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 がん原性試験 3
2.6.6.3 考察及び結論 5
2.6.6.4 参考文献 5
2.6.7 毒性試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
NMU	N-ニトロソメチルウレア（N-nitrosomethylurea）
Tg	トランスジェニック（transgenic）
Tg.rasH2	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic hemizygous

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

イブルチニブ（PCI-32765，JNJ-54179060）はブルトン型チロシンキナーゼに対する強力な阻害作用を有する経口投与剤である。

イブルチニブが前がん病変及び腫瘍性病変を引き起こす可能性について評価することを承認後対応として欧州医薬品庁と合意したため，トランスジェニック（Tg）マウスを用いたイブルチニブのがん原性試験を実施した。本試験の成績を以下及び【2.6.7.5】に示す。

遺伝毒性及び非遺伝毒性化合物のがん原性試験における動物種として，げっ歯類が推奨されていることから，CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic hemizygous（Tg.rasH2）マウスを 26 週間がん原性試験の動物種として選択した。がん原性試験は，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。なお，トキシコキネティクス測定は野生型の CByB6F1 同腹児（non-Tg）マウスを用いて実施した。血漿中イブルチニブ及び M37 の濃度は GLP 適用下で測定し，M21，M23，M25 及び M34 の濃度は，GLP 非適用下ではあるが，標準操作手順書に従って測定した。

がん原性試験では，雌雄の Tg.rasH2 マウスにイブルチニブを 0（溶媒），200，600 及び 2000 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，26 週間反復経口投与した。イブルチニブに起因する死亡はみられなかった。600 及び 2000 mg/kg/日群で腫瘍性病変がみられたが，これらの腫瘍は，発生頻度が低く，用量依存性も認められず，公表文献[1) 2) 3)]又は試験実施施設の背景データの範囲内であったため，イブルチニブに起因するものではなく，イブルチニブにがん原性はないものと判断した。最高投与量の 2000 mg/kg/日における Week 26 のイブルチニブの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）は，雄で 21900 ng·h/mL，雌で 35100 ng·h/mL であった。

2.6.6.2 がん原性試験

2.6.6.2.1 Tg.rasH2 マウスを用いた 26 週間経口投与がん原性試験

【評価資料 4.2.3.4.2.1】

【試験方法】

1 群雌雄各 25 例の Tg.rasH2 マウスにイブルチニブを 0（溶媒），200，600 及び 2000 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，26 週間反復強制経口投与した。CByB6F1 hybrid マウスを用いた 14 日間反復経口投与用量設定試験［一部変更承認申請時（平成 29 年 11 月）CTD2.6.6.3.1］において，2000 mg/kg/日の用量まで忍容性が認められたことから，2000 mg/kg/日を本試験の高用量に設定した。0.5% w/v メチルセルロース（400 cps）及び 0.1% w/v ラウリル硫酸ナトリウム水溶液を溶媒として，イブルチニブを懸濁した。投与容量は 10 mL/kg とした。トキシコキネティクス測定のために，1 群雌雄各 36 例の non-Tg マウスをサテライト群として設定し，イブルチニブを同様に経口投与した。イブルチニブ及び代謝物 M37 の血漿中濃度は Day 1 及び Week 26 に測定し，代謝物 M21，M23，M25 及び M34 の血漿中濃度は Week 26 に測定した。動物の生死，一般状態，体重，体重増加量，摂餌量，剖検，病理組織学的検査及びトキシコキネティクスパラメータを評価した。なお，陽性対照群として，1 群雌雄各 15 例の Tg.rasH2 マウスに N-ニトロソメチルウレ

ア（NMU）を 75 mg/kg（溶媒：クエン酸緩衝生理食塩液，pH = 4.54）の用量で Day 1 に単回腹腔内投与し，試験系の妥当性を確認した【2.6.7.5】。

