TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 4

本項で使用する用語・略語 5

1. まとめ 7

供試動物 7

被験物質の投与 8

2. 試験結果の要約 11

3. 単回投与毒性試験 14

3.1. 雄ラットを用いた単回経口投与トキシコキネティクス試験（[redacted]MA015 試験，概要表 2.6.7.5） 14

3.2. カニクイザルを用いた単回経口投与/静脈内投与トキシコキネティクス試験（[redacted]MA052 試験，概要表 2.6.7.5） 15

4. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 16

4.1. ラットを用いた試験 16

4.1.1. 雄ラットを用いた 7 日間経口投与毒性試験（[redacted]MA026 試験，概要表 2.6.7.6） 16

4.1.2. ラットを用いた 1 ヵ月間経口投与毒性試験（[redacted]GR318 試験，概要表 2.6.7.7A） 18

4.1.3. ラットを用いた 6 ヵ月間経口投与および 12 週間回復性試験［8289422 試験（[redacted]MA056），概要表 2.6.7.7B］ 20

4.2. カニクイザルを用いた試験 22

4.2.1. カニクイザルを用いた 14 日間経口投与毒性試験（[redacted]MA068 試験，概要表 2.6.7.6） 22

4.2.2. カニクイザルを用いた 1 ヵ月間経口投与毒性試験（[redacted]GR319 試験，概要表 2.6.7.7C） 23

4.2.3. カニクイザルを用いた 9 ヵ月間経口投与および 12 週間回復性試験［8289421 試験（[redacted]MA055），概要表 2.6.7.7D］ 24

5. 遺伝毒性試験 26

5.1. 細菌を用いた復帰突然変異試験［MBR[redacted]-381 試験（[redacted]GR326），概要表 2.6.7.8A］ 27

5.2. TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験［MBR[redacted]-382 試験（[redacted]GR325），概要表 2.6.7.8B］ 27

5.3. 汎セントロメア DNA プローブを用いた FISH 試験（[redacted]GTX03 試験，概要表 2.6.7.8C） 28
5.4. in vivo ラット小核試験［WIL-655033 試験（[redacted]GR327），概要表 2.6.7.9） 29
6. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 30
6.1. マウス 30
6.1.1. マウスを用いた 2 週間経口投与忍容性試験［8380217 試験（[redacted]MA077），概要表 2.6.7.10A］ 30
6.1.2. rasH2（wt/wt）マウスを用いた 1 ヵ月間経口投与用量設定試験［8384615 試験（[redacted]GR044），概要表 2.6.7.10B］ 30
6.1.3. rasH2（wt/wt）マウスを用いた 1 ヵ月間経口投与用量設定試験［8391764 試験（[redacted]GR129），概要表 2.6.7.10C］ 32
6.1.4. rasH2（tg/wt）マウスを用いた 6 ヵ月間経口投与がん原性試験［8398640 試験（[redacted]GR243），概要表 2.6.7.10D］ 32
6.2. ラット 34
6.2.1. ラットを用いた 104 週間経口投与がん原性試験［8373335 試験（[redacted]MA056），概要表 2.6.7.10E］ 34
7. 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 36
7.1. 受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験 36
7.1.1. ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験［655170 試験（[redacted]GR089），概要表 2.6.7.12A］ 36
7.1.2. ラットを用いた受胎能および 1 ヵ月間回復性試験（[redacted]GR261 試験，概要表 2.6.7.12B） 37
7.2. 胚・胎児発生に関する試験 38
7.2.1. ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験［20052794 試験（[redacted]GR307），概要表 2.6.7.11］ 38
7.2.2. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験［20055528 試験（[redacted]GR073），概要表 2.6.7.13A］ 39
7.2.3. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験［20052795 試験（[redacted]GR306），概要表 2.6.7.11］ 40
7.2.4. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験［20058757 試験（[redacted]GR183），概要表 2.6.7.13B］ 41
7.3. ラットを用いた出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験［00655212 試験（[redacted]GR074），概要表 2.6.7.14］ 42
7.4. 12 歳未満を対象とした臨床試験実施のための幼若動物を用いた試験 43

7.4.1. 幼若ラットを用いた用量設定毒性試験［00655213 試験（[redacted]GR060），概要表 2.7.7.15A］ 43
7.4.2. 幼若ラットを用いた経口投与毒性および 2 ヵ月間回復性試験［00655225 試験（[redacted]GR039），概要表 2.6.7.15B］ 43
8. 局所刺激性試験 45
9. その他の毒性試験 45
9.1. 有色ラットを用いた光毒性試験［20052793 試験（[redacted]MA095），概要表 2.6.7.17］ 45
9.2. 抗原性試験 46
9.3. 免疫毒性試験 46
9.3.1. ヒト細胞免疫機能試験［アブロシチニブとトファシチニブの比較］（[redacted]GR190 試験，概要表 2.6.7.17） 48
9.4. 機序に関する試験 49
9.5. 依存性試験 49
9.6. 代謝物に関する試験 50
9.6.1. PF-06471658，PF-07054874 および PF-07055087 の Nav1.5 チャネルおよび Cav1.2 チャネルに対する阻害作用（[redacted]LJ058 試験，[redacted]LJ059 試験および [redacted]LJ060 試験，概要表 2.6.7.17） 50
9.6.2. PF-06471658，PF-07054874 および PF-07055087 の hERG チャネル阻害試験［[redacted]0403.QHJ 試験（[redacted]LJ049），[redacted]0404.QHJ 試験（[redacted]LJ048）および [redacted]0405.QHJ 試験（[redacted]LJ051），概要表 2.6.7.17］ 50
9.6.3. ラットを用いた各種毒性試験におけるヒト主代謝物の曝露量 51
9.7. 不純物に関する試験 53
9.7.1. PF-01323624 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171491 試験，概要表 2.6.7.17） 53
9.7.2. PF-03817968-09 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171440 試験，概要表 2.6.7.17） 54
9.7.3. PF-06238566 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171525 試験，概要表 2.6.7.17） 54
9.7.4. PF-07085579 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171473 試験，概要表 2.6.7.17） 55
9.7.5. PF-07094402 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171457 試験，概要表 2.6.7.17） 56
9.7.6. PF-07097547-24 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171507 試験，概要表 2.6.7.17） 57

9.7.7. PF-07297478 の細菌を用いた復帰突然変異試験（[redacted]GR050 試験，概要表 2.6.7.17） 58
9.7.8. PF-07275639 の細菌を用いた復帰突然変異試験（[redacted]GR051 試験，概要表 2.6.7.17） 58
9.7.9. PF-07103166 の細菌を用いた復帰突然変異試験（[redacted]GR278 試験，概要表 2.6.7.17） 58
9.7.10. PF-07216658 の細菌を用いた復帰突然変異試験（[redacted]GR277 試験，概要表 2.6.7.17） 59
9.7.11. C57BL/6 マウスを用いた PF-07216658 の 5 日間経口投与試験［AF66CZ.DRF1NGLP.BTL 試験（[redacted]GR077），概要表 2.6.7.17］ 60
9.7.12. Big Blue®マウスを用いた PF-07216658 の 28 日間経口投与遺伝子変異試験［AF66CZ.170.BTL 試験（[redacted]GR088），概要表 2.6.7.17］ 60
9.7.13. ラットを用いたアブロシチニブの 13 週間経口投与不純物評価試験（[redacted]GR270 試験，概要表 2.6.7.17） 61
9.8. その他の試験 62
10. 考察及び結論 62
11. 図表 69

LIST OF TABLES

Table 1. 毒性試験の概要 8
Table 2. アブロシチニブの遺伝毒性試験 26
Table 3. Tg マウスを用いた 6 ヵ月間投与がん原性試験における試験 26 週の生存率 33
Table 4. ラットを用いた 104 週間投与がん原性試験における試験 104 週での生存率 35
Table 5. ラットを用いた毒性試験におけるアブロシチニブ，PF-07055087 および PF-07054874 のヒト曝露量に対する曝露量比 52
Table 6. ラットの 7 日間および 1 ヵ月間投与試験でみられた骨への影響 64

本項で使用する用語・略語

用語・略号	省略していない表現または定義
AD	アトピー性皮膚炎
A/G	アルブミン/グロブリン
ALP	アルカリフォスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	濃度-時間曲線下面積
AUC_{24}	0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
BAT	褐色脂肪組織
BID	1 日 2 回
BUN	血中尿素窒素
CHO	チャイニーズハムスター由来卵巣
C_{max}	最高血漿中濃度
DMSO	ジメチルスルホキシド
ENU	*N*-エチル-*N*-ニトロソウレア
F1	第 1 世代
FDA	米国食品医薬品局
FISH	蛍光 in situ ハイブリダイゼーション
FOB	機能観察総合評価法
GALT	腸管関連リンパ組織
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GLDH	グルタミン酸脱水素酵素
HDL	高比重リポタンパク
HEK	ヒト胎児腎臓
hERG	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HPC	ヒドロキシプロピルセルロース
HPMCAS-HF	ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート grade HF
HPMCAS-MF	ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート grade MF
HPMCAS-MG	ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネート grade MG
IC_{50}	50%阻害濃度
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IFN	インターフェロン
IL	インターロイキン
IP-10	インターフェロン誘導タンパク質 10
JAK	ヤヌスキナーゼ
KLH	キーホールリンペットヘモシニアン
LDL	低比重リポタンパク
LOGEL	遺伝毒性最小作用量
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	平均赤血球容積
MNU	N-メチル-N-ニトロソウレア

用語・略号	省略していない表現または定義
8-MOP	8-メトキシソラレン
MTD	最大耐量
NA	該当せず
NK	ナチュラルキラー
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
NOGEL	遺伝毒性無作用量
OECD	経済協力開発機構
PALS	動脈周囲リンパ鞘
PBMC	末梢血単核球
QD	1 日 1 回
QTc	心拍数で補正した QT 間隔
RDW	赤血球分布幅
S9	ポストミトコンドリア上清
SBECD	スルホブチルエーテル-β シクロデキストリン
SDD	スプレードライ分散
STAT	シグナル伝達兼転写活性化因子
TDAR	T 細胞依存性抗体産生
TEM	透過型電子顕微鏡
Tg	トランスジェニック
TK	トキシコキネティクス
TK6	ヒトリンパ芽球細胞株
T_{max}	最高濃度到達時間
UV	紫外線
V_{ss}	定常状態時の分布容積

1. まとめ

アブロシチニブを, Table 1 および概要表 2.6.7.1 に示す一連の非臨床毒性試験において評価した。TK 試験の概要および TK データの要約を，それぞれ概要表 2.6.7.2 および 2.6.7.3 に示す。毒性試験で使用したアブロシチニブのロットの概要を，概要表 2.6.7.4 に示す。

すべての GLP 試験は，GLP 規則（FDA 21 CFR Part 58）に従って実施した。米国およびオランダは，経済協力開発機構（OECD）データの相互受理プログラムの加盟国である。GLP 適用試験については，試験デザインの概略，試験実施における試験デザインからの逸脱ならびに試験実施日を，関連する試験報告書または毒性試験の概要表に示した。

供試動物

ガイダンス（ICH M3[R2], 2009; EMEA/CHMP/SWP/28367/07 Rev 1, 2017）に従い，また，市販の JAK 1/ JAK 3 阻害薬であるトファシチニブで実施された非臨床試験の動物種であり，JAK に対する薬理学的阻害に感受性を示したことから，ラット（Wistar Han あるいは Sprague Dawley）およびカニクイザルを一般毒性試験に用いる動物種として選択した。

ラットを用いた毒性試験では, Charles River Laboratories 社から供給された Sprague Dawley ラット［Crl:CD®（SD）］または Wistar Han IGS［Crl:WI（Han）］を用いた。Charles River Laboratories 社の所在地はノースカロライナ州のローリーである。動物供給業者の所在地が試験報告書や試験計画書に明記されていない場合は，保管されたデータファイルで調べることができる。マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験では, Charles River Laboratories 社（ノースカロライナ州, ローリー）の Crl:CD1（ICR）マウスまたは Taconic Biosciences 社（ニューヨーク州, ジャーマンタウン）の CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic モデル 1178-野生型［rasH2（wt/wt）］マウスを用いた。マウスを用いた 6 ヵ月間投与がん原性試験では CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic モデル 1178-トランスジェニック［rasH2（tg/wt）］ヘミ接合体マウスを用い，TK 評価には CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic モデル 1178-野生型［rasH2（wt/wt）野生型］を用いた。いずれも Taconic Biosciences 社（ニューヨーク州，ジャーマンタウン）から供給された。

ウサギを用いた生殖発生毒性試験では，Charles River Laboratories 社（カナダ，ケベック州，サン・コンスタン）から供給されたニュージーランド白色種ウサギ［Crl:KBL（NZW）］を使用した。

一般毒性試験で使用したカニクイザルは，Covance Research Products 社，Charles River–Research Models and Services 社，SNLB Laboratories 社または SNLB USA Scientific Research Center 社から供給された。

ラットを用いた光毒性試験では，Charles River Laboratories 社（ノースカロライナ州，ローリー）から供給された Long-Evans 有色（Crl:LE）ラットを用いた。

不純物の用量設定試験では，Envigo RMS 社（メリーランド州，フレデリック）から供給された C57BL/6 野生型マウスを用いた。不純物に関する本毒性試験では，Taconic Biosciences 社（ニューヨーク州，ジャーマンタウン）の BioReliance colony から供給された C57BL/6 ホモ接合体 Tg マウス［C57BL/6-Tg（TacLIZa）A1Jsh］を使用し，TK 評価には，Envigo 社（メリーランド州，フレデリック）から供給された C57BL/6 野生型（C57BL/6NTac）を使用した。

被験物質の投与

臨床試験で経口投与を予定していることから，毒性試験では経口投与を選択した。マウス，ラットおよびウサギを用いた試験では，アブロシチニブの懸濁液［メチルセルロース：0.5%（w/v），ポリソルベート 80：0.1%（v/v）含有脱イオン水，逆浸透水または精製水］を 1 日 1 回投与した。カニクイザルを用いた試験では，アブロシチニブの SDD 製剤を投与した。これは，忍容性および曝露量データから，SDD 製剤が最適と判断されていたためである。また，嘔吐の確率を下げるため，カニクイザルには摂食後に投与した。

Table 1. 毒性試験の概要

試験 [a]	試験番号（参照番号）	濃度または用量	GLP 適合/非適合	概要表
単回投与毒性試験				
雄ラットを用いた経口投与 TK 試験	[redacted]MA015	0, 250, 500, 1000 mg/kg	非適合	2.6.7.5
カニクイザルを用いた経口/静脈内投与 TK 試験	[redacted]MA052	150 mg/kg（SDD）（および他の製剤）	非適合	2.6.7.5
反復投与毒性試験				
雄ラットを用いた 7 日間経口投与試験	[redacted]MA026	0，50，150，300 mg/kg/日	非適合	2.6.7.6
ラットを用いた 1 ヵ月間経口投与試験	[redacted]GR318	0，25，75，200 mg/kg/日	適合	2.6.7.7A
ラットを用いた 6 ヵ月間経口投与および 12 週間回復性試験	8289422 ([redacted]MA056)	0，30，45，70 mg/kg/日	適合	2.6.7.7B
カニクイザルを用いた 14 日間経口投与試験	[redacted]MA068	0, 50, 100（SDD）mg/kg/日	非適合	2.6.7.6
カニクイザルを用いた 1 ヵ月間経口投与試験	[redacted]GR319	0，40，80，150（SDD）mg/kg/日	適合	2.6.7.7C
カニクイザルを用いた 9 ヵ月間経口投与および 12 週間回復性試験	8289421 ([redacted]MA055)	0，15，35，75（SDD）mg/kg/日	適合	2.6.7.7D
遺伝毒性試験				
In vitro 試験				
細菌を用いた復帰突然変異試験	MBR[redacted]-381 ([redacted]GR326)	25～5000 µg/プレート	適合	2.6.7.8A
TK6 細胞（ヒトリンパ芽球細胞株）を用いた小核試験	MBR[redacted]-382 ([redacted]GR325)		適合	2.6.7.8B
4 時間処理-代謝活性化系非存在下		150～204 µg/mL		
4 時間処理-代謝活性化系存在下		128～175 µg/mL		
27 時間処理-代謝活性化系非存在下		27.5～43.6 µg/mL		
TK6 細胞を用いた探索的 FISH 試験	[redacted]GTX03	121, 166 µM	非適合	2.6.7.8C
In vivo 試験				

Table 1. 毒性試験の概要

試験[a]	試験番号 (参照番号)	濃度または用量	GLP 適合/非適合	概要 表
ラットを用いた骨髄小核試験	WIL-655033 ([redacted]GR327)	0，100，300， 600 mg/kg/日	適合	2.6.7.9
がん原性試験				
マウスを用いた2週間経口投与忍容性およびTK試験	8380217 ([redacted]MA077)	0，100，300， 600 mg/kg/日	非適合	2.6.7.10A
マウスを用いた1ヵ月間経口投与用量設定試験	8384615 ([redacted]GR044)	0，100/75[b]， 250/150[c]， 450 mg/kg/日	適合	2.6.7.10B
マウスを用いた1ヵ月間経口投与用量設定試験	8391764 ([redacted]GR129)	0，10，30， 60 mg/kg/日	適合	2.6.7.10C
Tg.rasH2（tg/wt）マウスを用いた6ヵ月間経口投与がん原性試験	8398640 ([redacted]GR243)	雄：0，10，20， 60 mg/kg/日 雌：0，10，25， 75 mg/kg/日	適合	2.6.7.10D
ラットを用いた104週間経口投与がん原性試験	8373335 ([redacted]MA056)	0，3，10， 30 mg/kg/日	適合	2.6.7.10E
生殖発生毒性試験				
受胎能および初期胚発生に関する試験				
ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験	655170 ([redacted]GR089)	0，30，45， 70 mg/kg/日	適合	2.6.7.12A
雌ラットを用いた受胎能および1ヵ月間回復性試験	[redacted]GR261	0，3，10， 70 mg/kg/日	適合	2.6.7.12B
胚・胎児発生に関する試験				
雌ラットを用いた経口投与用量設定試験	20052794 ([redacted]GR307)	0，75，200， 400 mg/kg/日	非適合	2.6.7.11
雌ラットを用いた経口投与試験	20055528 ([redacted]GR073)	0，10，30， 60 mg/kg/日	適合	2.6.7.13A
雌ウサギを用いた経口投与用量設定試験	20052795 ([redacted]GR306)	0，30，75，150， 300 mg/kg/日	非適合	2.6.7.11
雌ウサギを用いた経口投与試験	20058757 ([redacted]GR183)	0，10，30， 75 mg/kg/日	適合	2.6.7.713B
ラットを用いた出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験				
ラットを用いた出生前および出生後の発生に関する経口投与試験	00655212 ([redacted]GR074)	0，10，30， 60 mg/kg/日	適合	2.6.7.14
幼若動物を用いた試験				
幼若ラットを用いた経口投与用量設定試験	00655213 ([redacted]GR060)	0，5，25， 75 mg/kg/日	非適合	2.6.7.15A
幼若ラットを用いた経口投与および2ヵ月間回復性試験	00655225 ([redacted]GR039)	0，5，25， 75 mg/kg/日	適合	2.6.7.15B
局所刺激性試験				
実施していない				
その他の毒性試験				
光毒性試験				

Table 1. 毒性試験の概要

試験 [a]	試験番号（参照番号）	濃度または用量	GLP 適合/非適合	概要表
ラットを用いた光毒性試験	20052793 ([redacted]MA095)	0，50，150，300 mg/kg/日	適合	2.6.7.17
免疫毒性試験				
アブロシチニブをトファシチニブと比較する in vitro ヒト免疫細胞機能試験	[redacted]GR190	最高 30 µmol/L	非適合	2.6.7.17
代謝物に関する試験				
In vitro Nav1.5 および Cav1.2 パッチクランプ試験				
PF-06471658（M1）	[redacted]LJ058	0.001～100 µmol/L	非適合	2.6.7.17
PF-07054874（M4）	[redacted]LJ059	0.001～100 µmol/L	非適合	2.6.7.17
PF-07055087（M2）	[redacted]LJ060	0.001～100 µmol/L	非適合	2.6.7.17
In vitro hERG パッチクランプ試験				
PF-06471658（M1）	[redacted]0403.QHJ ([redacted]LJ049)	30, 300 µM	適合	2.6.7.17
PF-07054874（M4）	[redacted]0404.QHJ ([redacted]LJ048)	30，100，300 µmol/L	適合	2.6.7.17
PF-07055087（M2）	[redacted]0405.QHJ ([redacted]LJ051)	30, 300 µM	適合	2.6.7.17
不純物に関する試験				
PF-01323624 の細菌を用いた復帰突然変異試験	20171491	1.7～5000 µg/プレート	適合	2.6.7.17
PF-03817968-09（リン酸塩）の細菌を用いた復帰突然変異試験	20171440	1.7～5000 µg/プレート	適合	2.6.7.17
PF-06238566 の細菌を用いた復帰突然変異試験	20171525	1.7～5000 µg/プレート	適合	2.6.7.17
PF-07085579 の細菌を用いた復帰突然変異試験	20171473	1.7～5000 µg/プレート	適合	2.6.7.17
PF-07094402 の細菌を用いた復帰突然変異試験	20171457	1.7～5000 µg/プレート	適合	2.6.7.17
PF-07097547-24（コハク酸塩）の細菌を用いた復帰突然変異試験	20171507	1.7～5000 µg/プレート	適合	2.6.7.17
PF-07297478 の細菌を用いた復帰突然変異試験	[redacted]GR050	313～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
PF-07275639 の細菌を用いた復帰突然変異試験	[redacted]GR051	313～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
PF-07103166 の細菌を用いた復帰突然変異試験	[redacted]GR278	15～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
PF-07216658 の細菌を用いた復帰突然変異試験	[redacted]GR277	15～5240 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
C57BL/6 マウスを用いた PF-07216658 の 5 日間経口投与試験	AF66CZ.DRF 1NGLP.BTL ([redacted]GR077)	0，300，600，1000 mg/kg/日	非適合	2.6.7.17

