目次

2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 8
2.6.6.3 反復投与毒性試験 9
2.6.6.4 遺伝毒性試験 17
2.6.6.5 がん原性試験 18
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 18
2.6.6.7 局所刺激性試験 26
2.6.6.8 その他の毒性試験 27
2.6.6.9 考察及び結論 32
2.6.6.10 図表 41
2.6.6.11 参考文献 41

毒性試験の概要文の略号一覧表

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
ALP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
$AUC_{(0\text{-}24h)}$	area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose	投与時から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{(0\text{-}t)}$	area under the concentration-time curve from 0 to time of last quantifiable concentration	投与時から定量が可能であった最終採血時間（t）までの血漿中濃度-時間曲線下面積
BID	twice daily	1 日 2 回投与
CD	cluster of differentiation	分化抗原群
CNS	central nervous system	中枢神経系
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DG	day of gestation	妊娠日数
EFD	embryo-fetal development	胚・胎児発生
EZH2	enhancer of zeste homolog 2	Enhancer of zeste homolog 2
FL	follicular lymphoma	濾胞性リンパ腫
FOB	functional observational battery	機能観察バッテリー
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
H3K27me3	Trimethylated form of lysine 27 of histone H3	トリメチル化 H3K27
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
MLV	murine leukrmia virus	マウス白血病ウイルス
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性用量
NZW	New Zealand white	（ウサギの系統名）
PND	postnatal day	日齢
PRC2	polycomb repressive complex 2	ポリコーム抑制複合体 2
QD	once daily	1 日 1 回投与
RaLV	rat leukemia virus	ラット白血病ウイルス
RBC	red blood cell	赤血球
SD	Sprague Dawley	（ラットの系統名）
SUZ12	suppressor of zeste 12 protein homolog	Suppressor of zeste 12 protein homolog
$t_{1/2}$	elimination half-life	最終消失半減期
T-ALL	T-cell acute lymphoblastic leukemia	T 細胞急性リンパ芽球性白血病
TCR	T-cell receptor	T 細胞受容体
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
T-LBL	T-cell lymphoblastic lymphoma	T 細胞リンパ芽球性リンパ腫
WBC	white blood cell	白血球
w/v	weight per volume	重量容量比

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

タゼメトスタットの毒性を評価するため，ラット及びカニクイザルを用いた経口投与による単回及び反復投与毒性試験（いずれの動物種も 13 週まで），2 種の in vitro 遺伝毒性試験（復帰突然変異試験及び小核試験）及び in vivo のラット小核試験を実施した。また，ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験，ラットを用いた幼若毒性試験，in vitro 光毒性試験も実施した。さらに，ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験でみられた T 細胞リンパ芽球性リンパ腫（T-LBL）の発現機序に関する一連の検討試験，並びに新規不純物を含むロットの毒性試験を実施した。毒性試験のリストを表 2.6.6-1 に示した。

表 2.6.6-1　毒性試験リスト

試験の種類と投与期間	投与経路	動物種	GLP の適否
単回投与毒性試験			
単回投与	経口	ラット・カニクイザル	否
反復投与毒性試験			
5 日間	経口	カニクイザル	否
7 日間	経口	ラット	否
4 週間	経口	ラット・カニクイザル	適
13 週間+4 週間回復	経口	ラット・カニクイザル	適
遺伝毒性試験			
復帰突然変異試験	in vitro	細菌 [a]	否／適
小核試験	in vitro	ヒト末梢血リンパ球	適
小核試験	経口	ラット	適
生殖発生毒性試験			
胚・胎児発生（用量設定）	経口	ラット・ウサギ	否
胚・胎児発生	経口	ラット・ウサギ	適
幼若動物（用量設定）	経口	ラット	否
幼若動物，13 週間＋4 週間回復	経口	ラット	適
光安全性試験			
光毒性試験	in vitro	BALB/c 3T3 細胞	適
毒性発現機序に関する試験			
ラット 13 週反復投与毒性試験から得られたリンパ組織及び造血組織の細胞系統解析	ex vivo	ラット	否
ラット白血病ウイルス再組み込み試験	ex vivo	ラット	否
Notch 標的遺伝子発現解析	ex vivo	ラット	否
EPZ-10961 のラット 13 週間反復投与毒性試験	経口	ラット	適
EPZ-10961 のラット 13 週間反復投与毒性試験から得られた胸腺組織の細胞系統解析	ex vivo	ラット	否

試験の種類と投与期間	投与経路	動物種	GLP の適否
毒性発現機序に関する試験（続き）			
EPZ011989 のラット 13 週間反復投与毒性試験	経口	ラット	否
EPZ011989 のラット 13 週間反復投与毒性試験における Notch 標的遺伝子発現解析	ex vivo	ラット	否
EPZ011989 のラット 13 週間反復投与毒性試験における *Myc* 遺伝子発現解析	ex vivo	ラット	否
EPZ011989 のラット 13 週間反復投与毒性試験における RNA 配列データ解析	ex vivo	ラット	否
SD ラットにおける胸腺退縮に関する検討	該当せず	ラット	否
その他の毒性試験			
新規不純物を含むロットを用いた 4 週間反復投与毒性試験	経口	ラット	適

GLP = Good Laboratory Practice.
EPZ-10961 及び EPZ011989：構造的に異なるが，タゼメトスタットと同様の EZH2 阻害作用を有する化合物
a:　予試験（非 GLP 試験）ではネズミチフス菌 TA100，TA1535，TA98 を用いて，本試験（GLP 試験）ではネズミチフス菌 TA100，TA1535，TA98，TA1537 及び大腸菌 WP2 *uvrA* を用いて，それぞれ実施した。

E7438 はタゼメトスタットの開発コードであり，その三塩酸塩を表す名称として報告書によって ER-581982-24 あるいは EPZ006438 が用いられているが，いずれもタゼメトスタット塩酸塩と記載する。非 GLP での復帰突然変異試験，ラット単回投与毒性試験，ラット 7 日間用量設定毒性試験はタゼメトスタット塩酸塩を用いて行われた。その他の毒性試験は，臨床で使用されたタゼメトスタット臭化水素酸塩を用いて行われた。タゼメトスタット塩酸塩及びタゼメトスタット臭化水素酸塩は生殖発生毒性試験を除き，いずれも塩を含んだ被験物質としての投与量を表示しており，フリー体としての投与量はそれぞれ 0.8396 及び 0.8762 を乗じることにより計算される。例えば，タゼメトスタット臭化水素酸塩の 1000 mg/kg は，タゼメトスタットフリー体として約 876 mg/kg に相当する。

マウス，ラット，イヌ，サル及びヒトの肝ミクロソーム及び肝細胞を用いて代謝プロファイルを比較した結果，Sprague Dawley（SD）ラット及びカニクイザルは毒性試験に使用する動物種として適切であると考えられた。

単回投与毒性試験

経口投与による単回投与毒性試験をラット（タゼメトスタット塩酸塩）及びカニクイザル（タゼメトスタット臭化水素酸塩）を用いて実施した。いずれの動物種においても，1000 mg/kg まで忍容性は良好であった。

ラット（投与量：100，300 及び 1000 mg/kg）では 1000 mg/kg で活動性の低下と体重低下，300 mg/kg 以上で検体の物理化学的性質に起因すると考えられるケージや尾をなめる行動がみられたが，いずれも一過性の変化であり，剖検における肉眼所見はなかった（2.6.6.2.1 ）。

サル（投与量：100，300 及び 1000 mg/kg）では，1000 mg/kg で嘔吐がみられたのみであった（2.6.6.2.2 ）。

反復投与毒性試験

ラット

SD ラットを用いた 7 日間反復投与用量設定毒性試験（投与量：100，300 及び 1000 mg/kg）では，1000 mg/kg まで死亡はみられなかった。1000 mg/kg では摂餌量の減少，臨床検査値の変化，前胃及び腺胃粘膜における病理組織学的変化がみられたが，100 及び 300 mg/kg では変化はみられなかった（2.6.6.3.1 ）。

4 週間反復投与毒性試験（投与量：100，300 及び 1000 mg/kg）では，1000 mg/kg で投与 7～21 日にかけて消化器への影響が原因と考えられる死亡がみられた。1000 mg/kg 群の死亡例では，消化管（前胃あるいは腺胃粘膜のびらん／潰瘍，腺胃粘膜及び腸管上皮の変性／壊死）並びにその他臓器（腎尿細管における好酸性小滴及び上皮細胞変性・壊死，骨髄の細胞減少，リンパ組織のリンパ球減少）で病理組織学的変化がみられ，臨床検査では二次的あるいは状態悪化に起因すると考えられる変化もみられた。1000 mg/kg の生存例について，投与 21 日以降投与を中止して 2 週間の休薬期間を設けて回復性を確認したところ，全ての変化は回復又は回復傾向が示された。100 及び 300 mg/kg では，尿沈渣中に小顆粒状物が認められたものの関連する組織学的変化はみられなかった（2.6.6.3.2 ）。

13 週間反復投与毒性試験（投与量：100，300 及び 600 mg/kg）では，300 mg/kg 以上で胸腺原発の T-LBL が観察され，種々の臓器組織への転移もみられた。これに起因する死亡あるいは瀕死が投与 65 日以降にみられた。発生頻度は，300 mg/kg で 3/20（雄）及び 8/20（雌），600 mg/kg で 1/20（雄）及び 0/20（雌）であった。600 mg/kg でみられた主な変化は，リンパ球の減少，切歯の異形成，大腿骨及び胸骨における骨梁形成，上部消化管におけるびらん／潰瘍及び再生性の変化，腎盂の顆粒状物質であり，T-LBL を除いた死亡例の所見と類似していた。300 mg/kg では，程度は軽いものの 600 mg/kg と同様の変化が観察された。100 mg/kg では 300 mg/kg 以上でみられた皮膚/皮下局所の膿瘍（口唇結節）が雄 1 例でみられたことを除き毒性学的に意義のある変化は認められなかった。4 週間の休薬期間によって，脾臓のリンパ球減少，骨及び切歯の変化を除き，主な非腫瘍性変化は回復性を示した（2.6.6.3.3 ）。

サル

カニクイザルを用いた 5 日間反復投与での用量設定（投与量：300 及び 1000 mg/kg）では，1000 mg/kg まで死亡はみられなかった。1000 mg/kg で嘔吐，臨床検査値の変化，肝細胞空胞化などがみられた。

4 週間反復投与毒性試験（投与量：100，300 及び 1000 mg/kg）では，1000 mg/kg で投与 8～9 日に投与を中止し，瀕死の個体 3 例を安楽殺した。生存例については，投与量を 600 mg/kg に下げて投与 11 日あるいは 12 日に投与を再開した（状態の悪かった雌 1 例のみ，投与を中止し 21 日間の回復性を検討した）。投与期間中，1000 mg/kg では投与 6 日の朝の投与後にのみ複数回の嘔吐がみられた。被験物質に直接関連する心拍数又は心電図への影響は本試験では認められなかった。1000 mg/kg 群の瀕死動物では，投与 7 日に一般状態の変化（活動性低下，嗜眠，円背位

及び協調運動不全）及び四肢の筋緊張の低下，臨床検査値の異常（軽度～中等度の貧血，ビリルビン上昇，アルブミン濃度，総タンパク及び総コレステロールの低下），消化管の変化（胃及び結腸膨満，十二指腸のびらん又は潰瘍）及び肝の変化（退色）が認められたが，瀕死の原因は明らかではなかった。1000 mg/kg 群の瀕死動物及び同群で 600 mg/kg に減量した生存動物で，被験物質に関連した変化が肝臓（肝細胞及びクッパー細胞の肥大）及び腎（尿細管上皮の色素沈着）で認められ，かつ ALT 値及びトリグリセリド値の上昇が認められた。300 mg/kg 以上で，用量依存的にリンパ球減少が観察された。1000 mg/kg 群の回復群の 1 例では，21 日間の回復期間後に毒性の回復又は回復傾向が認められた（2.6.6.3.5 ）。

13 週間反復投与毒性試験（投与量：100，300 及び 600 mg/kg）では，主な一般状態の変化及び剖検所見は 4 週間投与毒性試験と同質であったが，より重度であった。600 mg/kg 群の動物 1 例では，投与 83 日に活動性低下，冷感，円背位，震え／振戦などが認められた後，瀕死状態となった。この個体では，下記の如く生存例と同様のタゼメトスタットに起因する病理組織学的変化がみられたが，瀕死の原因は明らかではなかった。タゼメトスタットに関連する一般状態の変化として，嘔吐及び便の異常（軟便，粘液便，着色便）等が全てのタゼメトスタット投与群で散発的に発現した。嘔吐の発現頻度は用量依存的であった。300 mg/kg 以上で RR 間隔が軽度に短縮（心拍数が増加）した。脾，リンパ節及び胸腺で用量依存的なリンパ球減少，ALT 及び AST 増加，並びに肝細胞肥大，クッパー細胞肥大又は色素沈着，肝での胆管過形成が認められた。600 mg/kg では ALP 増加，糸球体病変及び腎尿細管の色素沈着が認められた。100 mg/kg では，毒性学的に有意な変化は認められなかった。4 週間の回復期間後，多くの変化が回復傾向を示していたが，いくつかの変化（600 mg/kg 群の ALT，ALP，AST，胆管過形成，クッパー細胞肥大又は色素沈着等）については，4 週間の回復期間では回復性を確認するには十分ではなかった（2.6.6.3.6 ）。

遺伝毒性試験

In vitro の復帰突然変異試験及び小核試験，in vivo のラット小核試験（投与量：500，1000 及び 2000 mg/kg）を実施したが，いずれも陰性であった（2.6.6.4.1 , 2.6.6.4.2 , 2.6.6.4.3 ）。

生殖発生毒性試験

SD ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験として，タゼメトスタット臭化水素酸塩（フリー体として 100，300 及び 600 mg/kg）を妊娠 7～17 日に反復投与した（2.6.6.6.1.1 ）。その結果，全ての用量で母動物の体重増加抑制がみられた。300 mg/kg では胎児体重の減少がみられ，着床後胚死亡の増加が 300 及び 600 mg/kg でみられた。600 mg/kg では生存胎児が得られず，胎児の評価ができなかった。

SD ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験では，タゼメトスタット臭化水素酸塩（フリー体として 50，100 及び 200 mg/kg）を妊娠 7～17 日に反復投与した（2.6.6.6.1.2 ）。その結果，200 mg/kg で母動物に体重増加抑制と，着床後胚死亡の増加による生存胎児数の減少，胎児体重の低値がみられた。胎児観察では，100 mg/kg 以上で肋骨と椎骨，200 mg/kg で頭蓋骨及び前肢骨の異常，50 mg/kg 以上で肋骨と頸椎，100 mg/kg 以上で頭蓋骨，200 mg/kg で胸骨の変異がみられた。

New Zealand white（NZW）ウサギにおける胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験として2試験を実施した（2.6.6.6.1.3 , 2.6.6.6.1.4 ）。タゼメトスタット臭化水素酸塩（フリー体として 250, 500 及び 1000 mg/kg）を妊娠 7～11 日に反復投与した結果，1000 mg/kg で母動物の体重減少がみられ，500 mg/kg 以上で着床後胚死亡の増加による生存胎児数の減少がみられた。タゼメトスタット臭化水素酸塩（フリー体として 150，250 及び 450 mg/kg）を妊娠 7～19 日に反復投与した試験では，250 mg/kg 以上で胎児体重の減少がみられ，450 mg/kg において着床後胚死亡の増加がみられた。

NZW ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験では，タゼメトスタット臭化水素酸塩（フリー体として 100，200 及び 400 mg/kg）を妊娠 7～19 日に反復投与した（2.6.6.6.1.5 ）。その結果，母動物では一般状態及び肉眼検査で異常はみられなかった。400 mg/kg では，生存胎児数の減少及び早期及び後期吸収胚増加による着床後死亡の増加がみられた。胎児検査では，400 mg/kg で頭部・四肢及び尾の異常の他，全身浮腫などの外表異常がみられ，内臓観察では心血管系異常，肺・腎の異常，横隔膜ヘルニア，小眼球，内臓の位置異常がみられた。骨格観察では，100 mg/kg 以上で骨格変異（体幹及び体肢の骨化における発達異常や遅延），200 mg/kg 以上では催奇形性（頭蓋骨の奇形あるいは欠損，四肢及び脊椎の奇形）が観察された。

幼若ラットを用いた用量設定試験（投与量：50，150，500 及び 1000 mg/kg）では，生後 7 日齢より 4 週間反復投与を実施した。その結果，500 及び 1000 mg/kg の雌雄で，1～2 回投与後に活動性低下，冷感，蒼白などがみられたことから，当該群全例を安楽殺した。これらの動物の病理組織学的検査では，腺胃のびらん，胸腺及びリンパ節におけるリンパ球減少／壊死，骨髄，脾及び肝における造血細胞の単細胞壊死，腎乳頭部における石灰沈着及び尿細管上皮空胞化がみられた。腺胃粘膜の変化としては，表層粘膜のびらんがみられたことに加え広範な胃炎を伴っていたことから，これらが瀕死の原因と考えられた（2.6.6.6.2.1 ）。

幼若ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（フリー体として 50, 100，150/300 及び 150/600 mg/kg［150 mg/kg を 22 日齢より増量］）では，生後 7 日齢より 13 週間反復投与して毒性を評価するとともに 4 週間の回復性を検討した（2.6.6.6.2.2 ）。その結果，先に実施した成熟ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.3 ）同様，雌雄ラットの胸腺に T-LBL が 50 mg/kg より認められた。T-LBL の発生時期は投与 11 週以降であり，成熟ラットの結果と同様であった。生後の発育分化（亀頭包皮分離及び膣開口）で投与に起因した異常はみられず，Functional observational battery（FOB）検査において，薬物の直接的な中枢神経系への作用は認められなかった。

光毒性試験

タゼメトスタットの UV/可視光線吸収スペクトルとして，290 nm 以降に極大吸収を認めたため，3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験を実施した。溶解度の上限である 100 µg/mL まで検討した結果，E7438 は光毒性のポテンシャルを有することが示された（2.6.6.8.1.1 ）。

毒性発現機序に関する試験

タゼメトスタットのラットにおける 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（2.6.6.3.3 ）では，T-LBL が観察されたことから，その発現機序について検討を行うとともに，

構造的に異なり，タゼメトスタットと同様の薬理作用を有する 2 種類の EZH2 阻害薬（EPZ-10961 及び EPZ011989）について，ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験を行った。2 種類の EZH2 阻害薬は，いずれも EZH2 に対する特異性及び阻害作用を示し，細胞の H3K27Me3 レベルをタゼメトスタットの 3～4 倍の強度で阻害した。両化合物ともに，タゼメトスタットと同様，投与 8～10 週間に T-LBL の発生が認められたが，用量相関性は明らかではなかった（2.6.6.8.2.4，2.6.6.8.2.6 ）。

タゼメトスタットにより発生したラットの T-LBL の胸腺，骨髄，脾臓サンプルを用いた免疫表現型解析の結果，$CD8^+$T 細胞の比率，αβT 細胞の割合が高く，$CD4^+$T 細胞及び γδT 細胞の比率が低かった。一方，T-LBL がみられなかったタゼメトスタット投与個体の胸腺，骨髄及び脾臓サンプルでは，αβ T 細胞の割合が用量依存的に低下し，同時に γδ T 細胞の割合が増加していた（2.6.6.8.2.1 ）。EPZ-10961 でも同様の結果が得られた（2.6.6.8.2.5 ）。

タゼメトスタットあるいは EPZ011989 を 13 週間投与したラットの組織を用いて，T-LBL の発生にラット白血病ウイルス（RaLV）再活性化あるいは Notch シグナル経路の変化が関与している可能性を検討したが，いずれについても T-LBL の発生への関与を示すデータは得られなかった（2.6.6.8.2.2 , 2.6.6.8.2.3 , 2.6.6.8.2.7 ）。EPZ011989 を投与し T-LBL を発現したラットより得られた胸腺組織を用いた遺伝子発現解析及び全トランスクリプトーム解析では，Myc の発現量が増加していることが示されたが（2.6.6.8.2.8 ），ヒト T 細胞急性リンパ芽球性白血病（T-ALL）で認められる遺伝子異常や転写異常は認められなかった（2.6.6.8.2.9 ）。