【結果】

600 及び 2000 mg/kg/日投与群でそれぞれ 3 及び 4 例が死亡又は切迫屠殺された。2000 mg/kg/日投与群の死亡動物 4 例のうち，雌 1 例は誤投与により死亡し，雄 1 例は閉塞性尿路疾患により切迫屠殺された。雌 1 例（Day 117 に死亡）は剖検及び病理組織学的検査を実施したが，死因を特定することはできなかった。2000 mg/kg/日投与群の残る 1 例及び 600 mg/kg/日投与群の 3 例の死亡例又は切迫屠殺例では，腫瘍性病変（600 mg/kg/日投与群で雄 1 例の皮膚に血管肉腫，雌 1 例の頸部に血管肉腫及び雌 1 例の血液リンパ網内系組織にリンパ腫，並びに 2000 mg/kg/日投与群で雌 1 例の胃に扁平上皮癌）が認められており，死因は腫瘍によるものと考えられた。イブルチニブ投与群における生存率は 88～100%であり，報告されている 26 週間試験における Tg.rasH2 マウスの生存率（86.7～100%[1) 2) 3)]）の範囲内であった。また，いずれの腫瘍性病変も発生頻度は低く，公表されている発生頻度[1) 2) 3)]又は試験実施施設の背景データの範囲内であり，用量相関性もみられなかった。そのため，これらの死亡及び腫瘍はイブルチニブに起因するものではないと考えられた。

一般状態観察では，イブルチニブ投与に関連した影響は認められなかった。

2000 mg/kg/日投与群の雄では溶媒対照群と比較して Day 182 に平均体重の軽度な減少（0.94 倍）がみられ，Day 1～182 の体重増加量も減少（0.73 倍）した。摂餌量に影響はみられなかった。イブルチニブ投与群の雌では溶媒対照群と比較して体重，体重増加量及び摂餌量に影響はみられなかった。

剖検では，イブルチニブ投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査では，イブルチニブ投与群の雌雄には溶媒対照群と比較して統計学的に有意な腫瘍性病変の発生頻度増加は認められなかった。非腫瘍性病変として，2000 mg/kg/日投与群で雌雄の肝臓に軽微な小葉中心性肝細胞肥大が認められたが，代謝酵素誘導に伴う適応性変化と考えられた。

イブルチニブの血漿中曝露量は，おおむね用量比例性を示し，反復投与により減少する傾向が認められた。最高投与量の 2000 mg/kg/日における Week 26 の AUC は，雄で 21900 ng·h/mL，雌で 35100 ng·h/mL であった。

ヒトの血漿中主要代謝物である M21，M23，M25，M34 及び M37 が認められた。代謝物 M37 の曝露量は概して未変化体より高く，おおむねイブルチニブの投与量の増加とともに増加した。26 週間の反復投与後の M37 の曝露量は Day 1 と同程度で累積はみられなかった。その他の代謝物の曝露量は，おおむねイブルチニブの投与量の増加とともに増加し，未変化体より低いか同程度であり，M21，M25，M34 及び M23 の順に高かった。M23 の曝露量は，総曝露量の 10%未満であった。

陽性対照の NMU 投与群では，死亡率は高く，雄で 12/15 例（80%），雌で 11/15 例（73%）が計画剖検前に死亡又は切迫屠殺された。これら死亡動物の 23 例中 20 例に悪性リンパ腫（87%），1 例に顆粒球性白血病（4%）及び 1 例の縦隔に顕著な炎症性細胞浸潤がみられたが，1 例では死因を特定できなかった。また，活動性の低下，腹部膨満，円背位，異常呼吸，糞便減少，るい痩

及び皮膚の丘疹がみられ，溶媒投与群と比較して統計学的に有意な体重及び体重増加量の減少が認められた。病理組織学的検査では，悪性リンパ腫，並びに前胃及び皮膚の扁平上皮乳頭腫が最もよく認められた。これらの腫瘍性病変の頻度は，公表文献[1) 2) 3)]又は試験実施施設におけるデータと一致しており，試験系の妥当性が確認された。

以上のことから，Tg.rasH2 マウスにイブルチニブを 2000 mg/kg/日までの用量で 1 日 1 回，26 週間反復経口投与した結果，腫瘍性病変の増加はみられず，イブルチニブにがん原性は認められなかった。

2.6.6.3 考察及び結論

Tg.rasH2 マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験において，イブルチニブ投与群における生存率は公表文献[1) 2) 3)]で報告されている生存率の範囲内であることから，イブルチニブは Tg.rasH2 マウスの生存率に影響を及ぼさないと考えられた。

病理組織学的検査では，イブルチニブに関連する腫瘍性病変の増加は認められなかった。観察された腫瘍性病変は，Tg.rasH2 マウスでよく報告されており，発生頻度も公表文献[1) 2) 3)]又は試験実施施設の背景データの範囲内であった。