Table 1. 毒性試験の概要

試験[a]	試験番号（参照番号）	濃度または用量	GLP適合/非適合	概要表
Big Blue®雄マウスを用いたPF-07216658の28日間経口投与毒性試験	AF66CZ.170.BTL（[redacted]GR088）	0，100，300，600 mg/kg/日	適合	2.6.7.17
ラットを用いた13週間経口投与不純物評価試験（PF-07103164，PF-07216658，PF-07103166）	[redacted]GR270	0，30，30[d] mg/kg/日	適合	2.6.7.17

a.すべてのin vivo試験は，試験表題に特に記載がない限り，雌雄の動物を用いて実施した。
b. 450 mg/kg/日で瀕死状態が認められたため，100 mg/kg/日の用量を試験12日から75 mg/kg/日に減量した。
c. 250 mg/kg/日で体重減少が認められたため，試験11～14日の4日間休薬した後に250 mg/kg/日の用量を試験15日から150 mg/kg/日に減量した。
d.ラットに，アブロシチニブ30 mg/kg/日単独もしくは3種類の不純物（PF-07103164，PF-07216658およびPF-07103166）と混合したアブロシチニブ30 mg/kg/日を投与した。

2. 試験結果の要約

包括的な非臨床安全性データパッケージによって，12歳以上のアトピー性皮膚炎（AD）患者に対するアブロシチニブの使用することの妥当性が裏付けられていると考えられる。これらの毒性試験の結果を以下に要約する。重要な毒性試験では，アブロシチニブをWistar Hanラットに最長6ヵ月間，カニクイザルに最長9ヵ月間1日1回経口投与した。これらの反復投与毒性試験で認められたアブロシチニブに関連した所見は想定されたアブロシチニブの免疫調節の薬理作用とおおむね一致しており，アブロシチニブの投与後に特異的または想定外の免疫毒性は認められず，アブロシチニブに関連した作用のほとんどは12週間の休薬期間終了時までに回復した。ラットに6ヵ月間投与したときのNOAELは，雄で45 mg/kg/日，雌で70 mg/kg/日で，このときの曝露量は臨床用量［200 mg QD］投与時の非結合型AUCのそれぞれ18倍および26倍であった[a]。カニクイザルに9ヵ月間投与したときのNOAELは75 mg/kg/日で，このときの曝露量は臨床用量［200 mg QD］投与時の非結合型AUCの10倍であった。

特定された標的臓器は，免疫・リンパ造血系，骨ならびに腎臓であった。また，安全性薬理試験では心拍数，拡張期血圧，自発運動量および体温に対する影響がみられた。ラットの最長6ヵ月の毒性試験およびサルの最長9カ月の毒性試験ではアブロシチニブ投与に関連した血栓，塞栓あるいは血液凝固パラメータへの影響はみられなかった。ラットおよびカニクイザルの反復投与毒性試験では，増殖性または腫瘍性病変は認められなかった。

[a] 曝露量比はヒトに200mg QD投与したときのC_{max}（1123 ng/mL）およびAUC（5662 ng•h/mL）に非結合型分率（fu）の0.36を掛けたときの非結合型C_{max}（404 ng/mL）および非結合型AUC（2040 ng•h/mL）を基に算出した（PMAR-EQDD-B745d- DP4-962 Table 13）。

骨の形成不全（一次海綿骨の減少：細胞の変性，壊死あるいは炎症のない正常範囲内の成長板の変化）は，ラットを用いた短期（1 ヵ月以内）反復投与毒性試験のみで認められた。これらの試験において，骨に対する影響が認められなかった曝露量（NOEL）は，臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 6 倍以上であった。ラットを用いた試験における投与開始時の週齢（ヒトの 12 歳以上に相当）ならびにラット 6 ヵ月間投与毒性試験およびカニクイザルの最長 9 ヵ月間投与毒性試験のいずれにおいても骨に対する影響は認められなかったことから，臨床予定用量のアブロシチニブの投与は 12 歳以上の患者においてリスクにならないと考えられる。

ラットにおける尿中の結晶およびマウスの結晶による閉塞性腎症は，高い尿濃縮によるげっ歯類に特異的な現象と考えられた[1]。

アブロシチニブは細菌を用いた復帰突然変異試験および in vivo 小核試験で遺伝毒性が陰性であったが，ヒトリンパ芽球細胞株 TK6 を用いた in vitro 小核試験では代謝活性化系の非存在下で 27 時間処理したところ，遺伝毒性が陽性を示した。追加で実施した FISH 試験により，in vitro 小核試験における陽性反応には異数性誘発性が関与していることが示されたが，異数性の誘発がみられたのは高濃度においてのみであった（121 µmol/L および 166 µmol/L）。

Tg マウスの 6 ヵ月間投与がん原性試験における用量設定試験として実施した 2 週間投与忍容性試験では CD-1 マウスに，1 ヵ月間投与用量設定試験（2 試験）では rasH2 野生型（wt/wt）マウスにアブロシチニブを経口投与した。CD-1 マウスを用いた 2 週間投与試験において，100 mg/kg/日および 300 mg/kg/日では忍容性が認められたが，600 mg/kg/日では重度の体重減少のため早期安楽殺または死亡に至った。rasH2 野生型（wt/wt）マウスを用いた初回の 1 ヵ月間投与用量設定試験では，250 mg/kg/日以上の用量では忍容性が認められず，100/75 mg/kg/日（検討した最低用量）以上の雄および 250/150 mg/kg/日の雌で死亡，体重減少または閉塞性腎症が認められた。

Tg ヘミ接合体 rasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間投与がん原性試験では，雄では 60 mg/kg/日までの用量，雌では 75 mg/kg/日においてアブロシチニブ投与に関連した腫瘍は認められなかった。このときの曝露量は，臨床用量［200 mg QD］投与時の非結合型 AUC の最大 0.9 倍であった。25 mg/kg/日以上の雌では胸腺上皮細胞過形成の発現頻度の上昇が認められたが，毒性学的意義の乏しい所見と考えられた。

Wistar Hanラットを用いた104週間投与がん原性試験では，30 mg/kg/日の雌において胸腺上皮細胞過形成の発現頻度の上昇が認められた。10 mg/kg/日以上の雌では，良性胸腺腫（胸腺上皮細胞由来の胸腺腫）の発現頻度の上昇が認められ，このときの曝露量は臨床用量［200 mg QD］投与時の非結合型AUCの2.8倍以上であった。雄では全用量（臨床用量［200 mg QD］投与時の非結合型AUCの最大14倍の曝露量）で，また，雌の3 mg/kg/日（低用量群）でも胸腺腫の発現頻度上昇はみられなかった。

雌雄ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験では，授胎能または精子形成能など雄の生殖系への毒性変化は認められず，雄の生殖毒性に関するNOAELは70 mg/kg/日と考えられた（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型AUCの26倍）。雌では，70 mg/kg/日で受胎率および妊娠率の低下ならびに平均黄体数の減少が，30 mg/kg/日以上では着床後胚損失率の上昇が認められた。全用量で着床後胚損失率の上昇ならびに関連する二次的な影響が認められたため，雌の生殖毒性および初期胚発生毒性に関するNOAELは得られなかった。その後，受胎

能に関する試験を雌ラットのみを用いて実施したところ，70 mg/kg/日で受胎率および妊娠率の低下ならびに着床前および着床後胚損失率の上昇が認められ，同腹児全死亡もみられた。以上の結果から，雌の生殖毒性および初期胚発生毒性に関するNOAELは10 mg/kg/日（臨床用量［200 mg QD］投与時の非結合型AUCの2倍）であった。70 mg/kg/日で認められた毒性変化は，1ヵ月間の休薬期間後に回復した。

Sprague-Dawley ラットおよびニュージーランド白色種ウサギを用いた胚・胎児発生試験の用量は用量設定試験の結果に基づいて設定した。ラットを用いた胚・胎児発生試験において，母動物の体重および摂餌量に影響は認められず，また，母動物の剖検でも異常がみられなかったことから，母動物に関する NOAEL は 60 mg/kg/日と判断した。胎児では，体重に対する影響はみられなかったが，30 mg/kg/日以上で骨格変異が認められ（骨格奇形は認められず），60 mg/kg/日（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 17 倍）で一腹あたりの後期吸収胚数が増加したことから，次世代動物の発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日と判断した（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 2.4 倍）。ウサギの胚・胎児発生試験では，母動物および発生に関する NOAEL は 75 mg/kg/日と判断した（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 4 倍）。

ラットの出生前および出生後の発生に関する試験において，30 mg/kg/日以上で出産に対する影響（難産）および出生後の発達に対する影響（F1 の出生後生存率低下および F1 の体重減少）が認められた。このときの曝露量は，臨床用量［200 mg QD］投与時の非結合型 AUC の 11 倍以上であった。60 mg/kg/日では出生後生存率の低下が認められたため，この群の投与を早期に中止し，その後の評価を中止した。30 mg/kg/日で認められた離乳前の体重増加量の減少に伴い，離乳まで体重抑制がみられ，離乳後も継続した。母動物および発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日であり，このときの曝露量は，臨床用量［200 mg QD］投与時の非結合型 AUC の 2.4 倍であった。

アブロシチニブは UVB/可視光線領域において光吸収がみられるが，有色の Long-Evans ラットへの経口投与後の紫外線曝露では，皮膚または眼に光毒性を示す所見は認められなかった。

In vitro および in vivo 非臨床試験で，アブロシチニブの免疫毒性プロファイルを評価したところ，標準的な免疫毒性試験および追加の免疫毒性試験成績からは，想定されない免疫毒性は認められず，免疫・リンパ造血系の変化（循環血中リンパ球数の減少，脾臓または胸腺重量の減少，脾臓，胸腺，腸間膜または鼠径リンパ節および GALT のリンパ球密度の低下，TDAR の低下，赤血球パラメータの減少または骨髄の細胞密度低下など）は，アブロシチニブの JAK シグナル伝達阻害作用から想定されたものであった。

アブロシチニブの 3 種類のヒト循環血中代謝物，PF-06471658（M1，活性代謝物），PF-07055087（M2，活性代謝物），PF-07054874（M4，活性のない代謝物）の Nav1.5 および Cav1.2 に対する阻害作用を評価したところ，IC_{50} はいずれも 100 µmol/L 超であった（臨床用量［200 mg QD］投与時の非結合型ヒト C_{max} の 80 倍超）。これら 3 種類の代謝物の hERG 阻害作用を評価したところ，IC_{50} はいずれも 300 µmol/L 超であった（臨床用量［200 mg QD］投与時の非結合型ヒト C_{max} の 240 倍超）。

すべての不純物は，ICH ガイドラインおよび工程についての知識に基づき，適格性が確認されているか，適切に管理されている。さらに，アブロシチニブの不純物である PF-07216658 について，

C57BL/6 野生型マウスを用いた 5 日間経口投与用量設定試験で評価したところ，一般症状および体重増加量の減少から，MTD は 1000 mg/kg/日と考えられた。その後，PF-07216658 の 28 日間投与試験を Big Blue®マウスを用いて実施したところ，100 mg/kg/日以上の用量において cII 遺伝子の突然変異体の発現頻度が増加した。NOGEL（遺伝毒性無作用量）は得られず，LOGEL（遺伝毒性最小作用量）は 100 mg/kg/日と判断した。また，アブロシチニブ 30 mg/kg/日単独または不純物（PF-07103164，PF-07216658，PF-07103166）と混合したアブロシチニブ 30 mg/kg/日を投与したラット 13 週間試験で不純物を評価したところ，全般的な毒性プロファイルはアブロシチニブと同様で，薬理作用に関連したものであった。アブロシチニブ単独および不純物を混合したアブロシチニブの NOAEL は共に 30 mg/kg/日と考えられた。

慢性毒性試験に用いたラット（投与開始時に約 6～7 週齢）およびカニクイザル（投与開始時に約 2～4 歳）の年齢が，ヒトの青少年期（12 歳以上）にほぼ匹敵することから，実施した包括的な非臨床データパッケージの成績により, 12 歳以上の患者に対してアブロシチニブを使用することの妥当性が裏付けられていると考えられる。

12 歳未満の AD 患者へのアブロシチニブ投与を考慮し, 幼若ラットを用いた毒性試験を実施した。幼若動物での毒性試験の用量を決定するために，雌雄の幼若 Wistar Han ラットを用いて用量設定試験を実施した。10 日齢から 24 日齢までの新生児にアブロシチニブを投与したところ, 75 mg/kg/日（検討した最高用量）までの用量で影響は認められなかった。幼若ラットの毒性試験では， 10 日齢から 63 日齢までアブロシチニブを投与し，その後 2 ヵ月間の休薬期間を設けた。すべての用量（5，25 および 75 mg/kg/日）で，骨の剖検所見（大腿骨頭の小型化または形態異常）および病理組織学的所見（大腿骨頭の形態異常）が認められたことから，NOAEL は求められなかった。免疫・リンパ造血系にみられた変化は，幼若ラットと成熟ラットで同様であった。

3. 単回投与毒性試験

3.1. 雄ラットを用いた単回経口投与トキシコキネティクス試験（[redacted]MA015 試験，概要表 2.6.7.5）

雄の Sprague Dawley ラット（3 例/群）にアブロシチニブを 0（0.5%メチルセルロース［w/v］および 0.1%ポリソルベート 80［v/v］含有脱イオン水），250，500 または 1000 mg/kg の用量で経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。すべての動物の一般状態を，投与開始前に 1 回，投与前，投与後 7 時間まで約 1 時間ごとおよび投与後 24 時間に観察した。体重は無作為化のために投与開始前にのみ記録した。投与後約 1，3，7 および 24 時間に全動物採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。曝露量は C_{max} および AUC_{24} により評価した。24 時間後の TK 用採血後に動物を安楽殺した。死亡例および瀕死状態による安楽殺例については剖検を実施した。

1000 mg/kg では，3 例中 1 例が投与後約 7 時間に死亡し，残りの 2 例は投与後約 8 時間に瀕死状態のため安楽殺された。死亡例および瀕死状態での安楽殺例の剖検で異常は認められなかった。投与から約 7 時間以降，1000 mg/kg の全例に活動性の低下および色素涙が認められた。250 mg/kg および 500 mg/kg では一般状態の変化はみられなかった。C_{max} は 250，500 および 1000 mg/kg でそれぞれ 27300，40600 および 52700 ng/mL であった。AUC_{24} は 250 mg/kg および 500 mg/kg でそれぞれ 318000 ng•h/mL および 391000 ng•h/mL であった。1000 mg/kg については投与後 24 時間の試料採取前に全例が死亡したか安楽殺されたため，AUC_{24} を算出できなかった。アブロシチニブは 500 mg/kg 以下の用量で良好な忍容性を示し，曝露量は用量の増加に伴い増加した。

3.2. カニクイザルを用いた単回経口投与/静脈内投与トキシコキネティクス試験（[redacted]MA052 試験，概要表 2.6.7.5）

雌雄カニクイザル（試験全体で雄 2 例および雌 2 例）にアブロシチニブを異なる剤形，用量，投与経路および用法で投与し，以降の試験で使用する剤形および投与方法を選定した。また，全動物について投与と投与の間に 48 時間以上のウォッシュアウト（休薬）期間を設けた。

第 1 群：アブロシチニブを給餌後に動物（動物番号 001［雄］および 003［雌］）に投与した（投与の約 1 時間前に給餌）。アブロシチニブ（ロット PF-04965842-00-010）の SDD 製剤（アブロシチニブ 26.5%および HPMCAS-MG 73.5%）を，150 mg/kg（投与容量 10 mL/kg）の用量で単回経口投与した。溶媒は，0.5%メチルセルロースおよび 0.5% HPMCAS-HF 含有 20 mmol/L トリス緩衝液（pH 7.4）とした。投与後約 1，3，7 および 24 時間に採血を行った。

第 2 群：アブロシチニブ（ロット PF-04965842-00-010）の SDD 製剤（アブロシチニブ 26.5%および HPMCAS-MG 73.5%）を，150 mg/kg（75 mg/kg BID，約 4 時間間隔）の用量，5 mL/kg の投与容量で経口投与した（動物番号 002［雄］および 004［雌］）。溶媒は，0.5%メチルセルロースおよび 0.5% HPMCAS-HF 含有 20 mmol/L トリス緩衝液（pH 7.4）とした。投与後約 1，3，5，7，10 および 24 時間に採血を行った。

第 3 群：アブロシチニブ（ロット PF-04965842-00-0012）のナノ懸濁液を，第 1 群と同一の動物には 50 mg/kg（投与容量 5 mL/kg），第 2 群と同一の動物には 150 mg/kg（投与容量 5 mL/kg）の用量で経口投与した。溶媒は，1.25% HPC-SL/0.05%ジオクチルスルホコハク酸ナトリウム含有脱イオン水とした。投与後約 1，3，7 および 24 時間に採血を行った。

第 4 群：アブロシチニブ（ロット PF-04965842-00-0012）を，第 1 群と同一の動物に 1 mg/kg（投与容量 5 mL/kg）の用量で単回静脈内投与した。溶媒は，10% SBECD 含有注射用滅菌水とした。投与後約 0.083，0.25，0.5，1，3，7 および 24 時間に採血を行った。

第 5 群：アブロシチニブ（ロット PF-04965842-00-0012）を，第 2 群と同一の動物に 3 mg/kg（投与容量 5 mL/kg）の用量で単回経口投与した。溶媒は，0.5%メチルセルロース（w/v）および 0.1%ポリソルベート 80（v/v）含有脱イオン水とした。投与後約 0.25，0.5，1，3，7 および 24 時間に採血を行った。

一般状態観察を投与開始前，休薬期間中，投与日の投与前および投与後約 1，2，3，5 および 7 時間ならびに投与後 24 時間に行った。体重を投与開始前ならびに試験 1，3 および 8 日の投与前に行った。摂餌量を投与開始前から試験 9 日まで目視で評価した。健康状態の評価のために血液学的検査，血液凝固検査および血液生化学検査などのその他の測定項目を投与開始前に 1 回測定した。

アブロシチニブの曝露量（AUC_{24} および C_{max}）は全動物で評価した。第 4 群では全身クリアランスおよび V_{ss} を，第 5 群では絶対的バイオアベイラビリティを測定した。

第 1 群：一般状態の変化はみられなかった。150 mg/kg を投与したときの C_{max} および AUC_{24} は，雄ではそれぞれ 13400 ng/mL および 99600 ng•h/mL，雌ではそれぞれ 21400 ng/mL および 271000 ng•h/mL であった。

第 2 群：雌では，一般状態の変化はみられなかった。雄では，2 回目の投与前に嘔吐が認められ，投与との関連はないと判断したが，投与後 7～10 時間に認められた嘔吐/吐物は食物様で複数回みられたことからアブロシチニブと関連ありと判断した。150（75 BID）mg/kg を投与したときの C_{max} および AUC_{24} は，雄ではそれぞれ 22500 ng/mL および 175000 ng•h/mL，雌ではそれぞれ 16200 ng/mL および 174000 ng•h/mL であった。

第 3 群：50 mg/kg の雄ならびに 50 mg/kg および 150 mg/kg の雌では，一般状態の変化はみられなかった。150 mg/kg の雄では，投与直後に液状嘔吐が認められた。これは投与手技によるものであり，アブロシチニブとの関連はないと考えられた。50 mg/kg および 150 mg/kg の雄では，C_{max} はそれぞれ 2730 ng/mL および 6740 ng/mL，AUC_{24} はそれぞれ 15400 ng•h/mL および 81900 ng•h/mL であった。50 mg/kg および 150 mg/kg の雌では，C_{max} はそれぞれ 5220 ng/mL および 2020 ng/mL，AUC_{24} はそれぞれ 42100 ng•h/mL および 25400 ng•h/mL であった。

第 4 群：一般状態の変化はみられなかった。静脈内投与後の雄および雌における全身クリアランスはそれぞれ約 29.2 mL/min/kg および 32.4 mL/min/kg，V_{ss} はそれぞれ 0.650 L/kg および 0.984 L/kg であった。

第 5 群：一般状態の変化はみられなかった。経口投与時の絶対バイオアベイラビリティは，雄で 10.1%，雌で 9.7%であった。

これらの結果から，カニクイザルを用いた以降の試験では SDD 製剤を 10 mL/kg の投与容量で，給餌後に QD 経口投与することとした。

4. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

4.1. ラットを用いた試験

4.1.1. 雄ラットを用いた 7 日間経口投与毒性試験（[redacted]MA026 試験，概要表 2.6.7.6）

雄ラット（5 例/群，投与開始時に 6～8 週齢）にアブロシチニブを 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 0.1%ポリソルベート 80（v/v）含有脱イオン水］，50，150 または 300 mg/kg/日の用量で，7 日間 QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，血液学的検査および血液生化学的検査を行った。試験 1 日および 7 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に全動物から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。投与期間終了時に全動物を安楽殺し，剖検に供した。脳，肝臓，脾臓および胸腺の重量を測定し，一部の組織を病理組織学的検査に供した。

