
Cool body	0/0	0/0	1/1	0/0	4/4
Pale body	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats			**Study No.** LOXO-101-TOX-020 (WIL-428501) R-12416, Location: 4.2.3.5.4.1		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**	**100/1[a]**	**200/3 [b]**	**300/10[c]**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**15**	**50/0.5**	**100/1.5**	**150/5.0**
Dose 1: 1 to 2 Hours Post-Dosing					
Hypoactivity	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Dose 2: 1 to 2 Hours Post-Dosing					
Swollen abdominal are	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Body Weight,g (%) [g]					
PND 11	21.5	18.4 (-14.4)	16.3 (-24.2)**	17.4 (-19.1)**	13.9 (-35.3)**
PND 28	81.2	64.1 (-21.1)**	64.2 (-20.9)**	65.5(-19.3)**	46.7 (-42.5)**
Body Weight Change,g					
PND 7-11	7.1	4.4*	1.7**	3.0**	0.0**
PND 11-28	59.7	45.9**	46.4*	48.2*	32.2**
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-

\- No noteworthy findings NA Not applicable

Cmax 1 is following the first daily dose; Cmax 2 is following the second daily dose

Dunnett's Test * -p < 0.05 ** -p < 0.01

PND Postnatal day

[a] Due to unexpected toxicity, dosage levels were lowered to 1 mg/kg/day (PND 10 or 11 for the main study phase and PND 8 to 10 for toxicokinetic phase)

[b] Due to unexpected toxicity, dosage levels were lowered to 3 mg/kg/day (PND 10 or 11 for the main study phase and PND 8 to 10 for toxicokinetic phase)

[c] Due to unexpected toxicity, dosage levels were lowered to 10 mg/kg/day (PND 10 or 11 for the main study phase and PND 8 to 10 for toxicokinetic phase)

[d] Before lowering dosage levels

[e] After lowering dosage levels

[f] Presented as the total occurrence/number of animals

[g] For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.16.2 幼若ラット用量設定試験（2）

Test Article: larotrectinib

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study
Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats
Duration of Dosing: PND 7-28 **Study No.** LOXO-101-TOX-022, (WIL-428505) R-12418, Location: 4.2.3.5.4.2
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) **Method of Administration:** Oral (gavage)
Initial Age: 7 days **Dose volume:** 1 mL/kg/dose (BID) or 2 mL/kg/day
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] **Vehicle/Formulation:** Corn oil **GLP Compliance:** No
Special Features: Toxicokinetics **Litters Culled/Not Culled:** Culled

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Males: Toxicokinetics:				
PND 7				
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	324	2280	3250
C_{max1} (ng/mL)	NA	37.8	499	519
C_{max2} (ng/mL)	NA	122	261	1990
PND 21				
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	376	770	2670
C_{max1} (ng/mL)	NA	77.5	118	453
C_{max2} (ng/mL)	NA	NA	NA	NA
PND 28				
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	143	465	1790
C_{max1} (ng/mL)	NA	31.8	121	605
C_{max2} (ng/mL)	NA	NA	NA	NA

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats		**Study No.** LOXO-101-TOX-022, (WIL-428505) R-12418, Location: 4.2.3.5.4.2		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Females: Toxicokinetics:				
PND 7				
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	397	1030	8460
C_{max1} (ng/mL)	NA	72.4	163	1100
C_{max2} (ng/mL)	NA	112	443	2730
PND 21				
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	331	1390	2390
C_{max1} (ng/mL)	NA	78.2	203	495
C_{max2} (ng/mL)	NA	NA	NA	NA
PND 28				
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	174	784	2540
C_{max1} (ng/mL)	NA	52.4	231	845
C_{max2} (ng/mL)	NA	NA	NA	NA