陽性対照の NMU 投与群における死亡率は公表文献[1) 2) 3)]又は試験実施施設の背景データの範囲内であり，剖検及び病理組織学的検査でみられた腫瘍性病変は既報の Tg.rasH2 マウスにおける NMU の影響と一致していることから，試験系の妥当性が確認された。

結論として，Tg.rasH2 マウスにイブルチニブを最高 2000 mg/kg/日の用量で 26 週間反復経口投与してもがん原性はみられなかった。2000 mg/kg/日投与群における Week 26 のイブルチニブの AUC は，雄で 21900 ng·h/mL，雌で 35100 ng·h/mL であった。

2.6.6.4 参考文献

1） Nambiar PR, et al. Spontaneous Tumor Incidence in rasH2 Mice: Review of Internal Data and Published Literature. Toxicol Pathol. 2012;40:614-23.

2） Kanno H, et al. Historical Background Data in CB6F1-Tg-*ras*H2 Mice and CB6F1-nonTg-*ras*H2 Mice Over a 26-Week Experimental Period. J Toxicol Pathol. 2003;16:267-74.

3） Takaoka M, et al. Interlaboratory Comparison of Short-Term Carcinogenicity Studies Using CB6F$_1$-*ras*H2 Transgenic Mice. Toxicol Pathol. 2003;31:191-9.

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: Ibrutinib

Type of Study	Species and Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Batch No.	GLP	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Carcinogenicity Study	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Mouse	Oral gavage [0.5% (w/v) methylcellulose (400 cps) and 0.1% (w/v) sodium lauryl sulfate in reverse osmosis deionized water]	26 Weeks (once daily)	0[a], 200, 600, 2000 NMU: 75 (intraperitoneally on Day 1 only)	L0504470 (151204)	Yes[b]	[redacted], US	TOX 11482/16-011-M-PO-CA	4.2.3.4.2.1

[a] Controls were administered with the vehicle.
[b] Except for toxicokinetic analysis on metabolites, M21, M23, M25 and M34.
NMU = N-Nitrosomethylurea (Positive control)

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Ibrutinib

Type of Study	Test System	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Analytes	GLP	Study No.	Location in CTD
Carcinogenicity Study	CByB6F1 hybrid mouse (non-Tg littermate)	Oral gavage [0.5% (w/v) methylcellulose (400 cps) and 0.1% (w/v) sodium lauryl sulfate in reverse osmosis deionized water]	26 Weeks	0[a], 200, 600, 2000	Ibrutinib PCI-45227 (M37)[b] M21, M23, M25, M34	Yes[c]	TOX11482/ 16-011-M-PO-CA	4.2.3.4.2.1

[a] Controls were administered with the vehicle.
[b] PCI-45227 (M37) is a dihydrodiol metabolite of ibrutinib.
[c] Except for toxicokinetic analysis on metabolites, M21, M23, M25 and M34.

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表

Exposure of Ibrutinib

(Study No.: TOX11482/16-011-M-PO-CA) **Test Article:** Ibrutinib

Dose (mg/kg/day)	Study Duration	C_{max} (ng/mL)		AUC (ng·h/mL)	
		M	F	M	F
200	Day 1	1700	2760	6760[a]	12300[a]
200	Week 26	1060	1450	3550[b]	7410[b]
600	Day 1	3700	10400	NC	NC
600	Week 26	1140	2680	7950[b]	25300[b]
2000	Day 1	9330	13800	NC	NC
2000	Week 26	1660	2570	21900[b]	35100[b]

[a] $AUC_{0-\infty}$
[b] AUC_{0-t}

M = Male; F = Female; NC = Not calculated

Exposure of M37

(Study No.: TOX11482/16-011-M-PO-CA) **Test Article:** Ibrutinib

Dose (mg/kg/day)	Study Duration	C_{max} (ng/mL)		AUC (ng·h/mL)	
		M	F	M	F
200	Day 1	2000	3010	15500[a]	NC
200	Week 26	2810	2950	20200[b]	29700[b]
600	Day 1	3650	4020	NC	NC
600	Week 26	4240	5090	44400[b]	67800[b]
2000	Day 1	5770	6770	NC	NC
2000	Week 26	5060	4550	77800[b]	68200[b]