50 mg/kg/日以上では，体重増加量の減少がみられたが，毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。体重増加量は，試験 1～3 日には 300 mg/kg/日（80%の減少：以下，対照群との比較），試験 3～7 日ならびに試験 1～7 日には 50，150 および 300 mg/kg/日（それぞれ-25%，-14%および-29%ならびに-25%，-16%および-38%）において，統計学的に有意に減少した。

300 mg/kg/日では血小板数の減少（0.72 倍）および好中球数の増加，150 mg/kg/日以上では好酸球数の減少，50 mg/kg/日以上では網状赤血球数，リンパ球数および白血球数の減少が認められた。網状赤血球数および血小板の減少は，病理組織学的検査でみられた 50 mg/kg/日以上での脾臓における造血抑制および 150 mg/kg/日以上での骨髄の細胞密度低下と関連している可能性がある。

50 mg/kg/日以上では網状赤血球数の減少がみられたが，赤血球パラメータおよび赤血球恒数の減少はみられなかった。網状赤血球数の減少（0.62 倍）がみられた 300 mg/kg/日では，3 例で網状赤血球数の低値が認められた。50 mg/kg/日および 150 mg/kg/日の個体別の網状赤血球数は同等であった。統計的には有意差が認められたものの，50 mg/kg/日以上における網状赤血球数はいずれも背景データの範囲内（137～469 × 10e3/μL）であった。全アブロシチニブ投与群で認められた網状赤血球の減少は，アブロシチニブとの関連が示唆され，早期の赤血球産生抑制を反映している可能性がある。

50 mg/kg/日以上で認められた用量依存的な白血球数の減少は，主にリンパ球数の減少によるものであった。リンパ球数の減少は，50，150 および 300mg/kg/日においてそれぞれ 0.79，0.67 および 0.56 倍と用量依存性が認められた。リンパ球数の減少は，病理組織学的検査でみられた 50 mg/kg/日以上における胸腺および腸間膜リンパ節，150 mg/kg/日以上における T 細胞に富む脾臓の動脈周囲リンパ鞘（PALS）で認められたリンパ球密度の低下と関連しており，アブロシチニブの薬理作用と符合するものであった。

150 mg/kg/日以上では，好酸球数の減少（0.35 倍）が認められたが，毒性変化とは判断しなかった。300 mg/kg/日では，好中球数の増加（1.8 倍）が認められ，軽度のストレスを反映していた可能性がある。

300 mg/kg/日では，ALT，AST，GLDH，アルブミン，BUN，クレアチニンおよびリンに変化が認められた。300 mg/kg/日では，いずれの個体も ALT が高かった（2.0～3.3 倍）。300 mg/kg/日の 1 例では AST の増加が認められ（2.4 倍），ALT および GLDH は全個体の中で最も高かった（ALT：130 U/L，GLDH：441 U/L）が，病理組織学的検査では，肝細胞に異常所見は認められず，骨格筋または心筋の損傷を示す所見も認められなかった。300 mg/kg/日では，アルブミンの増加（1.15～1.26 倍）が認められ，同群における BUN（1.38 倍）およびクレアチニン（1.56 倍）の増加ならびにリンの減少（0.87 倍）とおおむね関連していたことから，これらの所見はいずれも脱水（腎前性の影響）に起因する可能性がある。なお，腎障害を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。300 mg/kg/日の 5 例中 4 例では，HDL コレステロール（62～83 mg/dL）は対照群（48～63 mg/dL）よりもわずかに増加していた。

50 mg/kg/日以上では，胸腺ならびに脾臓の実および比重量の変化が用量依存的にみられた。これらの変化に合わせて，胸腺のリンパ球密度低下および脾臓の造血抑制（リンパ球密度の低下がわずかに寄与している可能性あり）が病理組織学的検査でみられた。胸腺重量の減少は，アブロシチニブの薬理作用と符合していた。

50 mg/kg/日の 2 例および 150 mg/kg/日以上のほとんどの動物で，胸腺の小型化（中等度～重度）が認められた。300 mg/kg/日では 5 例中 4 例に脾臓の小型化が認められた。これらの所見は，胸腺および脾臓重量の減少や，病理組織学的検査でみられた胸腺皮質のリンパ球密度低下，脾臓の赤血球産生抑制および PALS の細胞密度低下と関連していた。

50 mg/kg/日以上の胸腺および腸間膜リンパ節ならびに 150 mg/kg/日以上の脾臓の PALS では，T 細胞に富む部位におけるリンパ球密度の低下が認められた。胸腺皮質では，50 mg/kg/日以上でリンパ球密度の低下が認められた。この所見は用量依存的に重篤度が増し，300 mg/kg/日では細胞密度の低下が中等度から重度に認められた。300 mg/kg/日では，胸腺皮質のリンパ球壊死を含むリンパ球密度の低下が認められた。これらの病理組織学的所見は，剖検における胸腺の小型化および胸腺重量の減少と関連していた。軽度から中等度のリンパ球密度低下が腸間膜リンパ節の傍皮質で認められ，より軽度ながら皮質（B 細胞に富む濾胞および胚中心）でも認められた。これらの動物の一部では，傍皮質の領域が対照群より狭かった。脾臓では，150 mg/kg/日の 1 例で PALS の細胞密度の軽微な低下が，300 mg/kg/日の 2 例で PALS の細胞密度の軽度または中等度な低下がみられた。50 mg/kg/日以上の全例で脾臓の造血抑制が，150 mg/kg/日の 1 例および 300 mg/kg/日の 3 例で胸骨骨髄の細胞密度低下が認められた。これらの所見は，50 mg/kg/日以上で認められた循環血中網状赤血球数の減少および 300 mg/kg/日で認められた血小板数の減少と関連していた。付随する赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の減少がみられなかったことから，50 mg/kg/日および 150 mg/kg/日の造血抑制は毒性所見とはみなさなかった。リンパ球および胸腺細胞の成熟および恒常性は，JAK 依存性受容体を介してシグナルを伝達する複数のサイトカイン（IL-2，IL-7，IL-15 など）に依存していることから，リンパ系組織に対する影響は薬理作用に基づく変化と考えられる。大腿骨および脛骨では，150 mg/kg/日以上で成長板と一次海綿骨の境界面に石灰化軟骨の減少が認められた。この所見は 150 mg/kg/日では軽微であり，300 mg/kg/日では軽微から軽度であった。石灰化軟骨の減少は，骨で覆われていない石灰化軟骨棘長の短縮，成長板直下の新規骨沈着の増加，散見された石灰化軟骨棘の微小骨折および微小骨折領域へのまれな微小出血と関連していた。それ以外の点については，成長板に異常はみられなかった。このように，胸腺，脾臓，腸間膜リンパ節，骨髄，大腿骨および脛骨で病理組織学的所見が用量依存的に認められた。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は試験 1 日と 7 日でほぼ同程度であり，用量の増加に伴い増加した。

すべての用量で忍容性がみられた。150 mg/kg/日以上で認められた骨髄および全投与量で認められたリンパ組織（胸腺，腸間膜リンパ節，脾臓）の病理組織学的所見は，アブロシチニブの薬理活性と符合していた。その他の所見として，150 mg/kg/日以上では成長板における石灰化軟骨の減少，300 mg/kg/日では血液生化学的パラメータ（ALT，AST および GLDH）の増加がみられたが，関連する病理組織学的所見は認められなかった。骨に対する影響に関する NOEL は 50 mg/kg と考えられた。

4.1.2. ラットを用いた 1 ヵ月間経口投与毒性試験（[redacted]GR318 試験，概要表 2.6.7.7A）

Wistar Han ラット（10 例/性/群，投与開始時に約 9 週齢）にアブロシチニブを 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 0.1%ポリソルベート 80（v/v）含有脱イオン水］，25，75 または 200 mg/kg/日の用量で，1 ヵ月間 QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査）を行った。試験 1 日および 29 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の動物（3～4 例/性/群）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。投与期間終了時に剖検を行い，器官重量測定，病理組織学的検査を実施した。

75 mg/kg/日以上の雌雄全例で，膝関節の骨部分（大腿骨および脛骨）において，成長板と一次海綿骨の境界面で骨の形成不全が認められた。この所見は 75 mg/kg/日では軽微から軽度であり, 200 mg/kg/日では軽微から中等度であった。骨の形成不全は，骨で覆われていない石灰化軟骨棘長の短縮および成長板直下の新規骨沈着の増加を伴っていた。骨端軟骨下の海綿骨が，概して正常より肥厚していた。それ以外の点について，成長板に異常はみられなかった。75 mg/kg/日以上の雌で認められた ALP の増加は，骨端軟骨の変化に関連している可能性が示唆された。

25 mg/kg/日以上の雄および 75 mg/kg/日以上の雌では，口，口唇，顎，肩または頸部に擦過傷が認められたが，毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。200 mg/kg/日の各動物では複数の擦過傷が認められた。擦過傷が初めて認められたのは試験 13 日であり，一部の動物では試験終了までに消失した。剖検では，25 mg/kg/日以上の雄および 200 mg/kg/日の雌で皮膚の創傷/瘢痕/痂皮が認められた。これらの皮膚所見は，病理組織学的には軽度の表在性びらん/潰瘍または軽微な表皮の過角化として認められた。びらん/潰瘍は，混合細胞性炎症，細胞残屑または細菌コロニーを含む漿液細胞性の痂皮形成と関連していた。この所見は，程度が軽く，限局性であり，発現頻度が低かったことから，毒性所見とはみなさなかった。25 mg/kg/日以上では，白血球パラメータの減少が主にリンパ球数の減少に伴って認められた。200 mg/kg/日の雌では好中球数の増加が，25 mg/kg/日以上の雄では単球数の減少が，25 mg/kg/日以上の雌雄では好酸球数の減少が認められた。白血球パラメータの変化は，擦過傷を除き，感染との関連はなかった。200 mg/kg/日の雌では，赤血球パラメータ（赤血球数, ヘモグロビン濃度, ヘマトクリット値）の減少, MCH および MCHC の増加，RDW および網状赤血球数の増加がみられた。雄では，25 mg/kg/日以上で網状赤血球数の減少が，75 mg/kg/日以上では血小板の減少が認められた。

胸腺および脾臓の実および比重量の用量依存的な減少が認められ， 25 mg/kg/日以上ではリンパ系組織（胸腺，脾臓および腸間膜リンパ節），75 mg/kg/日以上では鼠径リンパ節，200 mg/kg/日では GALT においてリンパ球密度の低下が認められた。200 mg/kg/日の雌の脾臓では，髄外造血の軽微な亢進が認められた。また，胸腺のリンパ球密度の低下は，剖検で 75 mg/kg/日以上の雌でみられた胸腺の小型化とも関連していた。肝臓では，200 mg/kg/日で門脈周囲の肝細胞肥大が認められ，肝重量の増加ならびに ALT，AST，ALP または総ビリルビンの増加と関連していた。雌でも 75 mg/kg/日で ALT，AST および総ビリルビンの増加がみられたが，関連する病理組織学的所見は認められなかった。

以上のように，アブロシチニブの薬理作用に符合する変化として，白血球数および赤血球パラメータの変化，胸腺の剖検所見，胸腺および脾臓の重量変化，リンパ系臓器（胸腺，脾臓，腸間膜リンパ節，鼠径大腿リンパ節）および GALT の病理組織学的変化が認められたが，毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

肩甲骨間の褐色脂肪組織（BAT）では，75 mg/kg/日以上の雌でのみ細胞質内の小空胞の増加がみられたが，炎症または細胞の変性所見は認められず，毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。その他に血液生化学パラメータの変化として，総タンパク，アルブミンおよびグロブリンの軽微な増加が 75 mg/kg/日以上の雄および 200 mg/kg/日の雌で，A/G 比の増加が 200 mg/kg/日の雄で，総コレステロールおよび HDL コレステロールの増加が 200 mg/kg/日で認められたが，毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

試験 1 日および 29 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加に伴い増加した。試験 1 日の曝露量は試験 29 日と同程度で，アブロシチニブに蓄積性は認められなかった。曝露量に性差は認められなかった。

75 mg/kg/日以上で骨への毒性所見が認められたことから，NOAEL は 25 mg/kg/日と考えられた。当該用量における試験 29 日の雌雄合算での C_{max} は 5760 ng/mL，AUC_{24} は 34500 ng·h/mL であった。

4.1.3. ラットを用いた 6 ヵ月間経口投与および 12 週間回復性試験［8289422 試験（[redacted]MA056），概要表 2.6.7.7B］

Wistar Han ラット（15 または 20 例/性/群，投与開始時に約 6～7 週齢）にアブロシチニブを 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 0.1%ポリソルベート 80（v/v）含有脱イオン水］，30，45 または 70 mg/kg/日の用量で，6 ヵ月間 QD 経口投与し，その後対照群および 70 mg/kg/日（5 例/性/群）について 12 週間の回復性試験を実施した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科検査および臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査）を行った。試験 92 日および 182 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の動物から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。投与期間および休薬期間の終了時に剖検を行い，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。一部の雄については，前立腺の TEM 観察を実施した。

30 mg/kg/日の TK 群の雄 1 例で運動失調，活動性の低下，努力性呼吸および粗毛がみられたため，試験 101 日に安楽殺された。30 mg/kg/日の主試験群では同様の所見または死亡が認められなかったことから，この事例は偶発的でアブロシチニブとの関連はないと考えられた。また，70 mg/kg/日の主試験群の雌 2 例が試験 92 日の臨床病理検査用の採血後に死亡した。死亡は採血手技に関連していた可能性が高いことから，アブロシチニブとの関連はないと考えられた。

45 mg/kg/日以上で皮膚の様々な部位のただれまたは痂皮形成の発現頻度が上昇したが，動物の全般的な健康状態への影響はみられなかったことから，毒性とは判断しなかった。これに関連して病理組織学的検査でみられた皮膚の炎症を伴う軽度から中等度の限局性びらん/潰瘍（45 mg/kg/日以上の雌のみ）も毒性ではないと考えられた。70 mg/kg/日の雄では，試験期間中に体重が増加したが，投与期間後半の平均体重および投与期間全体の体重増加量は対照群と比較して低かった。また，70 mg/kg/日の雄では，休薬期間中の体重および体重増加量も対照群より低かった。これらの体重パラメータの差は摂餌量の軽度な減少と関連していた。70 mg/kg/日の雄における体重および摂餌量の変化は，程度が軽かったことから毒性変化と判断しなかった。

30 mg/kg/日以上では試験 92 日および 183 日に白血球数の減少がみられ，主に循環血中リンパ球数の減少によるものであった。これらの変化は，剖検時にみられたリンパ系器官重量の減少およびリンパ系器官のリンパ球密度の低下と関連していた。試験 92 日または 183 日には，30 mg/kg/日以上で好中球数および好酸球数の減少（雌では好酸球数の減少のみ）ならびに 30 mg/kg/日以上の雄で単球数の減少も認められた。過度の免疫抑制に関連した全身性の感染所見が認められなかったことから，30 mg/kg/日または 45 mg/kg/日の雄ならびに 30 mg/kg/日以上の雌でみられた白血球の変化は毒性所見とは考えなかった。しかし，70 mg/kg/日の 15 例中 2 例の雄では前立腺でウイルスの日和見感染が認められたため，70 mg/kg/日の雄でみられた白血球の変化は毒性と判断した。さらに，試験 92 日または 183 日の臨床病理学検査では，30 mg/kg/日以上で血小板数の減

少，45 mg/kg/日の雄で MPV の増加，45 mg/kg/日以上で赤血球数の減少，45 mg/kg/日以上の雄でヘモグロビン濃度の減少，70 mg/kg/日の雄および 45 mg/kg/日以上の雌でヘマトクリット値の減少，45 mg/kg/日以上の雄および 30 mg/kg/日以上の雌で RDW の増加，30 mg/kg/日以上の雄で網状赤血球数の減少，70 mg/kg/日の雄で ALT および AST の増加，30 mg/kg/日以上の雌で ALP の増加，30 mg/kg/日以上の雌でアルブミンおよび A/G 比の減少，45 mg/kg/日以上の雌でカルシウムの減少（アルブミンの変化に随伴）ならびに 45 mg/kg/日以上で用量依存的な尿中の結晶（シュウ酸カルシウムまたは未知の結晶）がみられたが，これらの変化には概して用量依存性がみられず，変化の程度が軽いこと，関連する一般状態の変化がないこと，筋肉，肝臓または他の臓器において関連する病理組織学的所見が認められなかったことから，毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

休薬期間終了時（休薬 85 日）には，70 mg/kg/日の雄で単球数の減少が継続していたが，5 例中 4 例では部分的な回復が認められた。また，その他の臨床病理パラメータには回復性が認められた。

70 mg/kg/日の雄 2 例の前立腺において，ウイルス感染に関連した炎症および上皮細胞封入体が認められた。これらは，過度の免疫抑制に起因する日和見感染と考えられた。1 例の雄で TEM により確認されたウイルス粒子は，細胞内の位置，直径および形状がポリオーマウイルスと形態学的に一致していた。ポリオーマウイルスは動物で報告されており，免疫抑制状態の動物の前立腺に感染することが示されている[2]。70 mg/kg/日の雄では白血球パラメータの減少がみられていたことから，前立腺の所見は過度の免疫抑制による日和見感染に起因すると考えられ，毒性と判断した。

投与終了時の剖検では，45 mg/kg/日以上の雌 3 例の頭部または肩における皮膚の痂皮（病理組織学的には限局性のびらん/潰瘍および炎症）ならびに 30 mg/kg/日以上におけるリンパ系組織（脾臓，胸腺，GALT，腸間膜リンパ節および鼠径リンパ節）のリンパ球密度の低下も認められたが，毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。脾臓および胸腺の病理組織学的所見は，30 mg/kg/日以上における実および比重量の減少ならびに 30 mg/kg/日および 70 mg/kg/日の雄および 30 mg/kg/日以上の雌における脾臓の小型化と関連していた。30 mg/kg/日以上では，脾臓の髄外造血の亢進および肝臓の単核球浸潤の減少が認められた。これらの所見は，脾臓または肝臓の病変を示す組織学的所見を伴っていなかったことから，毒性学的意義は乏しいと判断した。

休薬期間終了時にはアブロシチニブに関連する病理検査所見は認められず，回復性が認められた。

アブロシチニブに関連する過形成および腫瘍性所見は認められなかった。投与期間終了時に，胸骨および脛骨に病理検査所見は認められなかった。

試験 92 日および 182 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加に伴い増加し，性差は認められなかった。試験 92 日の曝露量は試験 182 日と同程度で，試験 92 日までに定常状態に達していたことが示された。

70 mg/kg/日の雄では過度の免疫抑制によるウイルス感染（ポリオーマウイルス感染）に関連して前立腺に炎症および上皮細胞封入体が認められたことから，本試験の NOAEL は雄では 45 mg/kg/日，雌では 70 mg/kg/日と考えられた。雄の NOAEL における試験 182 日の C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 11000 ng/mL および 97800 ng•h/mL であった。雌の NOAEL における試験 182 日の C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 17000 ng/mL および 140000 ng•h/mL であった。

4.2. カニクイザルを用いた試験

4.2.1. カニクイザルを用いた 14 日間経口投与毒性試験（[redacted]MA068 試験，概要表 2.6.7.6）

アブロシチニブを 24.4%，HPMCAS-MG を 75.6%含有する SDD 製剤を，雌雄カニクイザル（雄 2 例および雌 1 例/群，投与開始時に 2.5 歳齢超）に，50 mg/kg/日または 100 mg/kg/日の用量で 15 日間 QD 経口投与した。対照群（雄 1 例および雌 1 例）には，0.5%メチルセルロース溶液および 0.5% HPMCAS-HF 含有 20 mmol/L トリス緩衝液を精製水で調製した溶液（pH 7.4）を投与した。投与容量は 10 mL/kg とし，給餌後に投与した。一般状態観察，体重測定，定性的摂餌量測定，臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査）を行った。試験 7 日および 14 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。試験 15 日には，各動物の剖検が投与後 1～2 時間に行われるように投与を行った。投与終了時に動物を安楽殺し，剖検を行った。脳，腎臓，肝臓，脾臓および胸腺の重量を測定し，一部の組織について病理組織学的検査を実施した。

投与後 0～7.5 時間に，主に 100 mg/kg/日の雄で嘔吐が認められた。投与中にはほとんどの動物で逆流/嘔吐が認められ，試験 3 日からの雌雄を合わせた発現頻度は，0，50 および 100 mg/kg/日でそれぞれ 1/2 例，3/3 例および 1/3 例であった。これらの逆流/嘔吐は，対照群とアブロシチニブ投与群のいずれにおいても認められたことから，アブロシチニブによるものではなく，強制経口投与手技に関連したものと考えられた。

50 mg/kg/日では，リンパ球数および白血球数の減少などの血液学的所見が認められた。50 mg/kg/日では白血球数の減少（23%～33%：以下，投与前値との比較）がみられ，50 mg/kg/日ではリンパ球数の減少（41%～45%）に関連していた。100 mg/kg/日では LDL の軽度な減少（29%～57%）が認められた。50 mg/kg/日以上でリン（4%～26%）およびカルシウム（7%～16%）の軽微な減少が認められたが，対照群においてもリンとカルシウムの両方の減少（最大 9%）が認められたことから，これらは嘔吐に随伴したもので，アブロシチニブに関連した直接的な変化ではないと考えられた。

50 mg/kg/日の雄 1 例（52%～56%：以下，対照群との比較）および 100 mg/kg/日の雌（60%～66%）で胸腺の実重量および脳比重量の減少が認められた。これは病理組織学的検査における胸腺皮質のリンパ球密度の低下に符合していた。50 mg/kg/日の雄 1 例では，胸腺の小型化が認められた。この所見は胸腺の実および比重量の減少と関連しており，病理組織学的検査における胸腺皮質のリンパ球密度の低下とも関連していた。