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats		**Study No.** LOXO-101-TOX-022, (WIL-428505) R-12418, Location: 4.2.3.5.4.2		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Males: **Toxicity Animals**				
No. Evaluated	10	10	10	10
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	0
No. Removed from Study	0	1	0	0
Clinical Observations [a]				
Daily Examinations				
Partial closure left eye	0/0	0/0	18/5	82/9
Partial closure right eye	0/0	0/0	16/5	79/10
Thin	0/0	0/0	11/2	18/4
Dose 2: 1 to 2 Hours Post-Dosing				
Swollen abdominal area	0/0	0/0	1/1	2/1
Body Weight, g (%)[b]	104.1	100.1 (-3.8)	90.8 (-12.8)	79.6 (-23.5)**
Body Weight Change, g				
PND 7-29	87.5	83.7	74.7	63.2**
Hematology[c]				
RBC (mil/uL)	6.50	5.87 (-9.7)	5.62 (-13.5)*	5.38 (-17.2)**
HGB (g/dL)	12.6	11.6 (-7.9)	11.2 (-11.1)	10.3 (-18.3)**
HCT (%)	46.3	42.2 (-8.9)	41.0 (-11.4)	38.2 (-17.5)**
Retic Absolute (thous/uL)	1310.3	1025.2 (-21.8)	1032.8 (-21.2)	954.0 (-27.2)*
Serum Chemistry[c]				
Albumin (g/dL)	3.6	3.5 (-2.8)	3.3 (-8.3)	3.2 (-11.1)**
Total Protein (g/dL)	5.5	5.4 (-1.8)	5.0 (-9.1)*	4.8 (-12.7)**
Globulin (g/dL)	1.9	1.9 (0.0)	1.7 (-10.5)**	1.6 (-15.8)**
Calcium (mg/dL)	14.3	13.7 (-4.2)	13.1 (-8.4)*	12.4 (-13.3)**

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats		**Study No.** LOXO-101-TOX-022, (WIL-428505) R-12418, Location: 4.2.3.5.4.2		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Males: **Macroscopic Observations**	-	-	-	-
Organ Weights				
Lungs (g)[c]	1.55	1.12 (-27.7)**	0.69 (-55.5)**	0.61 (-60.6)**
Lungs (g/100 g final body weight)	1.498	1.121**	0.767**	0.797**
Lungs (g/100 g brain)	95.484	69.808**	44.326**	41.008**
Microscopic Findings				
Lungs				
Emphysema	0	3	7	8
Reduced inflation	1	7	8	9
Kidneys				
Degeneration, tubular	3	3	4	6
Fibrosis, interstitial	1	3	4	5
Females: **Toxicity Animals**				
No. Evaluated	10	10	10	10
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	0
No. Removed from Study	1	0	0	0
Clinical Observations [a]				
Daily Examinations				
Partial closure left eye	0/0	0/0	21/7	82/8
Partial closure right eye	0/0	0/0	24/6	84/9
Swollen abdominal area	0/0	0/0	4/3	0/0
Thin	0/0	0/0	13/3	11/4
Body Weight, g (%)[b]	93.0	90.9 (-2.3)	88.0 (-5.4)	77.4 (-16.8)**
Body Weight Change, g				
PND 7-29	77.3	75.6	72.3	61.9**

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats		**Study No.** LOXO-101-TOX-022, (WIL-428505) R-12418, Location: 4.2.3.5.4.2		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Females: **Hematology[c]**				
RBC (mil/uL)	6.11	6.19 (1.3)	5.58 (-8.7)*	5.37 (-12.1)**
HGB (g/dL)	12.4	12.0 (-3.2)	11.1 (-10.5)**	10.5 (-15.3)**
HCT (%)	44.9	43.7 (-2.7)	40.0 (-10.9)**	38.2 (-14.9)**
Retic Absolute (thous/uL)	1063.5	1123.2 (5.6)	871.4 (-18.1)	851.8 (-19.9)
Serum Chemistry[c]				
Albumin (g/dL)	3.5	3.5 (0.0)	3.3 (-5.7)*	3.3 (-5.7)*
Total Protein (g/dL)	5.5	5.3 (-3.6)	4.9 (-10.9)**	4.8 (-12.7)**
Globulin (g/dL)	1.9	1.8 (-5.3)	1.6 (-15.8)**	1.5 (-21.1)**
Calcium (mg/dL)	14.1	14.1 (0.0)	13.0 (-7.8)*	13.1 (-7.1)
A/G Ratio	1.80	1.88 (4.4)	2.04 (13.3)*	2.18 (21.1)**
Macroscopic Observations	-	-	-	-
Organ Weights				
Lungs (g)[c]	1.31	1.03 (-21.4)*	0.68 (-48.1)**	0.61 (-53.4)**
Lungs (g/100 g final body weight)	1.415	1.128*	0.775**	0.795**
Lungs (g/100 g brain)	83.484	66.449*	45.490**	43.181**
Microscopic Findings				
Lungs				
Emphysema	2	6	9	10
Reduced inflation	2	7	9	10
Kidneys				
Degeneration, tubular	2	3	5	4
Fibrosis, interstitial	1	3	6	3