T-LBL 発生に関する薬物投与以外の要因として，加齢による胸腺の退縮について検討する目的で，薬物投与を実施していない 6 ヵ月齢から 12 ヵ月齢の SD ラットを用いて，血液サンプル及び胸腺サンプルの免疫表現型解析を行い，胸腺重量測定，胸腺の病理組織学的検査を実施した（2.6.6.8.2.10 ）。その結果，加齢による胸腺重量の減少や胸腺の退縮を示唆する病理変化がみられ，6 ヵ月齢においても軽度の胸腺の退縮がみられた。

不純物に関する毒性試験

臨床試験の錠剤を製造する際に用いたロット（ロット番号：[redacted]）中に新規不純物が含まれていたことから，ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験を追加で実施した（2.6.6.8.3.1 ）。その結果，新規不純物に起因すると考えられる変化は認められなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ラットにおける単回投与毒性試験（添付資料 4.2.3.1.1，試験番号 T[redacted]030）

タゼメトスタット塩酸塩の 100，300 及び 1000 mg/kg を媒体（0.5%メチルセルロース 400 溶液）に懸濁し，SD ラット（3 例/性/群）に単回投与した際の毒性を検討した。投与後 9 日間の観察を行い，剖検した。

その結果，いずれの群においても死亡はみられなかった。1000 mg/kg の雄 1 例で，投与日に一過性の活動性の低下がみられた。1000 mg/kg の雌 1 例では，4 日目に体重減少がみられた。300 mg/kg 以上では，投与検体の物理化学的性質に起因すると考えられる一過性のケージあるいは尾を舐める行動がみられた。100 及び 300 mg/kg では，毒性学的な意義のある変化はみられなかった。

トキシコキネティクス（TK）測定の結果を表 2.6.6-2 にまとめた。C_{max} 及び投与時から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積（$AUC_{(0-24h)}$）ともに性差が認められた（雌>雄）。雌雄いずれにおいても，C_{max} の上昇は投与量の増加に比べて低かったが，$AUC_{(0-24h)}$は投与量の増加以上に上昇した。

表 2.6.6-2　ラット単回投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	雄		雌	
	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-24h)}$ (ng·h/mL)
100	1814	4772	7904	25,520
300	4361	16,806	21,661	120,110
1000	10,736	75,517	62,839	704,681

C_{max} 及び $AUC_{(0-24h)}$は，3 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0-24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration.
出典：添付資料 4.2.3.1.1（T[redacted]030）。

2.6.6.2.2 サルにおける単回及び 5 日間反復投与毒性試験（用量設定試験）（添付資料 4.2.3.2.4，試験番号 20024292）

単回投与フェーズにおいては，タゼメトスタット臭化水素酸塩の 100，300 及び 1000 mg/kg を媒体（0.1%Tween 80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）に懸濁し，カニクイザル（1 例/性/群）に用量漸増法（投与間隔：2 日間）で単回投与した際の毒性を検討した。投与は半量ずつ（50，150 及び 500 mg/kg）を約 12 時間間隔で 2 回に分けて行った。動物は 1000 mg/kg の投与終了後，10 日間の休薬期間を経て 5 日間の反復投与フェーズでの低用量群として用いた。

その結果，いずれの投与量においても死亡はみられず，1000 mg/kg で嘔吐がみられた。100 及び 300 mg/kg では，毒性学的に意義のある変化はみられなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラットにおける 7 日間用量設定毒性試験（添付資料 4.2.3.2.1，試験番号 T[redacted]032）

タゼメトスタット塩酸塩の 0，100，300，1000 mg/kg を SD ラット（3 例/性/群）に 7 日間反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，TK 測定，肝薬物代謝酵素（CYP 含量），肝重量測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，いずれの投与量においても死亡はみられなかった。一般状態では，300 mg/kg 以上で投与検体の物理化学的性質に起因すると考えられる一過性のケージを舐める行動と流涎がみられた。1000 mg/kg の雌雄で投与 2 日以降に体重減少には至らない摂餌量の減少がみられた。臨床検査では，1000 mg/kg で網状赤血球数の減少と総コレステロールの上昇が雌雄でみられ，総ビリルビンの上昇と Na 及び Cl の軽度減少が雌でみられた。さらに 1000 mg/kg の雌では肝 CYP 含量の増加と関連して肝重量の増加がみられた。病理組織学的には 1000 mg/kg の雌雄で前胃のびらん及び腺胃粘膜下の炎症が観察された。100 及び 300 mg/kg では毒性学的に意義のある変化はみられなかった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-3 にまとめた。C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ともに性差が認められた（雌>雄）。投与初日及び 7 日のいずれも，雌雄で C_{max} の上昇は 100 から 300 mg/kg の雄を除いて投与量の増加に比べて低かった。一方，$AUC_{(0\text{-}24h)}$は投与量の増加以上に上昇した。7 日間反復投与により，1000 mg/kg の雄の C_{max} を除き，C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$の明らかな蓄積は観察されなかった。

表 2.6.6-3　ラット 7 日間反復投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
100	1	1151	3116	7241	19,673
	7	1763	4370	7969	21,854
300	1	3642	24,537	16,386	110,630
	7	7412	23,027	13,384	75,222
1000	1	7125	133,786	22,912	362,935
	7	18,616	213,729	31,278	554,980

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，3 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration.
出典：添付資料 4.2.3.2.1（T[redacted]032）。

2.6.6.3.2 ラットにおける 4 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.2，試験番号 K[redacted]004）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 0，100，300 及び 1000 mg/kg を SD ラット（10 例/性/群）に 4 週間反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween 80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。なお，1000 mg/kg の雌で死亡がみられたことから，生存例については投与 21 日以降投与を中止して，2 週間の休薬期間を設けて回復性を確認した。検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，眼科学的検査，TK 測定，臓器重量測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

投与 7～21 日にかけて，死亡又は瀕死のため安楽殺された 1000 mg/kg の雄 2 例と雌 5 例では，摂餌量の減少がみられた後，活動性の低下，被毛の汚れ，便の減少，着色尿（鮮黄色）が観察された。剖検時に消化管内容物は水様で，前胃あるいは腺胃粘膜のびらん／潰瘍，腺胃粘膜及び腸管上皮の変性／壊死がみられた。こうした一連の消化管の変化が，一般状態の悪化及び死亡の原因と考えられた。さらに臨床検査では，血液濃縮に加え好中球数の増加，リンパ球数及び網状赤血球数の減少，PT 及び APTT の延長，AST，総ビリルビン，UN，クレアチニン及び総コレステロールの上昇，総タンパク及びグルコースの減少を含むその他の変化がみられたが，いずれも状態悪化に伴う二次的な変化あるいは，標的臓器であるリンパ組織や骨髄における細胞数の減少や腎の尿細管上皮細胞での好酸性小滴・変性・壊死等に関連した変化であると考えられた。1000 mg/kg の生存例について，雄 2 例では，一般状態観察で腹部膨満がみられ，剖検時には胃の膨満がみられた。臨床検査では，網状赤血球数及び好中球数の増加，総ビリルビン及び総コレステロールの上昇，赤血球，ヘモグロビン，リンパ球，総タンパク，アルブミン，グロブリン及びグルコースの減少がみられた。病理組織学的検査では，死亡した個体より程度は軽いものの，同様の変化が胃，空腸，回腸，骨髄及びリンパ組織（リンパ球減少）にみられ，骨の変化として骨梁形成（Courtney, et al., 1991）もみられた。1000 mg/kg でみられた全ての変化は，2 週間の休薬期間により回復又は回復傾向が示された。

100 及び 300 mg/kg では，組織学的変化を伴わない尿沈渣中の小顆粒状物が認められたものの，他に毒性学的に意義のある変化はみられなかった。なお，臨床検査で 300 mg/kg 以上で Cl の上昇がみられたが，サルにおける 4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5 ）で確認されたように，投与検体の塩型（臭化水素酸塩）が測定系に影響を及ぼした偽高 Cl 血症と考えられた（Elin, et al., 1981, Morrison, 1990）。

TK 測定では，C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ ともに性差が認められた（雌>雄）。100 から 1000 mg/kg にかけて，雌雄の $AUC_{(0\text{-}24h)}$ は投与量の増加以上に上昇した。4 週間反復投与によって，100 mg/kg 以上の雄では C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ の上昇が認められた。

以上から，ラットにおける 4 週間反復投与毒性試験の無毒性量は，毒性学的な意義が不明の尿沈渣中の小滴を除き，雌雄ともに 300 mg/kg と考えられた。

表 2.6.6-4　ラット 4 週間反復投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
100	1	1937	4748	7920	27,298
	28	3376	8484	13,019	35,707
300	1	3987	21,004	17,403	133,415
	28	9984	34,764	17,031	95,188
1000	1	12,750	170,795	41,030	585,675
	21[a]	—	—	34,324[b]	425,124[b]
	28	35,422	600,977[b]	—	—

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ は，4 例の動物の平均値を示す。—: 測定実施せず。
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration
a:　雌の 1000 mg/kg については投与 21 日で投与終了としたため，投与 21 日のデータを示す。
b:　n=3。
出典：添付資料 4.2.3.2.2（K[redacted]004）。

2.6.6.3.3 ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（添付資料 4.2.3.2.3, 試験番号 K[redacted]009）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 0，100，300 及び 600 mg/kg を SD ラット（10 例/性/群，休薬群 6 例/性/群）に 13 週間反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。投与期間終了後，300 及び 600 mg/kg 群で 4 週間の回復性を検討した。検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，眼科学的検査，TK 測定（代謝物 ER-897387-00 を含む），臓器重量測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，300 及び 600 mg/kg で胸腺原発の T-LBL が観察された。発生頻度（TK 群及び休薬群を含む）は，300 mg/kg で 3/20（雄）及び 8/20（雌），600 mg/kg で 1/20（雄）及び 0/20（雌）であり，これが原因で 300 mg/kg の雄 1 例と雌 5 例（TK 群の 1 例を含む）が投与 65～91 日にかけて死亡又は瀕死のため安楽殺された。死亡に先立ち，摂餌量の減少，便の減少，活動性の低下，呼吸緩徐，体温低下がみられた。瀕死の個体では，臨床検査で白血球数の増加，赤血球数，ヘモグロビン，ヘマトクリット，血小板，網状赤血球数の減少，そして末梢血塗抹標本ではリンパ腫細胞が観察された。T-LBL に関連して，剖検時に胸腺の腫瘤及び脾の大型化，ときにリン

パ節の大型化がみられ，種々の臓器組織（胸腺周囲の脂肪組織，心，脾，リンパ節，骨髄，骨，肝，消化管，卵巣及び眼）への転移もみられた。

600 mg/kg では，活動性の低下，呼吸緩徐，あるいは便の減少が数例で観察され，雌雄で体重増加抑制がみられた。臨床検査で，好中球，単球，好酸球，血小板，網状赤血球，総ビリルビンの増加，ヘモグロビン，MCV，MCH の減少がみられた個体もあった。肉眼所見では歯肉の腫脹を伴う下顎切歯の短縮がみられ，病理組織学的に歯槽骨の骨形成の増加を伴う切歯の異形成によるものであることが確認された。さらに，口唇結節，足の腫脹，尾の硬結，皮下の腫瘤も観察され，細菌巣を伴う局所的な炎症や膿瘍であったことから，リンパ系への影響に起因した二次的な変化と考えられた。その他，リンパ組織におけるリンパ球減少，大腿骨及び胸骨における骨梁形成，上部消化管におけるびらん／潰瘍及び再生性の変化，腎盂の顆粒状物質が観察された。

300 mg/kg の生存例では，雄では体重増加抑制がみられ，5 例で口唇結節がみられた。病理組織学的検査では，切歯の変化はみられなかったが，他の 600 mg/kg でみられた変化がより軽度に観察された。100 mg/kg では，雄 1 例でみられた口唇結節を除き，毒性学的に意義のある所見はみられなかった。

休薬群の動物では，主な非腫瘍性病変は脾臓のリンパ球減少，骨及び切歯の変化を除き，4 週間の休薬期間によって回復性を示した。

TK 測定では，C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ ともに性差が認められたが（雌>雄），投与 91 日の 600 mg/kg では雌雄で同等であった。13 週間の反復投与で，雄の暴露は投与量の増加以上に上昇したが，雌ではほぼ投与量の増加に相関した上昇がみられた。また，13 週間反復投与によって，雄ではタゼメトスタットの軽度から中等度の蓄積が認められた。代謝物 ER-897387-00 については雄の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ が雌に比べて高く，投与 91 日の雄を除き投与量の増加以上に $AUC_{(0\text{-}24h)}$ の増加がみられた。また雌では 13 週間反復投与によって軽度から中等度の蓄積が認められた。

以上，ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験の無毒性量は，雄では 100 mg/kg 未満，雌では 100 mg/kg と考えられた。

表 2.6.6-5　ラット 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
測定対象：タゼメトスタット					
100	1	1932	6985	9380	40,363
	91	4311	18,033	13,488	55,037
300	1	5136	35,382	17,455	160,969
	91	10,018	99,546	20,720[a]	166,305[a]
600	1	7127	74,737	34,243	408,016
	91	19,082	285,998	24,423	286,031
測定対象：ER-897387-00 (EPZ-6930)					
100	1	4843	15,741	1008	3752
	91	5233	22,237	2399	8767
300	1	11,778	94,103	2146	21,705
	91	10,017	116,255	4379[a]	39,836[a]
600	1	15,633	235,642	3825	61,003
	91	9190	134,816	7722	103,642

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，4 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration
a:　n=3。
出典：添付資料 4.2.3.2.3（K[redacted]009）。

2.6.6.3.4 サルにおける単回及び 5 日間反復投与毒性試験（用量設定試験）（添付資料 4.2.3.2.4，試験番号 20024292）

本試験の反復投与フェーズでは，タゼメトスタット臭化水素酸塩の 300 及び 1000 mg/kg を媒体（0.1% Tween 80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）に懸濁し，カニクイザル（1 例/性/群）に 5 日間反復投与した。投与は半量ずつ（150 及び 500 mg/kg）を約 12 時間間隔で 2 回に分けて行った。

検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，TK 測定，肝重量測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，いずれの投与量においても死亡はみられなかった。一般状態では，1000 mg/kg で嘔吐がみられた。臨床検査では，ストレスに起因すると考えられる白血球パラメータの変化（好中球の増加，リンパ球及び好酸球の減少）が雌雄で，アルブミンと Ca の軽度の減少が雌でみられた。また，ALT 及び AST の軽度の上昇が雌雄でみられた。1000 mg/kg の雄では，小葉中心性の肝細胞空胞化の軽度増加がみられた。

TK 測定の結果を表 2.6.6-6 にまとめた。投与初日の測定結果はバラつきが大きく，雌雄ともに 300 mg/kg を投与した動物の方が 1000 mg/kg よりも暴露が高かった。投与 5 日には，C_{max} は投与量の増加に伴い上昇した。

表 2.6.6-6　サル 5 日間反復投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}12h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}12h)}$ (ng·h/mL)
300 [a]	1	1998	5734	3078	15,761
	5	221	600 [b]	1019	2893
1000 [a]	1	582	2981	521	4079
	5	7205	22,179	1860	17,864

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}12h)}$は，1 例の動物の値を示す。
$AUC_{(0\text{-}12h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 12 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration.
a:　投与は 12 時間間隔で 2 回に分けて行ったが，AUC は投与後 12 時間までの数値を用いて計算した。
b:　$AUC_{(0\text{-}4h)}$。
出典：添付資料 4.2.3.2.4（20024292）。

2.6.6.3.5 サルにおける 4 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.5，試験番号 20024293）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 0，100，300 及び 1000 mg/kg をカニクイザル（4 例/性/群）に 4 週間反復経口投与した。投与は半量ずつ（0，50，150 及び 500 mg/kg）を約 12 時間間隔で 2 回に分けて行った。対照群には媒体（0.1% Tween80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。なお，1000 mg/kg で投与 8 日（雌）及び 9 日（雄）に瀕死の個体がみられたため安楽殺するとともに，投与を中止した。状態の悪かった雌 1 例については，21 日間の回復性検討を行い，その他の生存例については投与 11 日（雌）及び 12 日（雄）に投与量を 600 mg/kg（300 mg/kg を 1 日 2 回投与）に下げて投与を継続した。検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，心電図，眼科学的検査，神経学的機能検査，呼吸パラメータ，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，TK 測定，臓器重量測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，1000 mg/kg で投与 8～9 日にかけて，雄 2 例と雌 1 例が瀕死のため安楽殺された。1000 mg/kg の投与期間中には，雌雄で散発的な嘔吐，雄 2 例で投与 7 日に一般状態悪化に伴う変化と考えられる後肢の筋緊張の低下がみられ，投与 6 日に一過性の心拍数増加がみられた。瀕死を呈した個体では，活動性の低下，嗜眠，円背位，協調運動不全及び軽度～中等度の貧血がみられ，胃及び結腸の膨満，十二指腸のびらん／潰瘍，臨床検査値の変化（ALT，トリグリセリド及びビリルビンの上昇，アルブミン，総タンパク及びコレステロールの低下）と関連した肝の退色，肝細胞及びクッパー細胞の肥大，脾臓のリンパ球減少及び腎尿細管の色素沈着（ビリルビンの取り込みに伴う二次的変化と考えられる）がみられた。消化管の膨満は，関連する所見がみられず原因が不明であるが，瀕死に至る前にみられた一般状態との関連性が考えられた。病理組織学的所見からは，死因は判断できなかった。肝における病理組織学的変化は，投与量を下げて 600 mg/kg を 17 又は 18 日間投与した動物においても観察された。

300 mg/kg 以上では，リンパ組織において用量依存的なリンパ球の減少が観察された。

全てのタゼメトスタットの投与群で認められた Cl の上昇は，イオン交換クロマトグラフィーを用いた Cl と Br の測定により，タゼメトスタット臭化水素酸塩の投与に起因した偽高 Cl 血症（Elin, et al., 1981, Morrison, 1990）であり，実際は高 Br 及び低 Cl であることが示された。時間依存的に Br は上昇し Cl は低下したが，毒性学的所見との関連性は不明であった。100 mg/kg では，他に毒性学的に意義のある変化はみられなかった。

1000 mg/kg の雌 1 例で回復性を検討した結果，21 日間の休薬期間で薬物に起因する変化はいずれもみられず，回復性が示された。

TK 測定では，1 日 2 回の 4 週間反復投与において，タゼメトスタットの暴露は投与量比以上に上昇した。投与初日には性差は顕著ではなかったが，投与 28 日には雌の方が雄よりも暴露が高かった。薬物代謝酵素（CYP）誘導と肝細胞肥大と一致して，投与初日に比べて，投与 28 日の暴露が 1/3～1/5 に低下していた。

以上から，サルにおける 4 週間反復投与毒性試験の無毒性量は 100 mg/kg と考えられた。

表 2.6.6-7　サル 4 週間反復投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/日)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}12h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}12h)}$ (ng·h/mL)
100	1	821	1842	569	1532
	28	177	471	158	537
300	1	1801	6770	2331	7928
	28	283	1219	736	2597
1000/600[c]	1	9150	38,374	8705[a]	42,861[a]
	28	2277	9371	2541[b]	14,892[b]

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}12h)}$は，4 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0\text{-}12h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 12 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration
a:　n=3。
b:　n=2。
c:　投与 8 日（雌）及び投与 9 日（雄）に瀕死の個体がみられたため投与を中止し，生存例について投与 11 日（雌）及び投与 12 日（雄）より 600 mg/kg に用量を下げた。
出典：添付資料 4.2.3.2.5（20024293）。

2.6.6.3.6 サルにおける 13 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.6，試験番号 20047690）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 0，100，300 及び 600 mg/kg をカニクイザル（4 例/性/群，休薬群 2 例/性/群）に 13 週間反復経口投与した。投与は半量ずつ（0，50，150 及び 300 mg/kg）を約 12 時間間隔で 2 回に分けて行った。対照群には媒体（0.1% Tween80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。投与期間終了後，300 及び 600 mg/kg 群で 4 週間の回復性を検討した。検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，心電図，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，TK 測定，臓器重量測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，投与 83 日に 600 mg/kg の雌 1 例が瀕死のため安楽殺された。この個体は，瀕死に至る過程で，活動性の低下，冷感，円背位，震え／振戦といった症状を呈した。死因は病理組織学的には明らかにされなかったが，リンパ系（脾，胸腺，腸間膜及び下顎部リンパ節），肝及び腎に，600 mg/kg の生存例と同様の変化がみられ，さらに直腸の潰瘍もみられた。