胸腺，脾臓，GALT および腸間膜リンパ節で病理組織学的所見が用量依存的にみられた。胸腺皮質では，びまん性のリンパ球密度の低下が 50 mg/kg/日の雄 1 例（中等度）および 100 mg/kg/日（軽微～軽度）で認められ，50 mg/kg/日の雄 1 例では胸腺の小型化/胸腺重量の減少と関連していた。脾臓，GALT および腸間膜リンパ節では，50 mg/kg/日以上で多巣性のリンパ球密度の低下が軽微から軽度に認められた。骨の一般状態所見，剖検所見または病理組織学的所見（胸骨，脛骨）は認められなかった。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は試験 7 日および 14 日でほぼ同程度であり，用量増加に伴い増加した。

すべての用量で忍容性が良好であった。臨床病理検査所見，リンパ系器官の剖検および病理組織学的所見はアブロシチニブの薬理作用と符合しており，100 mg/kg/日の試験 14 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 12800 ng/mL および 115000 ng•h/mL であった。

4.2.2. カニクイザルを用いた 1 ヵ月間経口投与毒性試験（[redacted]GR319 試験，概要表 2.6.7.7C）

アブロシチニブを 24.3%，HPMCAS-MG を 75.7%含有する SDD 製剤を，雌雄カニクイザル（3 例/性/群，投与開始時に約 3～7 歳齢）に，40，80 または 150 mg/kg/日の用量で 1 ヵ月間 QD 経口投与した。対照群（3 例/性）には溶媒［45 mg/mL HPMCAS-MF 含有 0.5%メチルセルロース溶液および 0.5% HPMCAS-HF 含有 20 mmol/L トリス緩衝液を精製水で調製した溶液（pH 7.4）］を投与した。溶媒中の添加物の割合は，150 mg/kg/日のアブロシチニブ製剤と同様とした。投与容量は 10 mL/kg とし，給餌後に投与した。すべての動物に 5～10 mg/kg のバイトリル®（腸内細菌性病原体の影響を最小限に抑える広域スペクトル抗生物質であるエンロフロキサシン）を，投与開始前に 5 日間連続して筋肉内投与（100 mg/mL）し，初回投与の 2 日前に終了した。一般状態観察，体重測定，定性的摂餌量測定，眼科検査，心電図および臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査）を行った。試験 8 日および 30 日に採血し，イムノフェノタイピングならびに IL-6 および IP-10 の測定を行った。試験 8 日および 29 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。投与期間終了時に剖検を行い，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

80 mg/kg/日以上の雄および 150 mg/kg/日の雌では，散発的に嘔吐が認められた。

40 mg/kg/日以上の雄では，一過性の体重増加量の減少が認められた。150 mg/kg/日の雄では，摂餌量の減少が認められた。

80 mg/kg/日以上の雌および 150 mg/kg/日の雄では，試験 8 日および 30 日にリンパ球数の減少がみられた。さらに，リンパ球サブセットのイムノフェノタイピングでは，150 mg/kg/日で T 細胞，T 細胞サブセット（ヘルパーT 細胞および細胞傷害性 T 細胞）および形質細胞の減少が，150 mg/kg/日の雄で B 細胞の減少が認められた。40 mg/kg/日以上では NK 細胞の減少が認められた。リンパ球サブセット（試験 30 日にのみ減少した B 細胞を除く）の減少は，いずれも試験 8 日と早期から認められた。循環血中リンパ球数の減少は，80 mg/kg/日以上の雌における胸腺の重量減少および脾臓のリンパ球密度の低下と関連していると考えられた。雄では，40 mg/kg/日以上で脾臓の，80 mg/kg/日以上で胸腺の細胞密度低下が認められ，150 mg/kg/日における循環血中リンパ球の減少と関連していた。150 mg/kg/日の雄全例でサイトメガロウイルスの不顕性感染に一致する病変が認められたが，これは 150 mg/kg 日のアブロシチニブによる過度の免疫抑制作用を反映したものであり，これらの器官への直接的な標的臓器毒性ではなかった。骨髄では，40 mg/kg/日以上の雄および 80 mg/kg/日以上の雌において，すべての細胞系（赤血球系前駆細胞，顆粒球系前駆細胞および巨核球）の細胞密度低下が認められた。骨髄の細胞密度低下は，150 mg/kg/日の雄で試験 30 日に認められた網状赤血球数の減少ならびに 80 mg/kg/日以上で試験 30 日に認められた赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の減少と関連していた。80 mg/kg/日以上の雄および 40 mg/kg/日以上の雌で，試験 8 日に網状赤血球数の減少が認められたが，150 mg/kg/日の雄を除き，試験 30 日までに正常値に回復した。150 mg/kg/日では単球数の減少も認められた。重度から極めて重度の循環血中の赤血球数，白血球数および血小板数の減少は認められなかったことから，骨髄の所見はいずれの用量についても毒性ではないと考えられた。80 mg/kg/日以上の雌では，

用量依存的な肝臓重量の増加が認められたが，関連する病理組織学的所見は認められず，毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。その他の血液生化学的変化としては，40 mg/kg/日以上の雄でのみ試験 8 日および 30 日に ALT および AST の軽度な増加がみられたが，関連する病理組織学的所見は認められなかった。また，40 mg/kg/日以上の雌および 80 mg/kg/日以上の雄において，IP-10 の増加が認められた。

骨の一般状態所見，剖検所見および病理組織学的所見（胸骨および脛骨）は認められなかった。

試験 8 日および 29 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量増加に伴い増加した。試験 8 日の曝露量は試験 29 日とほぼ同程度で，試験 8 日までに定常状態に達していたことが示された。

150 mg/kg/日の雄において過度の免疫抑制によりサイトメガロウイルス感染による病変が認められたことから，NOAEL は 80 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 29 日の平均（雌雄合算）C_{max} は 3780 ng/mL，AUC_{24} は 46900 ng•h/mL であった。

4.2.3. カニクイザルを用いた 9 ヵ月間経口投与および 12 週間回復性試験［8289421 試験（[redacted]MA055），概要表 2.6.7.7D］

アブロシチニブを約 10% ，HPMCAS-HF を 90%含有する SDD 製剤またはアブロシチニブを 10.1% ，HPMCAS-HF を 89.9%含有する SDD 製剤を，雌雄カニクイザル（4 または 7 例/性/群，投与開始時に 2～4 歳齢）に，15，35 または 75 mg/kg/日の用量で 9 ヵ月間，給餌後に QD 経口投与し，対照群および 35 mg/kg/日（最後の雌雄各 3 例）については 12 週間の回復性試験を実施した。対照群（7 例/性）には溶媒［67.5 mg/mL HPMCAS-MF 含有 0.5%メチルセルロースおよび 0.5% HPMCAS-HF 含有 20 mmol/L トリス緩衝液を逆浸透水で調製した溶液（pH 7.4）］を投与した。溶媒中の添加物の割合は，75 mg/kg/日のアブロシチニブ製剤と同様であった。投与容量は 10 mL/kg とした。すべての動物に 5 mg/kg（22.7 mg/mL）のバイトリル®（投与開始時に既存の腸内細菌性病原体の影響を最小限に抑える広域スペクトル抗生物質であるエンロフロキサシン）を，投与開始日の 10 日前から 5 日間経口投与した。一般状態観察，体重測定，定性的摂餌量測定，眼科検査，心電図および臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査）を行った。TDAR を評価するため，動物番号の最初の 4 例/性/群には試験 183 日（投与期間中）に，回復期間中は全動物（対照群および 35 mg/kg/日の動物番号の後ろから 3 例/性，休薬 51 日）に KLH を単回皮下投与（1 mg/頭，投与容量 : 1 mL/匹）した。投与期間中の試験 186，190，197，204 および 211 日ならびに休薬 54，58，65，72 および 79 日に採血し，TDAR 評価を行った。試験 177 日および予定剖検時に採血し，免疫グロブリン（IgA，IgG，IgM）を評価した。試験 22 日および 50 日ならびに予定剖検時に採血し，イムノフェノタイピングを行った。また，試験 92 日および 273 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。投与期間および回復期間終了時に剖検を行い，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

75 mg/kg/日の雌 1 例は，右後肢の自傷がみられたため試験 271 日に安楽殺された。試験 270 日および 271 日の一般状態観察では，右後肢の使用制限，皮膚の傷害および赤色化が認められたが，右後肢の赤色に変色した皮膚には注射部位と思われる隆起した紅斑性病変が認められ，また，試験 39 週には複数のデータの収集のため，ケタミンによる鎮静が必要であった。このように，自傷行為の症状および直近のケタミン注射歴から，担当獣医師は，坐骨神経へのケタミンの注射による重度の神経障害性疼痛またはしびれが，重度の自傷が急に認められた原因となった可能性が

高いと判断し，アブロシチニブとの関連はないと考えられた。試験 271 日には，足の傷害による失血に符合する赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値），総タンパク，アルブミンおよびグロブリンの減少が認められたが，アブロシチニブとの関連はないと判断した。この雌はその後人道的理由により安楽殺された。

脱毛および被毛の菲薄化（様々な部位）の発現頻度（総発現日数）の上昇が 75 mg/kg/日の雌で認められたが毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。75 mg/kg/日の雄では，これらの所見の発現頻度の上昇は認められなかった。

15 mg/kg/日以上では，投与期間を通じてリンパ球数の減少（投与前値との比較）がみられた（試験 22，50，92 および 274 日）。75 mg/kg/日の雄では，試験 50，92 および 274 日に赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の減少がみられた（投与前値および対照群の値との比較）。75 mg/kg/日の雄では，試験 92 日および 274 日にリンの減少（投与前値との比較）がみられた。

リンパ球数の減少は，一部の群または個体では胸腺および脾臓の重量減少ならびに胸腺および脾臓のリンパ球密度低下と関連していた。15 mg/kg/日以上の雌および 75 mg/kg/日の雄では，胸腺の実および比重量の減少が認められ，15 mg/kg/日以上の雌では，対照群の平均値と比較して，脾臓の実および比重量の減少が認められた。胸腺および脾臓の重量減少は，35 mg/kg/日以上の一部の動物における胸腺および脾臓のリンパ球密度低下と関連していた。臨床病理学的または病理検査所見は，程度が軽く，関連する毒性所見（アブロシチニブ関連の感染等）が認められなかったことから，いずれも毒性とは判断しなかった。休薬期間終了時には，35 mg/kg/日のリンパ球数の減少は回復性を示し，胸腺および脾臓の重量は対照群と同程度であった。また，胸腺および脾臓のリンパ球密度低下は認められなかった。75 mg/kg/日のリンパ球数，赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値およびリンに対する影響の回復性は評価されなかった。

過形成または腫瘍性の病変は認められず，一般状態観察，剖検または病理組織学的検査で骨［骨髄および脛骨（膝関節を含む脛骨近位端の関節表面）ならびに胸骨］に異常所見は認められなかった。

15 mg/kg/日（試験 274 日），35 mg/kg/日（試験 22 および 274 日）および 75 mg/kg/日（試験 22，50 および 274 日）の一部の動物で，NK 細胞の減少が認められた。35 mg/kg/日における NK 細胞の減少は，休薬期間終了時（休薬 85 日）までに投与前値に回復した。75 mg/kg/日の雄 4 例中 1 例および雌全例では，IgA 濃度の低下が認められたが，35 mg/kg/日では変化はみられなかった。TDAR の評価では，35 mg/kg/日以上の雄および 15 mg/kg/日以上の雌では， IgM および IgG 抗体価の低下が認められた。35 mg/kg/日の雄ならびに 15 mg/kg/日および 35 mg/kg/日の雌の IgM および IgG 抗体価の補間値は，それぞれ 1/5～1/2 および最大 1/12 に低下した。75 mg/kg/日の動物では最も影響が大きく，KLH 投与に対する IgM 抗体価（対照群の 1/14～1/3）および IgG 抗体価（対照群の 1/37～1/9 倍）が極めて低下した。休薬期間中の抗 KLH IgG および IgM 抗体価も低かったが（最大で対照群の 1/2～1/3 倍），35 mg/kg/日の IgM および IgG 抗体価の補間値の低下は投与期間中より減弱されたことから，休薬期間中に IgM および IgG 応答が部分的に回復したことが示唆された。

試験 92 日および 273 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加に伴い増加し，明確な性差はみられなかった。

いずれの用量においても毒性変化が認められなかったことから，NOAEL は 75 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 273 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 5170 ng/mL および 55200 ng•h/mL であった。

5. 遺伝毒性試験

アブロシチニブの遺伝毒性を Table 2 に示した遺伝毒性試験で評価した。

Table 2.　アブロシチニブの遺伝毒性試験

試験系	用量/濃度	結果	概要表
細菌を用いた復帰突然変異試験			
Salmonella typhimurium および *Escherichia coli*	25～5000 µg/プレート	陰性	2.6.7.8A
In vitro 染色体異常試験			
TK6 細胞（in vitro）			2.6.7.8B
4 時間処理-代謝活性化系非存在下	150～204 µg/mL	陰性	
4 時間処理-代謝活性化系存在下	128～175 µg/mL	陰性	
27 時間処理-代謝活性化系非存在下	27.5～43.6 µg/mL	陽性	
蛍光 in situ ハイブリダイゼーション試験	121, 166 µmol/L[a]	異数性誘発	2.6.7.8C
In vivo 染色体異常試験			
ラット骨髄細胞（in vivo）[b]	0, 100, 300, 600 mg/kg	陰性	2.6.7.9

a. 39100 ng/mL および 53700 ng/mL に相当。
b. 雄ラットに 600 mg/kg を投与したときの試験 1 日の C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 35400 ng/mL および 649000 ng•h/mL（非結合型でそれぞれ 13500 ng/mL および 247000 ng•h/mL）であった。

In vitro 試験はいずれも代謝活性化系の存在下および非存在下で，細胞毒性が生じるまでの濃度または溶解性の限界までの濃度で実施した。アブロシチニブは細菌を用いた復帰突然変異試験および in vivo ラット小核試験では遺伝毒性は陰性であったが，TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験において代謝活性化系非存在下における 27 時間処理により遺伝毒性が陽性となった。

TK6 細胞をアブロシチニブで 27 時間処理した際に小核形成がみられたことから，汎セントロメア DNA プローブを用いた FISH 法により小核形成の機序を検討した。検討したいずれの濃度（121 µmol/L および 166 µmol/L［それぞれ 39100 ng/mL および 53700 ng/mL］；臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 C_{max} のそれぞれ 97 倍および 133 倍）においても大部分の小核に含まれる染色体に欠損はなく，これらの小核形成が異数性に起因することが示された。キナーゼ阻害薬では in vitro で異数性誘発性がみられることはごく一般的であり，これは TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験では被験物質の添加濃度が高く，本来標的としていない細胞分裂に関与するキナーゼが阻害された結果であると考えられた[3,4]。ヒトで予想される曝露量は TK6 細胞への添加濃度よりもはるかに小さいため，同様の影響が生じるとは考えられない。In vivo ラット小核試験で MTD である 600 mg/kg/日を投与したときの高曝露量（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 C_{max} およびヒト非結合型 AUC_{24} のそれぞれ 33 倍および 121 倍）において陰性であったことからも，TK6 細胞での 27 時間処理による小核形成はヒトでのリスクとはならないことが裏付けられる。臨床におけるヒトでの曝露量は，小核形成について検討した in vitro での濃度お

よび in vivo での用量よりも著しく低いことから，臨床用量［200 mg QD］投与時に遺伝毒性のリスクが生じる可能性は極めて低いと考えられる。

5.1. 細菌を用いた復帰突然変異試験［MBR[redacted]-381 試験（[redacted]GR326），概要表 2.6.7.8A］

Salmonella typhimurium（TA1537，TA98，TA100，TA1535）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 誘導ラット肝 S9）の存在下および非存在下で，アブロシチニブの復帰突然変異誘発性の有無を検討した。

初回の用量設定試験では，アブロシチニブを 25，50，100，250，500，1000，2500 および 5000 µg/プレートの濃度で，各濃度につき 3 枚のプレートを用いて実施した。この試験では，代謝活性化の有無にかかわらず，TA98 の溶媒対照における平均復帰変異コロニー数が試験実施計画書に規定した許容範囲の上限を超えていた。したがって，当該データは採用できないと判断され，TA98 については代謝活性化系の存在下および非存在下で用量設定試験を再度実施した。用量設定試験では，代謝活性化の有無にかかわらず，5000 µg/プレートで沈殿物が認められた。代謝活性化系非存在下の TA1537 では 2500 µg/プレート以上で，代謝活性化系非存在下の TA98 および代謝活性化系存在下の TA1535 では 5000 µg/プレートで細胞毒性（平均復帰変異コロニー数の減少）が認められた。

本試験では，アブロシチニブを 100，250，500，1000，2500 および 5000 µg/プレートの濃度で試験した。5000 µg/プレートでは，代謝活性化の有無にかかわらず沈殿物が認められた。代謝活性化系非存在下の TA98 では，5000 µg/プレートで細胞毒性（平均復帰変異コロニー数の減少）が認められた。

各試験において，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての試験菌株で陰性の基準に適合した。すべての試験菌株において，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての濃度で平均復帰変異コロニー数は背景データの範囲と同程度であった。ただし，代謝活性化非存在下の WP2 uvrA pKM101 における陽性対照の平均復帰変異コロニー数は，背景データの範囲を下回っていた。しかし，この菌株の背景データは限られた数の試験に基づくものであり，陽性反応の基準に適合していたため，この反応は許容可能と判断された。溶媒および陽性対照のデータから，代謝活性化系の存在下および非存在下において化学物質の変異原性を検出する本試験系の妥当性が実証された。

以上のように，本試験の条件下においては，代謝活性化の有無にかかわらず，アブロシチニブは *Salmonella* 菌株 TA1537，TA98，TA100 および TA1535 ならびに *E.coli* 菌株 WP2 uvrA pKM101 において変異原性を示さなかった。

5.2. TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験［MBR[redacted]-382 試験（[redacted]GR325），概要表 2.6.7.8B］

アブロシチニブによる小核誘発能について，TK6 細胞を用い，代謝活性化系の存在下または非存在下で 4 時間および 27 時間処理により評価した。

アブロシチニブの濃度範囲を，代謝活性化系の存在下および非存在下における 4 時間処理（40 時間回復）では 59.3，69.2，80.8，94.2，110，128，150，175，204，238，277 および 323 µg/mL，代謝活性化系の非存在下における 27 時間処理では 50.9，59.3，69.2，80.8，94.2，110，128 および 150 µg/mL とした。なお，27 時間処理では最適な細胞毒性を示す濃度が得られなかったため，代謝活性化系非存在下における 27 時間処理について濃度範囲を 10.4，12.2，14.4，16.9，19.9，

23.4，27.5，32.0，37.4，43.6，50.9，59.3，69.2，80.8，94.2 および 110 µg/mL として，再度試験を実施した。各処理濃度は，以下のとおりアブロシチニブの沈殿または細胞毒性のいずれかに基づき設定した（細胞毒性率も示す）。代謝活性化系非存在下の 4 時間処理では，150 µg/mL（16%），175 µg/mL（16%，沈殿物が認められなかった最高濃度）および 204 µg/mL（18%，沈殿物が認められた最低濃度），代謝活性化系存在下の 4 時間処理では 128 µg/mL（3%），150 µg/mL（19%，沈殿物が認められなかった最高濃度）および 175 µg/mL（14%，沈殿物が認められた最低濃度），ならびに代謝活性化系非存在下の 27 時間処理では 27.5 µg/mL（10%），37.4 µg/mL（38%）および 43.6 µg/mL（52%）とした。これらの濃度のアブロシチニブ，溶媒および陽性対照について細胞 2000 個（可能な場合）の小核を評価した。

代謝活性化系非存在下の 27 時間処理では，37.4 µg/mL および 43.6 µg/mL で小核を有する細胞の割合が統計的に有意に増加した（$p \leq 0.01$）。4 時間処理では，代謝活性化の有無にかかわらず，小核を有する細胞の割合に統計的有意差は認められなかった。代謝活性化系存在下の 4 時間処理における陽性対照での小核を有する細胞の割合が背景対照データよりも高く，代謝活性化系非存在下の 27 時間処理における陽性対照での小核を有する細胞の割合が背景データよりも低かったことを除いては，溶媒および陽性対照の値は背景データと同程度であった。背景データは限られたデータセットに基づくものであり，陽性反応の基準に適合していたため，これらの反応は許容可能と考えられた。

TK6 細胞を用いたこの試験系の条件では，代謝活性化系の非存在下において，アブロシチニブは小核誘発能が陽性と判断された。

5.3. 汎セントロメア DNA プローブを用いた FISH 試験（[redacted]GTX03 試験，概要表 2.6.7.8C）

代謝活性化系非存在下で TK6 細胞をアブロシチニブで 27 時間連続処理した際に小核形成がみられたことから（MBR[redacted]-382 試験），アブロシチニブによる小核形成が，異数性誘発性または染色体異常誘発性のいずれの機序に起因するものかを明らかにするため， 121 µmol/L および 166 µmol/L の濃度で 27 時間アブロシチニブ処理した試料を用いて，汎セントロメア DNA プローブを用いた FISH 法で評価した。DMSO を陰性対照，ビンブラスチン硫酸塩を陽性対照とした。