Juvenile Toxicity: Nonpivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Dose Range-Finding Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats	**Study No.** LOXO-101-TOX-022, (WIL-428505) R-12418, Location: 4.2.3.5.4.2

- No noteworthy findings NA Not applicable

Cmax 1 is following the first daily dose; Cmax 2 is following the second daily dose
Dunnett's Test * -p < 0.05 ** -p < 0.01
PND Postnatal day
[a] Presented as the total occurrence/number of animals
[b] At end of dosing period. For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[c] For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.17 幼若動物を用いた試験： 重要な試験

2.6.7.17.1 幼若ラット毒性試験

Test Article: larotrectinib

Juvenile Toxicity: Pivotal Study
Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery
Duration of Dosing: PND 7-70 [Dose levels during PND 7-27: 0, 0.4, 4, 15 mg/kg/day (0, 0.2, 2, 7.5 mg/kg BID), Dose levels during PND 28-70: 0, 1.2, 12, 45 mg/kg/day (0, 0.6, 6, 22.5 mg/kg BID)]
Duration of Post dose: 28 days
Study No. LOXO-101-TOX-021, (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3
Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)
Method of Administration: Oral (gavage)
Initial Age: 7 days
Dose volume: 1 mL/kg/dose (BID) or 2 mL/kg/day
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Vehicle/Formulation: Corn oil
GLP Compliance: Yes
Special Features: Toxicokinetics
Litters Culled/Not Culled: Culled
Severely Toxic Dose to 10% of Animals (STD10): 4/12 mg/kg/day (2/6 mg/kg/dose BID)
No Observed Adverse Effect Level: Male 4/12 mg/kg/day (2/6 mg/kg/dose BID), Female 0.4/1.2 mg/kg/day (0.2/0.6 mg/kg/dose BID)

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
Toxicity Animals at study start	M45/F45	M45/F45	M45/F45	M45/F45
Main study	M15/F15	M15/F15	M15/F15	M15/F15
Recovery	**M30/F30**	**M30/F30**	**M30/F30**	**M30/F30**
Toxicokinetic Animals at study start	M33/F33	M33/F33	M33/F33	M33/F33
Males (Dosing Period):				
Toxicokinetics:				
PND 7				
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	NA	169	3060	13,900
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	58.0	1880	5790
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	NA	111	1180	8130
C_{max1} (ng/mL)	NA	8.77	248	704
C_{max2} (ng/mL)	NA	21.1	162	1020
T_{max1} (h)	NA	1	4	4
T_{max2} (h)	NA	1	4	4