投与に起因した一般状態として，嘔吐と異常便（軟便，粘液便，着色便）がみられた。これらの所見は全てのタゼメトスタット投与群で散発的にみられたが，嘔吐は投与量に依存的で 600 mg/kg で発生頻度が最も高かった。

投与 13 週の心電図検査では，300 mg/kg 以上で心拍数の増加を示す RR 間隔の短縮が観察された。RR 間隔は，24 時間のデータ収集期間を通じて，対照群と比べて 300 及び 600 mg/kg でそれ

ぞれ 38～121，59～177 msec 短縮した（心拍数はそれぞれ 12～36，24～48 bpm 増加）。RR 間隔の短縮は，通常の概日周期で延長する夜間に，特に明らかであった。

臨床検査では，AST が 100 mg/kg の雌で投与 92 日，300 mg/kg 以上の雌雄で投与 43 及び 92 日に上昇し，ALP が 600 mg/kg の雌雄で投与 43 及び 92 日に上昇した。4 週間の休薬期間後，ALT と ALP の上昇は 600 mg/kg の雌雄で，AST の上昇は 600 mg/kg の雌で軽度ながら引き続きみられた。ALT，AST 及び ALP の変化は，肝及び胆管でみられた変化と一致していた。

肝は 300 mg/kg 以上で小葉中心性の肝細胞肥大，クッパー細胞の肥大／色素沈着，胆管の過形成がみられた。休薬群では，胆管過形成及びクッパー細胞の肥大／色素沈着の残存がみられた。

臓器重量測定では，100 mg/kg 以上の雌雄で肝重量が増加し，300 mg/kg 以上でみられた病理組織学的変化の程度と相関していた。4 週間の休薬後も 600 mg/kg の雌雄で肝重量の増加がみられた。600 mg/kg では腎重量の増加もみられ，腎病変（糸球体病変及び尿細管色素沈着）と関連すると考えられた。4 週間の休薬後，腎重量は対照群と同程度で組織学的にも回復が確認された。

そのほか病理組織学的検査では，300 mg/kg 以上で脾及びリンパ節の胚中心の減少と胸腺のリンパ球減少が観察され，リンパ系の変化は回復性が確認された。100 mg/kg では，毒性学的に意義のある変化はみられなかった。

TK 測定では，全般的に，タゼメトスタットの暴露は雌雄ともに投与量の増加に相関して上昇した。タゼメトスタット及び代謝物 ER-897387-00 の暴露に明らかな性差は認められなかった。タゼメトスタット及び ER-897387-00 の反復投与による全身暴露は，全般的に，投与初日に比べて低下した。

以上から，サルにおける 13 週間反復投与毒性試験の無毒性量は，100 mg/kg と考えられた。

表 2.6.6-8　サル 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/日)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}12h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}12h)}$ (ng·h/mL)
測定対象：タゼメトスタット					
100	1	483	1560	501	1378
	43	139	537	142	454
	91	148	641	166	599
300	1	2481	9707	1998	7118
	43	462	2487	934	3062
	91	597	3137	725	3575
600	1	4651	23,875	1612	8071
	43	1312	8048	863	4292
	91	1298	8117	1241	6215
測定対象：ER-897387-00 (EPZ-6930)					
100	1	1620	4815	1988	4593
	43	1025	3093	673	1697
	91	860	3154	1126	2878
300	1	5836	25,037	4839	18,033
	43	2979	15,554	4835	15,422
	91	3427	20,238	3669	18,073
600	1	7398	47,767	3768	18,890
	43	5473	40,680	3434	17,842
	91	4084	31,036	4507	26,806

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}12h)}$は，4 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0\text{-}12h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 12 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration
出典：添付資料 4.2.3.2.6（20047690）。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（添付資料 4.2.3.3.1.1，試験番号 864270［予備試験］，添付資料 4.2.3.3.1.2，試験番号 9600848［本試験］）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の復帰突然変異試験をネズミチフス菌（TA100，TA1535，TA98，TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）を用いて，代謝活性化系（S9 mix）の存在下及び非存在下で実施した。予備試験ではネズミチフス菌（TA100，TA1535，TA98）のみを用いた。用量は，予備試験では 5.0×10^{-6}～1.0×10^{-4} mol/L，本試験では 2.29～5000 μg/plate とした。

その結果，E7348 は，使用した全ての菌株において S9 mix の存在下及び非存在下のいずれの条件でも復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

以上より，E7348 は遺伝子突然変異誘発作用を示さなかった。

2.6.6.4.2 In vitro 小核試験（添付資料 4.2.3.3.1.3，試験番号 9600891）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の in vitro 小核試験は，ヒト末梢血リンパ球を用いて，短時間処理法（S9 mix の存在下及び非存在下）及び連続処理法（S9 mix の非存在下）により実施した。用量設定試験（1～500 μg/mL で実施）でみられた細胞毒性に基づき，短時間処理法では 125～250 μg/mL，連続処理法では 50～110 μg/mL を設定した。

その結果，短時間処理法及び連続処理法のいずれの条件下においても小核を有する細胞の出現頻度に有意な増加はみられなかった。

以上より，タゼメトスタットは染色体異常誘発作用を示さなかった。

2.6.6.4.3 ラットにおける小核試験（添付資料 4.2.3.3.2.1，試験番号 9800206）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 500，1000 及び 2000 mg/kg を雌雄の SD ラット（5 例/性/群）に 2 日間経口投与し，最終投与の 24 時間後に動物を安楽死させた後，大腿骨の骨髄細胞塗抹標本を作製し，アクリジンオレンジ染色を実施した。各個体 2000 個の多染性赤血球（幼若赤血球）について，小核の出現頻度を算出した。陰性対照群には媒体（0.1% Tween80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。

その結果，2000 mg/kg の雄 3 例及び雌 5 例で 2 日目に前肢皮膚の発赤，頸部腹側，鼻周囲及び眼周囲の被毛の汚れ（赤色）がみられた。1000 mg/kg の雌 2 例でも耳介，鼻周囲，あるいは前肢の皮膚の発赤がみられた。2000 mg/kg の雌雄及び 1000 mg/kg の雌では，摂餌量の減少を伴う軽度の体重減少が 3 日目にみられた。骨髄細胞塗抹標本の観察において，タゼメトスタットは小核を有する多染性赤血球の出現頻度に影響を及ぼさなかった。

タゼメトスタットは本試験においてラット骨髄における染色体異常誘発作用を示さなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

タゼメトスタットは進行がんの治療を目的とした抗悪性腫瘍剤であることから，ICH S9 ガイドライン（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン）にもとづき，がん原性試験は実施していない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 胚及び胎児発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 ラット胚・胎児発生毒性に関する用量設定試験（添付資料 4.2.3.5.2.1，試験番号 20097363）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 100，300 及び 600 mg/kg（フリー体換算）を，SD ラット（6 例/群）の妊娠 7～17 日に反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween 80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。なお，TK 群として各群 6 例（媒体群のみ 3 例）を設定した。検査項目として，母動物では死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，妊娠状況（黄体数，着床数，生存/死亡胎児数，胎盤の肉眼所見），肉眼検査，胎児検査（性別，体重測定，外表観察），及び TK 測定（タゼメトスタット及び代謝物 ER-897387-00）を行った。

その結果，投与に起因する母動物の死亡及び早産はみられなかったが，全ての投与群において体重増加抑制，300 mg/kg 以上で流涎，600 mg/kg で脱水，被毛の汚れ，円背位などの一般状態の変化，摂餌量の減少がみられた。300 mg/kg では胎児体重の減少及び着床後胚死亡の増加による生存胎児数の減少がみられ，600 mg/kg では生存胎児が得られなかった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-9 にまとめた。タゼメトスタットの全身暴露は，妊娠 7 日においては C_{max} 及び投与時から定量が可能であった最終採血時間（t）までの血漿中濃度-時間曲線下面積（$AUC_{(0\text{-}t)}$）ともに投与量の増加以上に上昇したが，妊娠 17 日では投与量依存的な上昇がみられた。また，100 mg/kg におけるタゼメトスタットの暴露は妊娠 7 日に比べ妊娠 17 日で高値であったが，300 mg/kg 以上では，妊娠 7 日と妊娠 17 日でほぼ同じであった。代謝物 ER-897387-00（EPZ-6930）の全身暴露は，妊娠 7 日，17 日の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}t)}$ は投与量の増加以上に上昇し，

妊娠 7 日に比べ妊娠 17 日で高値であった。

表 2.6.6-9　ラット胚・胎児発生毒性用量設定試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)
測定対象：タゼメトスタット			
100	DG7	3610	18700
	DG17	4690	62300
300	DG7	9320	119000
	DG17	15300	159000
600	DG7	17800	313000
	DG17	20300	316000
測定対象：ER-897387-00 (EPZ-6930)			
100	DG7	302	1200
	DG17	692	3210
300	DG7	790	11600
	DG17	2850	32700
600	DG7	2720	54000
	DG17	6540	111000

C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は，3 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0-t)}$ = area under the concentration-time curve from zero time to time of last quantifiable concentration, C_{max} = maximum observed concentration, DG = day of gestation.
出典：添付資料 4.2.3.5.2.1（20097363）。

2.6.6.6.1.2 ラット胚・胎児発生毒性試験（添付資料 4.2.3.5.2.2，試験番号 20097364）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 50，100 及び 200 mg/kg（フリー体換算）を，SD ラット（20 例/群）の妊娠 7～17 日に反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween 80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。なお，TK 群として各群 6 例（媒体群のみ 3 例）を設定した。母動物は，妊娠 21 日に帝王切開した。検査項目として，母動物では死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，妊娠状態観察（卵巣及び子宮検査），肉眼検査，TK 測定（タゼメトスタット及び代謝物 ER-897387-00），胎児では，性別の判定，体重測定，形態観察（外表，内部臓器及び骨格），及びを行った。

その結果，いずれの投与量においても死亡はみられず，母動物の一般状態及び肉眼所見に異常はみられなかったが，200 mg/kg では，母動物の体重増加抑制と，着床後胚死亡の増加による生存胎児数の減少，胎児体重の低値がみられた。胎児の外表観察では，200 mg/kg でドーム頭，短尾，全身性浮腫，手掌の小型・欠指がみられた。胎児の内臓観察では異常はみられなかった。骨格観察では 100 mg/kg 以上で肋骨と椎骨の欠損，200 mg/kg では頸椎弓癒合及び上後頭骨と指骨の欠損などの骨格異常がみられた。その他，骨格変異として 50 mg/kg 以上で短肋骨及び頸椎弓の変形，100 mg/kg 以上で外後頭骨変形，頭蓋縫合，200 mg/kg で上後頭部骨不全，胸骨変形が観察され，骨化進行の遅延・不全が 100 mg/kg 以上で胸椎に，200 mg/kg で頸椎弓・上後頭骨・坐骨にみられた。

TK 測定では，妊娠 7 及び 17 日ともにタゼメトスタットの $AUC_{(0-t)}$は 50～200 mg/kg にかけて投与量の増加以上に上昇したが，C_{max} は 50～200 mg/kg にかけて投与量の増加に比べてやや低いものであった。反復投与による明らかな蓄積は認められなかった。ER-897387-00 の $AUC_{(0-t)}$及び

C_{max} は 50～200 mg/kg にかけて投与量の増加以上に上昇し，反復投与による明らかな蓄積は 50 mg/kg を除き認められなかった。

以上から，母動物の無毒性量は 100 mg/kg，胚・胎児発生に対する無毒性量は 50 mg/kg 未満と考えられた。

表 2.6.6-10　ラット胚・胎児発生毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)
測定対象：タゼメトスタット			
50	DG7	2770	8350
	DG17	2190	14,300
100	DG7	4680	39,600
	DG17	3470	42,700
200	DG7	8210	114,000
	DG17	8850	96,000
測定対象：ER-897387-00 (EPZ-6930)			
50	DG7	224	763
	DG17	287	2400
100	DG7	431	3370
	DG17	427	6200
200	DG7	1140	15,300
	DG17	1700	22,600

C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は，3 例の動物の平均値を示す。$AUC_{(0-t)}$ = area under the concentration-time curve from zero time to time of last quantifiable concentration, BQL = below the quantifiable limit (<1.00 ng/mL), C_{max} = maximum observed concentration, DG = day of gestation, NC = not calculated.
出典：添付資料 4.2.3.5.2.2（20097364）。

2.6.6.6.1.3 ウサギ胚・胎児発生毒性に関する用量設定試験 (1)（添付資料 4.2.3.5.2.3，試験番号 20097367）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 250，500 及び 1000 mg/kg（フリー体換算）を，NZW ウサギ（3 例/群）の妊娠 7～11 日に反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween 80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。検査項目として，母動物では死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，妊娠状況（黄体数及び分布，着床数，胎児の生死），肉眼検査，及び TK 測定（タゼメトスタット及び代謝物 ER-897387-00 [EPZ-6930]）を行った。

その結果，いずれの投与量においても投与に起因する死亡はみられなかった。妊娠 7～12 日の間，1000 mg/kg で摂餌量減少を伴う体重減少と便量の減少がみられた。いずれの投与量でも母動物に剖検所見はみられなかった。500 mg/kg 以上で着床後胚死亡の増加による生存胎児数の減少がみられ，1000 mg/kg では生存胎児は得られなかった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-11 にまとめた。タゼメトスタットの全身暴露は，250～1000 mg/kg にかけて投与量の増加に伴って上昇した。

表 2.6.6-11　ウサギ胚・胎児発生毒性用量設定試験 (1) での TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)
測定対象：タゼメトスタット			
250	DG11	12800	58600
500	DG11	25200	179000
1000	DG11	29300	356000
測定対象：ER-897387-00 (EPZ-6930)			
250	DG11	7310	44000
500	DG11	11600	114000
1000	DG11	13000	190000

C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は，3 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0-t)}$ = area under the concentration-time curve from zero time to time of last quantifiable concentration, C_{max} = maximum observed concentration, DG = day of gestation.
出典：添付資料 4.2.3.5.2.3（20097367）。

2.6.6.6.1.4 ウサギ胚・胎児発生毒性に関する用量設定試験 (2)（添付資料 4.2.3.5.2.4，試験番号 20097365）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 150，250 及び 450 mg/kg（フリー体換算）を，NZW 妊娠ウサギ（5 例/群）の妊娠 7～19 日に反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween 80 含有 0.5% メチルセルロース 400 溶液）を投与した。検査項目として，母動物では死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，妊娠状況（黄体数，着床数，早期及び後期吸収胚を含む胚胎児の死亡数，生存胎児数，胎盤の肉眼所見），肉眼検査，及び TK 測定（タゼメトスタット及び代謝物 ER-897387-00），胎児では，性別の判定，体重測定及び外表観察を行った。

その結果，いずれの投与量においても投与に起因する死亡はみられなかった。250 mg/kg 以上で便の異常が低頻度にみられたが，体重，摂餌量及び剖検において投与に起因する影響はみられなかった。450 mg/kg では，早期吸収胚の増加による着床後死亡の増加がみられた。250 mg/kg 以上では，胎児重量の減少がみられた。

TK 測定の結果を表 2.6.6-12 にまとめた。妊娠 7 及び 19 日ともにタゼメトスタットの $AUC_{(0-t)}$ は，150～450 mg/kg にかけて投与量増加以上に上昇したが，C_{max} は投与量依存的な上昇を示した。反復投与による明らかな蓄積は認められなかった。ER-897387-00 の $AUC_{(0-t)}$は，150～450 mg/kg にかけてほぼ投与量依存的に上昇したが，C_{max} は投与量の増加に比べやや低かった。反復投与による明らかな蓄積は認められなかった。

表 2.6.6-12　ウサギ胚・胎児発生毒性用量設定試験 (2) での TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)
測定対象：タゼメトスタット			
150	DG7	4520	14,400
	DG19	7500	18,000
250	DG7	10,900	38,700
	DG19	13,100	41,700
450	DG7	14,200	86,400
	DG19	18,000	82,000
測定対象：ER-897387-00 (EPZ-6930)			
150	DG7	5790	21,200
	DG19	5470	17,500
250	DG7	8050	39,800
	DG19	7870	31,600
450	DG7	10,700	78,600
	DG19	10,200	58,400

C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は，5 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0-t)}$ = area under the concentration-time curve from zero time to time of last quantifiable concentration, C_{max} = maximum observed concentration, DG = day of gestation.
出典：添付資料 4.2.3.5.2.4（20097365）。

2.6.6.6.1.5 ウサギ胚・胎児発生毒性試験（添付資料 4.2.3.5.2.5，試験番号 20097366）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 100，200 及び 400 mg/kg（フリー体換算）を，NZW 妊娠ウサギ（20 例/群）の妊娠 7～19 日に反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween 80 含有 0.5% メチルセルロース 400 溶液）を投与した。なお，TK 群として各群 3 例（媒体群のみ 2 例）を設定した。検査項目として，母動物では死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，妊娠状態観察（卵巣及び子宮検査），肉眼検査，及び TK 測定（タゼメトスタット及び代謝物 ER-897387-00），胎児では，性別の判定，体重測定，及び形態観察（外表，内部臓器及び骨格）を行った。

その結果，いずれの投与量においても薬物投与に起因する死亡はみられなかった。死亡，計画外安楽殺，流産の個体が 5 例あったが，投与量と関連がなく，対照群でもみられたこと，さらに投与過誤に起因する個体も含まれることから，いずれも投与に起因しないと判断した。その他の母動物では，一般状態及び肉眼検査で異常はみられなかった。

400 mg/kg では，妊娠 7～20 日における母動物の体重増加抑制がみられ，早期及び後期吸収胚の増加による着床後死亡の増加及び生存胎児数の減少がみられた。

胎児検査では，400 mg/kg で耳介小型，眼開存，四肢の過伸展・指欠損，短尾，全身浮腫などの外表異常がみられ，内臓観察では大動脈弓拡張，横隔膜ヘルニア，小眼球，動脈幹遺残，心室中隔欠損，肺動脈狭窄，腎臓位置異常・欠損がみられた。骨格観察では，100 mg/kg 以上で胸骨分節癒合・分離・形態異常，完全頸肋骨，短小頸肋骨などの骨格変異がみられ，200 mg/kg 以上では骨格異常として頭頂間骨欠損及び肋骨癒合が，骨格変異として頭頂間骨小型，胸骨分節骨化不全，頸椎弓骨化不全がみられた。400 mg/kg ではさらに骨格異常として指骨欠損，尾椎癒合，頸椎弓癒合及び頸椎欠損がみられ，骨格変異として縫合骨が観察された。

TK 測定では，タゼメトスタットの $AUC_{(0-t)}$は，妊娠 19 日の 200～400 mg/kg を除き，100～

200 mg/kg にかけて投与量の増加以上に上昇したが，C_{max} は，妊娠 7 日の 200～400 mg/kg で投与量の増加と同様に上昇した以外は，一定の傾向はみられなかった。また，反復投与による明らかな蓄積は認められなかった。ER-897387-00 の C_{max} は 100～200 mg/kg にかけて投与量に応じて増加し，$AUC_{(0-t)}$は投与量の増加以上に上昇した。妊娠 19 日では 200～400 mg/kg にかけては用量比より低い増加量であった。反復投与による影響は 400 mg/kg で低下したことを除き認められなかった。

以上から，母動物の無毒性量は 400 mg/kg，胚・胎児発生に対する無毒性量は 100 mg/kg 未満と考えられた。

表 2.6.6-13　ウサギ胚・胎児発生毒性試験における TK パラメータ

投与量（mg/kg）	投与日	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)
測定対象：タゼメトスタット			
100	DG7	1520	3730
	DG19	4390	10,100
200	DG7	5960	24,700
	DG19	11,100	37,700
400	DG7	12,000	89,100
	DG19	12,200	48,500
測定対象：ER-897387-00 (EPZ-6930)			
100	DG7	3130	9400
	DG19	4250	11,300
200	DG7	7150	35,200
	DG19	7240	33,300
400	DG7	11,400	105,000
	DG19	8420	46,300

C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は，3 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0-t)}$ = area under the concentration-time curve from zero time to time of last quantifiable concentration, BQL = below the quantifiable limit (<1.00 ng/mL), C_{max} = maximum observed concentration, DG = day of gestation, NC = not calculated.
出典：添付資料 4.2.3.5.2.5（20097366）。