誘発された小核の大部分が欠損のない染色体を含む場合，被験物質は異数性誘発性とみなされる。FISH 分析では，小核中の染色体に欠損がないことは，セントロメアの存在によって判定される。誘発された小核の大部分に染色体断片が含まれ，FISH 分析でセントロメアが存在しない場合，被験物質は染色体異常誘発性とみなされる。

検討したいずれの用量（121 µmol/L および 166 µmol/L）においても，セントロメアを含有する小核の割合は陰性対照よりも高く，異数性誘発性の陽性対照としたビンブラスチン硫酸塩と同程度であった。セントロメアを含有しない小核に対するセントロメアを含有する小核の割合は，121 µmol/L よりも 166 µmol/L の方がわずかに大きく，これは高濃度の方が小核誘発能がはるかに高いことによる。これらの結果から，アブロシチニブ処理によって TK6 細胞に小核が形成される機序は異数性誘発性であることが示唆された。

異数性誘発は，アブロシチニブと紡錘体などの細胞分裂の構成要素との間の非反応性の遺伝毒性相互作用に起因する。通常，細胞分裂装置の阻害には複数の段階が必要であることから，遺伝毒性を誘発しないと考えられる閾値を下回る用量では，このような遺伝毒性相互作用が生じる確率

は低いと考えられる[5,6]。キナーゼ阻害剤であるアブロシチニブが，高濃度で小核を誘発することは想定される。低分子キナーゼ阻害薬は，in vitro 小核試験において高頻度で小核誘発が陽性となることが示されており[3]，これは有糸分裂に関わるオフターゲット阻害の結果である可能性が高い[7,8]。

代謝活性化系非存在下でアブロシチニブ処理した TK6 細胞における in vitro での小核誘発機序は異数性誘発性と考えられ，これは in vitro 小核試験で高濃度の被験物質を添加したことにより，本来標的としていない有糸分裂に関与するキナーゼが阻害された結果であると考えられた。また，異数性誘発作用には閾値があると考えられていることから，閾値を下回る濃度では染色体損傷を誘発することはないと考えられる。

以上のように，アブロシチニブが誘発した小核の大部分にセントロメアが含まれていたことから，染色体全体の損失の結果であることが示された。アブロシチニブは in vitro において異数性誘発性を有すると考えられる。

5.4. in vivo ラット小核試験［WIL-655033 試験（[redacted]GR327），概要表 2.6.7.9）

アブロシチニブを雌雄 Wistar Han ラット（6 例/性/群）に 0［0.5%メチルセルロース（w/v）および 0.1%ポリソルベート 80（v/v）含有脱イオン水］，100，300 または 600 mg/kg/日の用量で 2 日間連日 QD 経口投与し，骨髄における小核を有する多染性赤血球誘発性を検討した。陽性対照であるシクロホスファミド 60 mg/kg を，試験 1 日（予定解剖の前日）に単回経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察および体重測定を実施した。TK 評価用のサテライト群（3 例/群）の雄について，試験 1 日の投与前，投与 1，3，7 および 24 時間後に採血した。試験 2 日に小核評価用の全動物を安楽殺し，骨髄を採取して，各群雌雄 6 例中 5 例について小核評価を実施した。骨髄塗抹標本を作製し，多染性赤血球数，正染性赤血球数および小核を有する多染性赤血球数を計数した。

600 mg/kg/日の雌 1 例が試験 2 日に死亡した。この雌では，試験 2 日に一般状態の変化として活動性低下，冷触感，呼吸困難および右眼からの透明な分泌物が認められ，剖検所見として心臓の小型化，肺の暗赤色領域および子宮内の透明な液体が認められ，アブロシチニブ投与に関連した死亡と判断された。

アブロシチニブによる小核を有する多染性赤血球数の増加（溶媒対照との比較）は認められなかった。いずれのアブロシチニブ投与群においても，骨髄における細胞毒性（赤血球数に対する多染性赤血球数の比の低下）は認められなかった。したがって，本試験条件下では，アブロシチニブは骨髄細胞毒性および染色体異常誘発性を示さなかった。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加に伴い増加した。T_{max} はすべての用量で 1.7 時間であった。

600 mg/kg/日までラット骨髄における小核の誘発は認められず，MTD は 600 mg/kg/日以上と判断した。600 mg/kg/日での雄の試験 1 日の C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 35400 ng/mL および 649000 ng•h/mL であった。

6. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

6.1. マウス

Tg マウスを用いた 6 ヵ月間投与がん原性試験の用量設定のためにマウスを用いた予備試験を 3 試験実施した。

6.1.1. マウスを用いた 2 週間経口投与忍容性試験［8380217 試験（[redacted]MA077），概要表 2.6.7.10A］

雌雄 CD-1 マウス（12 例/性/群）にアブロシチニブを 0［0.5%（w/v）メチルセルロース/0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有逆浸透水］，100，300 または 600 mg/kg/日の用量で 2 週間 QD 経口投与した。これらの用量は，MTD を特定し，rasH2（wt/wt）マウスを用いた初回の 1 ヵ月間投与用量設定試験における用量設定のために選択した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察ならびに体重および摂餌量測定を行った。死亡例および瀕死状態による安楽殺例については剖検を実施した。生存動物はいずれも安楽殺し，剖検はしなかった。

100 mg/kg/日および 300 mg/kg/日における忍容性は良好であったが，600 mg/kg/日では重度の体重減少により早期安楽殺例または死亡例が発生した。

600 mg/kg/日の雄 5 例および雌 4 例が，試験 6 日～11 日に死亡または瀕死期安楽殺された。これらの動物では，円背位，冷触感，立毛，半眼，間欠性頭部振戦，耳介蒼白または被毛粗剛などの一般状態変化が認められた。安楽殺された数例では，20%以上の極めて重度な体重減少が認められた。これらの動物の正確な死因は特定できなかった。600 mg/kg/日の残りの動物は試験 15 日に安楽殺された。

対照群と比較して，300 mg/kg/日以上では用量依存的な体重増加抑制が認められ，これらの群では試験終了時に体重減少が認められた（試験 1 日の値と比較して，300 mg/kg/日の雄で 0.93 倍，雌で 0.98 倍，600 mg/kg/日の雄で 0.84 倍，雌で 0.84 倍）。300 mg/kg/日以上で認められた体重への影響は，摂餌量減少と関連していた。100 mg/kg/日以上の雌雄で摂餌量減少が認められた。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，用量比を上回って増加した。曝露量に性差は認められなかった。

以上の結果から，MTD は 300 mg/kg/日であり，この用量での試験 14 日の C_{max} および AUC_{24}（雌雄合算）はそれぞれ 8850 ng/mL および 34700 ng•h/mL であった。また，初回の 1 ヵ月間投与用量設定試験（8384615 試験）の用量として 100，250 および 450 mg/kg/日を設けた。

6.1.2. rasH2（wt/wt）マウスを用いた 1 ヵ月間経口投与用量設定試験［8384615 試験（[redacted]GR044），概要表 2.6.7.10B］

雌雄 rasH2（wt/wt）マウス（10 例/性/群）にアブロシチニブを 0［0.5%（w/v）メチルセルロースおよび 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有逆浸透水］，100/75（試験 12 日に減量），250/150（試験 15 日に減量）または 450 mg/kg/日の用量で 1 ヵ月間 QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，臨床病理検査（血液学的検査，血液生化学的検査）を行った。試験 28 日の投与後 1，4，7 および 24 時間にサテライト群の動物（9～12 例/性/群）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。投与期間終了時に剖検を行い，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

250 mg/kg/日以上では体重減少または死亡がみられ，忍容性は認められなかった。死亡が450 mg/kg/日の雄 12 例（毒性評価用 8 例および TK 評価用 4 例）および雌 4 例（毒性評価用 3 例および TK 評価用 1 例）ならびに 250 mg/kg/日の TK 評価用の雄 2 例（試験 3～10 日に死亡または安楽殺）で認められた。450 mg/kg/日でアブロシチニブによる死亡が認められたため，450 mg/kg/日の生存例を試験 8 日または試験 11 日に早期解剖した。また，100 mg/kg/日の用量を試験 12 日以降，75 mg/kg/日に減量した。さらに，250 mg/kg/日で体重減少が認められたため，試験 11～14 日の 4 日間休薬した後に用量を試験 15 日以降，250 mg/kg/日から 150 mg/kg/日に減量した。死亡または安楽殺された動物では，一般状態の変化として円背位，削痩，冷触感，半眼または皮膚蒼白が認められた。安楽殺された動物の一部では重度の体重減少（試験 1 日と比較して 0.85 倍まで）が認められた。剖検では，450 mg/kg/日で腎臓の大型化または変色が認められ，同群でみられた瀕死状態または死亡と関連していた。450 mg/kg/日では，瀕死期に安楽殺例および早期解剖例のいずれについても，器官重量測定および病理組織学的検査は実施しなかった。

100/75 mg/kg/日以上の雄および 250/150 mg/kg/日以上の雌で，対照群と比較して用量依存的な体重増加抑制が認められた。これらの体重増加抑制は，主に試験 1～8 日（用量減量前）に認められた体重減少に起因するものであり，250/150 mg/kg/日ではその後も散発的にみられた。投与期間を通じて（試験 1～28 日）の体重減少が主に 100/75 mg/kg/日以上の雄で認められた。すべての用量で，体重の変化は摂餌量減少と関連していた。450 mg/kg/日の雌雄および 250/150 mg/kg/日の雄で認められた体重減少は，変化の程度および随伴する一般状態の悪化に基づき，毒性変化と判断した。100/75 mg/kg/日および 250/150 mg/kg/日で，臨床病理所見が認められた。血液学的検査では，250/150 mg/kg/日で赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値）低下，MCV および MCH の減少ならびに血小板数増加がみられた。白血球分画については，好中球数および好酸球数の増加が 250/150 mg/kg/日で，単球数増加が 100/75 mg/kg/日および 250/150 mg/kg/日の雄で，リンパ球数減少が 100/75 mg/kg/日および 250/150 mg/kg/日の雌でみられた。血液生化学検査では，100/75 mg/kg/日（雄）および 250/150 mg/kg/日（雌雄）で BUN およびクレアチニンの増加がみられ，概して病理組織学的検査でみられた腎臓病変の発現頻度および重篤度の用量依存的な上昇と関連していた。その他の変化として，カルシウム，総タンパク，アルブミン，グロブリン，コレステロールおよび ALP の増加が 250/150 mg/kg/日の雌雄で認められた。病理組織学的検査では，100/75 mg/kg/日および 250/150 mg/kg/日で腎臓にアブロシチニブ関連の結晶による閉塞性腎症が認められた。100/75 mg/kg/日および 250/150 mg/kg/日の雄ならびに 250/150 mg/kg/日の雌で，中等度から重度の腎症を示した動物に著しい腎組織の喪失が認められ，BUN および血清クレアチニンの増加との関連がみられた。以上のことから，この腎病変は毒性変化と判断した。100/75 mg/kg/日の雌にみられた軽微から軽度の閉塞性腎症は，影響を受けた腎組織が限られており，BUN およびクレアチニンの変化が認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい所見と判断した。250/150 mg/kg/日ではアブロシチニブの薬理作用（リンパ組織の細胞密度低下）と一致し，毒性学的意義が乏しいと考えられる所見がリンパ系（脾臓，胸腺，腸間膜リンパ節など）に認められた。100/75 mg/kg/日および 250/150 mg/kg/日の雄で胸腺重量の減少が認められ，これは 250/150 mg/kg/日の雄では胸腺のリンパ球密度低下と関連していた。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加に伴い増加し，100/75 mg/kg/日および 250/150 mg/kg/日では雄の方が雌よりも高く，その差は約 2 倍以上であった。試験 28 日の曝露量は用量の増加に伴い増加したが，用量比をわずかに上回っていた。

250 mg/kg/日以上の用量では，体重減少および死亡がみられ，忍容性は認められなかった。毒性変化と考えられる閉塞性腎症が雄では 100/75 mg/kg/日（検討した最低用量）以上，雌では 250/150 mg/kg/日で認められたことから，雄では NOAEL が求められなかったものの，雌の NOAEL は 100/75 mg/kg/日と考えられた。当該用量における試験 28 日の雌の C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 201 ng/mL および 469 ng•h/mL であった。

6.1.3. rasH2（wt/wt）マウスを用いた 1 ヵ月間経口投与用量設定試験［8391764 試験（[redacted]GR129），概要表 2.6.7.10C］

雌雄 rasH2（wt/wt）マウス（10 例/性/群）にアブロシチニブを 0［0.5%（w/v）メチルセルロースおよび 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有逆浸透水］，10，30 または 60 mg/kg/日の用量で 1 ヵ月間 QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，臨床病理検査（血液学的検査，血液生化学的検査）を実施した。尿中の結晶を顕微鏡検査した。試験 28 日の投与後 1，4，7 および 24 時間にサテライト群の動物（12 例/性/群）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。投与期間終了時に剖検を行い，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

試験 28 日に，30 mg/kg/日の雄 1 例が安楽殺された。この動物では円背位（試験 24，25 および 28 日），半眼（試験 24 日），立毛，不整呼吸および削痩（試験 28 日）が認められた。病理組織学的検査で，剖検での肺の淡茶色の変色に関連する肺の重度の炎症がみられたことから，この瀕死状態の原因はアブロシチニブに関連するものではなく，投与過誤と考えられた。

60 mg/kg/日の雄で，対照と比較して ALT の上昇が認められた。肝臓に剖検所見や病理組織学的所見はみられず，上昇の程度はおおむね軽かった（60 mg/kg/日の雄 5 例中 4 例で対照群の最高値の 2.39 倍以下）ことから，これは毒性学的意義に乏しい変化と判断した。

病理組織学的検査では 60 mg/kg/日の雄 1 例で，腎臓に片側性の軽度の閉塞性腎症，軽度の腎盂拡張および軽微な腎盂の急性炎症ならびに両側性の軽微な尿管の炎症が認められたが，いずれも毒性学的意義の乏しい所見と考えられた。10 mg/kg 日以上の雄および 10 mg/kg/日の雌では尿中の結晶は認められなかった。30 mg/kg/日および 60 mg/kg/日の雌では尿量が不十分であったことから，尿中の結晶は分析できなかった。

曝露量（C_{max}）は用量の増加に伴い増加し，すべての用量で雄の方が雌よりも高かった。全用量の雌および 10 mg/kg/日の雄では，連続的な試料採取ができなかったことおよび濃度が定量限界未満であったことから，AUC の算出に十分な測定時点が得られず，TK の解釈は限られていた。

いずれの用量でも毒性変化が認められなかったことから，NOAEL は 60 mg/kg/日と判断した。この用量での試験 28 日の C_{max} は雄で 310 ng/mL，雌で 226 ng/mL，雄における AUC_{24} は 728 ng•h/mL であった。

6.1.4. rasH2（tg/wt）マウスを用いた 6 ヵ月間経口投与がん原性試験［8398640 試験（[redacted]GR243），概要表 2.6.7.10D］

雌雄 Tg rasH2 ヘミ接合体（tg/wt）マウス（25 例/性/群）にアブロシチニブを雄には 0（0.5%（w/v）メチルセルロースおよび 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有逆浸透水），10，20 または 60 mg/kg/日，雌には 0，10，25 または 75 mg/kg/日の用量で最長 26 週間 QD 経口投与した。なお，本試験

の用量は CD-1 マウスを用いた 2 週間投与忍容性試験および rasH2 野生型マウスを用いた 1 ヵ月間投与用量設定毒性試験 2 試験に基づいて設定した。すなわち, 初回の 1 ヵ月間投与試験（8384615 試験）では，100/75 mg/kg/日以上の雄で腎臓の毒性所見が認められ，その後追加実施した 1 ヵ月間投与試験（8391764 試験）では 60 mg/kg/日までの用量で忍容性がみられ，毒性所見は認められなかったことから，上記用量とした。別の群（15 例/性）には，試験 1 日に 75 mg/kg の NMU を腹腔内投与し，陽性対照とした。投与容量は 10 mL/kg とした。試験 29 日の投与後 0.5，1，2，7 および 24 時間にサテライト群の rasH2 野生型（wt/wt）マウス（12 例または 15 例/性/群）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。死亡の有無，一般状態観察（腫瘤の評価を含む），体重測定，摂餌量測定，剖検および病理組織学的検査を行った。

いずれの投与群においても生存率はがん原性の評価に十分であった（Table 3）。10 mg/kg/日の雄 2 例, 20 mg/kg/日の雄 1 例, 60 mg/kg/日の雄 3 例, 対照群の雌 1 例, 25 mg/kg/日の雌 1 例, 75 mg/kg/日の雌 8 例が死亡した。これらの動物の死亡は，試験 64～159 日の間の瀕死状態による安楽殺，死亡発見または偶発的な死亡であった。これらのうち，アブロシチニブに関連した死亡例は 60 mg/kg/日の雄 1 例および 75 mg/kg/日の雌 6 例で認められた非腫瘍性の閉塞性腎症による死亡であった。75 mg/kg/日の雌の死亡率は対照群より高かった。25 mg/kg/日の雌 1 例および 60 mg/kg/日の雄 1 例の死亡は強制経口投与時の損傷によるものであった。75 mg/kg/日の雌 1 例はケージからの逃亡，60 mg/kg/日の雄 1 例は右前肢の骨折で早期安楽殺を行ったが，いずれもアブロシチニブとの関連はなかった。

陽性対照群では，雄 15 例および雌 13 例が試験 71～177 日の間に死亡発見あるいは瀕死期安楽殺された。これらの死亡/瀕死状態は，陽性対照物質である MNU と関連していると考えられた。生存率および MNU に関連した腫瘍（主に剖検での腫瘤および病理組織学的検査での造血器腫瘍）は，MNU 投与 rasH2 マウスにおける公表データと符合していた[9]。

Table 3.　Tg マウスを用いた 6 ヵ月間投与がん原性試験における試験 26 週の生存率

投与量（mg/kg/日）	雄 [a]		雌 [a]	
	生存動物数 [b]	生存率	生存動物数 [b]	生存率
0（溶媒対照）	25/25	100%	24/25	96%
0（陽性対照）	0/15	0%	2/15	13%
10 (M)/10 (F)	23/25	92%	25/25	100%
20 (M) / 25 (F)	24/25	96%	24/24	100%
60 (M) / 75 (F)	22/24	92%	17/24	71%

a.各群の動物数は偶発的死亡例について調整している。b.試験 26 週の生存動物数/各群の動物数。

アブロシチニブを Tg rasH2 ヘミ接合体（tg/wt）マウスに投与したところ，がん原性は認められなかったが，60 mg/kg/日の雄 25 例中 1 例および 75 mg/kg/日の雌 25 例中 6 例が死亡した。これらの死因は腎臓の剖検所見（嚢胞，形態異常，大型もしくは小型化，表面粗造，変色または異常内容物）のとおり，アブロシチニブによる非腫瘍性閉塞性腎症であった。

60 mg/kg/日の雄および 75 mg/kg/日の雌の多くで観察された軽微から重度の腎盂拡張および閉塞性腎症は，先に行った用量設定試験（8384615 試験および 8391764 試験）でも認められた。げっ歯類における結晶による閉塞性腎症は, 尿中の代謝物 M4 の結晶性析出物に関連しており, 非げっ歯類と比較してげっ歯類の尿が高濃縮であることによるげっ歯類に特異的な現象と考えられる [1]。

尿中の結晶がアブロシチニブの未変化体や代謝物と関連するかどうかを詳細に検討したところ，マウス尿中の可溶性尿画分および抽出可能な薬物由来の析出物には主に代謝物 M4 が含まれ，ごく微量ながら未変化体など他の薬物由来物質も含まれていた。

本試験ではアブロシチニブによる腫瘍の増加は認められなかった。25 mg/kg/日以上の雌では，リンパ球密度の低下を伴う非腫瘍性の胸腺上皮細胞過形成の発現頻度上昇が認められたが，アブロシチニブには関連するものの毒性学的意義は低く，また，予定解剖時まで生存したため（10，25 または 75 mg/kg/日でそれぞれ 25/25 例，24/24 例および 17/24 例），加齢も本所見に関与していることが示唆された。雄では胸腺上皮過形成はほとんどみられなかった。

アブロシチニブによる腫瘤の増加は認められなかった。一般状態，体重，体重増加量および摂餌量への影響は認められなかった。

試験 29 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，用量比を上回って増加した。試験 29 日の T_{max} は，すべてのアブロシチニブ投与群で投与後 0.50 時間であった。

60 mg/kg/日の雄および 75 mg/kg/日の雌での閉塞性腎症に基づき，NOAEL は雄で 20 mg/kg/日，雌で 25 mg/kg/日と判断した。これらの用量における試験 29 日の C_{max} および AUC_{24} は，雄ではそれぞれ 284 ng/mL および 244 ng•h/mL，雌ではそれぞれ 262 ng/mL および 274 ng•h/mL であった。

6.2. ラット

6.2.1. ラットを用いた 104 週間経口投与がん原性試験[8373335 試験（[redacted]MA056），概要表 2.6.7.10E]

Wistar Han ラット（60 例/性/群）にアブロシチニブを 0［0.5%（w/v）メチルセルロースおよび 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有逆浸透水］，3，10 または 30 mg/kg/日の用量で最長 104 週間 QD 経口投与した。なお，本試験の用量はラットを用いた 6 ヵ月間投与試験（8289422 試験）の結果に基づいて設定した。すなわち，70 mg/kg/日で免疫抑制および白血球の変化が，45 mg/kg/日以上では毒性学的意義が低いものの皮膚のただれ/痂皮または尿中結晶が認められた。45 mg/kg/日以上で認められた皮膚のただれ/痂皮により感染の可能性が高まり，尿中結晶の高頻度の発現により閉塞性腎尿細管損傷が生じ，死亡率の上昇を招く可能性があると考えられたことから，上記用量とした。投与容量は 10 mL/kg とした。試験 178 日の投与後 1，4，7 および 24 時間にサテライト群の動物（5 例/性/群）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。死亡の有無，一般状態観察（腫瘤の評価を含む），体重測定，摂餌量測定，剖検および病理組織学的検査を行った。