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
PND 28				
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	NA	146	1280	9900
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	45.8	715	4100
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	NA	100	560	5810
C_{max1} (ng/mL)	NA	12.6	186	1040
C_{max2} (ng/mL)	NA	38.3	196	1910
T_{max1} (h)	NA	1	1	1
T_{max2} (h)	NA	1	1	1
PND 70				
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	NA	81.4	1530	12,900
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	28.0	832	6880
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	NA	53.4	694	6050
C_{max1} (ng/mL)	NA	4.92	217	1710
C_{max2} (ng/mL)	NA	12.3	221	1580
T_{max1} (h)	NA	1	1	1
T_{max2} (h)	NA	1	1	1
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	1	5 (4)[a]
Clinical Observations[b]				
Daily Examinations				
Partial closure left eye	0/0	0/0	35/10	903/42
Partial closure right eye	0/0	0/0	31/10	1032/42
Complete closure right eye	0/0	0/0	0/0	10/10
Complete closure left eye	0/0	0/0	0/0	9/9
Head flick	0/0	0/0	0/0	6/4
Circling	0/0	0/0	0/0	2/2
Tremors	0/0	0/0	0/0	1/1
Cool body	0/0	0/0	0/0	3/2

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
Dose 1: 1 to 2 Hours Posdosing				
Cool body	1/1	1/1	0/0	3/3
Partial closure left eye	0/0	0/0	2/2	30/30
Partial closure right eye	0/0	0/0	2/2	31/31
Dose 2: 1 to 2 Hours Posdosing				
Partial closure left eye	0/0	0/0	21/11	218/42
Partial closure right eye	0/0	0/0	16/11	218/42
Body Weight, g (%)[c] PND 70	416.0	410.4 (-1.3)	400.9 (-3.6)	393.7 (-5.4)**
Body Weight Change, g				
PND 7–28	71.8	70.7	66.9**	59.9**
PND 28–70	328.2	323.7	318.1	317.7
PND 7–70	400.0	394.4	385.0	377.6**
Food Consumption g/animal/day				
PND 21-70	20.3	20.1	19.3*	19.1*
Mean Tibial Length, mm				
PND 21	21.6	21.5	21.2	20.9**
PND 28	25.4	25.5	25.5	24.8**
PND 35	32.5	32.7	32.4	31.9**
PND 42	37.3	37.3	36.9	36.6**
PND 49	39.0	38.3	37.9*	37.0**
PND 56	41.1	41.2	40.8	40.6
Mean Age at Preputial Separation (days)	44.7	45.4	47.0*	48.5**
Mean Body Weight at Preputial Separation, g	230.8	234.3	240.8	248.3
Auditory Startle Response PND 60	-	-	-	-

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
Functional Observation Battery (FOB) Assessment PND 61				
Home Cage Observations[b]				
Eyelids slightly drooping	0/15	0/15	4/15	3/15
Drooping eyelids (half-closed)	0/15	0/15	1/15	1/15
Handling Observations[b]				
Eyelids wide open	15/15	15/15	14/15	3/15*
Eyelids slightly drooping	0/15	0/15	1/15	6/15*
Drooping eyelids (half-closed)	0/15	0/15	0/15	6/15*
Neuromuscular Observations				
Hindlimb grip strength, g	342.9	318.6	316.4	266.9**
Hindlimb footsplay, mm	86.7	78.0	69.3**	55.7**
Rotorod performance (seconds)	56.8	60.3	47.3	23.0
Motor Activity PND 61				
Overall total activity counts (%)	2328	2528 (8.6)	3028 (30.1)*	3399 (46.0)*
Overall ambulatory counts (%)	439	560 (27.6)	587 (33.7)*	626 (42.6)*
Learning and Memory Assessment PND 62	-	-	-	-
Serum Chemistry				
Urea Nitrogen (mg/dL)	12.5	13.2	15.5*	18.1**
Creatinine (mg/dL)	0.28	0.28	0.34**	0.42**
Phosphorus (mg/dL)	8.6	8.7	9.1	9.5**
Albumin (g/dL)	4.1	4.0	3.9**	3.9*
Hematology				
Red blood cell count (mil/uL)	8.25	7.81*	7.66**	7.76**
Hemoglobin (g/dL)	16.3	15.6	15.4**	15.6*
Hematocrit (%)	49.7	47.4	46.7**	47.5
Gross Necropsy Observations	-	-	-	-