2.6.6.6.2 幼若動物毒性試験

2.6.6.6.2.1 幼若ラット用量設定試験（添付資料 4.2.3.5.4.1，試験番号[redacted]-779008）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 50，150，500 及び 1000 mg/kg を，雌雄の幼若 SD ラット（5 例/性/群）に生後 7 日～34 日までの 4 週間反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，TK 測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，500 及び 1000 mg/kg の雌雄で，1～2 回投与後に活動性低下，冷感，あるいは体表面の蒼白などがみられたことから，TK 動物を含む全例を安楽殺した。これらの動物の病理組織学的検査では，腺胃のびらん，胸腺及びリンパ節におけるリンパ球減少／壊死，骨髄，脾及び肝における造血細胞の単細胞壊死，腎乳頭部における石灰沈着及び尿細管上皮空胞化がみられた。腺胃粘膜の変化としては表層粘膜のびらんがみられ，腺の再生性過形成と粘膜下織への好

中球浸潤あるいは浮腫を伴う広範な胃炎も同時にみられたことから，瀕死の原因と考えられた。50 及び 150 mg/kg では，毒性学的に意義のある変化はみられなかった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-14 にまとめた。タゼメトスタット及び ER-897387-00 のいずれの暴露についても，明らかな性差は認められなかった（生後 34 日における 50 mg/kg 群でのタゼメトスタットの暴露［雌>雄］と 150 mg/kg 群での ER-897387-00 の暴露［雄>雌］を除く）。

表 2.6.6-14　幼若ラット用量設定試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)
測定対象：タゼメトスタット					
50	PND7	3100	11,900	3380	14,300
	PND34	170	2950	3340	10,400
150	PND7	11,200	107,000	16,000	118,000
	PND34	7250	37,300	9250	51,800
500	PND7	35,700	658,000	44,600	709,000
	PND34	NA	NA	NA	NA
1000	PND7	54,200	1,040,000	50,200	1,080,000
	PND34	NA	NA	NA	NA
測定対象：ER-897387-00 (EPZ-6930)					
50	PND7	8180	101,000	8060	99,500
	PND34	842	1790	423	1420
150	PND7	23,300	350,000	21,700	335,000
	PND34	7140	29,800	2200	10,600
500	PND7	31,200	678,000	36,500	780,000
	PND34	NA	NA	NA	NA
1000	PND7	35,500	751,000	36,500	810,000
	PND34	NA	NA	NA	NA

C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は，3 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0-t)}$ = area under the concentration-time curve from zero time to time of last quantifiable concentration, C_{max} = maximum observed concentration, PND = postnatal day.
出典：添付資料 4.2.3.5.4.1 ([redacted]-779008)。

2.6.6.6.2.2 幼若ラットにおける 13 週間経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（添付資料 4.2.3.5.4.2，試験番号[redacted]-154506）

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 50，100，150/300 及び 150/600 mg/kg（フリー体換算）を，雌雄の SD ラットに生後 7 日～98 日までの 13 週間反復経口投与して毒性を評価するとともに，4 週間の回復性を検討した（主試験群，回復群それぞれ 10 例/性/群）。150/300 及び 150/600 mg/kg 群は，生後 7 日～21 日まで 150 mg/kg を投与し，生後 22 日より 300 及び 600 mg/kg を投与した。対照群には媒体（0.1% Tween80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，発育分化（陰茎包皮分離，膣開口），FOB，血液学的検査，血液生化学的検査，TK 測定，臓器重量測定，肉眼及び病理組織学的検査，免疫表現型解析（胸腺及び脾組織標本）を実施した。

その結果，先に実施した成熟ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.3 ）同様，胸腺に T-LBL の発生が認められた。発現頻度（回復期間含む）は，50，100，150/300 及び 150/600 mg/kg で，各々雄は 0/20，0/21，3/20，10/20，雌は 1/20，1/20，8/20，2/20 であった。T-

LBL の発現時期としては，投与 11 週以降に認められ，これも成熟ラットの結果と同様であった。T-LBL は途中死亡した動物，主試験群剖検時，回復群剖検時のいずれにおいてもみられた。その他 150/600 mg/kg では，雄 1 例で腎盂腎炎，雌 2 例で一般状態悪化による死亡例が認められ，150/300 mg/kg の雌 1 例は頬部の炎症性肉芽腫性腫瘤の破裂により安楽殺された。この腫瘤は胸腺のリンパ球過形成に伴うリンパ系への影響に起因した二次的な変化であると考えられた。

T-LBL に関連すると考えられたその他の所見としては，雌 100 mg/kg 及び雌雄 150/300 mg/kg 以上で白血球数の増加，100 mg/kg 以上の雌雄で諸臓器へのリンパ腫の転移（胸腺及び脾臓の臓器重量増加を伴う）及び代謝性アシドーシス又は脱水状態に基づくと考えられる血清 Cl の上昇と血清 Na の低下，血清リン及び血清 Mg の上昇がみられ，これらの臨床検査の変化は雌の方が明らかであった。また，150/300 mg/kg 以上の雌では赤血球パラメータの変化（軽度の貧血）が認められた。

胸腺では，リンパ球過形成もみられ，その発現頻度は，100，150/300 及び 150/600 mg/kg で，各々雄は 2/21，2/20，0/20，雌は 4/20，1/20，11/20 であり，主試験群及び回復群いずれにおいても認められた。50 mg/kg ではリンパ球過形成はみられなかった。

150/300 mg/kg 以上でみられた T-LBL と，100 mg/kg 以上でみられた胸腺のリンパ球過形成は，胸腺のイムノフェノタイプ解析の結果では用量依存的な胸腺白血球数の増加，特に CD8 陽性 T 細胞が多いという結果であった。

100 mg/kg 以上でみられたその他の病理組織学的変化としては，単核細胞増加を伴う赤脾髄領域の拡大，脾濾胞辺縁帯におけるリンパ球減少，白脾髄での細胞密度増加，大腿骨及び胸骨の骨梁増加であった。これらの所見は，4 週間回復期間後もみられた。イムノフェノタイプ解析では，100 mg/kg 以上で脾における白血球数の増加が観察され，概して CD4 陽性 T 細胞が CD8 陽性 T 細胞よりも多かった。さらに，炎症性の結節と腫瘤が 100 mg/kg 群の雄 1 例及び 150/300 mg/kg 以上の動物の皮膚，皮下組織，四肢に観察され，化膿性肉芽腫性炎症であることが確認された。

雌 100 mg/kg 以上，雄 150/300 mg/kg 以上では，摂餌量の変化を伴う体重増加がみられ，回復期間後も引き続き観察された。性成熟パラメータでは投与に起因した異常はみられず，FOB 検査では被毛の汚れや正向反射の軽度低下（失調），後肢着地開足幅の減少，ロータロッドの落下潜時の短縮等が観察されたが，いずれも E7348 の中枢神経系への直接作用ではなく，T-LBL による一般状態の悪化に伴う二次的な変化であると考えられた。

TK 測定では，生後 98 日目の 50 及び 100 mg/kg での雌の血中曝露量（C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}t)}$）は雄の約 3 倍高値であるため，認められた毒性のわずかな差異は血中曝露量に起因すると考えられた。

以上，幼若ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験の無毒性量は，雄では 50 mg/kg，雌では 50 mg/kg 未満と考えられた。

表 2.6.6-15　幼若ラットにおける 13 週間経口投与毒性試験及び 4 週間回復試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)
測定対象：タゼメトスタット					
50	PND7	1690	6850	1630	7300
	PND22	1850	3250	1600	3430
	PND98	1410	6340	3900	18,500
100	PND7	3840	27,700	5190	22,800
	PND22	3740	11,300	5410	14,200
	PND98	3800	19,200	7600	67,200
150/300	PND7	9090	70,100	9450	86,100
	PND21	8800	35,200	7250	24,000
	PND22	13,300	114,000	11,100	58,300
	PND98	11,500	125,000	17,100	229,000
150/600	PND7	9690	56,900	8010	55,100
	PND21	9000	26,500	5810	22,200
	PND22	15,600	175,000	16,800	169,000
	PND98	18,200	290,000	26,300	425,000
測定対象：ER-897387-00 (EPZ-6930)					
50	PND7	6060	62,300	5140	59,700
	PND22	1600	3440	1390	2850
	PND98	1430	6700	555	2470
100	PND7	12,900	195,000	12,000	158,000
	PND22	3710	16,900	5810	17,700
	PND98	3790	20,300	951	5610
150/300	PND7	19,900	266,000	22,100	321,000
	PND21	14,000	84,200	8600	58,400
	PND22	10,400	123,000	10,900	128,000
	PND98	9370	131,000	3720	54,200
150/600	PND7	19,000	283,000	19,800	280,000
	PND21	7800	45,000	7340	41,900
	PND22	14,000	228,000	13,100	191,000
	PND98	18,600	322,000	7250	134,000

C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は，3 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0-t)}$ = area under the concentration-time curve from zero time to time of last quantifiable concentration, C_{max} = maximum observed concentration, PND = postnatal day.
出典：添付資料 4.2.3.5.4.2 ([redacted]-154506)。

2.6.6.7 局所刺激性試験

局所刺激性に特化した試験は実施されていない。経口投与による消化管への影響は経口投与毒性試験で評価された。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 光安全性試験

2.6.6.8.1.1 In Vitro 光毒性試験（添付資料 4.2.3.7.7.1，試験番号 20079676）

タゼメトスタットの UV/可視光線吸収スペクトルを測定した結果，290 nm 以降に極大吸収を認めたため，3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験を実施した。

タゼメトスタット臭化水素酸塩の 1.78～100 μg/mL を BALB/c マウスの 3T3 細胞に 90 分間暴露した後，模擬太陽光（紫外線 A の照射線量として 5 J/cm^2，紫外線 B の照射線量として 21 mJ/cm^2）の照射下（30 分間）あるいは非照射下で，ニュートラルレッド色素の取り込みを指標として細胞生存率を算出した。

最高濃度の 100 μg/mL まで培養液中に結晶の析出はみられなかった。2 回行ったタゼメトスタットのアッセイでは，光照射下での 50%生存濃度はそれぞれ 23.990 及び 18.843 μg/mL，光非照射下での 50%生存濃度は算出されなかった。また，光毒性の評価指標となる Photo Irritation Factor（PIF）値は 1 回目：>4.176，2 回目：>5.310 であり，Mean Photo Effect（MPE）値は 1 回目：0.270，2 回目：0.347 であった。

以上より，タゼメトスタットは光毒性のポテンシャルを有することが示された。

2.6.6.8.2 ラットにおいてみられた T 細胞リンパ芽球性リンパ腫に関する各種検討試験

タゼメトスタットのラットにおける 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（2.6.6.3.3 ）で胸腺に T-LBL が観察されたことから，その発現機序について検討を行った。また，構造的に異なり，タゼメトスタットと同様の薬理作用を有する 2 種類の EZH2 阻害薬（EPZ-10961 及び EPZ011989）について，同様にラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験を行った。

2.6.6.8.2.1 ラット 13 週反復投与毒性試験から得られたリンパ組織及び造血組織の細胞系統解析（添付資料 4.2.3.7.3.1，報告書番号 W-20[redacted]1042）

ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.3 ）でみられた T-LBL の発生機序として，T 細胞分化に対する影響（unusual T-cell differentiation）が考えられたため，各種リンパ組織及び造血組織における免疫細胞系統解析を行った。上記試験で T-LBL の観察された個体（300 mg/kg の雌 1 例及び雄 2 例）と，T-LBL の観察されなかった個体（0，100，300 及び 600 mg/kg の雌各 3 例）それぞれのリンパ系組織（胸腺，脾臓，骨髄及びリンパ節）からリンパ球及び造血細胞を単離し，フローサイトメトリー法による細胞系統解析を行った。

その結果，T-LBL の観察された個体の胸腺では，対照群と比べて $CD8^+$ T 細胞及び αβ T 細胞の割合が顕著に増加し，$CD4^+$ T 細胞及び γδ T 細胞の割合が減少していた。T-LBL の観察されなかった個体の胸腺，骨髄及び脾臓においては，用量依存的に αβ T 細胞の割合が減少し，γδ T 細胞の割合が増加していた。

2.6.6.8.2.2 ラット白血病ウイルス再組み込み試験（試験番号：[redacted]-CR-2917）

AKR/J や他の系統のマウスにおいて，内因性マウスレトロウイルスであるマウス白血病ウイルス（MLV）は，胸腺 T 細胞の発がんに直接関与していることが示されている（Stoye, et al., 1991, Telesnitsky, et al., 1997）。ラットにおいては，内因性レトロウイルスである RaLV が MLV に類似している（Lee, et al., 1998）。そこで，リンパ組織の内因性レトロウイルス再活性化について検討

した。

タゼメトスタットを投与していない SD ラットの胸腺及び脾と，タゼメトスタットを 13 週間投与したラットの胸腺から DNA を単離し，タゼメトスタットによる RaLV 再活性化及び遺伝子挿入誘導の有無を評価した。その結果，タゼメトスタットを投与したラットの組織においては，腫瘍発生の有無に関わらず，広範囲あるいは限局的な RaLV の転座は確認されなかった。したがって，ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験でみられた T-LBL 発生に RaLV 再活性化は関与しないと考えられた。

2.6.6.8.2.3 Notch 標的遺伝子発現解析（添付資料 4.2.3.7.3.3，試験番号 EPZ-6438-PD012）

本試験では，ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験より得られた胸腺組織において，T 細胞の分化に重要な役割を果たし，主としてヒトのT細胞リンパ芽球性白血病／リンパ腫など多くの疾患の発生に関与することが知られているNotch標的遺伝子を定量的PCR法により解析した。

その結果，T-LBL 発症の有無に関わらず，Notch 標的遺伝子である *Hes1*，*Hey1* 及び *Dtx1* の発現増加は認めらず，むしろ T-LBL 発症ラットの胸腺で T-LBL 非発症ラットの胸腺よりも低かった。

したがって，ラットで見られた T-LBL の発生機序に，タゼメトスタットによるエピジェネティックな抑制の喪失に伴うNotchシグナル経路の活性化が関与している可能性は低いと考えられた。

2.6.6.8.2.4 EPZ-10961 のラット 13 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（添付資料 4.2.3.7.3.4，試験番号 K[redacted]040）

本試験では，タゼメトスタットと構造的に異なるが，同様な薬理作用を有しているEPZ-10961をラットに13週間反復投与して同様の病変の発生の有無を確認した。

EPZ-10961 酒石酸塩の 0，50，100 及び 300 mg/kg を SD ラット（10 例/性/群，休薬群 6 例/性/群）に 13 週間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。投与期間終了後，100 及び 300 mg/kg 群で 8 週間の回復性を検討した。検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，眼科学的検査，TK 測定，臓器重量測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，50 及び 100 mg/kg で胸腺に T-LBL が観察された。発生頻度（50 及び 100 mg/kg の TK 群，及び 100 mg/kg の休薬群を含む）は，50 mg/kg で 6/14（雄）及び 5/14（雌），100 mg/kg で 7/20（雄）及び 2/20（雌）であり，これが原因で 50 mg/kg の雄 2 例と雌 3 例（TK 群の雌 2 例を含む）が投与 58～87 日にかけて死亡又は瀕死のため安楽殺された。100 mg/kg でも同様に雄 5 例が投与 46～85 日にかけて死亡又は瀕死のため安楽殺された。これらの動物では死亡に先立ち，便の減少，活動性の低下，呼吸緩徐，腹臥位といった所見がみられた。瀕死の個体では，臨床検査で白血球数の増加，赤血球パラメータ及び血小板の減少が観察された。これらの動物では剖検時に胸腺腫瘤，ときにリンパ節や脾の腫大も合わせて認められた。

300 mg/kg では，T-LBL の発現や死亡はみられなかった。

以上，EPZ-10961 のラットにおける 13 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験では，同じ作用メカニズムを有するタゼメトスタットと同様に胸腺に T-LBL が観察された。

2.6.6.8.2.5 EPZ-10961 のラット 13 週間反復投与毒性試験から得られた胸腺組織の系統解析（添付資料 4.2.3.7.3.5，試験番号 M[redacted]002［中間解析］，添付資料 4.2.3.7.3.6，試験番号 M[redacted]004［リンパ球サンプリング］，添付資料 4.2.3.7.3.7，試験番号 M[redacted]006［最終解析］）

EPZ-10961 のラットにおける 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.8.2.4 ）でみられた T-LBL の発生機序として，T 細胞分化に対する影響（aberrant T-cell diffretiation）が考えられたため胸腺における免疫細胞系統解析を行った。

上記ラット 13 週反復投与毒性試験で T-LBL の観察された個体（50 mg/kg の雄 5 例及び雌 2 例，100 mg/kg の雄 3 例及び雌 2 例）と，T-LBL の観察されなかった個体（0，50，100 及び 300 mg/kg の 8～10 例/群）それぞれの胸腺からリンパ球を単離して，細胞系統解析をフローサイトメトリー法により行った。

その結果，T-LBL の観察された個体の胸腺で $CD8^+$ T 細胞及び αβ T 細胞の割合が対照群と比べて顕著に上昇しており，$CD4^+$ T 細胞及び γδ T 細胞の割合が相対的に減少していることが示された。T-LBL の観察されなかった個体の胸腺においては，用量依存的に αβ T 細胞及び $CD4^+$ T 細胞が減少し，$CD8^+$ T 細胞及び γδ T 細胞の割合が上昇していた。これらの結果は，タゼメトスタットを 13 週間投与したラットでみられた結果と一致するものであった。

2.6.6.8.2.6 EPZ011989 のラット 13 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.7.3.8，試験番号 [redacted]-154502）

本試験では，タゼメトスタットと構造的に異なるが，同様な薬理作用を有する EPZ011989 をラットに 13 週間反復投与し，同様の病変発生の有無を確認した。

EPZ011989 の 0，100，300 及び 600 mg/kg を SD ラット（10 例/性/群）に 13 週間反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，TK 測定，臓器重量測定，免疫細胞系統解析，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，100 mg/kg の雌雄と 300 mg/kg の雌で T-LBL が観察された。毒性評価動物における T-LBL の発生頻度は，100 mg/kg で 3/10（雄）及び 5/10（雌），300 mg/kg で 4/10（雌）であった。T-LBL の観察された動物では，脾臓，リンパ節，あるいは骨髄にもリンパ腫細胞が確認された。T-LBL のみられた動物では胸腺において，$CD8^+$ T 細胞の>60%増加が 5/9 例，$CD4^+$ $CD8^+$T 細胞（DP 細胞）の>70%増加が 2/9 例，DP 細胞の>80%増加が 1/9 例でみられ，残る 1 例では $CD4^+$ T 細胞，$CD8^+$T 細胞，DP 細胞の割合が同程度であった。この結果から，雌雄ともに T-LBL の観察された動物の胸腺では T 細胞（特に $CD8^+$ T 細胞）の比率が上昇し，$CD4^+$ T 細胞の比率が低下したことが示された。

さらに，末梢血リンパ球のイムノフェノタイピングでは，雄の 100 mg/kg 以上で投与量依存性の B 細胞比率の減少がみられ，600 mg/kg の雄では絶対数も減少していた。投与量に関連した $CD4^-$ $CD8^-$細胞（DN 細胞）が雄の 100 mg/kg 以上でみられた。雌の 100 mg/kg 以上でも，統計学的な有意差はつかないものの，同様に B 細胞の絶対数の減少傾向がみられた。雌の 600 mg/kg では B 細胞の比率が減少し，T 細胞（$CD4^+$，$CD8^+$，αβ T 細胞を含む）の比率が上昇していた。雌の 100 mg/kg では DP 細胞の比率が上昇した。

以上，EPZ011989 のラットにおける 13 週間反復投与毒性試験では，同じ作用メカニズムを有するタゼメトスタット同様に胸腺に T-LBL が観察された。

2.6.6.8.2.7 EPZ011989 のラット 13 週間反復投与毒性試験における Notch1 標的遺伝子発現解析（添付資料 4.2.3.7.3.9，試験番号 EPZ-6438-PD014）

タゼメトスタットをラットに 13 週間反復投与した胸腺組織を用いた検討（2.6.6.8.2.3 ）と同様に，本試験でも，定量的 PCR 法により EPZ011989 のラットにおける 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.8.2.6 ）より得られた胸腺組織の Notch1 標的遺伝子を解析した。

その結果，媒体対照群及び EPZ011989 を投与されたものの T-LBL を発現しなかった動物と比較して，T-LBL を発現した動物では Notch1 標的遺伝子である *Dtx1*，あるいは *Hes1* の遺伝子発現は低いことが示された。