本試験ではアブロシチニブ投与に対する忍容性が認められた。30 mg/kg/日の雄では生存率の低下が認められた（Table 4，対照群の 75%に対して 47%）が，雌ではいずれの用量でも生存率への影響は認められなかった。10 mg/kg/日の雌の生存率（67%）は対照群の雌よりも統計的に有意に高かったが，これは対照群の雌の生存率がすべての群で最も低かった（42%）ことによるもので，偶発的なものと考えられた。すべての群において，雌雄動物の生存率はアブロシチニブのがん原性の評価に十分であった。

30 mg/kg/日の雄では体重増加抑制が認められたが，雌ではいずれの用量においても体重への影響は認められなかった。30 mg/kg/日の雄では，試験 66 週から投与終了時まで統計学的に有意な体重増加抑制が認められた（試験 105 週で対照群の雄の 0.88 倍）。10 mg/kg/日以下の雄では体重への影響は認められず，雌雄ともに用量にかかわらず摂餌量に対する影響はなかった。

Table 4.　ラットを用いた 104 週間投与がん原性試験における試験 104 週での生存率

投与量（mg/kg/日）	雄		雌	
	生存動物数[a]	生存率	生存動物数[a]	生存率
0（溶媒対照）	45/60	75%	25/59	42%
3	39/60	65%	32/60	53%
10	37/60	62%	41/61	67%
30	28/60	47%	31/60	52%

a.試験26週の生存動物数/各群の動物数。

アブロシチニブに関連する一般状態変化として，30 mg/kg/日では切歯の不正咬合および歯の白色化の発現頻度が高く，剖検では歯の変色として認められたが，対応する病理組織学的変化はみられなかった。

30 mg/kg/日の雌では胸腺上皮細胞の過形成の発現頻度増加が認められた。腫瘍性病変としては，10 mg/kg/日以上の雌で良性胸腺腫（胸腺上皮細胞の胸腺腫）の発現頻度増加が認められたことのみであり，これはおおむね剖検時の胸腺腫瘤や胸腺の大型化と関連していた。10 mg/kg/日の雌 1 例で悪性胸腺腫がみられたが，発現頻度は低く，試験施設の背景データの範囲内であり，用量相関性もなかったことから，アブロシチニブに関連する悪性胸腺腫の発現頻度増加とは考えられなかった。3 mg/kg/日の雌における胸腺腫の発現頻度（18%）は，試験施設における雌 Wistar Han ラットの背景データの範囲（0.9%～11.9%）を上回っていたが，溶媒対照群との対比較では統計的な有意差は認められなかった。さらに，18%という発現頻度は公表論文[10]（17.02%）よりもわずかに高い値であった。その他 2 報の公表論文[11,12]においても，雌 Wistar Han ラットにおける胸腺腫の自然発現頻度は比較的高かった。雄ではいずれの用量においても胸腺腫の発現頻度は Wistar Han ラットにおける試験施設の背景データの範囲内であり，統計学的に有意な用量依存性の傾向は認められなかった。

本試験での対照群のデータ，施設の背景データおよび公表文献から，Wistar ラットの雌では良性胸腺腫が自然発生腫瘍として発生しやすいとされている。Iwata ら（2013）の報告における雌 Wistar ラットでの胸腺腫の自然発現頻度の高さに加え，2 報の公表文献では，無処置の雌 Wistar ラットにおける胸腺腫の自然発現頻度の高さが強調されている [11,12]。これらの公表文献では，がん原性試験における無処置対照群に準じてラットを 104 週間飼育したところ，老齢の主に雌の Wistar ラットで自然発生性の胸腺腫が高率に発生し，その発現頻度は Sprague Dawley ラットよりもはるかに高かった。本試験と同じ試験施設で実施した試験では，Wistar ラットにおける良性胸腺腫の平均発現頻度は，2.5%（雄）および 13.5%（雌）であった [12]。高齢の Wistar ラットにおいても，同様に高い発現頻度で自然発生性の胸腺腫が認められた（雄では 5%，雌では 15%）[11]。さらに，Tomonari らは，Sprague Dawley ラットの群についても同時に実施しており，胸腺腫の発現率は Wistar ラットと比較して著しく低かった（雄 0.3%，雌 0.9%）と報告している。

10 mg/kg/日以上の雌における胸腺腫の発現頻度（26%以上）は，雌対照群の値および試験施設の背景データよりも高かったことから，これらの群における胸腺腫の発現頻度上昇はアブロシチニブによるものと考えられた。また，雌の 3 mg/kg/日では，（1）対照群との統計的有意差が認められなかったこと，（2）雌の Wistar Han ラットは加齢に伴う生理的な胸腺の退縮が雄の Wistar Han ラットや SD ラットに比べて遅れるので，自然発生性の胸腺腫形成に特に感受性が高いこと，（3）

3 mg/kg/日における胸腺上皮過形成の発現頻度は対照群と同程度であったこと，（4）胸腺腫の発現頻度（18%）は，文献で報告されている自然発生性の胸腺腫の背景データ（17.02%）をわずかに上回っていただけであったことから，雌の Wistar Han ラットの胸腺腫に関する NOEL は 3 mg/kg/日と判断した。

アブロシチニブが雌の Wistar Han ラットにおいて胸腺腫の発現頻度を上昇させる正確な原因および機序は明らかになっていないが，アブロシチニブには遺伝毒性がないことから，遺伝毒性以外の機序に関連している可能性が高い。ラット反復投与毒性試験で認められた胸腺のリンパ球密度の低下または血中リンパ球数の減少から明らかなように，アブロシチニブは胸腺の JAK/STAT シグナル伝達を阻害する。JAK/STAT シグナル伝達の阻害のみによって胸腺上皮細胞またはリンパ球由来の腫瘍細胞の増殖が促進されることを示唆するノックアウトマウスを用いた試験の文献はない。また，その他の JAK 阻害薬（トファシチニブ）や免疫抑制剤［ELIDEL®（ピメクロリムス）USPI，2014］についても，ラットを用いた 2 年間投与がん原性試験における胸腺腫の発現頻度上昇が報告されている。

試験 178 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）について，C_{max} は用量にほぼ比例して，AUC_{24} は用量比を上回って増加した。試験 178 日の T_{max} は，すべてのアブロシチニブ投与群で投与後 1 時間であった。

以上のように，30 mg/kg/日の雄では，生存率の低下および体重増加抑制が認められた。また，30 mg/kg/日では，一般状態観察または剖検で切歯の不正咬合または歯の白色化が認められたが，病理組織学的所見はみられなかった。非腫瘍性病変としては，30 mg/kg/日の雌で胸腺過形成の発現頻度上昇が認められた。腫瘍性病変としては，10 mg/kg/日以上の雌で，良性胸腺腫（胸腺上皮細胞の胸腺腫）の発現頻度の上昇が認められ，これはおおむね剖検時の胸腺腫瘤や胸腺の大型化と関連していた。

30 mg/kg/日における試験 178 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 10700 ng/mL および 76000 ng•h/mL であった。

7. 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

7.1. 受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験

7.1.1. ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験［655170 試験（[redacted]GR089），概要表 2.6.7.12A］

雌雄 Wistar Han ラット（20 例/性/群）にアブロシチニブを 0［0.5%（w/v）メチルセルロース/0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有脱イオン水］，30，45 または 70 mg/kg/日の用量で QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。雌には無処置雄との交配の 14 日前から妊娠 7 日まで，計 22～28 日間投与した。雄には無処置雌との同居の 28 日前から予定解剖の前日まで投与した（64～65 日間投与）。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，発情周期観察および剖検を行った。雌については交配を確認後，妊娠 14 日に帝王切開を実施し，黄体数，着床数および生存胚数を確認した。着床の認められない子宮は，10%硫化アンモニウム溶液に浸漬し，早期胚死亡の有無を調べた。雄については交配相手の雌の剖検後に全例を安楽殺して精子検査を行い，生殖器の重量を測定した。試験 12 日の投与後 1 時間に 3 例/性/群のラットから採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。

70 mg/kg/日では試験 20 日に雌 1 例が死亡発見され，また，試験 31 日に雌 1 例が瀕死期安楽殺された。剖検により食道穿孔が確認されたことから，これらの死因は投与過誤によるものと考えられた。

一般状態観察では，45 mg/kg/日以上の雄で鼻または口周囲の赤色または透明な物質が投与期間を通して散発的に認められたが，毒性学的意義の乏しい変化であった。体重増加量の減少が 45 mg/kg/日以上の雌で投与終了後（妊娠 7～14 日）に認められたが，これは同群で生存胎児が少なかったことに起因する変化と考えられた。70 mg/kg/日の雌で摂餌量の減少が認められ，これは同群における体重増加量の減少と関連していた。

雄の授胎能，生殖器重量および精子への影響は認められなかった。

雌では，70 mg/kg/日で受胎率の低下（55.6%，対照群では 95.0%）が認められ，これに伴い妊娠率も低下（55.6%，対照群では 95.0%）し，黄体数の減少およびこれに伴う着床数の減少も認められた。30 mg/kg/日以上では一腹あたりの着床後胚損失率（早期胚吸収）の上昇が認められた。70 mg/kg/日でみられた黄体数の減少および 30 mg/kg/日以上でみられた着床後胚損失率の上昇により，二次的に 30 mg/kg/日以上での一腹あたりの生存胚数が低下した。30 mg/kg/日以上でみられた雌の受胎能に関するこれらの影響は毒性と考えられた。45 mg/kg/日および 70 mg/kg/日でみられた一腹あたりの着床後胚損失率および一腹あたりの生存胚数については，対照群と比較して統計学的有意差が認められた。

雌雄の一般状態および雄の生殖機能には 70 mg/kg/日投与によっても毒性変化が認められなかったことから，雌雄の一般毒性および雄の生殖毒性に関する NOAEL は 70 mg/kg/日と考えられた。また，雌では 70 mg/kg/日で黄体数ならびに受胎率および妊娠率の減少が認められ，30 mg/kg 日以上で着床後胚損失率の上昇およびその二次的な影響が認められたため，雌の受胎能及び初期胚発生に関する NOAEL は得られなかった。試験 12 日のアブロシチニブの血漿中濃度は，70 mg/kg/日の雄，70 mg/kg/日の雌および 30 mg/kg/日の雌でそれぞれ 12500，16500 および 10700 ng/mL であった。

7.1.2. ラットを用いた受胎能および 1 ヵ月間回復性試験（[redacted]GR261 試験，概要表 2.6.7.12B）

雌雄ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験（655170 試験）で雌の受胎能及び初期胚発生に関する NOAEL が得られなかったことから，雌の生殖能に対する NOAEL を求めるため追加試験（[redacted]GR261 試験）を実施した。本試験では，雌の Wistar Han ラット（20 または 40 例/群）にアブロシチニブを 0［0.5%（w/v）メチルセルロースおよび 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有精製水］，3，10 または 70 mg/kg/日の用量で交配の 14 日前から妊娠 7 日まで QD 経口投与し，その後対照群および 70 mg/kg/日（20 例/群）については 1 ヵ月間の休薬期間を設けた。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，発情周期観察および剖検を行った。妊娠 14 日に雌全例に対して帝王切開を実施した。黄体数，着床数および生存胚数を計数した。胎盤は肉眼的に観察した。着床の認められない子宮は，10%硫化アンモニウム溶液に浸漬し，早期胚死亡の有無を調べた。試験 10 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に雌 5 例/性/群から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。

70 mg/kg/日では，交配前の投与期間中に体重，体重増加量および摂餌量の増加が認められたが，休薬期間中に回復し，毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

70 mg/kg/日では，雌 20 例が全て交尾したが，妊娠したのは 10 例のみであったことから，受胎率および妊娠率の低下（いずれも対照群の 95%に対して 50%）が認められた。また，70 mg/kg/日では，着床数の減少（対照群の 11.8 に対して 7.5）も認められ，その結果，着床前胚損失率の増加（対照群の 4.66%に対して 30.79%）および全胚死亡（着床後胚損失率：100%，すべて早期胚吸収）がみられた。いずれの用量においても，発情周期，交配所要日数または交尾率に対してアブロシチニブによる影響は認められなかった。1 ヵ月間の休薬後には，70 mg/kg/日で認められた雌の受胎能および初期胚生存に対する所見はみられず，投与による影響は完全に回復していた。

雌の全身状態には毒性変化が認められなかったことから，雌の一般毒性に関する NOAEL は 70 mg/kg/日と考えられた。70 mg/kg/日では受胎率および妊娠率の低下ならびに着床前および着床後胚損失率の上昇が認められたことから，雌の生殖毒性に関する NOAEL は 10 mg/kg/日と考えられ，この用量における C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 2660 ng/mL および 11000 ng•h/mL であった。いずれの毒性変化も 1 ヵ月間の休薬期間終了時には回復していた。

7.2. 胚・胎児発生に関する試験

7.2.1. ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験［20052794 試験（[redacted]GR307），概要表 2.6.7.11］

妊娠した Sprague Dawley ラット（6 例/群）に，アブロシチニブを 0（0.5%メチルセルロースおよび 0.1%ポリソルベート 80 含有逆浸透脱イオン水），75，200 または 400 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 17 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 21 日に剖検後，妊娠子宮重量を測定し，卵巣および子宮の検査，胎児の性別判定，胎児体重ならびに胎児の外表検査を行った。

200 mg/kg/日および 400 mg/kg/日では，母動物の一般状態の変化，体重減少および摂餌量の減少がみられ，予定剖検時まで生存していた母動物はいなかった。死亡例または安楽殺例の母動物で認められた一般状態の変化は，200 mg/kg/日では全身蒼白，200 mg/kg/日および 400 mg/kg/日では眼瞼下垂，自発運動量の減少，膣周囲の赤色物質，肢端および耳介蒼白，被毛粗剛，運動失調，脱水，削痩，円背位，冷触感，糞量減少，過呼吸，膣出血，400 mg/kg/日では流涙，尿による腹部被毛の着色，低い姿勢，緩徐呼吸，立毛および暗色の濃縮尿であった。200 mg/kg/日または 400 mg/kg/日では，膣周囲の赤色物質および膣出血の増加を反映して，ケージ，尾または腹部にも赤色物質が認められた。75 mg/kg/日では全例が予定剖検時まで生存した。

75 mg/kg/日では，母動物の体重への影響がみられ，妊娠 6～18 日および妊娠 6～21 日には体重増加量の減少（それぞれ 0.76 倍および 0.75 倍，対照群との比較），妊娠 6～21 日には母動物の体重増加抑制（0.86～0.95 倍）がみられ，これに対応した絶対摂餌量（g/日）および相対摂餌量（g/kg/日）の減少（妊娠 6～18 日：それぞれ 0.83 倍および 0.91 倍，妊娠 6～21 日：それぞれ 0.81 倍および 0.90 倍）が認められた。予定剖検時まで生存した母動物の剖検で異常所見は認められなかった。75 mg/kg/日では，一腹あたりの後期吸収胚数の増加（対照群の 0.0 に対し 5.7）および胎児重量の減少（対照群の 0.77 倍）に伴い，妊娠子宮重量の減少（対照群の 0.79 倍）が認められた。着床後胚損失率の上昇は，75 mg/kg/日における同腹児数の減少（対照群の 11.8 に対し 4.2）とも関連していた。75 mg/kg/日では胎児 1 例に外表奇形（全身浮腫，臍ヘルニアおよび前肢の内転）が認められた。

この用量設定試験の 75 mg/kg/日で胚・胎児死亡の著しい増加（後期胚吸収の増加による一腹あたりの胎児数の減少）が認められたことから，60 mg/kg/日を本試験の最高用量に設定した

7.2.2. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験［20055528 試験（[redacted]GR073），概要表 2.6.7.13A］

妊娠した Sprague Dawley ラット（22 例/群）に，アブロシチニブを 0（0.5%メチルセルロースおよび 0.1%ポリソルベート 80 含有逆浸透脱イオン水），10，30 または 60 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 17 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 21 日に剖検後，妊娠子宮重量を測定し，卵巣および子宮の検査，胎児の性別判定，胎児体重ならびに胎児の外表，内臓および骨格検査を行った。試験 17 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の雌（3～5 例/群）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。

60 mg/kg/日では，一腹あたりの後期吸収胚数が増加し（対照群の 0.0 に対し 0.6），低い発現頻度での死亡胎児が認められた（3 母獣で 3 例）。これらに関連して，対照群と比較した着床後胚損失率の上昇および一腹あたりの吸収胚数の割合の増加が認められた（対照群の 7.2%に対し 9.5%）。後期胎児死亡の増加にかかわらず，60 mg/kg/日では同腹児数に対する影響はみられなかった。

母動物の剖検では異常はみられなかった。胎児の骨格変異として，30 mg/kg/日および 60 mg/kg/日では，第 13 肋骨の短縮の発現頻度が上昇した（対照群の 0 例に対しそれぞれ 3 腹で 3 例および 3 腹で 4 例）。また，60 mg/kg/日では，腹側突起の減少を伴う頸椎弓（対照群の 1 例に対し 5 腹で 5 例），肋骨の肥厚（対照群の 0 例に対し 4 腹で 7 例）および中足骨の未骨化（対照群の 5 腹中 6 例に対し 7 腹で 11 例）の発現頻度が上昇した。中足骨の未骨化が認められた 11 例中 5 例の体重は 5 g 未満であった。いずれの用量でも，胎児の外表または内臓に変化は認められなかった。

妊娠 17 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加に伴い増加した。妊娠 17 日の T_{max} は，10，30 および 60 mg/kg/日でそれぞれ 1.4，3.8 および 3.5 時間であった。

60 mg/kg/日投与によっても母動物では毒性変化が認められなかったことから，母動物に関する NOAEL は 60 mg/kg/日と考えられ，この用量における C_{max} は 6410 ng/mL，AUC_{24} は 90000 ng•h/mL であった。胎児については，60 mg/kg/日で胚・胎児の生存率の低下ならびに 30 mg/kg/日および 60 mg/kg/日で骨格変異の発現頻度の上昇が認められたことから，胚・胎児発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日と考えられた。この用量における C_{max} は 2180 ng/mL，AUC_{24} は 12900 ng•h/mL であった。なお，これは骨格変異に対して保守的な考え方で行ったものである。

本試験で認められた胎児骨格の発達に関する変異は，アブロシチニブによるものと考えられる一方，これらの発達に関する変異は，動物の健康状態，生存率または身体発達に対して影響を及ぼすことはなく，正常な発達からのわずかな逸脱にすぎないと考えられた。奇形（げっ歯類でみられる低頻度の不可逆的変化）あるいは変異（げっ歯類で通常みられる所見で，可逆的な発生の遅延または促進）の定義[13,14,15,16]に基づくと，アブロシチニブ投与でみられた胎児骨格の所見は骨格変異の範疇と考えられる。第 13 肋骨の短縮が 30 mg/kg/日でみられたが，生後に回復することが知られており[17,18,19]，この所見が一過性で動物の健康状態や生存に影響しないことが裏付けられていることから，変異に分類されると考えられる。肋骨の肥厚は胎児の肋骨の発生における正常な連続過程の一環とされている[20]。また，胎児の骨の肥厚は骨の早期発生における類骨の軽微な産

生過剰に起因する可能性が高く，生後の骨の成長中にリモデリングされるという仮説もある[21]。中足骨の未骨化などの骨化遅延は，生後の骨格リモデリングにより生後回復する[15]。また，腹側突起の減少を伴う頸椎弓の所見も，可逆的な骨化遅延と考えられる。

以上の文献による考察から，30 mg/kg/日は動物の健康状態，生存または身体形成に対して骨格に影響を及ぼさない変化（変異）が認められる用量と考える。

7.2.3. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験［20052795 試験（[redacted]GR306），概要表 2.6.7.11］

妊娠した New Zealand White ウサギ（6 例/群）に，アブロシチニブを 0（0.5%メチルセルロースおよび 0.1%ポリソルベート 80 含有逆浸透脱イオン水），30，75，150 または 300 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日から 19 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 29 日に剖検後，妊娠子宮重量を測定し，卵巣および子宮の検査，胎児体重ならびに胎児の外表検査を行った。

30 mg/kg/日の 1 例は 13 回投与後に一般状態が悪化したため，妊娠 21 日に安楽殺された。この動物は妊娠 21 日に脱水状態にあり，自発運動量の減少，正向反射障害，眼瞼下垂，後肢開脚，低い姿勢，緩徐呼吸が認められた。妊娠 20 日および 21 日には，糞量減少，被毛粗剛，被毛の汚れ（生殖器周囲または後肢および尾の赤色物質）ならびにケージに赤色物質が認められた。また，妊娠 18 日から 21 日までに体重が 0.34 kg 減少し，妊娠 20 日から妊娠 21 日の間に摂餌量が大きく減少した（0～41 g/日）。剖検では，肝臓の全葉に多数の褐色領域が認められ，12 個の後期吸収胚がみられた。30 mg/kg/日のその他の動物はいずれも予定剖検時まで生存した。