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
Organ Weights g (%)[c]				
Heart	1.42	1.46 (2.8)	1.48 (4.2)	1.56 (9.9)
Liver	11.03	11.51 (4.4)	12.08 (9.5)	12.29 (11.4)
Spleen	0.73	0.79 (8.2)	0.91 (24.7)*	0.92 (26.0)*
Microscopic Findings	-	-	-	-
Males (Recovery Period):				
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	0
Clinical Observations[b]				
Daily Examinations				
Partial closure left eye	0/0	0/0	101/12	605/27
Partial closure right eye	0/0	0/0	81/12	656/27
Complete closure right eye	0/0	0/0	0/0	1/1
Body Weight, g (%)[c]				
PND 71	430	415 (-3.5)	406 (-5.6)*	401 (-6.7)**
PND 130	607	579 (-4.6)	541 (-10.9)**	514 (-15.3)**
Body Weight Change, g				
PND 71–98	79	73	68	48**
PND 71-130	172	155	134**	110**
Food Consumption, g/animal/day				
PND 71–74	26	24	22**	18**
PND 95–98	26	24	24	22**
PND 120–123	31	29	27*	23**
PND 127–130	29	29	27	23**
Mean Tibial Length, mm				
PND 74	44.8	44.8	44.7	44.5
PND 85	45.5	45.3	45.3	44.9*
PND 130	49.5	49.5	49.1	49.4

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
Auditory Startle Response PND 85	-	-	-	-
FOB Assessment PND 86				
Handling Observations[b]				
Eyelids wide open	20/20	20/20	19/20	11/19*
Eyelids slightly drooping	0/20	0/20	1/20	8/19*
Neuromuscular Observations				
Hindlimb footsplay, mm	87.7	83.7	70.7**	60.7**
Motor Activity PND 86	-	-	-	-
Learning and Memory Assessment PND 87	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-
Gross Necropsy Observations	-	-	-	-
Organ Weights, g (%)[c]				
Heart	1.74	1.63 (-6.3)	1.65 (-5.2)	1.68 (-3.4)
Liver	12.83	12.01 (-6.4)	12.04 (-6.2)	11.40 (-11.1)
Spleen	0.81	0.76 (-6.2)	0.98 (21.0)	0.94 (16.0)
Microscopic Findings	-	-	-	-
Females (Dosing Period):				
Toxicokinetics:				
PND 7				
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	NA	85.0	2360	18,500
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	23.9	1570	6600
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	NA	61.1	790	11,900
C_{max1} (ng/mL)	NA	3.47	247	839
C_{max2} (ng/mL)	NA	18.5	109	1820
T_{max1} (h)	NA	1	4	4
T_{max2} (h)	NA	1	4	1

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
PND 28				
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	NA	112	1630	9300
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	76.7	876	4350
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	NA	35.4	751	4950
C_{max1} (ng/mL)	NA	15.6	180	998
C_{max2} (ng/mL)	NA	12.2	250	1680
T_{max1} (h)	NA	1	1	1
T_{max2} (h)	NA	1	1	1
PND 70				
AUC_{0-24} (ng*h/mL)	NA	186	3590	22,300
AUC_{0-12} (ng*h/mL)	NA	60.1	1600	11,200
AUC_{12-24} (ng*h/mL)	NA	126	1990	11,100
C_{max1} (ng/mL)	NA	17.9	239	3310
C_{max2} (ng/mL)	NA	25.7	444	2690
T_{max1} (h)	NA	1	1	1
T_{max2} (h)	NA	1	1	1
No. Died or Euthanized in Extremis	1	2	2 (1)[a]	6 (3)[a]
Clinical Observations[b]				
Daily Examinations				
Partial closure left eye	0/0	0/0	93/15	836/39
Partial closure right eye	0/0	0/0	105/14	877/39
Complete closure left eye	0/0	0/0	0/0	19/14
Complete closure right eye	0/0	0/0	0/0	55/13
Hair loss facial area	0/0	0/0	1/1	18/10
Hair loss dorsal neck	0/0	0/0	0/0	14/7
Scabbing ventral neck	0/0	0/0	6/1	38/10
Scabbing facial area	0/0	0/0	5/4	42/13
Scabbing dorsal head	0/0	0/0	0/0	7/4