[a] $AUC_{0-\infty}$
[b] AUC_{0-t}

M = Male; F = Female; NC = Not calculated

2.6.7.4 毒性試験：被験物質の一覧表

Test Article: Ibrutinib

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities[a] (%)						Study No.	Type of Study	Location in CTD
		PCI-7518	PCI-7519	PCI-45228	PCI-7548	PCI-7547	PCI-32769[b]			
Current commercial specification:	**97.0-102.0**	**NMT 0.15%**	**NMT 1.0%**	**NMT 0.50%**	**NMT 0.35%**	**NMT 0.20%**	**NMT 1.0%**			
L0504470 (151204)	101.3	<0.05	0.1	<0.05	0.05	Not detected	0.4	TOX11482/ 16-011-M-PO-CA	Carcinogenicity Study	4.2.3.4.2.1

[a] Specified impurities data are in % weight per weight.
[b] S-enantiomer of ibrutinib
NMT = Not more than

2.6.7.5 がん原性試験

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Ibrutinib by Oral Gabage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice **Test Article:** Ibrutinib

Species/Strain: Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic **Duration of Dosing:** 26 weeks **Study No.:** TOX11482/16-011-M-PO-CA
Age at First Dose: 9 weeks **Duration of Postdose:** None **Location in CTD:** 4.2.3.4.2.1
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] **Route:** Oral gavage **GLP Compliance:** Yes[a]
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) methylcellulose (400 cps) and 0.1% (w/v) sodium lauryl sulfate in reverse osmosis deionized water
Special Features: NMU was used for positive control for this test system. Animals for toxicokinetics were non-Tg littermates of the same strain.
Conclusion: Administration of ibrutinib by daily oral gavage for 6 months at doses up to 2000 mg/kg/day was not carcinogenic.

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		200		600		2000		75 NMU
Toxicokinetic Study with non-Tg mice:									N/A
No. of Animals	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36	M: 36	F: 36	
Total Mortality (Test Article-Related)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Ibrutinib (JNJ-54179060)									
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL), Day 1	BLLOQ	BLLOQ	6760	12300	NC	NC	NC	NC	
AUC_{0-t} (ng·h/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	3550	7410	7950	25300	21900	35100	
C_{max} (ng/mL), Day 1	BLLOQ	BLLOQ	1700	2760	3700	10400	9330	13800	
C_{max} (ng/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	1060	1450	1140	2680	1660	2570	
JNJ-54243761 (M37)									
$AUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL), Day 1	BLLOQ	BLLOQ	15500	NC	NC	NC	NC	NC	
AUC_{0-t} (ng·h/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	20200	29700	44400	67800	77800	68200	
C_{max} (ng/mL), Day 1	BLLOQ	BLLOQ	2000	3010	3650	4020	5770	6770	
C_{max} (ng/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	2810	2950	4240	5090	5060	4550	
JNJ-63788621 (M21)									
AUC_{0-t} (ng·h/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	15200	7730	4660	8370	5840	11800	
C_{max} (ng/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	1340	581	344	733	721	1690	
JNJ-55499743 (M34)									
AUC_{0-t} (ng·h/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	673	1540	2020	5680	8570	8800	
C_{max} (ng/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	141	239	322	634	617	637	
JNJ-55499730 (M25)									
AUC_{0-t} (ng·h/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	828	2570	1310	9390	5440	17200	
C_{max} (ng/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	217	566	258	1000	459	1170	
JNJ-54243696 (M23)									
AUC_{0-t} (ng·h/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	43.4	41.4	70.7	55.3	97.2	70.0	
C_{max} (ng/mL), Week 26	BLLOQ	BLLOQ	3.21	3.05	5.83	3.76	6.51	4.88	

[a] Except for toxicokinetic analysis on M21, M23, M25 and M34.
BLLOQ = Below lower limit of quantitation (< 1.00 ng/mL); NC = Not calculated; N/A = Not applicable; NMU = N-Nitrosomethylurea (positive control); M = Male; F = Female

(Continued)

2.6.7.5 がん原性試験（続き）

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Ibrutinib by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice **Test Article:** Ibrutinib