150 mg/kg/日の 2 例は流産したため，妊娠 19 日または 24 日に安楽殺された。剖検前には軟便または水様便, 糞量減少, 被毛粗剛, 体重増加抑制（妊娠 7 日から剖検日の間に-0.29 kg から-0.69 kg），重度の摂餌量減少（妊娠 15 日から 18 日の間に 0～2 g/日または妊娠 11 日から 23 日の間に 0～80 g/日）がみられ，早期および後期吸収胚が認められた。

300 mg/kg/日では予定剖検日まで生存した動物はいなかった。1 例は妊娠 13 日に死亡発見され，他の 1 例は一般状態の悪化のため妊娠 13 日に安楽殺し，残りの 4 例は同群の投与中止により妊娠 13 日または 14 日に安楽殺された。死亡または安楽殺の前には糞便の異常（軟便または水様便，糞量減少および粘液便）または被毛粗剛などが認められた。1 例では，耳介蒼白および強膜の暗赤色化が認められ，他の動物では，削痩，自発運動量の減少，正向反射障害，眼瞼下垂，運動失調，後肢開脚，流涎および呼吸困難が認められた。4 例では体重減少が認められた（妊娠 7 日から死亡/安楽殺日の間に-0.22 kg から-0.37 kg）。全例で摂餌量の減少が認められた（死亡/安楽殺日に 0～136 g/日）。4 例で早期吸収胚が認められたが，早期に剖検したため，それ以上の胚・胎児の評価はできなかった。

30 mg/kg/日および 75 mg/kg/日のその他の動物はいずれも剖検時まで生存した。生存例では，一般状態の変化として，30 mg/kg/日以上で被毛粗剛および糞量減少，75 mg/kg/日以上で軟便または水様便および削痩が認められ，150 mg/kg/日では糞便の排泄が認められなかった。母動物の体重増加量の減少が 30 mg/kg/日以上（妊娠 7～20 日の間に 0.10～0.63 倍，対照群との比較）および 75 mg/kg/日以上（妊娠 7～29 日の間に 0.32～0.84 倍）で，母動物の体重増加抑制（妊娠 22～24 日の間に 0.94～0.95 倍）が 150 mg/kg/日で，母動物の絶対および相対摂餌量の減少（妊娠 7～20

日の間に 0.69～0.85 倍および妊娠 7～29 日の間に 0.76～0.89 倍）が 30 mg/kg/日以上で認められた。30，75 および 150 mg/kg/日では，後期吸収胚数の増加が認められ（対照群の 0.0 に対し，それぞれ 1.2，1.2 および 1.5），着床後胚損失数の増加を伴っていた。また，吸収胚を有する動物数の増加もみられた（対照群の 0.0%に対し 75%～83.3%）が，30 mg/kg/日以上では同腹児数に対する影響は認められなかった。

150 mg/kg/日では，胎児重量の減少（対照群の 0.91 倍）が認められた。胎児の外表異常として，75 mg/kg/日の 1 例で腹部膨満および 150 mg/kg/日の 1 例で眼瞼開裂が認められた。

150 mg/kg/日で母動物の体重増加抑制および流産が認められたことから，本試験の高用量を 75 mg/kg/日に設定した。ICH S5(R2)ガイドラインでは，高用量の規定要因の例として，予備試験における胚・胎児死亡率の著明な上昇および過度の母体毒性が挙げられている。

7.2.4. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験［20058757 試験（[redacted]GR183），概要表 2.6.7.13B］

妊娠した New Zealand White ウサギ（20 例/群）に，アブロシチニブを 0（0.5%メチルセルロースおよび 0.1%ポリソルベート 80 含有逆浸透脱イオン水），10，30 または 75 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日から 19 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 29 日に剖検後，妊娠子宮重量を測定し，卵巣および子宮の検査，胎児の性別判定，胎児体重ならびに胎児の外表，内臓および骨格検査を行った。，試験 19 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の雌（3～5 例/群）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。

30 mg/kg/日では 2 例が妊娠 18 日または 25 日に流産した。流産前にはケージの受け皿に赤色物質が認められた。これらの動物では，母動物の体重減少が妊娠 17～18 日（-0.17kg），妊娠 23～25 日（-0.22kg）に認められ，1 例では妊娠 21～24 日に摂餌量の減少もみられた（摂餌量 : 13～143 g/日）。剖検では，脾臓の表面粗造が 1 例でみられたのみであった。これら 2 例では，早期または後期吸収胚を含む全胎児死亡が認められた。これらの流産に用量依存性はなく，アブロシチニブとの関連性はないと考えられた。

母動物の剖検では異常はみられなかった。75 mg/kg/日では，骨格変異として前肢指骨の未骨化の一腹あたりおよび胎児あたりでの発現頻度が上昇し（それぞれ 47.4%および 6.6%），対照群（それぞれ 5.0%および 0.5%）と比較して統計学的に有意であった。骨格の形成異常を示す所見が他にないことを考慮すると，認められた前肢指骨の未骨化の発現頻度の上昇は，胎児の発生に対するアブロシチニブの毒性変化を示すものではないと考えられた [15]。

妊娠 19 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加に伴い増加した。妊娠 19 日の T_{max} は，いずれの用量においても投与後 1.0 時間であった。

いずれの用量においても毒性変化が認められなかったことから，母動物および胚・胎児発生に関する NOAEL は検討した最高用量である 75 mg/kg/日と判断した。この用量における C_{max} は 16800 ng/mL，AUC_{24} は 43000 ng•h/mL であった。

7.3. ラットを用いた出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験［00655212 試験（[redacted]GR074），概要表 2.6.7.14］

妊娠した Sprague Dawley ラット（20 例/群）に，アブロシチニブを 0［0.5%（w/v）メチルセルロースおよび 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有脱イオン水］，10，30 または 60 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から授乳 20 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。

母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，分娩に関するパラメータ測定を行い，授乳 21 日に剖検を行った。F1 出生児については一般状態観察，体重測定，性成熟判定，機能行動検査を実施し，性成熟した F1 出生児を同居させて，生殖機能を評価した後，剖検した。

30 mg/kg/日および 60 mg/kg/日で難産が認められた。30 mg/kg/日の雌 1 例は，分娩から 3 日目（授乳 3 日）に安楽殺された。この雌は 6 例の新生児を出産し，剖検では子宮内に死亡児 1 例および後期吸収胚が 1 つ認められた。60 mg/kg/日の雌 1 例は，分娩から 2 日目に難産のため，この時点における 60 mg/kg/日群の早期中止の一環として安楽殺された。60 mg/kg/日の別の雌 1 例では妊娠 23 日まで分娩が始まらなかったが，この群の早期中止の約 19 時間前にはこの雌は分娩の活動期にあったことから，難産の可能性が考えられた。

60 mg/kg/日の雌 13 例（上述の難産の雌を含む）では，授乳 1～3 日に全同腹児が死亡した（その後これらの雌は安楽殺）か，あるいは，出産していたが，F1 出生児の生存率が低かったため安楽殺（授乳 0～2 日）された。また，その他の 7 例は妊娠中であったが，出産はしておらず妊娠 20～22 日に安楽殺された（2 例では胚が完全に吸収されていた）。

60 mg/kg/日では，対照群と比較し，生存同腹児数の減少が認められた。60 mg/kg/日における出生後の生存率（出生児数との比較）は，生後 0 日に 91.3%，生後 0～1 日および 1～4 日にそれぞれ 11.2%（対照群と統計学的有意差あり）および 0.0%であったことから，この群を早期中止とした。

30 mg/kg/日および 60 mg/kg/日では，出生児の体重に対する影響が認められた。60 mg/kg/日では F1 出生児の出生時体重（生後 1 日）の減少が認められ，雄で対照群の 0.66 倍，雌で 0.69 倍であった。60 mg/kg/日は早期中止としたため，出生児の体重についてはその後の評価は行わなかった。30 mg/kg/日でも F1 出生児の出生時体重（生後 1 日）の減少が認められ，雄で対照群の 0.93 倍，雌で 0.90 倍であった。30 mg/kg/日では雌雄出生児の体重増加量の減少も認められ，生後 1～10 日および生後 17～21 日で対照群の 0.77～0.88 倍（雄）および 0.77～0.84 倍（雌）であった。その結果, 30 mg/kg/日の雌雄の出生児の体重は, 生後 4～21 日においてそれぞれ対照群の 0.87～0.91 倍（雄）および 0.85～0.88 倍（雌）であった。

60 mg/kg/日では，9 腹 41 例の出生児で，剖検時に胃内に乳汁がなかった。これは出生時または出生直後に出生児が死亡し，授乳ができなかったためと考えられた。60 mg/kg/日では出生後の生存率が低かったため，離乳前に新生児を安楽殺した。このため，60 mg/kg/日では離乳後パラメータの評価ができなかった。

生後 75 日または 56 日に対照群の雌雄各 1 例が死亡発見された。死亡前に一般状態の変化は認められず，剖検で異常所見も認められなかった。

出生後の発達期において，30 mg/kg/日では， F1 の体重または体重増加量に対する影響が認められた。離乳後の評価に選択した 30 mg/kg/日の F1 雄および雌における生後 21 日の体重は，それ

ぞれ対照群の 0.88 倍および 0.87 倍であった。30 mg/kg/日の F1 雄では，離乳後（生後 28～105 日）に概し体重増加抑制（対照群の 0.93～0.95 倍）が認められた。30 mg/kg/日の F1 雄では交配前期間中に体重増加量の減少が認められ，交配前の期間全体（生後 21～84 日）における体重増加量は対照群の 0.94 倍であった。F1 雌では，生後 28 日に体重増加抑制（対照群の 0.92 倍）が認められた。しかしながら，交配前期間の体重増加量は対照群と同程度であり，交配前期間の終了時（生後 84 日）までに体重に対する影響には改善がみられた。

母動物の生存率，一般状態，体重，体重増加量，摂餌量，妊娠期間および剖検所見に対する影響は認められなかった。さらに，F1 の離乳後の生存率，生殖器の発達（包皮分離および膣開口時の年齢および体重），神経行動（驚愕反応，自発運動量または学習および記憶），成熟 F1 の生殖能ならびに F2 生存率の評価において，アブロシチニブによる影響は認められなかった。

以上のように，30 mg/kg/日および 60 mg/kg/日で発生毒性が認められた。すなわち，雌雄 F1 の出生時体重（生後 1 日）の減少，投与の早期中止に至った 60 mg/kg/日の出生後の生存率の低下（全同腹児の死亡を含む）および 30 mg/kg/日の離乳前の体重増加量の減少（離乳後まで持続）が認められた。

30 mg/kg/日以上で難産および F1 出生時体重の減少，60 mg/kg/日で F1 出生後生存率の低下，30 mg/kg/日で離乳前の体重増加量の減少および体重増加抑制少が認められたことから，F0 母動物および F1 の発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日と判断した。

7.4. 12 歳未満を対象とした臨床試験実施のための幼若動物を用いた試験

7.4.1. 幼若ラットを用いた用量設定毒性試験［00655213 試験（[redacted]GR060），概要表 2.7.7.15A］

雌雄の幼若 Wistar Han ラット（10 例/性/群）にアブロシチニブを 0［0.5%（w/v）メチルセルロースおよび 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有脱イオン水］，5，25 または 75 mg/kg/日の用量で生後 10 日から 24 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定および剖検を行った。投与終了後，生後 25 日に全生存ラットが安楽殺された。

25 mg/kg/日の雄 1 例で生後 16～17 日に体重減少（-1.1 g）がみられ，生後 17 日に死亡発見された。この雄の生存中に一般状態の変化はみられず，剖検時に異常所見や死因となる所見は確認されなかった。75 mg/kg/日で毒性所見や死亡例は認められなかったことから，この死亡はアブロシチニブに関連したものとは判断しなかった。その他の動物はいずれも予定剖検時まで生存した。75 mg/kg/日までの用量でアブロシチニブの影響は認められなかった。

本試験の結果に基づき，幼若ラットを用いた本試験の用量として 5，25 および 75 mg/kg/日を選択した。

7.4.2. 幼若ラットを用いた経口投与毒性および 2 ヵ月間回復性試験［00655225 試験（[redacted]GR039），概要表 2.6.7.15B］

雌雄の幼若ラット（10～15 例/性/群）にアブロシチニブを 0［0.5%（w/v）メチルセルロースおよび 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有脱イオン水］，5，25 または 75 mg/kg/日の用量で生後 10 日から 63 日まで QD 経口投与し，その後すべての用量において 2 ヵ月間の休薬期間を設けた。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，生殖器発達指標の観察，血液学的検査，剖検，器官重量測定，右大腿骨の長さおよび幅の測定ならびに病理組織学的検査

を行った。生後 10 日および 63 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の動物（19～21 例/性/群）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。死亡および安楽殺が生じたため，一部の TK 評価用の動物（最大 5 例/性/群）を回復性の評価に再割り付けし，すべての用量群で 5 例/性/群を対象に 2 ヵ月間回復性を評価した。投与終了後および休薬期間終了後，全生存ラットが安楽殺された。

25 mg/kg/日および 75 mg/kg/日ではそれぞれ生後 27 日および 16 日から，一般状態観察で片側または両側の前肢または後肢の回転異常または使用障害が認められた。これらの一般状態の変化は重篤であったため，6 例（75 mg/kg/日の雄 3 例および雌 2 例ならびに 25 mg/kg/日の雄 1 例）が安楽殺された。片側または両側の前肢または後肢の回転異常または使用障害は，剖検では肢端の異常回転，骨短縮および骨折がみられ，病理組織学的検査では骨折，関節の炎症（肢端）および骨格筋（大腿四頭筋）の石灰化が認められた。休薬期間中には，前肢/後肢の使用障害は消失したが，25 mg/kg/日以上では依然として後肢の回転異常が認められた。

さらに 4 例（75 mg/kg/日の雄 2 例および雌 1 例ならびに 25 mg/kg/日の雌 1 例）が死亡発見されたが，死亡前の一般状態の変化は認められず，アブロシチニブとの関連はないと判断された。75 mg/kg/日の雌では腎臓において重度の炎症が認められ，これはおそらくアブロシチニブの薬理作用（免疫調節）による日和見感染に関連した上行性感染に起因するものと考えられた。75 mg/kg/日の雄 1 例では，剖検で投与過誤を示唆する所見が認められた。生後 10 日の初回投与後に死亡発見された 75 mg/kg/日の雄および生後 16 日に死亡発見された 25 mg/kg/日の雌の死因は不明であったが，突発的な事象であったこと，事前に一般状態の変化が認められなかったこと，投与初期の散発的事象であったことから，アブロシチニブとの関連はなく，実験手技との関連の可能性が示唆された。

25 mg/kg/日および 75 mg/kg/日の雄では，ほぼ投与期間を通じて体重増加量の減少およびこれに関連した摂餌量の減少が認められ，その結果，平均体重が対照群の 0.85～0.90 倍（生後 24～63 日）および 0.82～0.89 倍（生後 21～63 日）と抑制された。休薬期間中（生後 64～118 日）には，25 mg/kg/日では体重および摂餌量への影響は認められず，75 mg/kg/日の雄では体重が部分的に回復した（生後 118 日において対照の 0.94 倍）。雌では，75 mg/kg/日で生後 10～31 日に体重増加量の減少が認められた（関連する摂餌量への影響は認められなかった）。その結果，生後 21～63 日に体重増加抑制（対照群の 0.86～0.92 倍）が認められ，休薬期間中も低値（対照群の 0.88～0.92 倍）が持続した。

25 mg/kg/日および 75 mg/kg/日の雄ならびに 5 mg/kg/日以上の雌では，投与期間終了時にリンパ球数の減少を伴う白血球数の減少が認められた。これらの血液学的パラメータの変化は，休薬期間後にはいずれの用量においても認められなかった。

毒性と考えられる剖検所見または病理組織学的所見が骨に認められた。5 mg/kg/日以上では，剖検で骨の屈曲，肢端の回転異常または大腿骨頭の小型化/軟化/変形［右側または左側］がみられ，病理組織学的検査で大腿骨頭の形態異常（左側）が認められた。これらの剖検所見および病理組織学的所見に可逆性はみられなかった。成長板への影響は認められなかったが，病理組織学的検査では，5 mg/kg/日以上で脛骨近位部および大腿骨遠位部の成長板の直下の骨幹端における一次海綿骨の減少が用量依存的に認められた。25 mg/kg/日以上では，大腿骨（右側）の長さおよび幅の減少が認められた。一次海綿骨の減少は，5 mg/kg/日以上の群では休薬期間終了時には完全に

回復していたが，75 mg/kg/日で休薬期間終了時にもみられた大腿骨の長さおよび幅の減少や回転異常，骨折および骨の屈曲に寄与していた可能性があることから，毒性所見と考えられた。

75 mg/kg/日で認められた胸腺のリンパ球密度の低下は，アブロシチニブの免疫調節作用と一致しており，休薬期間終了時には完全な回復が認められた。この病理組織学的所見は，胸腺重量の減少および循環血中リンパ球数の減少と関連していた。この細胞密度低下ならびに胸腺および脾臓重量の減少は，重篤度が低く（軽微～軽度），全体的な免疫系への影響はなかったことから，毒性学的意義は乏しいと判断された。

生後 10 日および 63 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，ほぼ用量比例的に増加したが，例外として生後 63 日の AUC_{24} は用量比を上回って増加した。曝露量は，いずれの用量においても生後 63 日よりも生後 10 日の方が高かった。

すべての用量で骨の剖検所見（大腿骨頭の小型化または変形）および病理組織学的所見（大腿骨頭の形態異常）が認められたため，NOAEL を求めることはできなかった。

8. 局所刺激性試験

アブロシチニブのヒトにおける投与経路は経口投与であることから，局所刺激性試験は実施していない。

9. その他の毒性試験

9.1. 有色ラットを用いた光毒性試験［20052793 試験（[redacted]MA095），概要表 2.6.7.17］

アブロシチニブは UVB および可視光線領域において光を吸収し，Long-Evans 有色ラットのぶどう膜に分布することから，メラニン親和性を有することが確認されている（8385213 試験，CTD 2.6.5.5）。このため，in vivo 光毒性試験を実施し，眼および皮膚に対する光毒性を評価した。雌の Long-Evans 有色ラット（5 例/群）にアブロシチニブを 0（0.5%メチルセルロースおよび 0.1%ポリソルベート 80 含有逆浸透脱イオン水），50，150 または 300 mg/kg の用量で 7 日間 QD 経口投与し，続いて日光のシミュレーションとして，キセノンランプで背部皮膚および眼を紫外線に曝露させた。紫外線照射は UVA 10.3 J/cm^2 および UVB 145 mJ/cm^2 の単回照射とし，アブロシチニブの最終投与後約 150 分に照射した。加えて，雌ラット（5 例）に，アブロシチニブを 300 mg/kg/日の用量で投与し，紫外線照射は行わずに陰性対照群とした。さらに，雌ラット（3 例）に 50 mg/kg/日の 8-MOP を投与し，陽性対照群とした。投与容量はいずれも 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，眼科検査，皮膚反応および病理組織学的検査（眼のみ）を行った。試験 7 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に別のサテライト群の雌ラット（6 例/群）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。

TK 測定用の動物が死亡発見または早期安楽殺された。対照群の 1 例を試験 7 日に死亡発見し，300 mg/kg/日の 2 例を試験 7 日および 8 日に死亡発見した。150 mg/kg/日の 1 例は試験 7 日に早期安楽殺された。これらの死亡はいずれも採血手技に関連したもので，アブロシチニブとの関連はないと考えられた。

いずれの用量においても，アブロシチニブによる皮膚反応は認められなかった。陽性対照群（8-MOP）では，3 例すべてで皮膚の有色部分とアルビノ部分に紅斑や浮腫などの光毒性所見が認められ，本試験の妥当性が確認された。

いずれの用量においても，アブロシチニブに関連する眼科検査所見は認められなかった。8-MOP 群では，3 例すべての両眼にびまん性の角膜浮腫が，2 例では眼窩周囲に浮腫が認められた。これらの所見は眼の光毒性を示しているものと考えられた。

いずれの用量においても，アブロシチニブによる眼の病理組織学的所見は認められなかった。一方， 8-MOP 群では，角膜内皮の消失および角膜実質の中等度の浮腫を伴う角膜の重度の好中球浸潤がすべての眼に認められた。また， 8-MOP 群では，細胞質の空胞化の有無に関わらず，角膜上皮の細胞間浮腫がすべての眼で認められた。これらの重度の角膜変化ならびに陽性対照群の 6 個中 5 個の水晶体で認められた肥厚性病変および変性病変は，8-MOP 投与とその後の紫外線照射によるもので，光毒性と一致すると考えられる。

試験 7 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加に伴い増加した。

以上のように，アブロシチニブを最高 300 mg/kg/日の用量で投与した後に紫外線を単回照射したとき，皮膚または眼に対する光毒性は認められなかった。300 mg/kg/日群の試験 7 日の C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 25700 ng/mL および 390000 ng•h/mL であった。陽性対照物質の 8-MOP では，光毒性の陽性症状が皮膚（紅斑，浮腫）および眼（角膜および眼窩周囲の浮腫）に認められたため，本試験系の妥当性が確認された。本試験でアブロシチニブは光毒性を有さないことが裏付けられたことから，紫外線曝露を避ける予防措置は必要とされない。

9.2. 抗原性試験

アブロシチニブの抗原性試験は実施していない。反復投与毒性試験では，標準的な評価を超えるアブロシチニブの免疫毒性プロファイルの特性解析を実施した（CTD 2.6.6.4）。