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
Scabbing dorsal trunk	0/0	0/0	0/0	14/5
Scabbing around ears	0/0	0/0	0/0	7/2
Scabbing around mouth	0/0	0/0	1/1	6/3
Swollen abdominal area	0/0	0/0	0/0	31/16
Cool body	0/0	0/0	1/1	3/3
Dose 1: 1–2 Hours Posdosing				
Cool body	0/0	0/0	1/1	2/2
Partial closure left eye	0/0	0/0	10/10	20/20
Partial closure right eye	0/0	0/0	10/10	21/21
Complete closure right eye	0/0	0/0	0/0	1/1
Dose 2: 1–2 Hours Posdosing				
Partial closure left eye	0/0	0/0	37/18	197/39
Partial closure right eye	0/0	0/0	33/18	192/39
Complete closure right eye	0/0	0/0	0/0	3/2
Body Weight, g (%)[c] PND 70	247.0	242.2 (-1.9)	249.1 (0.9)	264.6 (7.1)*
Body Weight Change, g				
PND 7–28	67.6	67.5	62.2**	56.5**
PND 28–70	163.8	159.2	171.5	193.0**
PND 7–70	231.6	226.8	233.8	249.3**
Food Consumption, g/animal/day				
PND 21-70	14.9	14.5	14.4	14.9
Mean Tibial Length, mm				
PND 24	22.7	22.7	22.3	21.9**
PND 28	25.3	25.3	25.3	24.9*
PND 31	28.0	28.1	27.8	27.4*
PND 49	35.8	35.9	35.2	34.9**
PND 52	36.9	37.3	36.6	36.1**

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
Mean Age at Vaginal Patency (days)	33.9	33.6	33.6	36.6**
Mean Body Weight at Vaginal Patency, g	120.4	117.4	112.2*	126.8
Auditory Startle Response PND 60	-	-	-	-
FOB Assessment PND 61				
Home Cage Observations[b]				
Eyelids wide open	8/15	5/15	5/15	1/14*
Eyelids slightly drooping	0/15	1/15	1/15	2/14
Drooping eyelids (half-closed)	0/15	0/15	1/15	4/14*
Handling Observations[b]				
Eyelids wide open	15/15	15/15	14/15	1/14*
Eyelids slightly drooping	0/15	0/15	1/15	1/14
Drooping eyelids (half-closed)	0/15	0/15	0/15	11/14*
Neuromuscular Observations				
Hindlimb grip strength, g	-	-	-	-
Hindlimb footsplay, mm	-	-	-	-
Motor Activity PND 61	-	-	-	-
Learning and Memory Assessment PND 62	-	-	-	-
Serum Chemistry				
Urea Nitrogen (mg/dL)	17.2	16.4	20.5*	21.9**
Creatinine (mg/dL)	0.34	0.34	0.42**	0.46**
Phosphorus (mg/dL)	7.8	7.7	8.4	9.9**
Albumin (g/dL)	4.4	4.4	4.1*	4.1*
Hematology				
Red blood cell count (mil/uL)	7.86	7.81	7.46	7.19**
Hemoglobin (g/dL)	15.6	15.5	14.7*	14.4**
Hematocrit (%)	46.2	45.8	44.0	43.2*
Gross Necropsy Observations	-	-	-	-