2.6.6.8.2.8 EPZ011989 のラット 13 週間反復投与毒性試験における *Myc* 遺伝子発現解析（添付資料 4.2.3.7.3.10，試験番号 EPZ-6438-PD015）

Myc 遺伝子の異常調節は複数の悪性腫瘍発生の原因となっており，稀なケースとして T 細胞リンパ芽球性白血病／リンパ腫の発生も含まれる（Dang, et al., 2012）。T-ALL では 2%で *TCRα-Myc* の転座により *Myc* 発現が上昇する（Larmonie, et al., 2013）。げっ歯類では，*TCRα-Myc* の転座はマウス T 細胞の悪性腫瘍化モデルで 2 番目に高い頻度で発生することが知られている（Liu, et al., 2010, Dose, et al., 2014）。本試験では，定量的 PCR 法により EPZ011989 のラットにおける 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.8.2.6 ）より得られた胸腺組織の *Myc* 遺伝子発現を解析した。

その結果，T-LBL 非発症動物（媒体対象あるいは EPZ011989 投与）と比較して，T-LBL を発症した動物の胸腺では *Myc* 遺伝子の有意な発現上昇がみられた。

2.6.6.8.2.9 EPZ011989 のラット 13 週間反復投与毒性試験における RNA 配列データ解析（添付資料 4.2.3.7.3.11，試験番号 EPZ-6438-PD016）

既知の発癌機序と一致する遺伝子発現パターンが EPZ011989 によりラット 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.8.2.6 ）でみられたリンパ腫組織でみられるか確認するため，胸腺サンプルの RNA 発現を解析し，1)T-ALL における既知の転写特性，2) 既知の T-ALL のマウスモデルとの相同性，そして，3) リンパ腫の発生機序の解明に有用となる可能性のある既知の発癌遺伝子や発癌抑制遺伝子の発現量の変化について検討した。

その結果，T-LBL がみられたラットの胸腺サンプルにおける遺伝子発現パターンは，ヒト T-ALL の一般的な発現異常の特性と一致しなかった。さらに PRC2 欠損を伴うヒト T-ALL 及びマウスモデルの遺伝子発現パターンとも異なることが示された。

2.6.6.8.2.10 SD ラットの加齢による胸腺退縮に関する検討試験（添付資料 4.2.3.7.7.2，試験番号 [redacted]-154505）

ラットにおける T-LBL の発生に関し，薬物投与以外の要因を検討するため，加齢に伴った胸腺の退縮について実験を行った。本実験では，6, 8, 10 及び 12 ヵ月齢の薬物無処置の SD ラットを用いて末梢血サンプル及び胸腺細胞のイムノフェノタイピング，胸腺の重量測定及び病理組織学的検査を行った。その結果，血液のイムノフェノタイピング解析では，加齢により T 細胞数

の減少，$CD8^+$ T 細胞比率の減少（雄 12 ヵ月齢），総リンパ球，T 細胞数，$CD4^+$T 細胞数の減少（雌 8 及び 12 ヵ月齢），DP 細胞数の減少（雌 8, 10, 12 ヵ月齢）がみられた。胸腺細胞のイムノフェノタイピング解析では，DP 細胞数の減少，DN 細胞数の増加（雄 8 ヵ月齢及び雌雄 10, 12 ヵ月齢），T 細胞・$CD4^+$T 細胞・$CD8^+$T 細胞数の増加（雌雄 8, 10, 12 ヵ月齢）がみられた。雌では 6 ヵ月齢以降加齢に伴い胸腺重量が減少する傾向がみられ，12 ヵ月齢では統計学的に有意な低値を示した。病理組織学的検査の結果，試験に用いた月齢範囲の全群（6～12 ヵ月齢）において，胸腺の退縮がみられた。胸腺の退縮は 6 ヵ月齢の雌では全例でごく軽度であったが，加齢に伴いその程度と頻度が強くなる傾向が示された。

2.6.6.8.3 不純物に関する毒性試験

2.6.6.8.3.1 新規不純物を含むロットを用いたラット 4 週反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.7.6.1，試験番号 K[redacted]025）

臨床試験用原薬のロット間で異なる不純物の影響を検討するため，ラットの 4 週間反復投与毒性試験を追加で実施し，先に実施したラット 4 週間反復投与毒性試験と比較した。

本試験では，先に実施した試験同様，タゼメトスタット臭化水素酸塩の 0，100，300 及び 1000 mg/kg を SD ラット（10 例/性/群）に 4 週間反復経口投与した。対照群には媒体（0.1% Tween80 含有 0.5%メチルセルロース 400 溶液）を投与した。検査項目として，死亡の有無，一般状態，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，眼科学的検査，TK 測定，臓器重量測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。なお，1000 mg/kg の雄の半数が死亡若しくは瀕死となったことから，生存例についても投与 15 日に安楽殺した。

その結果，先に実施した試験の結果と質的に同等の変化がみられた。投与 2～28 日にかけて，1000 mg/kg の雄 5 例と雌 5 例が消化管への影響による死亡又は瀕死のため安楽殺された。これらの個体では，摂餌量の減少，活動性の低下，被毛の汚れ，便の減少，着色尿が観察された。胃粘膜のびらん／潰瘍，消化管の粘膜上皮の変性又は壊死がみられた。また消化管に加えて，リンパ組織（リンパ球の減少），骨（骨梁形成），骨髄（細胞数減少）及び腎（好酸性小滴）で薬物による変化がみられた。瀕死動物の臨床検査でみられた変化は，血液濃縮を含めて，一般状態悪化又は前述の臓器毒性に伴う二次的な変化であると考えられた。

1000 mg/kg の生存例（投与 15 日に剖検した雄 5 例と，4 週間の投与終了後に剖検した雌 5 例）では，死亡若しくは瀕死の動物と同様の変化が軽度にみられた。動物の状態としては活動性の低下，被毛の汚れ，便の異常（便の減少，軟便），体重及び摂餌量の一過性の減少が観察された。雄の生存例における臨床検査での変化は血液濃縮を含めて，一般状態悪化又は臓器毒性に伴う二次的な変化であった。病理組織学的な変化がみられた臓器は，消化管，骨，リンパ組織及び腎であり，生存例の雌では一部，再生性の変化（腸管の陰窩過形成，骨髄造血の亢進及び脾における髄外造血の亢進）や肝細胞の小葉中心性の肥大もみられた。

100 及び 300 mg/kg の雌雄では，泌尿生殖器の組織学的変化を伴わない尿沈渣中の不均一な小滴が認められたものの，他に毒性学的に意義のある変化はみられなかった。

TK 測定の結果を表 2.6.6-16 にまとめた。C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ ともに性差が認められた（雌>雄）。100 から 1000 mg/kg にかけて，雌雄の $AUC_{(0\text{-}24h)}$ は投与量の増加以上に上昇した。4 週間反復投与によって，雌雄ともに C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ の上昇が認められた。なお，先に実施した試験と比べ

て，投与初日の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ は低かったが，投与 28 日の値は同等であった。

以上，新規不純物を含むロットを用いたラットにおける 4 週間反復投与毒性試験で観察された所見は，先に実施した試験の結果と質的に同等であり，新規不純物に起因すると考えられる新たな所見は確認されなかった。

表 2.6.6-16　ラット 4 週間反復投与毒性試験（追加試験）における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
100	1	1014	2589	5066	16,609
	28	2984	8386	9119	29,829
300	1	2634	11,137	9587	56,499
	28	6708	30,007	10,948	56,147
1000	1	5731	75,969	17,653	257,850
	15[a]	10,918	208,649	24,607[b]	425,426[b]

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ は，4 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration.
a:　雄の 1000 mg/kg では投与 15 日に投与終了し，雌の 1000 mg/kg では TK 群の状態が悪化したため，投与 15 日に測定した。
b:　n=2。
出典：添付資料 4.2.3.7.6.1（K[redacted]025）。

2.6.6.9 考察及び結論

タゼメトスタットの毒性評価は ICH S9 ガイドラインに従って実施された。

毒性試験の動物種としては，代謝プロファイルを元にラット及びカニクイザルを選択し，単回から 13 週間までの反復投与毒性試験，遺伝毒性試験（Ames 試験，in vitro 及び in vivo 小核試験），ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験，光毒性試験を実施した。また，不純物プロファイルが異なるロットでラット 4 週間反復投与毒性試験，ラットでみられた T-LBL に関する各種検討試験を実施した。

タゼメトスタットの単回経口投与では，ラット及びサルのいずれの種でも 1000 mg/kg まで死亡はみられなかった。

4 週間の反復投与毒性試験では 1000 mg/kg はいずれの種でも致死量であり，消化管毒性がみられた。13 週間の反復投与毒性試験では，ラットでは 300 mg/kg 以上で T-LBL の発生による死亡が，サルでは 600 mg/kg で死亡例が認められた。ラット及びサルの反復投与毒性試験における主な所見は，消化管毒性（潰瘍，びらん）及びリンパ組織のリンパ球減少であった。その他の重要な所見は，ラットの T-LBL 及び骨梁形成，皮膚／皮下局所の膿瘍，サルの肝細胞及びクッパー細胞の肥大と胆管過形成を伴う変化，糸球体病変であった。ラットの T-LBL とサルの胆管過形成及び糸球体病変は，いずれも 13 週間反復投与毒性試験のみで認められた変化であった。

実施したいずれの遺伝毒性試験でもタゼメトスタットによる遺伝毒性はみられなかった。

生殖発生毒性試験の結果，タゼメトスタットは催奇形性を有することが示唆された。タゼメトスタットの投与により，ラットでは 50 mg/kg，ウサギでは 100 mg/kg の用量で骨格変異がみられ，ラットの 100 mg/kg，ウサギの 200 mg/kg では骨格の異常がみられた。ラットの 200 mg/kg，ウサギの 400 mg/kg では生存胎児の減少並びに低体重がみられ，ウサギの 400 mg/kg では内臓の

異常がみられた。母動物への暴露量としては臨床用量である 800 mg の 1 日 2 回投与による暴露量（AUC）と同程度の暴露量において胚・胎児発生毒性が示唆された。

表 2.6.6-17　ラット及びウサギの胚・胎児発生毒性試験において胚・胎児発生毒性がみられた投与量での暴露量と臨床用量での暴露量の比較

動物種	投与量[a] (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (ng·h/mL)	$AUC_{(0-t)}$ Exposure Multiples[b]
ラット[c]	50	2190	14,300	1.6
ウサギ[d]	100	4390	10,100	1.1

$AUC_{(0-t)}$ = area under the concentration-time curve from zero time to time of last quantifiable concentration, C_{max} = maximum observed concentration, DG = day of gestation.
a:　タゼメトスタット臭化水素酸塩（フリー体換算）の投与量。
b:　各動物種の $AUC_{(0-t)}$ と臨床試験（E7438-J081-106）における 800 mg 1 日 2 回投与での 1 日当たりの暴露量（$AUC_{(0-12h)}$ の 2 倍：9000 ng·h/mL）との比を示した。
c:　DG 17。
d:　DG 19。
出典：添付資料 4.2.3.5.2.2（20097364），4.2.3.5.2.5（20097366），5.3.3.2.1（E7438-J081-106）。

タゼメトスタットは自然光の範囲内で光を吸収し，経口投与後の皮膚及び眼への分布が確認されている。また，BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いて実施した in vitro 光安全性試験では UV 照射による光毒性のポテンシャルを示した。そのため，タゼメトスタットを使用した臨床試験では，治療中の日光への長時間の暴露を避け，被験者は日焼け止めやサングラス，防護服の着用や日焼け用ベッドを使用しないことなど，UV 暴露を避けるための手段を講じることとした。臨床試験（E7438-G000-101, E7438-J081-106, E7438-J081-206）においては，休薬・減量の対象に至らない 1 例の光線過敏症が報告されている。

ヒトに特異的な代謝物は特定されておらず，主要な代謝物として ER-897387-00（EPZ-6930），ER-897388-00（EPZ006931）及び EPZ034163 が確認されている（2.6.4.5.1.3 項参照）。毒性試験では，ラット及びサルにおける 13 週間反復投与毒性試験，ラット及びウサギにおける胚・胎児発生毒性試験において，タゼメトスタットに加えて主要代謝物の一つである ER-897387-00 についても血漿中濃度測定を実施した。その結果，いずれの動物種においても，ヒトにおける ER-897387-00 の暴露量を超える用量まで毒性評価を実施していることが確認された。その他の代謝物の血漿中濃度については，非臨床毒性試験では測定されていない。ICH S9 ガイドラインに示されているよう，本剤は進行がんの治療に用いられる薬剤であることから，代謝物の毒性を個別に調べる必要はないと考えられた。

表 2.6.6-18　各種毒性試験におけるタゼメトスタット及び ER-897387-00 の暴露量と臨床用量における暴露量の比較

試験番号	動物種	試験種	高用量 (mg/kg)	性	タゼメトスタット		ER-897387-00	
					$AUC_{(0\text{-}24h)}$ 又は $AUC_{(0\text{-}t)}$ (ng·h/mL)	臨床用量での暴露量との比 [a]	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ 又は $AUC_{(0\text{-}t)}$ (ng·h/mL)	臨床用量での暴露量との比 [a]
K[redacted]009	ラット	13 week	600[b]	雄	285,998	32	134,816	6.2
				雌	286,031	32	103,642	4.8
20047690	サル	13 week	600[b]	雄	8117	0.9	31,036	1.4
				雌	6215	0.7	26,806	1.2
20097364	ラット	EFD	200[c]	雌	96,000	11	22,600	1.0
20097366	ウサギ	EFD	400[d]	雌	48,500	5.4	46,300	2.1

$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, $AUC_{(0\text{-}t)}$ = area under the concentration-time curve from zero time to time of last quantifiable concentration, DG = day of gestation, EFD = embryo fetal development.

a:　各動物種の AUC と臨床試験（E7438-J081-106）における 800 mg 1 日 2 回投与での 1 日当たりの暴露量（$AUC_{(0\text{-}12h)}$の 2 倍：タゼメトスタット= 9000 ng·h/mL，ER-897387-00 = 21,600 ng·h/mL）との比を示した。

b:　投与 91 日，タゼメトスタット臭化水素酸塩としての投与量。

c:　DG 17，タゼメトスタット（フリー体換算）としての投与量。

d:　DG 19，タゼメトスタット（フリー体換算）としての投与量。

出典：添付資料 4.2.3.2.3（K[redacted]009），4.2.3.2.6（20047690），4.2.3.5.2.2（20097364），4.2.3.5.2.5（20097366），5.3.3.2.1（E7438-J081-106）。

タゼメトスタットのアニリン部位からエチル基及びテトラヒドロフランが脱離した脱アルキル分解生成物である ER-897389（あるいは EPZ034163 とも表記される）は，[redacted]及び[redacted]であり，また，ヒト及び動物で検出される二次代謝産物でもある（2.6.4.5.1.3 参照）。ER-897389（EPZ034163）は in silico 解析により遺伝毒性を有する可能性があることが示唆されている。ICHQ3A / Q3B 及び ICH S9 Q&A などのガイダンスを参照し，1 日量としては 1 mg/man を超える可能性があるものの，タゼメトスタットは長期に投与される医薬品には該当しないと考えられることから，ER-897389（EPZ034163）単独による細菌を用いた復帰突然変異試験の実施は不要と判断された。なお，ER-897389（EPZ034163）は，タゼメトスタット臭化水素酸塩の原薬に含まれる不純物としては ICH M7 に従って 1 日摂取量が 10 µg を超えないよう，適切に管理される。親化合物であるタゼメトスタットは，Ames 試験並びに in vitro 及び in vivo 小核試験で陰性を示した。代謝物（ER-897389）は二次代謝物（アニリン置換基での連続的な N-脱アルキル化反応の生成物）であるため，in vitro 遺伝毒性試験での代謝活性化（S9）の存在下における形成はごくわずかであると考えられる。タゼメトスタットはがん治療に用いられる薬剤であり，濾胞性リンパ腫の患者に対するタゼメトスタット治療による潜在的なベネフィット，標準治療療法が限られていること，遺伝毒性を有する薬剤による前治療歴の可能性を考慮すると，遺伝毒性を有する可能性のある微量の二次代謝物への暴露は許容可能と考えた。

タゼメトスタットによって発生した T-LBL について

本申請の非対象であるが，小児の再発又は難治性の INI1 陰性腫瘍又は滑膜肉腫の患者を対象

とし，Epizyme 社で実施された海外 EZH-102 試験において，有害事象として T-LBL が 1 例報告されている。当該症例では，900 mg/m^2 の投与量で 14 か月間投与が行われ，成人の臨床試験と比較して高い暴露量を示した。本セクションでは，T-LBL あるいは T-ALL のリスクと EZH2 との関連性についてまとめた。非臨床毒性試験でのラットの T-LBL に関するデータは暴露量と投与期間が大きく関与していることを示している。また，成人と小児における胸腺の生理的特徴の違いと T-LBL のリスクについてもまとめた。

EZH2 阻害と T 細胞の生物学的特徴及び悪性腫瘍

EZH2 と T 細胞：EZH2 は，分化，可塑性，移動，エフェクター機能など，T 細胞が生体内で機能する上において様々な役割を果たす。EZH2 は，胸腺における胸腺細胞の発達の様々な段階で発現し，T 細胞特異的遺伝子発現パターンと系統選択の安定化における役割が示唆されている（Raaphorst, et al., 2001）。具体的には，EZH2 により次のことが示されている。（1）T 細胞特異的サイトカイン及び T 細胞シグナル伝達分子の発現を調節することにより，T 細胞の分化と可塑性を調節する（Yang, et al, 2015, Zhang, et al., 2014, Dobenecker, et al., 2015）。（2）T 細胞を含むリンパ球のインテグリン非依存性の移動を阻害する（Gunawan, et al., 2015）。（3）T 制御細胞の特性と機能，及びエフェクターT 細胞の生存と増殖を制御する（Yang, et al, 2015, Zhang, et al., 2014, Arvey, et al., 2014, DuPage, et al., 2015, Tumes, et al. 2013, He, et al., 2013）。すなわち，腫瘍内微小環境において，EZH2 は T 細胞誘引ケモカインの産生を抑制することにより，エフェクターT 細胞遊走及び抗腫瘍免疫を阻害するものと考えられる（Peng, et al., 2015, Nagarsheth, et al., 2016）。

T 細胞悪性腫瘍と EZH2 の関係：種々の T 細胞悪性腫瘍における EZH2 の正確な役割についてはまだ多くが解明されてはいないが，最近の研究により，EZH2 は広範囲のヒト T 細胞悪性腫瘍で高度に発現することが判明しており，EZH2 発現の高さは増殖の速さと関連している可能性がある（Shi, et al., 2015）。ヒト T リンパ向性ウイルス 1 型成人 T 細胞白血病/リンパ腫では，EZH2 はマイクロ RNA のエピジェネティックな抑制を介して NFκB シグナル伝達を活性化しており，EZH2 阻害により増殖抑制が起こるとの報告がある（Yamagishi, et al., 2012, Sasaki, et al., 2011）。遺伝的 EZH2 欠損による発がん促進が報告されている一方で，これらの現象と EZH2 阻害剤の臨床使用との関連性については完全には明らかにされていない（Hock, 2012）。

ヒト T-LBL 及び T-ALL：T-LBL は，胸腺由来の未成熟 T 細胞の悪性腫瘍と考えられている。リンパ芽球性リンパ腫の約 90%は T 細胞表現型であり，一般的に若年成人及び青年に発生し，小児の 29%及び診断時年齢の中央値が 25 歳である成人非ホジキンリンパ腫の 2%を占める（Lai, et al., 2013, Cortelazzo, et al., 2017, Lones, et al., 2007）。T-LBL は，形態学的及び免疫表現型的に T-ALL と明確には区別できず，いずれも T リンパ球前駆細胞から生じる（Portell, et al., 2012, Patel, et al., 2014）。2 つの疾患は類似しているものの臨床症状には違いがみられる（Burkhardt, et al., 2009）。成人及び小児 T LBL のいずれの初期臨床症状においても，25%未満の骨髄芽球を含む縦隔又はリンパ節腫脹がみられるが，成人での T-LBL 患者では，胸腺病変が少なく，リンパ節及び骨髄病変が大きい傾向がある（Baleydier, et al., 2008, Swerdlow, et al., 2008, Campo, et al., 2011）。対照的に，T-ALL 症例は骨髄及び末梢血での増殖が主体であり，骨髄芽球の割合は 25%を超える（Swerdlow, et al., 2008, Campo, et al., 2011）。