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**200**		**600**		**2000**		**75 NMU**	
Main Toxicology Study with Tg mice:										
No. of Animals	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 15	F: 15
Noteworthy Findings										
Total Mortality	0	0	0	0	1	2	1	3[a]	12[b]	11
No. of Survivors/Survival %	25/100	25/100	25/100	25/100	24/96	23/92	24/96	22/88[a]	3/20	4/27
Test Article-Related Mortality	0	0	0	0	0	0	0	0	N/A	N/A
Body Weight (g)[c]	32.47	23.95	-	-	-	-	0.94x	-	0.85x[*]	0.95x
Body Weight Gain (g)[d]	6.32	3.68	-	-	-	-	0.73x	-	0.27x[*]	0.67x
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	[e]	[e]
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	[f]	[f]
Neoplastic Test Article-related Changes	-	-	-	-	-	-	-	-	[f]	[f]
Histopathology										
No. of Animals Examined	25	25	25	25	25	25	25	25	15[g]	15[g]
Neoplastic Incidental Changes										
Vascular system										
Hemangioma (benign)	0	0	0	0	0	1	0	0		
Hemangiosarcoma (malignant)	2	0	1	0	1	1	1	0		
Hemolymphoreticular system										
Lymphoma (malignant)	0	0	0	0	0	2	0	0		
Harderian gland										
Adenoma (benign)	0	1	0	3	2	4	0	0		
Carcinoma (malignant)	1	0	0	1	0	0	0	0		
Lung										
Adenoma, bronchioloalveolar (benign)	2	1	2	0	1	0	1	1		
Carcinoma, bronchioloalveolar (malignant)	0	0	1	1	0	1	0	0		

[a] Including 1 accidental death
[b] Including 1 undetermined death
[c] At the end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control means are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of controls).
[d] Overall dosing period (Days 1 to 182). For treated groups, multiples of control means are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of controls).
[e] Most of clinical observations were limited to the NMU-treated animals with early termination, as expected, and included decreased activity, abdominal distension, hunched posture, increased, decreased or shallow breathing, decreased feces, thin appearance and skin papules.
[f] Macroscopic findings in the NMU-treated animals were often attributed to the presence of neoplasms that included malignant lymphoma and squamous cell papilloma of the stomach and skin.
[g] Microscopic findings in the NMU-treated animals reflected a robust carcinogenic response characterised by the occurrence of numerous neoplasms consistent with the expected effect of NMU in rasH2 mice. The most common NMU-related neoplasms were malignant lymphoma and squamous cell papilloma of the non-glandular stomach and skin. Other neoplasms in this group (i.e., squamous cell papilloma of vagina, larynx and oesophagus, and keratoacanthoma of the skin) were also likely related to administration of NMU.
[*] Statistical siginificance from the control group at $p \leq 0.05$ (two-sided t-test).
There were no statistically significant differences in survival (log-rank test) and tumor incidence (Cochran-Armitage's one-sided exact test and Fisher's exact one-sided test) for males or females between vehicle control and ibrutinib-treated groups during the study.
NMU = N-Nitrosomethylurea (positive control); - = No noteworthy findings; M = Male; F = Female; N/A = Not applicable

(Continued)

2.6.7.5　がん原性試験（続き）

Report Title: A 26-week Carcinogenicity Study of Ibrutinib by Oral Gavage in CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mice　　**Test Article:** Ibrutinib

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**200**		**600**		**2000**		**75 NMU**	
Main Toxicology Study with Tg mice:										
No. of Animals	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 15	F: 15
Histopathology (Continued)										
No. of Animals examined	25	25	25	25	25	25	25	25	15[a]	15[a]
Neoplastic Incidental Changes (Continued)										
Salivary Gland										
Squamous cell carcinoma (malignant)	0	0	0	0	0	0	1	0		
Stomach										
Squamous cell carcinoma (malignant)	0	0	0	0	0	0	0	1		
Thymus										
Thymoma (benign)	0	1	0	0	0	0	0	0		
Non-Neoplastic Test Article-related Changes										
Liver										
Centrilobular hepatocellular hypertrophy, minimal	0	0	0	0	0	0	8	10		

[a] Microscopic findings in NMU-treated animals reflected a robust carcinogenic response characterised by the occurrence of numerous neoplasms consistent with the expected effect of NMU in rasH2 mice. The most common NMU-related neoplasms were malignant lymphoma and squamous cell papilloma of the non-glandular stomach and skin. Other neoplasms in this group (i.e., squamous cell papilloma of vagina, larynx and oesophagus, and keratoacanthoma of the skin) were also likely related to administration of NMU.

There were no statistically significant differences in survival and tumor incidence for males or females between vehicle control and ibrutinib-treated groups during the study.

NMU = N-Nitrosomethylurea (positive control); M = Male; F = Female