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
Organ Weights, g (%)[c]				
Heart	0.95	0.96 (1.1)	0.96 (1.1)	1.11 (16.8)**
Liver	7.22	7.31 (1.2)	7.64 (5.8)	9.32 (29.1)**
Spleen	0.55	0.54 (-1.8)	0.63 (14.5)	0.72 (30.9)**
Microscopic Findings	-	-	-	-
Females (Recovery Period):				
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	1
Clinical Observations[b]				
Daily Examinations				
Partial closure left eye	0/0	0/0	61/9	445/24
Partial closure right eye	0/0	0/0	69/10	471/24
Hair loss dorsal trunk	1/1	0/0	0/0	13/2
Hair loss dorsal neck	0/0	0/0	0/0	18/3
Hair loss ventral neck	0/0	0/0	5/2	13/5
Hair loss right lateral neck	0/0	0/0	0/0	6/2
Scabbing dorsal neck	0/0	0/0	1/1	7/3
Scabbing dorsal trunk	0/0	0/0	0/0	7/2
Scabbing facial area	0/0	0/0	0/0	2/2
Scabbing ventral neck	0/0	0/0	5/2	5/4
Scabbing right lateral neck	0/0	0/0	0/0	1/1
Scabbing ears	0/0	0/0	0/0	2/1
Body Weight, g (%)[c]				
PND 71	244	238 (-2.5)	250 (2.5)	264 (8.2)*
Body Weight Change, g				
PND 71–74	9	5	0**	-3**
PND 74–78	7	9	9	2*

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
PND 85–88	4	1	5	-3**
PND 71–98	35	35	27	5**
Food Consumption, g/animal/day				
PND 71–74	16	15	14*	12**
PND 74–78	16	15	15	12**
PND 78–81	16	16	15	13**
PND 81–85	18	16	16**	14**
PND 85–88	15	14	15	11**
PND 88–92	16	15	15	13*
PND 92–95	16	17	17	15*
Mean Tibial Length, mm				
PND 81	42.1	41.9	41.6**	41.5**
Auditory Startle Response PND 85	-	-	-	-
FOB Assessment PND 86				
Handling Observations[b]				
Eyelids wide open	20/20	20/20	19/20	10/17*
Eyelids slightly drooping	0/20	0/20	1/20	7/17*
Neuromuscular Observations				
Hindlimb footsplay, mm	75.6	70.5	61.0**	54.8**
Motor Activity PND 86				
Overall total activity counts (%)	2712	3244 (19.6)	3504 (29.2)*	3661 (35.0)*
Learning and Memory Assessment PND 87	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-
Gross Necropsy Observations	-	-	-	-

Juvenile Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: A Twice Daily (12 hours apart) Oral (Gavage) Toxicity Study of LOXO-101 in Juvenile Rats with Recovery		**Study No.** LOXO-101-TOX-021 (WIL-428502) R-12417, Location: 4.2.3.5.4.3		
Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.4/1.2**	**4/12**	**15/45**
Dose (mg/kg/dose BID)	**0 (Control)**	**0.2/0.6**	**2/6**	**7.5/22.5**
Organ Weights, g (%)[c]				
Heart	1.00	1.02 (2.0)	0.98 (-2.0)	1.04 (4.0)
Liver	7.05	6.96 (-1.3)	7.52 (6.7)	7.01 (-0.6)
Spleen	0.55	0.55 (0.0)	0.60 (9.1)	0.61 (10.9)
Microscopic Findings	-	-	-	-
Gestation Body Weight, g (%)[c], GD 0	284	276 (-2.8)	279 (-1.8)	273 (-3.9)
Gestation Body Weight Gain, g, GD 0-15	74	78	77	70
Gestation Food Consumption, g/animal/day, GD 0-15	22	22	21	20**
Mean Length of Estrous Cycle (days)	3.8	3.2	3.6	4.4
Mean No. Day Prior to Mating	3.2	2.7	2.3	2.9
Male Copulation Index (%)	100.0	100.0	90.0	76.5
Female Conception Index (%)	100.0	100.0	90.0	76.5
No. of Gravid Females	20[d]	20	18	13
Mean No. of Corpora Lutea	16.0	15.2	16.7	16.5
Mean No. of Implantation Sites	15.1	14.5	16.2	15.5
Mean No. of Viable Embryos	14.4	13.7	15.7	14.8
Mean Litter Proportion of Pre-implantation Loss (% per litter)	6.4	5.4	3.1	7.2
Mean Litter Proportion of Postimplantation Loss (% per litter)	4.1	6.8	3.2	5.3
Mean Litter Proportion of Viable Embryos (% per litter)	95.9	93.2	96.8	94.7

- No noteworthy findings NA Not applicable GD Gestation Day
PND Postnatal Day
Dunnett's Test * -p < 0.05 ** -p < 0.01

[a] Numbers in parentheses indicate number of deaths or euthanasia related to test article.
[b] Presented as the total occurrence/number of animals
[c] For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[d] One female was pregnant without evidence of mating. Uterine and embryo-related parameters were evaluated from 19 pregnant females with evidence of mating.