EZH2 の機能低下と T-ALL：ポリコーム抑制複合体 2（PRC2）の機能低下を示唆する変化は，

ヒト T-ALL では最大 25%でみられ，特に T 細胞発達の初期段階に該当する T-ALL でより頻度が高い（Ntziachristos, et al., 2012, Zhang, et al., 2012, Neumann, et al., 2015）。マウスでは EZH2 の不活化による，T-ALL の発生が報告されている（Simon, et al., 2012, Mochizuki-Kashio, et al., 2015）。PRC2 機能消失による T-ALL の前臨床モデルでは，CD4 及び CD8，CD3 表面マーカー発現が混在する表現型がみられる。Notch 関連 T-ALL マウスモデル及びヒト T-ALL 標本の検討により，Notch 転写因子と PRC2 複合体の拮抗関係が示されている（Ntziachristos, et al., 2012）。PRC2 の遺伝的欠損では，Notch 標的遺伝子における H3K27me3 の抑制の程度が低くなる結果，Notch 誘導遺伝子発現が上昇すると考えられる。EZH2 変異は小児 T-ALL ではまれであるが EZH2 プロモーターの過剰メチル化とそれによる H3K27me3 の減少が確認されている（Schaefer, et al., 2016）。

EZH2 の機能低下と T-LBL：T-ALL では EZH2 の機能低下が確認されているものの，PRC2 の機能低下と T-LBL に関する報告は少ない。T-ALL と異なり，T-LBL のサンプルは，PRC2 複合体及び活性サブユニットである EZH2 の機能低下の原因となる遺伝子配列の解析や，胚性外胚葉発生や SUZ12 に関してほとんど解析が進んでいない。しかし，ある小児 T-LBL 患者から採取した腫瘍組織の全エクソーム配列解析では，SUZ12 のナンセンス変異が同定されている（Bonn, et al., 2015）。

以上のように，各種研究により EZH2 は胸腺の発達や T 細胞の分化・可塑性・シグナリング・遊走など種々の役割を担っていることが報告されているが，T 細胞の腫瘍における EZH2 阻害の正確な役割はまだ明らかになっていない。最近の研究から，EZH2 は多くのヒト T 細胞悪性腫瘍で高度に発現しており，EZH2 高発現は増殖の高さと関連することが示唆されている。さらに，各種細胞モデルにより，EZH2 抑制が増殖抑制につながることも示されている。PRC2 複合体機能の低下については，EZH2 ノックアウトマウスでの T-ALL の発生など，T-ALL での EZH2 の機能低下との関連性が報告されている一方で，T-LBL の発生との関係性についてはほとんど報告されていない。しかしながら，ラットを用いたタゼメトスタットでの毒性試験で T-LBL が観察されたこと，及び EZH2 に関する文献などの情報を考慮すると，詳細な発生メカニズムの特定には至らないものの，EZH2 阻害と T-LBL の発生には関連があるものと考えられる。

タゼメトスタット投与による成熟ラット及び幼若ラットでの T-LBL について

成熟及び幼若の SD ラットを用いたタゼメトスタットの 13 週間反復投与毒性試験において T-LBL の発生がみられた。これらの試験では，投与開始時に約 8 週齢又は 7 日齢となるラットを用いた。同じ週齢あるいは日齢の成熟ラット及び幼若ラットを用いた 4 週間投与による反復投与毒性試験では T-LBL の発生はみられなかった。13 週間反復投与毒性試験のまとめを表に示す。

表 2.6.6-19　ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験における主な毒性所見

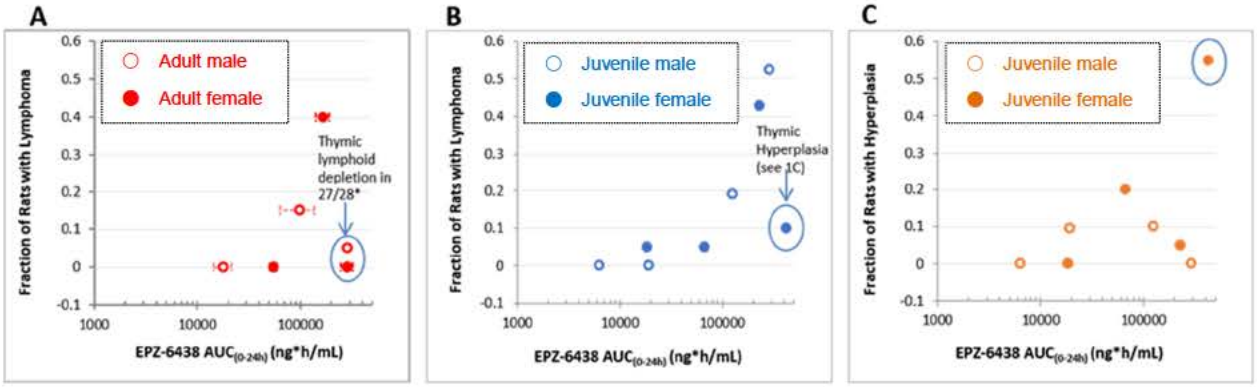
試験番号	投与開始時の週齢	投与量 [a] (mg/kg/day)	T-LBL の発生頻度 [b,c]	胸腺過形成の発現頻度
K[redacted]009	8 週齢	100	0/28	None
		300	11/40	None
		600	1/40	None
[redacted]-154506	7 日齢	50	1/40	0/40
		100	1/41	6/41
		150/300[d]	11/40	3/40
		150/600[d]	12/40	11/40

T-LBL＝T-cell lymphoblastic lymphoma.
a:　タゼメトスタット臭化水素酸塩としての投与量
b:　主試験群及び回復群を含めた例数（雌雄の合計）
c:　T-LBL で死亡あるいは早期解剖となった個体，トキシコキネティクス群を含めた例数
d:　7 日齢から 21 日齢までは 150 mg/kg の投与を行い，その後 300 mg/kg あるいは 600 mg/kg に用量を増加して投与を実施した
出典：添付資料 4.2.3.2.3（K[redacted]009），4.2.3.5.4.2（[redacted]-154506）。

高用量での T-LBL の発生率は低かったものの，成熟ラット及び幼若ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験での T-LBL の発生は概ね用量依存的にみられた。これは高用量では胸腺でのリンパ球減少といった胸腺毒性や T-LBL の前段階と考えられる胸腺過形成がみられたことによるものと推察される。

成熟ラットにおける T-LBL の発生率とタゼメトスタットの暴露の関係を図 2.6.6-1A に示す。また，幼若ラットにおける T-LBL あるいは胸腺過形成とタゼメトスタット暴露の関係を図 2.6.6-1B 及び図 2.6.6-1C に示す。

図 2.6.6-1　成熟ラット及び幼若ラットを用いた 13 週反復投与毒性試験における T-LBL 並びに胸腺過形成の発生頻度と暴露量の関係



Female and male rats plotted separately for clarity as gender differences in tazemetostat exposure were observed. Gender differences in drug exposure are often seen in rodents, due to gender-based differences in drug metabolism (Waxman, et al., 2009). Similar gender-related exposure differences are not seen in adult patients receiving tazemetostat. EPZ-6438= tazemetostat.
(A) Fraction of adult male and female rats with T-LBL vs. exposure (K[redacted]009). *main study rats.
(B) Fraction of juvenile male and female rats with T-LBL vs. exposure relationship ([redacted]-154506).
(C) Fraction of juvenile male and female rats with thymic hyperplasia vs. exposure relationship ([redacted]-154506). Thymic hyperplasia was not seen in adult rats treated with tazemetostat.
$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 24 hours postdose; F = female; M = male; T-LBL = T-cell lymphoblastic lymphoma.
出典：添付資料 4.2.3.2.3（K[redacted]009），4.2.3.5.4.2（[redacted]-154506）。

成熟ラット及び幼若ラットにおける T-LBL の最初の発生は，13 週間反復投与期間中，投与開始から約 9 週間経過した後にみられた。4 週間反復投与では期間中あるいは回復期間中には T-LBL はみられなかった（2.6.6.3.2 , 2.6.6.6.2.1 ）。13 週間反復投与で T-LBL の発生がみられた用量における暴露と同等以上の暴露でも 4 週間投与試験では T-LBL の発生がみられなかったことから，暴露量に加え投与期間が T-LBL の発生に関与していることが示唆された。

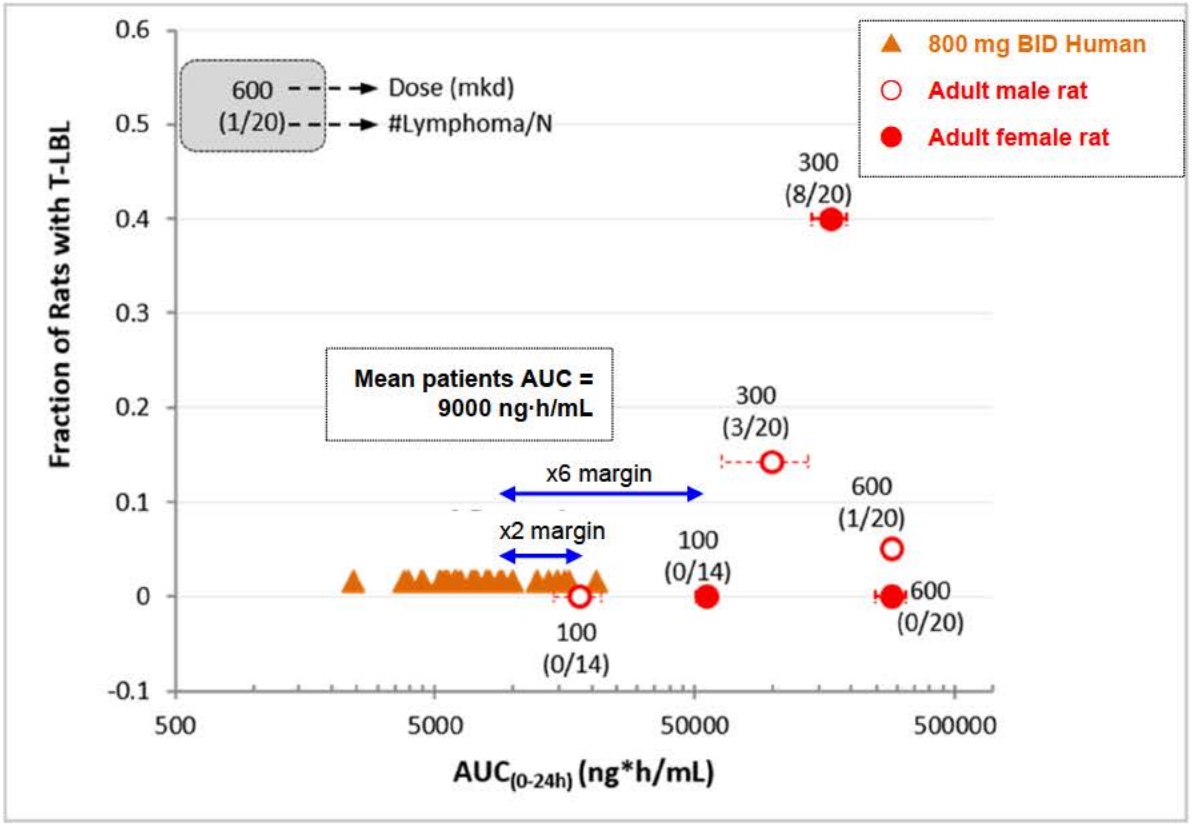
表 2.6.6-20　成熟ラットを用いた 4 週間及び 13 週間反復投与毒性試験における暴露量と T-LBL の発生頻度

Dose[a] (mg/kg)	4-Week Adult Rat Study Incidence of T-LBL: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)		13-Week Adult Rat Study Incidence of T-LBL: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	
	Males	Females	Males	Females
0	0/20	0/20	0/20	0/20
100	0/20: 8484	0/20: 35,707	0/14: 18,033	0/14: 55,037
300	0/20: 34,764	0/20: 95,188	3/20: 99,546	8/20[c]: 166,305
1000/600[b]	0/20: 600,977	0/20: 425,124	1/20: 285,998	0/20: 286,031

Concentrations of tazemetostat were expressed as the free base of tazemetostat. Tazemetostat was suspended in a 0.5% methylcellulose and 0.1% Tween 80 solution.
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 24 hours postdose; HBr = hydrobromide; TK = toxicokinetic; T-LBL = T-cell lymphoblastic lymphoma.
a: Dose of HBr salt, salt factor = 0.8762.
b: High dose level was 1000 mg/kg in the 4-week study and 600 mg/kg in the 13-week study; in the 4-week study, due to mortality observed, female TK sampling occurred on Day 22.
c: T-LBL in 1 recovery animal.
出典：添付資料 4.2.3.2.2（K[redacted]004），4.2.3.2.3（K[redacted]009）。

成熟ラットの 13 週間反復投与毒性試験では T-LBL は $AUC_{(0\text{-}t)}$として 99,600 ng·h/mL を超える用量でみられた。T-LBL の発生がみられなかった 100 mg/kg における暴露量 18,000 ng·h/mL（雄），55,000 ng·h/mL（雌）は臨床用量である 800 mg 1 日 2 回投与での暴露量 9000 ng·h/mL のおおよそ 2～6 倍であり，成人の患者に対しては一定の安全域を有しているものと考えられた。

図 2.6.6-2　成熟ラット 13 週反復投与毒性試験における T-LBL の発生頻度並びに暴露量と臨床試験における暴露量の比較



Relationship of T-LBL vs. exposure from the 13-week rat study in adult rats (K[redacted]009) overlaid onto the clinical exposures (triangles) in adult patients at 800 mg BID. Female and male rats plotted separately for clarity as gender differences in tazemetostat exposure were observed. Gender differences in drug exposure are often seen in rodents, due to gender-based differences in drug metabolism.[Error! Bookmark not defined.] Similar gender-related exposure differences are not seen in adult patients receiving tazemetostat.
AUC = area under the concentration-time curve; $AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 24 hours postdose; BID = twice daily; F = female; M = male; mkd = mg/kg/day; T-LBL = T-cell lymphoblastic lymphoma.
出典：添付資料 4.2.3.2.3（K[redacted]009），5.3.3.2.1（E7438-J081-106）。

幼若ラットを用いた試験において，雄の 50 mg/kg（PND98 での $AUC_{(0\text{-}t)}$ = 6340 ng·h/mL）では T-LBL の発生はみられなかった。雌の 50 mg/kg 及び雌雄の 100 mg/kg（$AUC_{(0\text{-}t)}$ = 18,500～67,200 ng·h/mL）では少数例の T-LBL がみられ，雌雄の 300 mg/kg 以上（$AUC_{(0\text{-}t)}$ = 125,000～290,000 ng·h/mL）では高い頻度で T-LBL の発生がみられた。

これらの結果は幼若ラットでは成熟ラットに比較して低い暴露量で T-LBL の発生がみられる

ことを示していた。

ラットにおいてみられた T-LBL に関する検討

タゼメトスタットを用いたラットでの 13 週間投与毒性試験における T-LBL 発生に関するメカニズム解明のため，構造が異なるが EZH2 に対し同様の阻害作用を有する EPZ-10961 と EPZ011989 の 2 つの化合物について追加の 13 週間毒性試験を実施した（2.6.6.8.2.4 及び 2.6.6.8.2.6 参照）。

その結果，いずれの化合物の試験においてもタゼメトスタットでの試験とほぼ同じ時期（投与開始後 8～10 週）に T-LBL の発生がみられた。胸腺に対する毒性（リンパ球減少）は EPZ-10961 の 300 mg/kg でみられ，この用量では T-LBL はみられなかった。

タゼメトスタット，EPZ-10961，及び EPZ011989 を用いた 13 週間反復投与投与毒性試験での T-LBL 発生に関する類似性を考慮すると，T-LBL の発症が EZH2 阻害という作用機序に起因している可能性を強く示唆するものと考えられた。

タゼメトスタット，EPZ-10961，及び EPZ011989 の投与によってみられた T-LBL に関し，追加の検討として免疫表現型検査，Notch シグナル伝達に対する影響の検討，レトロウイルスの再活性化の検討，及びトランスクリプトーム解析を実施した。

タゼメトスタットを用いた成熟ラットでの 13 週間反復投与毒性試験からの標本を用いた検討の結果，Notch シグナル伝達経路（Hes1，Hey1 及び Dtx1）への影響の可能性は低く，また，RaLV のレトロウイルス再活性化が原因となっている可能性も低いと考えられた。

胸腺の退縮による T-LBL リスクの違い

a. T 細胞の成長と T-LBL/T-ALL

T-LBL 及び T-ALL は，胸腺の T リンパ球前駆細胞から発生し，形態学的及び免疫表現型的に判別が難しいが，各疾患の臨床症状には特徴の違いがみられる（Portell, et al., 2012, Patel, et al., 2014, Burkhardt, et al., 2009）。胸腺は成熟ナイーブ T 細胞の産生を担い，それが末梢リンパ器官に流れ，そこで抗原に反応してエフェクターT 細胞に分化し，重要な免疫学的機能を果たす。骨髄から移動した未熟な T リンパ球前駆細胞は，胸腺皮質において，T 細胞発達の初期段階の T 細胞受容体遺伝子再配列の完了前に，爆発的な増殖を遂げる。その際，Notch リガンドである DLL4 や，細胞増殖の重要な調節因子である MYC といった Notch 標的遺伝子などによる Notch シグナル伝達が重要であるが（Sanchez-Martin, et al., 2017），タゼメトスタット投与による T-LBL の発生については Notch シグナル伝達への影響によるものではないことが示唆された。

b.胸腺の退縮と T-LBL,T-ALL

ヒト及びげっ歯類のいずれにおいても加齢に伴い胸腺が萎縮する胸腺退縮は生涯を通じた継続的なプロセスとして知られ，「未だ教育されていない」ナイーブ T 細胞の新たな生産は減少する。ナイーブ T 細胞が徐々に減少することにより T 細胞受容体のレパートリーと T 細胞が反応できる抗原の多様性は減少していく（Goronzy, et al., 2005, Salam, et al. 2013）。さらに，T-LBL/ T-ALL の細胞の由来である T 細胞前駆体の減少は，加齢に伴いヒトにおける T-LBL/T-ALL の発生率が低下することに関係すると考えられる（Palmer, et al., 2018）。

ヒトの場合，生後 1 年ごろに胸腺のサイズは最大に達し，その後思春期まで年間約 3%の割合

で退縮し，その後思春期から終末期まで年間約 1%の割合で退縮していく（Gruver, et al., 2007, Steinmann, et al., 1985）。胸腺の退縮に伴い，胸腺重量は減少し，胸腺上皮は血管周囲を中心とする脂肪組織にゆっくりと置換される。その結果，高齢者（60 歳以上）の胸腺は一般に脂肪組織から成り，活発なリンパ球形成はほとんどあるいは全くみられない状態になる（Lynch, et al., 2009）。胸腺退縮はげっ歯類でも起こるが，動物の寿命が短いことを反映し増大・退縮速度に違いがみられる。ラットでは，出生後最初の数週間で胸腺重量が増加し，生後 1 ヵ月より減少に転じ 6 ヵ月齢までに胸腺上皮の約 30%が脂肪組織に置換される。成熟ラットの 13 週間試験（2.6.6.3.3 ）の対照群の剖検時（約 6 ヵ月齢）における胸腺の組織写真からは，胸腺退縮がさほど進行していなかったことが確認されている。さらに，6，8，10，及び 12 ヵ月齢の未処置のラットで，病理組織学及びフローサイトメトリーにより胸腺退縮の程度を評価した結果，6 ヵ月齢（13 週試験の剖検時の週齢）の胸腺退縮の程度はごく軽度から中程度であった。

ヒトとげっ歯類のいずれにおいても加齢に伴う胸腺の退縮は，生涯継続する胸腺リンパ球形成低下のプロセスである。胸腺リンパ球形成の低下は，胸腺で増殖する未熟なTリンパ球前駆細胞の急激な減少によって特徴づけられるが，後天的な腫瘍発生性突然変異及びエピジェネティックな変化を有する T-LBL / T-ALL の発生の「リスクがある」細胞数の減少につながる。そしてこの年齢に依存する現象は，ヒトにおいて加齢に伴い T-LBL / ALL 発生率が低下すること，及びタゼメトスタットの投与では T-LBL リスクは幼若ラットの方が高いことの説明になり得るものと考えられる（図 2.6.6-1A, 図 2.6.6-1B）

よって，胸腺の継続的な退縮及び T-LBL / T-ALL の由来細胞である未熟な胸腺前駆細胞の増殖の減少は，タゼメトスタットの治療を受ける患者での T-LBL / T-ALL 発生リスクが年齢依存的に低下する可能性を示唆すると考えられる。

これまでに得られているデータより，成熟あるいは幼若ラットに関わらず，13 週間投与毒性試験で使用されたラットの胸腺退縮の程度は，タゼメトスタットを用いた成人での臨床試験の被験者で想定される胸腺の状態を反映していないと考えられる一方，活発な胸腺リンパ球形成がみられる小児集団でのリスクの評価に，より高い妥当性を有していると考えられた。

T-LBL の発生がみられた小児患者では，タゼメトスタットの 800 mg 1 日 2 回投与を受けた成人患者よりも高い暴露を示していた。現在まで，タゼメトスタットの投与を受けた成人患者には T-LBL の発生はみられていない。成人患者の T-LBL の $AUC_{(0\text{-}24h)}$を基にした安全域（成熟ラットと比較）は，800 mg BID で約 2～6 倍であった。上記の臨床及び非臨床データと入手可能な文献からの考察により，T-LBL に関する主要な 3 つの危険因子としては（1）より高いタゼメトスタットの暴露（2）投与期間の長さ（3）年齢に伴う胸腺の退縮の進行度が低いこと，であると考えられた。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

Arvey A, van der Veeken J, Samstein R, Feng Y, Stamatoyannopoulos J, Rudensky A. Inflammation-induced repression of chromatin bound by the transcription factor Foxp3 in regulatory T-cells. Nat

Immunol. 2014;15(6):580-7.