2.6.7.18 局所刺激性試験

Not applicable

2.6.7.19 その他の毒性試験

2.6.7.19.1 光毒性試験： 重要な試験

2.6.7.19.1.1 BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞ニュートラルレッド取り込み光毒性試験

Test Article: larotrectinib

Other Toxicity: Pivotal Study
Report Title: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of LOXO-101 in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts **Study No.** LOXO-101-TOX-017 (20082889), R-12415, Location: 4.2.3.7.7.1
Test to evaluate the phototoxic potential of larotrectinib: By measuring the relative reduction in viability of BALB/c 3T3 mouse fibroblasts exposed to larotrectinib and ultraviolet radiation (+UVR) as compared with the viability of fibroblasts exposed to the test article in the absence of ultraviolet radiation (-UVR).
Cells: BALB/c 3T3 mouse fibroblast **GLP Compliance:** Yes
No. of Definitive Assays: 2 **Positive control:** promethazine
Method of definitive assay: In the definitive assays, the cells were exposed to 5 J/cm^2 of UVA and 21 mJ/cm^2 of UVB from a xenon arc solar simulator equipped with a Schott WG 320 filter.
Vehicle: 1 % Dimethylsulfoxide Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+} ions at a pH of 7.0-7.3
Conclusion: larotrectinib did not demonstrate phototoxic potential in this assay.

Definitive Assays Concentrations (µg/mL):

Test Material	Definitive Assays 1 and 2							
Promethazine	0.100	0.316	1.00	3.16	10.0	31.6	100	178
larotrectinib	1.78	3.16	5.62	10.0	17.8	31.6	56.2	100

Other Toxicity: Pivotal Study (continued) **Test Article: larotrectinib**

Report Title: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of LOXO-101 in BALB/c 3T3 Mouse Fibroblasts

Study No. LOXO-101-TOX-017 (20082889) R-12415, Location: 4.2.3.7.7.1

Definitive Assays Results:

Test Material	IC_{50} (µg/mL) –UVR	IC_{50} (µg/mL) +UVR	PIF	MPE	Phototoxic Potential	UVR Percent Survival	OD_{540}
Promethazine	45.260	0.665	68.123	0.546	YES	84	0.885
larotrectinib (Assay 1)	-	-	*1	-0.023	NO	84	0.877
larotrectinib (Assay 2)	-	-	*1	-0.015	NO	84	0.822

+UVR	Phototoxicity: with UVR exposure.	– UVR	Cytotoxicity: without UVR exposure
–	IC_{50} not achieved	PIF:	Photoirritancy Factor: The criterion for “phototoxic” is PIF > 5.
MPE:	Mean Photo Effect: The criterion for “phototoxic” is MPE > 0.15.		
UVR Percent Survival:	The criterion is > 80%.	OD_{540}:	The criterion is ≥ 0.400
PIF =*1	Both IC_{50}(-UVR) and IC_{50}(+UVR) could not be calculated (test article did not show cytotoxicity or phototoxicity), this indicates a lack of phototoxic potential. In this case, a formal PIF = *1 is used to characterize the result.		
UVR	ultraviolet radiation	UVA	long wave ultraviolet A
UVB	short wave ultraviolet B	J	joule
cm	centimeter	mJ	millijoule
Ca	calcium	Mg	magnesium
µg	microgram	mL	milliliter
IC_{50}	the concentration of the test chemical by which the cell viability is reduced by 50%		
OD	optical density		