Baleydier F, Decouvelaere AV, Bergeron J, Gaulard P, Canioni D, Bertrand Y, et al. T cell receptor genotyping and HOXA/TLX1 expression define three T lymphoblastic lymphoma subsets which might affect clinical outcome. Clin Cancer Res. 2008;14(3):692-700.

Bonn B, Huge A, Rohde M, Oschlies I, Klapper W, Voss R, et al. Whole exome sequencing hints at a unique mutational profile of paediatric T-cell lymphoblastic lymphoma. Br J Haematol. 2015;168(2):308 13.

Burkhardt B, Reiter A, Landmann E, Lang P, Lassay L, Dickerhoff R, et al. Poor outcome for children and adolescents with progressive disease or relapse of lymphoblastic lymphoma: a report from the berlin frankfurt-muenster group. J Clin Oncol. 2009;27(20):3363-9.

Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe E. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. Blood. 2011;117(19):5019-32.

Cortelazzo S, Ferreri A, Hoelzer D, Ponzoni M. Lymphoblastic lymphoma. Crit Rev Oncol Hematol. 2017;113:304-17.

Courtney CL, Kim SN, Walsh KM, Watkins JR, Dominick MA. Proliferative bone lesions in rats given anticancer compounds. Toxicol Pathol. 1991;19(2):184-8.

Dang CV, MYC on the Path to Cancer, Cell. 2012 March 30; 149(1): 22–35.

Dose M, Emmanuel A, Chaumeil J, Zhang J, Sun T, Germar K, et al. beta-Catenin induces T-cell transformation by promoting genomic instability. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(1):391-6.

Dobenecker M, Kim J, Marcello J, Fang T, Prinjha R, Bosselut R, et al. Coupling of T cell receptor specificity to natural killer T cell development by bivalent histone H3 methylation. J Exp Med. 2015;212(3):297-306.

DuPage M, Chopra G, Quiros J, Rosenthal W, Morar M, Holohan D, et al. The chromatin-modifying enzyme Ezh2 is critical for the maintenance of regulatory T cell identity after activation. Immunity. 2015;42(2):227-38.

Elin RJ, Robertson EA, Johnson E. Bromide interferes with determination of chloride by each of four methods. Clin Chem. 1981;27(5):778-9.

Goronzy J, Weyand C. T cell development and receptor diversity during aging. Curr Opin Immunol. 2005;17(5):468-75.

Gruver A, Hudson L, Sempowski G. Immunosenescence of ageing. J Pathol. 2007;211(2):144-156.

Gunawan M, Venkatesan N, Loh J, Wong J, Berger H, Neo W, et al. The methyltransferase Ezh2 controls cell adhesion and migration through direct methylation of the extranuclear regulatory protein

talin. Nat Immunol. 2015;16(5):505-16.

He S, Xie F, Liu Y, Tong Q, Mochizuki K, Lapinski P, et al. The histone methyltransferase Ezh2 is a crucial epigenetic regulator of allogeneic T-cell responses mediating graft-versus-host disease. Blood. 2013;122(25):4119-28.

Hock H. A complex Polycomb issue: the two faces of EZH2 in cancer. Genes Dev. 2012;26(8):751-5.

Lai C, Dunleavy K. NK/T-cell lymphomas in children. Best Pract Res Clin Haematol. 2013;26(1):33-41.

Larmonie N, Dik W, Meijerink J, Homminga I, van Dongen J, Langerak A. Breakpoint sites disclose the role of the V(D)J recombination machinery in the formation of T-cell receptor (TCR) and non-TCR associated aberrations in T-cell acute lymphoblastic leukemia. Haematologica. 2013;98(8):1173-84.

Lee SY, Howard TM, Rasheed S. Genetic analysis of the rat leukemia virus: influence of viral sequences in transduction of the c-ras proto-oncogene and expression of its transforming activity. J Virol. 1998;72(12):9906-17.

Liu P, Li P, Burke S. Critical roles of Bcl11b in T-cell development and maintenance of T-cell identity. Immunol Rev. 2010;238(1):138-49.

Lones MA, Heerema NA, Le Beau MM, Spostod R, Perkinsf SL, Kading ME, et al. Chromosome abnormalities in advanced stage lymphoblastic lymphoma of children and adolescents: a report from CCG-E08. Cancer Genet Cytogenet. 2007;172(1):1-11.

Lynch H, Goldberg G, Chidgey A, Van den Brink M, Boyd R, Sempowski G. Thymic involution and immune reconstitution. Trends Immunol. 2009;30(7):366-73.

Mochizuki-Kashio M, Aoyama K, Sashida G, Oshima M, Tomioka T, Muto T, et al. Ezh2 loss in hematopoietic stem cells predisposes mice to develop heterogeneous malignancies in an Ezh1-dependent manner. Blood. 2015;126(10):1172-83.

Morrison G. Serum chloride. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. Clinical methods: the history, physical, and laboratory examinations. Boston: Butterworths; 1990. p. 890-4.

Nagarsheth N, Peng D, Kryczek I, Wu K, Li1 W, Zhao E, et al. PRC2 Epigenetically Silences Th1-Type Chemokines to Suppress Effector T-Cell Trafficking in Colon Cancer. Cancer Res. 2016;76(2):275-82.

Neumann M, Vosberg S, Schlee C, Heesch S, Schwartz S, Gökbuget N, et al. Mutational spectrum of adult T-ALL. Oncotarget. 2015;6(5):2754-66.

Ntziachristos P, Tsirigos A, Van Vlierberghe P, Nedjic J, Trimarchi T, Flaherty M,et al. Genetic inactivation of the polycomb repressive complex 2 in T cell acute lymphoblastic leukemia. Nat Med. 2012;18(2):298-301.

Palmer S, Albergante L, Blackburn C, Newmana T. Thymic involution and rising disease incidence with age. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018;115(8):1883-8.

Patel B, Kang Y, Cui K, Litt M, Riberio MSJ, Deng C, et al. Aberrant TAL1 activation is mediated by an interchromosomal interaction in human T-cell acute lymphoblastic leukemia. Leukemia. 2014;28(2):349-61.

Peng D, Kryczek I, Nagarsheth N, Zhao L, Wei S, Wang W, et al. Epigenetic silencing of TH1-type chemokines shapes tumour immunity and immunotherapy. Nature. 2015;527(7577):249-53.

Portell CA, Sweetenham JW. Adult lymphoblastic lymphoma. Cancer J. 2012;18(5):432 8.

Raaphorst F, Otte A, van Kemenade F, Blokzijl T, Fieret E, Hamer K, et al. Distinct BMI-1 and EZH2 expression patterns in thymocytes and mature T cells suggest a role for Polycomb genes in human T cell differentiation. J Immunol. 2001;166(10):5925-34.

Salam N, Rane S, Das R, Faulkner M, Gund R, Kandpal U, et al. T cell ageing: effects of age on development, survival & function. Indian J Med Res. 2013;138(5):595-608.

Sanchez-Martin M, Ferrando A. The NOTCH1-MYC highway toward T-cell acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2017;129(9):1124-33.

Sasaki D, Imaizumi Y, Hasegawa H, Osaka A, Tsukasaki K, Choi Y, et al. Overexpression of Enhancer of zeste homolog 2 with trimethylation of lysine 27 on histone H3 in adult T-cell leukemia/lymphoma as a target for epigenetic therapy. Haematologica. 2011;96(5):712-9.

Schaefer IM, Fletcher CD, Hornick JL. Loss of H3K27 trimethylation distinguishes malignant peripheral nerve sheath tumors from histologic mimics. Mod Pathol. 2016;29(1):4-13.

Shi X, Ma A, Xue L, Li M, Nguyen H, Yang J, et al. miR-124 and Androgen Receptor Signaling Inhibitors Repress Prostate Cancer Growth by Downregulating Androgen Receptor Splice Variants, EZH2, and Src. Cancer Res. 2015;75(24):5309-17.

Simon C, Chagraoui J, Krosl J, Gendron P, Wilhelm B, Lemieux S, et al. A key role for EZH2 and associated genes in mouse and human adult T-cell acute leukemia. Genes Dev. 2012;26(7):651-6.

Steinmann G, Klaus B, Muller-Hermelink H. The involution of the ageing human thymic epithelium is independent of puberty. A morphometric study. Scand J Immunol. 1985;22(5):563-75.

Stoye J, Moroni C, Coffin J. Virological events leading to spontaneous AKR thymomas. J Virol. 1991;65(3):1273-85.

Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. (Eds.): WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon France: IARC Press; 2008. p.149-176.

Telesnitsky A, Goff S. Reverse Transcriptase and the Generation of Retroviral DNA. In: Coffin J, Hughes S, Varmus H, eds. Retroviruses. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1997.

Tumes D, Onodera A, Suzuki A, Shinoda K, Endo Y, Iwamura C, et al. The polycomb protein Ezh2

regulates differentiation and plasticity of CD4(+) T helper type 1 and type 2 cells. Immunity. 2013;39(5):819-32.

Waxman DJ, Holloway MG. Sex differences in the expression of hepatic drug metabolizing enzymes. Mol Pharmacol. 2009;76(2):215-28.

Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Yamochi T, Kagami Y, Tsutsumi A, et al. Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF-kappaB pathway in adult T cell leukemia and other cancers. Cancer Cell. 2012;21(1):121-35.

Yang X, Jiang K, Hirahara K, Vahedi G, Afzali B, Sciume G, et al. EZH2 is crucial for both differentiation of regulatory T cells and T effector cell expansion. Sci Rep. 2015;5:10643.

Zhang J, Ji F, Liu Y, Lei X, Li H, Ji G, et al. Ezh2 regulates adult hippocampal neurogenesis and memory. J Neurosci. 2014;34(15):5184-99.

Zhang X, Zhao X, Fiskus W, Lin J, Lwin T, Rao R, et al. Coordinated silencing of MYC-mediated miR-29 by HDAC3 and EZH2 as a therapeutic target of histone modification in aggressive B-Cell lymphomas. Cancer Cell. 2012;22(4):506-23.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス成績の一覧 8
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 10
2.6.7.5 単回投与毒性試験 11
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 12
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 13
2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験 34
2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験 39
2.6.7.10 がん原性試験 40
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 41
2.6.7.12 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 44
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 45
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 54
2.6.7.15 生殖発生毒性試験：幼若動物を用いた試験 55
2.6.7.16 局所刺激性試験 76
2.6.7.17 その他の毒性試験 77

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: Tazemetostat

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Daily Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity							
Rat/Sprague Dawley	PO	Single	100, 300, 1000	No	Eisai Co., Ltd.	T[redacted]030	4.2.3.1.1
Repeated-Dose Toxicity							
Rat/Sprague Dawley	PO	7 days	0, 100, 300, 1000	No	Eisai Co., Ltd.	T[redacted]032	4.2.3.2.1
Rat/Sprague Dawley	PO	4 weeks	0, 100, 300, 1000	Yes	Sunplanet Co., Ltd.	K[redacted]004	4.2.3.2.2
Rat/Sprague Dawley	PO	13 weeks	0, 100, 300, 600	Yes	Sunplanet Co., Ltd.	K[redacted]009	4.2.3.2.3
Monkey/Cynomolgus	PO	Single (dose escalation) 5 days	100, 300, 1000[c] 300, 1000[d]	No	[redacted]	20024292	4.2.3.2.4
Monkey/Cynomolgus	PO	4 weeks	0, 100, 300, 1000/600[e]	Yes	[redacted]	20024293	4.2.3.2.5
Monkey/Cynomolgus	PO	13 weeks	0, 100, 300, 600[f]	Yes	[redacted]	20047690	4.2.3.2.6
Genotoxicity							
Bacterial reverse mutation assay/*S.typhimurium* TA98, TA100, TA1535	In vitro	NA	Up to 5000 µg/plate with and without S9	No	[redacted]	864270	4.2.3.3.1.1
Bacterial reverse mutation assay/*S.typhimurium* TA1535, TA1537, TA98, TA100, *E. Coli* WP2 *uvrA*	In vitro	NA	Up to 5000 µg/plate with and without S9	Yes	[redacted]	9600848	4.2.3.3.1.2
Micronucleus/human peripheral blood lymphocytes	In vitro	NA	Up to 250 µg/mL with S9; up to 110 µg/mL without S9	Yes	[redacted]	9600891	4.2.3.3.1.3
Micronucleus/Rat/Sprague Dawley	PO	2 days	0, 500, 1000, 2000	Yes	[redacted]	9800206	4.2.3.3.2.1

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Daily Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Reproduction Toxicity							
DRF EFD study in rats	PO	11 days	100, 300, 600	No	[redacted]	20097363	4.2.3.5.2.1
EFD study in rats	PO	11 days	50, 100[g], 200	Yes	[redacted]	20097364	4.2.3.5.2.2
Acute DRF study in rabbits	PO	5 days	0, 250, 500, 1000	No	[redacted]	20097367	4.2.3.5.2.3
DRF EFD study in rabbits	PO	13 days	0, 150, 250, 450	No	[redacted]	20097365	4.2.3.5.2.4
EFD study in rabbits	PO	13 days	100, 200, 400[g]	Yes	[redacted]	20097366	4.2.3.5.2.5
Rat (juvenile)/Sprague Dawley	PO	4 weeks	0, 50, 150, 500, 1000	No	[redacted] (旧 [redacted])	[redacted]-779008	4.2.3.5.4.1
Rat (juvenile)/Sprague Dawley	PO	13 weeks	0, 50[h], 100, 300, 600	Yes	[redacted] (旧 [redacted])	[redacted]-154506	4.2.3.5.4.2
Other Toxicity Studies							
Mechanistic Studies							
Lineage analysis of the cell in lymphoid and hematopoietic tissues (using samples from 13-week study, Study No. K[redacted]009)	Ex vivo	NA	NA	No	Eisai Co., Ltd.	W-20[redacted]1042	4.2.3.7.3.1
Rat leukemia virus reintegration assay (using samples from 13-week study, Study No. K[redacted]009)	Ex vivo	NA	NA	No	[redacted]	[redacted]-CR-2917	4.2.3.7.3.2

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Daily Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Notch gene expression analyses (using samples from 13-week study, Study No. K[redacted]009)	Ex vivo	NA	NA	No	[redacted]	EPZ-6438-PD012	4.2.3.7.3.3
EPZ-10961 investigative study/Rat/Sprague Dawley	PO	13 weeks	0, 50, 100, 300	Yes	Sunplanet Co., Ltd.	K[redacted]040	4.2.3.7.3.4
Lineage analysis of thymus tissue from EPZ-10961 13-week study; interim assessment (using samples from 13-week study, Study No. K[redacted]040)	Ex vivo	NA	NA	No	Eisai Co., Ltd.	M[redacted]002	4.2.3.7.3.5
Thymus sample collection of EPZ-10961 13-week study (using samples from 13-week study, Study No. K[redacted]040)	Ex vivo	NA	NA	No	Eisai Co., Ltd.	M[redacted]004	4.2.3.7.3.6
Lineage analysis of thymus cells from EPZ-10961 13-week study; terminal assessment (using samples from 13-week study, Study No. K[redacted]040)	Ex vivo	NA	NA	No	Eisai Co., Ltd.	M[redacted]006	4.2.3.7.3.7
EPZ011989 investigative study/Rat/Sprague Dawley	PO	13 weeks	0, 100, 300, 600	No	[redacted]	[redacted]-154502	4.2.3.7.3.8
Notch target gene expression analysis from EPZ011989 13 week study (using samples from 13-week study, Study No. [redacted]-154502)	Ex vivo	NA	NA	No	[redacted]	EPZ-6438-PD014	4.2.3.7.3.9
Myc gene expression analysis from EPZ011989 13-week study (using samples from 13-week study, Study No. [redacted]-154502)	Ex vivo	NA	NA	No	[redacted]	EPZ-6438-PD015	4.2.3.7.3.10
RNAseq data analysis from EPZ011989 13-week study (using samples from 13-week study, Study No. [redacted]-154502)	Ex vivo	NA	NA	No	[redacted]	EPZ-6438-PD016	4.2.3.7.3.11

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Daily Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Studies on Impurities							
Rat/Sprague Dawley (additional study for new impurities)	PO	4 weeks	0, 100, 300, 1000	Yes	Sunplanet Co., Ltd.	K[redacted]025	4.2.3.7.6.1
Other Studies							
Phototoxicity/mouse BALB/c 3T3 fibroblasts	In vitro	NA	1.78 to 100 µg/mL	Yes	[redacted]	20079676	4.2.3.7.7.1
Thymic involution study/ Rat/Sprague Dawley	NA	NA	NA	No	[redacted]	[redacted]-154505	4.2.3.7.7.2

Tazemetostat HCl salt was used: Study Nos. T[redacted]030 and T[redacted]032.

Tazemetostat HBr salt was used: Study Nos. K[redacted]004, K[redacted]009, 20024292, 20024293, 20047690, 9600848, 9600891, 9800206, 20097363, 20097364, 20097367, 20097365, 20097366, [redacted]-779008, [redacted]-154506, K[redacted]025, and 20079676.

BID = twice daily, DRF = dose-range finding, CTD = common technical document, EFD = embryo-fetal development, GLP = Good Laboratory Practice, NA = not applicable, NOAEL = no-observed-adverse-effect-level, PO = oral, RNA = ribonucleic acid.

a: Unless otherwise specified, for repeated-dose toxicity studies, the NOAEL for each study is underlined.
b: Indicates study includes a GLP compliance statement.
c: 50, 150, or 500 mg/kg, BID.
d: 150 or 500 mg/kg, BID.
e: 50, 150, or 500/300 mg/kg, BID.
f: 50, 150, or 300 mg/kg, BID.
g: Development NOAEL was not established.
h: NOAEL in male and female rats had higher exposure.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Tazemetostat

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Study Number	GLP[a]	Location in CTD
Single-Dose Study	Rat/Sprague Dawley	PO	Single	100, 300, 1000	T[redacted]030	No	4.2.3.1.1
7-day DRF study	Rat/Sprague Dawley	PO	7 days	100, 300, 1000	T[redacted]032	No	4.2.3.2.1
DRF EFD study	Rat/Sprague Dawley	PO	DG 7 through 17	100, 300, 600	20097363	No	4.2.3.5.2.1
Pivotal EFD study	Rat/Sprague Dawley	PO	DG 7 through 17	50, 100, 200	20097364	Yes	4.2.3.5.2.2
4-week toxicity study	Rat/Sprague Dawley	PO	4 weeks	0, 100, 300, 1000	K[redacted]004	Yes	4.2.3.2.2
13-week toxicity study	Rat/Sprague Dawley	PO	13 weeks	0, 100, 300, 600	K[redacted]009	Yes	4.2.3.2.3
4-week juvenile DRF toxicity study	Rat/Sprague Dawley	PO	4 weeks	50, 150, 500, 1000	[redacted]-779008	No	4.2.3.5.4.1
13-week juvenile toxicity study	Rat/Sprague Dawley	PO	13 weeks	0, 50, 100, 300, 600	[redacted]-154506	Yes	4.2.3.5.4.2
4-week toxicity study (additional study)	Rat/Sprague Dawley	PO	4 weeks	0, 100, 300, 1000	K[redacted]025	Yes	4.2.3.7.6.1
Acute DRF study	Rabbit/New Zealand White	PO	DG 7 through 11	250, 500, 1000	20097367	No	4.2.3.5.2.3
DRF EFD study	Rabbit/New Zealand White	PO	DG 7 through 19	150, 250, 450	20097365	No	4.2.3.5.2.4
Pivotal EFD study	Rabbit/New Zealand White	PO	DG 7 through 19	100, 200, 400	20097366	Yes	4.2.3.5.2.5
Single-dose escalation, and 5 day DRF study	Monkey/Cynomolgus	PO	Single (dose escalation)	100, 300, 1000[b]	20024292	No	4.2.3.2.4
			5 days	300, 1000[c]			
4-week toxicity study	Monkey/Cynomolgus	PO	4 weeks	0, 100, 300, 1000/600[d]	20024293	Yes	4.2.3.2.5
13-week toxicity study	Monkey/Cynomolgus	PO	13 weeks	0, 100, 300, 600[e]	20047690	Yes	4.2.3.2.6

BID = twice daily, DG = days of gestation, DRF = dose-range finding, CTD = common technical document, EFD = embryo-fetal development, GLP = Good Laboratory Practice, PO = oral.

a: Indicates study report includes a GLP compliance statement.
b: BID 50, 150, or 500 mg/kg.
c: BID 150 or 500 mg/kg (Phase 2).
d: BID 50, 150, or 500/300 mg/kg.
e: BID 50, 150, or 300 mg/kg.

2.6.7.3 トキシコキネティクス成績の一覧

Test Article: Tazemetostat

	Steady State AUC (ng·h/mL)				
Species	Rat		Monkey		Human
Method of Administration	PO		PO		PO
Gender	M	F	M	F	Combined
Daily Dose (mg/kg)					
26.7[a]	NA	NA	NA	NA	6680[b]
100	18,033.33[c]	55,037.33[c]	1451.95[f]	1447.49[f]	NA
300	99,545.61[c]	166,304.94[c]	6304.18[f]	8307.28[f]	NA
600	285,998.15[c]	286,031.16[c]	15,649.78[f]	14,689.31[f]	NA
1000/600	600,977.11[d]	425,123.50[e]	9371.15[g,h]	14,892.24[g,h]	NA

$AUC_{(0\text{-}12h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 12 hours postdose, $AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 24 hours postdose, BID = twice daily, PO = oral.

a: 800 mg BID; Based upon a 60 kg human.

b: $AUC_{(0\text{-}24h)}$; Extrapolated from $AUC_{0\text{-}12h}$ on Cycle 1, Day 15 (Study E7438-G000-101).

c: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ on Day 91 in 13-week toxicity study in rats (添付資料 4.2.3.2.3［K[redacted]009］).

d: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ on Day 28 in 4-week toxicity study in rats, 1000 mg/kg/day (添付資料 4.2.3.2.2［K[redacted]004］).

e: Measured in Day 21 because administration of 1000 mg/kg in females of main group was discontinued on Day 21 (添付資料 4.2.3.2.2［K[redacted]004］).

f: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ on Day 91 in 13-week toxicity study in monkeys (添付資料 4.2.3.2.6［20047690］); BID dosing.

g: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ on Day 28 in 4-week toxicity study in monkeys (添付資料 4.2.3.2.5［20024293］); BID dosing. $AUC_{(0\text{-}24h)}$ is extrapolated based on the $AUC_{(0\text{-}12h)}$.

h: Dose reduced from 1000 mg/kg/day to 600 mg/kg/day on Day 12/11 due to toxicity.

Sources: Studies K[redacted]009, K[redacted]004, 20047690, 20024293, E7438-G000-101.

Test Article: Tazemetostat

	Steady State C_{max} (ng/mL)				
Species	Rat		Monkey		Human
Method of Administration	PO		PO		PO
Gender	M	F	M	F	Combined
Daily Dose (mg/kg)					
26.7[a]	NA	NA	NA	NA	829[b]
100	4311.09[e]	13,487.76[e]	147.73[f]	165.85[f]	NA
300	10,017.93[e]	20,720.42[e]	596.98[f]	725.05[f]	NA
600	19,081.57[e]	24,422.89[e]	1297.75[f]	1241.04[f]	NA
1000/600	35,422.25[d]	34,323.72[e]	2276.74[g,h]	2541.41[g,h]	NA

BID = twice daily, C_{max} = maximum observed concentration, PO = oral.

a: 800 mg BID; Based upon a 60 kg human.
b: C_{max} on Cycle 1, Day 15 (Study E7438-G000-101).
c: C_{max} on Day 91 in 13-week toxicity study in rats (添付資料 4.2.3.2.3［K[redacted]009］).
d: C_{max} on Day 28 in 4-week toxicity study in rats, 1000 mg/kg/day (添付資料 4.2.3.2.2［K[redacted]004］).
e: Measured in Day 21 because administration of 1000 mg/kg in females of main group was discontinued on Day 21 (添付資料 4.2.3.2.2［K[redacted]004］).
f: C_{max} on Day 91 in 13-week toxicity study in monkeys (添付資料 4.2.3.2.6［20047690］); BID dosing.
g: C_{max} on Day 28 in 4-week toxicity study in monkeys (添付資料 4.2.3.2.5［20024293］); BID dosing.
h: Dose reduced from 1000 mg/kg/day to 600 mg/kg/day on Day 12/11 due to toxicity.

Sources: Studies K[redacted]009, K[redacted]004, 20047690, 20024293, E7438-G000-101.

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: Tazemetostat

Study Number	**T[redacted]030**	**T[redacted]032**	**K[redacted]025**	**K[redacted]009 20047690 9600848 9600891 9800206 [redacted]-779008**	**K[redacted]004 20024293**	**20024292**	**20079676 [redacted]-154506 20097367 20097365 20097366 20097363 20097364**
Type of Study	Single-dose study in rats	7-day DRF study in rats	4-week toxicity study in rats (additional study for new impurities)	13-week toxicity study in rats and monkeys, in vitro and in vivo genotoxicity, 4-week juvenile rat toxicity study	4-week toxicity studies in rats and monkeys	Single-dose/5-day DRF study in monkeys	Phototoxicity, 13-week juvenile rat toxicity study, EFD studies in rats and rabbits
Batch Number	[redacted][a]	[redacted][a]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

DRF = dose-range finding, EFD = embryo-fetal development, HCl = hydrochloric acid.

a: HCl salt form.

For detailed information regarding specified impurities of the tazemetostat drug substance used in toxicology studies, please see Section 3.2.S.4.4.

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: Tazemetostat

Species / Strain	Route/Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Doses (mg/kg)	Number Sex/ Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage/0.5% methylcellulose 400 solution/suspension	100, 300, 1000	3M/3F	1000	>1000	≤300 mg/kg: no toxicity 1000 mg/kg: decreased activity (Day 1), transient decreases in body weight and food consumption	T[redacted]030
Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage/0.5% methylcellulose solution including 0.1% Tween® 80 /suspension Dose escalation with 2-day interval	100, 300, 1000[a]	1M/1F	1000	>1000	≤300 mg/kg: no toxicity 1000 mg/kg: emesis	20024292[b]

BID = twice daily, F = female, M = male.

a: BID 50, 150, or 500 mg/kg.

b: Data from Phase 1, single-dose escalation phase.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Tazemetostat

Species / Strain	Route/Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage/0.5% methylcellulose 400 solution including 0.1% Tween 80 /suspension	7 days	0, 100, 300, 1000	3M/3F	300	≤300 mg/kg: no toxicity 1000 mg/kg: decreased food consumption, decreased reticulocytes, increased total cholesterol (M&F), total bilirubin, slight decreases in sodium and chloride, increased liver weight with increased CYP contents (F), erosion in forestomach, inflammation in glandular stomach (M&F)	T[redacted]032
Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage/0.5% methylcellulose solution, including 0.1% Tween 80 solution/suspension	5 days	300, 1000[a]	1M/1F	300	≤300 mg/kg: no toxicity 1000 mg/kg: emesis, stress related hematologic changes, slight increases in ALT, AST (M&F), slight decreases in Ca, Albumin (F), slightly increased vacuolation in centrilobular hepatocytes (M)	20024292

F = female, M = male.

a: BID 150 or 500 mg/kg.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.A　　**Test Article: Tazemetostat**

Report Title: E7438: A 4-Week Oral Toxicity Study in Rats		**Study No.** K[redacted]004
Species / Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: 4 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2.2
Initial Age: 8 weeks old	Duration of Postdose: NA	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral by gavage	
Vehicle / Formulation: 0.5% methylcellulose solution including 0.1% Tween 80/Suspension		
Special Features: Administration of 1000 mg/kg was discontinued from Day 21 onward in females and the surviving females were maintained for a 2-week off-dose period.		
NOAEL: 300 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**100**		**300**		**1000**	
Number of Animals (main groups)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Number of Animals for TK:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
TK: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NC	NC	4748	27,298	21,004	133,415	170,795	585,675
Day 28	NC	NC	8484	35,707	34,764	95,188	600,977[a]	425,124[a,b]
TK: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	1937	7920	3987	17,403	12,750	41,030
Day 28	BQL	BQL	3376	13,019	9984	17,031	35,422	34,324[a,b]
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	2	5
Body weight[c]	330.9 g	197.6 g	NNF	NNF	NNF	NNF	NC[c]	NC[c]
Food consumption[c]	21 g	14 g	NNF	NNF	NNF	NNF	NC[c]	NC[c]
Clinical Observations								
Decreased activity	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	+	+
Staining	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	+	+
Abdominal distension	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	+	NNF
Chromaturia	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	+
No/few feces	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	+	NNF
Ophthalmoscopy	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF
Hematology[d]								
Red blood cell count ($\times 10^6/\mu L$)	7.79	7.62	7.90	7.53	7.83	7.44	6.93**	NA
Hemoglobin concentration (g/dL)	14.4	13.7	14.1	13.5	14.2	13.1*	11.9**	NA
Reticulocyte count ($\times 10^9/L$)	132.6	144.1	115.2	130.3	122.3	136.4	196.2**	NA

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		100		300		1000	
Number of Animals (main groups)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Neutrophil count ($\times 10^3/\mu L$)	0.83	0.87	0.92	0.71	1.05	0.47	1.77#	NA
Lymphocyte count ($\times 10^3/\mu L$)	7.33	3.01	6.82	3.67	6.33	4.15	3.85##	NA
Serum Chemistry[e]								
Total bilirubin (mg/dL)	0.06	0.07	0.06	0.06	0.05	0.06	0.11##	NA
Total protein (g/dL)	4.8	5.2	4.9	5.1	4.8	4.8*	4.2**	NA
Albumin (g/dL)	2.3	2.6	2.3	2.6	2.3	2.5	2.0**	NA
Globulin (g/dL)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.3	2.2**	NA
Glucose (mg/dL)	255	227	250	220	252	211	207**	NA
Total cholesterol (mg/dL)	60	57	62	60	61	60	92##	NA
Urinalysis								
Turbidity	NNF	NNF	NNF	NNF	+	+	+	NA
Unequal-sized globules in sediment	NNF	NNF	+	NNF	+	+	+	NA
Organ Weights								
Adrenals, relative (mg/100 g BW)	16	31	17	32	19	31	24##	NA
Liver, relative (g/100 g BW)	3.18	2.97	3.29	3.06	3.42*	3.29**	4.25**	NA
Gross Pathology								
Number evaluated: n (n FD/MS)	10	10	10	10	10	10	8 (2)	(5)
Stomach								
Distention	0	0	0	0	0	0	6 (1)	(0)
Raised area, forestomach	0	0	0	0	0	0	1 (0)	(1)
Discolored focus, forestomach	0	0	0	0	0	0	1 (1)	(1)
Discolored focus, glandular stomach	0	0	0	0	0	0	0 (0)	(1)
Watery contents	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(5)
Duodenum								
Watery contents	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(5)
Jejunum								
Watery contents	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(5)
Ileum								
Watery contents	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(4)
Firm feces	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(1)
Cecum								
Firm feces	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(1)
Small feces	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(0)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		100		300		1000	
Number of Animals (main groups)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Colon								
Gas	0	0	0	0	0	0	1 (0)	(0)
Firm feces	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(1)
Small feces	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(3)
Rectum								
Gas	0	0	0	0	0	0	1 (0)	(0)
Firm feces	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(1)
Small feces	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(3)
Thymus								
Small	0	0	0	0	0	0	8 (2)	(5)
Testes								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	0 (1)	NA
Epididymides								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	0 (1)	NA
Seminal vesicles								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	3 (1)	NA
Coagulating glands								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	3 (1)	NA
Prostate								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	2 (2)	NA
Adrenals								
Enlarged	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(4)
Lung								
Discoloration	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(0)
Histopathology								
Number evaluated: n (n FD/MS)	10	10	10	10	10	10	8 (2)	(5)
Stomach								
Erosion/ulcer	0	0	0	0	0	0	2 (2)	(5)
Degeneration/necrosis, glandular stomach	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(0)
Duodenum								
Degeneration/necrosis, epithelial cells	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(2/3)[f]
Jejunum								
Degeneration/necrosis, epithelial cells	0	0	0	0	0	0	4 (2)	(3/3)[f]

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		100		300		1000	
Number of Animals (main groups)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Ileum								
Degeneration/necrosis, epithelial cells	0	0	0	0	0	0	2 (1)	(2/3)[f]
Lymphoid depletion/necrosis	0	0	0	0	0	0	0 (0)	(1/3)[f]
Colon								
Degeneration/necrosis, epithelial cells	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(0)
Rectum								
Degeneration/necrosis, epithelial cells	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(4)
Bone marrow								
Hypocellularity	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(5)
Osteoblast hyperplasia/trabecular formation	0	0	0	0	0	0	3 (0)	(0)
Thymus								
Lymphoid depletion/necrosis	0	0	0	0	0	0	8 (2)	(5)
Spleen								
Lymphoid depletion/necrosis	0	0	0	0	0	0	5 (2)	(4)
Submaxillary lymph node								
Lymphoid depletion/necrosis	0	0	0	0	0	0	6 (2)	(5)
Mesenteric lymph node								
Lymphoid depletion/necrosis	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(5)
Increased histiocytes	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(3)
Kidneys								
Eosinophilic droplet, tubular epithelial cells	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(4)
Degeneration/necrosis, tubular epithelium	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(2)
Lung								
Inflammatory cell infiltration, peribronchiolar	0	0	0	0	0	0	6 (2)	(3)
Liver								
Mononuclear cell infiltration, multifocal	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(1)
Vacuolation, hepatocytes, diffuse	0	0	0	0	0	0	0 (1)	(4)
Submaxillary glands								
Acinar atrophy	0	0	0	0	0	0	0 (0)	(2)
Pancreas								

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		100		300		1000	
Number of Animals (main groups)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Decreased zymogen granules	0	0	0	0	0	0	0 (2)	(4)
Adrenals								
Cortical hypertrophy	0	0	0	0	0	0	2 (2)	(5)
Seminal vesicles/coagulating glands								
Atrophy	0	NA	0	NA	0	NA	1 (2)	NA
Prostate								
Atrophy	0	NA	0	NA	0	NA	0 (2)	NA
Vagina								
Atrophy, epithelium	NA	0	NA	0	NA	0	NA	(5)
Postdose evaluation (Day 21 to Day 35)								
Number evaluated	0	0	0	0	0	0	0	5[g]
Body weight (Day 34)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NNF
Food consumption (Day 34)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NNF
Clinical observations								
Decreased activity	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+[h]
Staining	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+[h]
No/few feces	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+[h]
Hematology (Day 35)								
Red Blood Cell count ($\times 10^6/\mu L$)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7.15*
Reticulocyte count ($\times 10^9$/ L)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	259.3**
Lymphocyte count ($\times 10^3/\mu L$)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.95
Serum chemistry (Day 35)								
Glucose (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	166[##]
Total cholesterol (mg/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	72*
Urinalysis (Day 28)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NNF
Organ weights	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NNF
Gross pathology	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NNF
Histopathology								
Number evaluated	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5[g]
Jejunum								
Hyperplasia, crypt	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4
Spleen								
Lymphoid depletion/necrosis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		100		300		1000	
Number of Animals (main groups)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Lung								
Foamy cell aggregates, peribronchiolar	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3

Number of animals found dead or moribund with a specific change is shown in parentheses.
+ = observed, ALT = alanine aminotransferase, APTT = activated partial thromboplastin time, AST = aspartate transaminase, $AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 24 hours postdose, BQL = below quantitation limit (<1 ng/mL), BW = body weight, C_{max} = maximum observed concentration, CTD = common technical document, F = female, FD = found dead, GLP = Good Laboratory Practice, M = male, MS = moribund sacrifice, NA = not applicable, NC = not calculated, NNF = no noteworthy findings, NOAEL = no observed adverse effect level, PT = prothrombin time, TK = toxicokinetics.

a: n=3
b: Measured on Day 21 because administration of 1000 mg/kg in females of main group was discontinued on Day 21.
c: At the end of dosing period (Day 27) for control, 100, and 300 mg/kg. For controls, group means are shown. Statistically significant increases in body weight were observed in females at 1000 mg/kg from Day 9 to Day 13 (+9% versus control on Day 13). Effects on body weights were considered to be due to gastric distention with food or accumulation of watery contents in gastrointestinal tracts. After Day 13, some animals demonstrated deteriorated health condition accompanied by decreased body weight. In moribund sacrificed animals at 1000 mg/kg, decreases in food consumption were observed before sacrifice.
d: In moribund sacrificed animals at 1000 mg/kg, increases in red blood cell counts, hemoglobin, hematocrit, or neutrophil counts, prolongation of PT or APTT, and decreases in reticulocyte and lymphocyte counts were observed.
e: In moribund sacrificed animals at 1000 mg/kg, increases in AST, total bilirubin, urea nitrogen, creatinine, and total cholesterol; decreases in total protein and glucose in both sexes; and increased ALT in males were observed.
f: Number of animals with lesion/number of animals examined (marked autolysis was excluded).
g: Necropsied on Day 35.
h: These clinical observations were not observed from Day 25 onward.

* $P<0.05$; ** $P<0.01$ (Dunnett's test); # $P<0.05$; ## $P<0.01$ (Dunnett's rank test) vs control.

Source: Study K[redacted]004.

2.6.7.7.B **Test Article: Tazemetostat**

Report Title: E7438: A 13-Week Oral Toxicity Study With 4-Week Recovery Period in Rats		**Study No.** K[redacted]009
Species / Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: 13 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2.3
Initial Age: 8 weeks old	Duration of Postdose: 4 weeks	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	Method of Administration: Oral by gavage	
Vehicle / Formulation: 0.5% methylcellulose solution including 0.1% Tween 80/Suspension		
Special Features: Lymphoblastic lymphoma noted in male and female rats. Gross pathology and histopathology were also performed on TK animals noted with enlarged thymus at necropsy. Toxicokinetic animals had only lymphoid organs, femur and sternum examined by histopathology. Three investigative/mechanistic studies were completed with lymphoma and non-lymphoma samples from this study including Flow Cytometry analyses, Notch gene expression assay, and a Rat Leukemia Virus reactivation analysis.		
NOAEL: <100 mg/kg (M), 100 mg/kg (F)		

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**100**		**300**		**600**	
Number of Animals (main groups)	**M: 16**	**F: 16**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 16**	**F: 16**	**M: 16**	**F: 16**
Number of Animals for TK:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Tazemetostat (parent)								
TK: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NC	NC	6985	40,363	35,382	160,969	74,737	408,016
Day 91	NC	NC	18,033	55,037	99,546	166,305[a]	285,998	286,031
TK: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	1932	9380	5136	17,455	7127	34,243
Day 91	BQL	BQL	4311	13,488	10,018	20,720[a]	19,082	24,423
ER897387 (EPZ-6930, metabolite)								
TK: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NC	NC	15,741	3752	94,103	21,705	235,642	61,003
Day 91	NC	NC	22,237	8767	116,255	39,836[a]	134,816	103,642
TK: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	4843	1008	11,778	2146	15,633	3825
Day 91	BQL	BQL	5233	2399	10,017	4379[a]	9190	7722
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	1	4	0	0
Body weight (%)[b]	452.3 g	239.6 g	–2	+2	–6[#]	+1	–18[##]	–4*
Food consumption[c]	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF	NNF
Clinical Observations								
Labial nodule with/without crust	NNF	NNF	+	NNF	+	NNF	+	+