9.3. 免疫毒性試験

免疫・リンパ造血系［循環血中のリンパ球，胸腺および脾臓重量，脾臓，胸腺およびリンパ節のリンパ球密度，血清中 IgA，好中球，好酸球および単球，赤血球パラメータまたは骨髄（胸骨）］の変化は，マウスでは 75 mg/kg/日以上，ラットでは 25 mg/kg/日以上，サルでは 15 mg/kg/日以上でみられた。サルの 15 mg/kg/日以上では，KLH に対する TDAR の低下が認められた。

リンパ球・胸腺細胞の成熟および恒常性維持は，JAK 依存性の受容体を介してシグナルを伝達する IL-2，IL-7，IL-15 などのサイトカインに依存しているため[22]，マウス，ラットおよびサルで認められた免疫・リンパ造血系への影響は，JAK シグナル伝達の阻害による薬理作用から予想されたものであった。これらの器官でみられた所見は，感染を併発しなかった用量においては，毒性変化と判断しなかった。しかし，ラット 6 ヵ月間投与試験の 70 mg/kg/日では前立腺にポリオーマウイルス感染がみられ，サル 1 ヵ月間投与試験では 150 mg/kg/日では様々な器官にサイトメガロウイルス感染が認められた。このような感染の存在は，免疫系・リンパ造血系でみられた変化が過度の免疫抑制によることを示しており，これらの感染症がみられた比較的高用量では毒性変化と判断した。ラットおよびサルで認められた所見はすべて 12 週間の休薬期間終了時に完全または部分的な回復が認められた。

アブロシチニブによる免疫系およびリンパ造血系への影響に関する NOAEL は，サルの 9 ヵ月間投与毒性試験では 75 mg/kg/日，ラットの 6 ヵ月間投与毒性試験では 45 mg/kg/日（雄）および 70 mg/kg/日（雌）と考えられた。

免疫系の変化として，ラット（25 mg/kg/日以上）およびサル（15 mg/kg/日以上）で循環血中のリンパ球数の減少が認められた。サル 9 ヵ月間投与試験では，イムノフェノタイピングの結果，15 mg/kg/日以上で末梢血中の NK 細胞数の減少が認められたが，B 細胞数，T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞傷害性 T 細胞数およびメモリーT 細胞数に変化は認められなかった。しかし，サル 1 ヵ月間投与毒性試験の 150 mg/kg/日では，T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞傷害性 T 細胞数，形質細胞数および B 細胞数の減少が認められた。また，サル 9 ヵ月間投与毒性試験では，血清中 IgA の減少（75 mg/kg/日）および TDAR の低下（15 mg/kg/日以上で評価）が認められた。これらの変化は 12 週間の休薬期間終了時に完全または部分的な回復が認められた。

マウス（75 mg/kg/日以上の雄）およびラット［25 mg/kg/日以上（幼若ラットで 5 mg/kg 日以上）］において胸腺または脾臓重量の減少が認められ，サルでは胸腺および脾臓重量の減少が認められた（15 mg/kg/日以上）。これらの所見は，剖検での脾臓（ラットで 30 mg/kg/日以上）および胸腺（ラットで 50 mg/kg/日以上）の小型化，病理組織学的検査でのラット［25 mg/kg/日以上（幼若ラットで 75 mg/kg 日）］，サル（15 mg/kg/日以上）およびマウス（250/150 mg/kg/日）の脾臓または胸腺の軽微から極めて重度のリンパ球密度の低下と関連していた。軽微から重度のリンパ球密度の低下は，腸間膜リンパ節（ラットで 25 mg/kg/日以上，サルで 50 mg/kg/日以上，マウスで 250/150 mg/kg/日），鼠径リンパ節（ラットで 30 mg/kg/日以上），GALT（ラットで 30 mg/kg/日以上，サルで 50 mg/kg/日以上）などのリンパ組織でも観察された。これらの病理組織学的変化はラット（25 mg/kg/日以上）およびサル（15 mg/kg/日以上）の末梢血中のリンパ球数の減少と関連しており，12 週間の休薬期間終了時までに回復した。

サル（15 mg/kg/日以上），ラット（25 mg/kg/日以上），マウス（75 mg/kg/日以上の雌）において，循環血中のリンパ球数の減少が認められた。サル 1 ヵ月間投与試験においてリンパ球のサブセットのイムノフェノタイピングを実施したところ，T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞傷害性 T 細胞数および形質細胞数の減少が確認され（150 mg/kg/日の雌雄），B 細胞数の減少も認められた（150 mg/kg/日の雄のみ）。また，全群の雌雄で NK 細胞数の減少が認められた。これらのリンパ球サブセットの減少は，いずれも試験 8 日と早期から認められた（試験 30 日においてのみ減少がみられた B 細胞を除く）。

ラットでは 6 ヵ月間投与毒性試験の 30 mg/kg/日以上で好中球数が減少したが，1 ヵ月間投与試験では 200 mg/kg/日で好中球増加が， 25 mg/kg/日以上では単球数および好酸球数の減少がみられた。サルでは 150 mg/kg/日の雌雄で単球数の減少が認められた。マウスでは 100/75 mg/kg/日以上で好中球数，好酸球数あるいは単球数の増加が認められた。

ラット（45 mg/kg/日以上），サル（75 mg/kg/日以上）およびマウス（250/150 mg/kg/日）において，赤血球パラメータの低下（赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値）が認められた。さらに，ラットでは 30 mg/kg/日以上で脾臓における髄外造血の亢進が認められた。1 ヵ月間投与試験では網状赤血球数の減少（ラットで 25 mg/kg/日以上，サルで 40 mg/kg/日以上），ラットの 1 ヵ月間および 6 ヵ月間投与試験では血小板数の減少（30 mg/kg/日以上）が認められたが，サルの 9 ヵ月間投与試験では網状赤血球数および血小板数に変化は認められなかった。ラットでは RDW の増加が認められた（30 mg/kg 日以上）。ラットにおける RDW および網状赤血球数の変化は，赤血球パラメータ減少に対する回復過程における生理的反応と考えられた。マウスで認められた軽微な血液学的変化は，250/150 mg/kg/日における MCV および MCH の減少ならびに血小板数の増加であった。

サル 1 ヵ月間投与試験の 40 mg/kg/日以上ですべての骨髄細胞系（赤血球前駆細胞，顆粒球系前駆細胞および巨核球）を含む骨髄（胸骨）の細胞密度の軽微から中等度の低下が認められた。骨髄細胞はいずれも正常に成熟していると考えられた。影響がみられた骨髄試料では脂肪細胞の割合が高く，代わりに造血前駆細胞の減少が認められた。いずれの骨髄細胞の病理組織学的所見にも炎症，壊死または出血はみられなかった。骨髄の細胞密度低下は，1 ヵ月間投与試験の雄で認められた網状赤血球数の減少（150 mg/kg/日）および赤血球パラメータの軽度の減少（80 mg/kg/日以上）と関連していた。1 ヵ月間投与試験では循環血中の赤血球，白血球および血小板に重度または極めて重度の減少がみられなかったため，骨髄の所見は毒性とはみなさなかった。ラット 6 ヵ月間投与試験およびサル 9 ヵ月間投与試験では赤血球パラメータに減少がみられたが，これらの試験では骨髄の病理組織学的所見は認められなかった。

細胞免疫機能の in vitro 試験成績を以下に記載する。

9.3.1. ヒト細胞免疫機能試験［アブロシチニブとトファシチニブの比較］（[redacted]GR190 試験，概要表 2.6.7.17）

In vitro 免疫毒性試験で，アブロシチニブの阻害作用を JAK1/JAK3 阻害薬のトファシチニブと比較した。この試験ではヒト細胞免疫機能の in vitro アッセイを用いて，サイトカイン依存性およびサイトカイン非依存性パラメータにアブロシチニブが特有の作用またはトファシチニブと異なる作用を示すかどうか評価した。

細胞免疫機能のサイトカイン依存性およびサイトカイン非依存性パラメータを表す一連のヒト in vitro 試験において，アブロシチニブの阻害作用をトファシチニブの阻害作用と直接比較した。NK 細胞の機能を，K562 赤白血病細胞の殺活性の測定によって評価した。細胞溶解性 T 細胞の機能を，CD3/CD28 共刺激シグナルによって活性化した CD8+ T 細胞における脱顆粒および細胞内 IFN-γの蓄積により評価した。サイトカイン産生を，ヒトサイトメガロウイルスまたは水痘・帯状疱疹ウイルスの抗原特異的 T 細胞活性化後の応答性ドナーの PBMC からの IFN-γの産生として測定した。ヒト PBMC またはヒト皮膚線維芽細胞の IFN 応答を，それぞれ IP-10 の分泌または単純ヘルペスウイルス-1 の複製の測定によって評価した。いずれのアッセイにおいても，アブロシチニブおよびトファシチニブの IC_{50} 値は，同一の試験および可能な場合は同一のドナーにおける評価により算出した。アブロシチニブおよびトファシチニブを最高 30 µmol/L の濃度で試験した。

アブロシチニブもトファシチニブも臨床想定濃度では NK 細胞の殺活性および細胞溶解性 T 細胞の機能パラメータを阻害せず，IC_{50} はそれぞれ 10 µmol/L 超でおよび 20 µmol/L 超であった。

アブロシチニブはサイトメガロウイルスおよび水痘・帯状疱疹ウイルス抗原刺激による IFN-γ産生を阻害し，IC_{50} はそれぞれ 0.164 µmol/L および 0.214 µmol/L であった。これは，他の JAK 依存性細胞アッセイで報告されている IC_{50} と一致していた（PF-04965842_[redacted]_083613 試験）。同様に，トファシチニブの活性もこれまでに報告されている細胞での JAK 阻害作用と一致しており[23]，サイトメガロウイルスおよび水痘・帯状疱疹ウイルスでの IC_{50} はそれぞれ 0.022 µmol/L および 0.010 µmol/L であった。なお，アブロシチニブとトファシチニブの効力に差があったが，アブロシチニブとトファシチニブのいずれについても，2 種類のウイルス抗原に対する IC_{50} は同程度であった。

アブロシチニブは IFN-α刺激による IP-10 産生を阻害し，IC_{50} は 0.292 μmol/L であった。これは，細胞での IFN-αによる STAT3 リン酸化における IC_{50} と一致した（PF-04965842_13Nov12_083613 試験）。同様に，トファシチニブも IFN-α刺激による IP-10 産生を阻害し，IC_{50} は 0.064 μmol/L であった。これも，これまでに報告されている細胞での IFN-αに対する IC_{50} と一致した [23]。IFN-γ 刺激による IP-10 産生に対するアブロシチニブおよびトファシチニブの阻害における IC_{50} はそれぞれ 1.060 μmol/L および 0.410 μmol/L であり，IFN-α刺激を受けた PBMC における IC_{50} 値よりも 3.6 倍および 6.4 倍高かった。IFN-γの阻害に関する IC_{50} も，IFN-γによる STAT1 リン酸化を測定するアッセイで報告されている値よりも高かった（PF-04965842_13Nov12_083613 試験， Meyer et al, 2010）。I 型 IFN（IFN-α/IFN-β）および II 型 IFN（IFN-γ）のシグナル伝達には，いずれも部分的には JAK1 が媒介しているが，これらのアッセイにおける IFN-αおよび IFN-γの阻害に関する IC_{50} 値の差は，反応する細胞の違いまたは IP-10 応答の媒介に関与する下流の STAT シグナルの違いを反映している可能性がある。なお，アブロシチニブおよびトファシチニブはいずれも未刺激の PBMC において検出される濃度より低い濃度で IP-10 産生を阻害したことから，これらのアッセイで測定された応答の一部は内因性 IFN の産生に起因する可能性が示唆された。

IFN-β活性の阻害に関する IC_{50} は，アブロシチニブで 0.380 μmol/L，トファシチニブで 0.121 μmol/L であった。全体として，アブロシチニブおよびトファシチニブのいずれに関しても阻害活性は IFN-αによる IP-10 産生に対して認められた阻害活性と同程度であり，IC_{50} 値がわずかに高いのは応答する細胞の違いを反映している可能性があった。なお，本アッセイにおいて，アブロシチニブもトファシチニブも対照での IFN-βの反応の約 30%で最大の阻害に達したことから，線維芽細胞では I 型 IFN シグナル伝達の一部が JAK1 阻害による影響を受けないことが示唆された。

以上のように，NK 細胞の殺活性の測定および CD8+ T 細胞を用いた細胞溶解性 T 細胞機能の評価において，アブロシチニブおよびトファシチニブはいずれも臨床想定濃度で阻害作用を示さなかった。一方，アブロシチニブおよびトファシチニブはいずれも，ウイルス抗原特異的 T 細胞活性化後の PBMC からの IFN-γ 産生を臨床想定濃度で阻害し，これはこの応答がサイトカイン依存的に生じることと一致していた。ヒト PBMC またはヒト皮膚線維芽細胞を用いた I 型または II 型 IFN 応答の評価系においても，同様の作用が認められた。これらの in vitro 試験成績から，アブロシチニブはヒト細胞免疫機能に対して予期しない作用を示さないことが示された。

9.4. 機序に関する試験

アブロシチニブの毒性発現機序に関する試験は実施していない[24]。

9.5. 依存性試験

アブロシチニブの各種試験の総合的成績からは乱用の可能性は示唆されていないため，依存性試験は実施していない [24]。主な作用機序は既知の乱用とは関連しておらず，乱用の可能性を示唆する副次的な薬理活性もない。さらに，アブロシチニブは P-gP および BCRP の基質であり，ラットを用いた組織分布試験でも脳への分布はわずかであった（8385213 試験，CTD 2.6.5.5）。

9.6. 代謝物に関する試験

9.6.1. PF-06471658，PF-07054874 および PF-07055087 の Nav1.5 チャネルおよび Cav1.2 チャネルに対する阻害作用（[redacted]LJ058 試験，[redacted]LJ059 試験および[redacted]LJ060 試験，概要表 2.6.7.17）

ヒト循環血中のアブロシチニブの代謝物である PF-06471658（M1），PF-07055087（M2）および PF-07054874（M4）の Nav1.5 ナトリウムチャネル（ピーク電流）および Cav1.2 カルシウムチャネルに対する阻害作用を，0.001，0.01，0.1，1，10 および 100 µmol/L の濃度で評価した（GLP 非適用）。チャイニーズハムスター卵巣由来細胞（CHO 細胞）に発現させた Nav1.5 チャネル（ヒト SCN5A 遺伝子）および Cav1.2 チャネル（ヒト CACNA1C 遺伝子）からの電流を記録するため，パッチクランプ法を用いた。

PF-06471658 による Nav1.5 のピーク電流に対する阻害率は，0.001，0.01，0.1，1，10 および 100 µmol/L の濃度でそれぞれ-2.2%，-3.3%，-4.2%，-2.0%，-0.8%および 1.6%であり，IC_{50} はいずれも 100 µmol/L 超であった。Cav1.2 電流に対する阻害率は，0.001，0.01，0.1，1，10 および 100 µmol/L の濃度でそれぞれ 0.8%，3.2%，5.3%，7.6%，10.5%および 14.9%であり，IC_{50} はいずれも 100 µmol/L 超であった。

PF-07054874 による Nav1.5 のピーク電流に対する阻害率は，0.001，0.01，0.1，1，10 および 100 µmol/L の濃度でそれぞれ-0.2%，0.0%，1.7%，2.5%，3.7%および 6.0%であり，IC_{50} はいずれも 100 µmol/L 超であった。Cav1.2 電流に対する阻害率は，0.001，0.01，0.1，1，10 および 100 µmol/L の濃度でそれぞれ-1.8%，-0.9%，1.2%，5.1%，5.3%および 6.2%であり，IC_{50} はいずれも 100 µmol/L 超であった。

PF-07055087 による Nav1.5 のピーク電流に対する阻害率は，0.001，0.01，0.1，1，10 および 100 µmol/L の濃度でそれぞれ 1.5%，0.0%，0.3%，3.0%，5.4%および 8.3%であり，IC_{50} はいずれも 100 µmol/L 超であった。Cav1.2 電流に対する阻害率は，0.001，0.01，0.1，1，10 および 100 µmol/L の濃度でそれぞれ 0.2%，-0.3%，1.8%，5.9%，7.4%および 10.7%であり，IC_{50} はいずれも 100 µmol/L 超であった。

以上のように，Nav1.5（ピーク電流）ナトリウム電流および Cav1.2 カルシウム電流のいずれの阻害に関しても，アブロシチニブの 3 種類の代謝物である PF-06471658，PF-07054874 および PF-07055087 の IC_{50} は 100 µmol/L 超であった

9.6.2. PF-06471658，PF-07054874 および PF-07055087 の hERG チャネル阻害試験［[redacted]0403.QHJ 試験（[redacted]LJ049），[redacted]0404.QHJ 試験（[redacted]LJ048）および[redacted]0405.QHJ 試験（[redacted]LJ051），概要表 2.6.7.17］

アブロシチニブの代謝物である PF-06471658（M1），PF-07055087（M2）および PF-07054874（M4）の hERG カリウムチャネルに対する阻害作用を，30 µmol/L および 300 µmol/L（PF-06471658 および PF-07055087）ならびに 30，100 および 300 µmol/L（PF-07054874）の濃度で評価した。hERG チャネル電流に対する代謝物の影響の濃度反応関係を，hERG 遺伝子を発現させた HEK293 細胞を用い，生理的温度に近い温度でパッチクランプ法を用いて評価した。

PF-06471658 による hERG 電流の阻害率は，30 µmol/L および 300 µmol/L の濃度でそれぞれ 1.9%および 3.6%であり，溶媒対照（0.6%）と比較して統計学的な有意差はみられなかった（IC_{50}：300 µmol/L 超）。

PF-07054874 による hERG 電流の阻害率は，30，100 および 300 µmol/L の濃度でそれぞれ 3.5%，11.9%および 31.3%であり，100 µmol/L 以上では溶媒対照（1.4%）と比較して統計学的な有意差が認められた（IC_{50}：300 µmol/L 超）。

PF-07055087 による hERG 電流の阻害率は，30 および 300 µmol/L の濃度でそれぞれ 0.8%および 8.2%であり，300 µmol/L では溶媒対照（1.4%）と比較して統計学的な有意差が認められた（IC_{50}：300 µmol/L 超）。

以上のように，アブロシチニブの 3 種類の代謝物である PF-06471658，PF-07054874 および PF-07055087 による hERG 電流に対する IC_{50} はいずれも 300 µmol/L 超であった。

9.6.3. ラットを用いた各種毒性試験におけるヒト主代謝物の曝露量

ICH M3(R2)「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンスについて」では，代謝物の安全性評価の必要性について，「ヒトでみられた代謝物を非臨床試験で特徴づける必要があるのは、その代謝物の臨床での暴露量が、投与薬物に関連する総ての物質の暴露量の 10%を超え、かつ、ヒトにおける暴露量が毒性試験での最大暴露量よりも明らかに高い場合のみである」とされており，本ガイダンスの Q&A において，「動物での暴露量がヒトでみられた暴露量の少なくとも 50%以上あれば、一般に、代謝物の毒性の特徴づけは十分になされていると考えられる」と記されている（CTD 2.6.4.5.3.2.）。PF-06471658（M1），PF-07055087（M2）および PF-07054874（M4）は，ヒト血中の主代謝物[a]（そのうち PF-06471658，PF-07055087 は JAK 阻害活性を有する活性代謝物）であり，特にヒトにアブロシチニブを反復経口投与したときの定常状態においては，PF-07055087 および PF-07054874 がヒト血中にみられる本薬に関連する総ての物質の 10%を超える代謝物である（CTD 2.6.4.5.3）。そこで，ラットを用いた 5 日間反復投与薬物動態試験（CTD 2.6.4.3.2.1.2，報告書番号 8439720）を実施し，この試験で得られた本薬および主代謝物の曝露量に基づき，ラットを用いた一連の毒性試験における PF-07055087 および PF-07054874 のヒト曝露量に対する曝露量比を推定した（Table 5）。曝露量比は，ラットを用いた毒性試験における AUC_{24} と，ヒトにアブロシチニブ 200 mg を反復投与したときの定常状態における未変化体，PF-07055087 および PF-07054874 の AUC_{24}（CTD 2.6.4.5.3.1，B7451043 試験）を用いて算出した。

ICH M3(R2)の Q&A において，「一般毒性試験、がん原性試験（がん原性評価が必要な場合、ただし、がん原性評価が必要でない場合には in vivo の小核試験）及び胚／胎児発生毒性試験におい

[a] 健康被験者にアブロシチニブ 200 mg を 1 日 1 回反復経口投与したとき（B7451043 試験）の定常状態における未変化体，PF-06471658，PF-07055087 および PF-07054874 の総曝露量に対する PF-06471658，PF-07055087 および PF-07054874 の推定割合（%）は，それぞれ 9.6%，11%および 24%であった（CTD 2.6.4.5.3.1，Table 8）。

て、いずれも 1 種の動物種で、代謝物に対する十分な暴露が得られることが重要である。」との記載がある。ラットを用いた反復投与毒性試験，in vivo 小核試験，がん原性試験および生殖発生毒性試験における最高用量では，がん原性試験における雌を除き，すべての PF-07055087 および PF-07054874 の AUC 比が 0.5 倍を上回っていた（Table 5）。ラットを用いた 104 週間がん原性試験の雌 30 mg/kg/日における PF-07055087 の曝露量比は 0.28 であったが，雄 30 mg/kg/日における PF-07055087 の曝露量比は 0.90 であった（報告書番号 8373335）。104 週間がん原性試験では，雌と比較して雄で高い PF-07055087 曝露量が認められたが，雄でアブロシチニブ投与に関連したがん原性は認められなかった。さらに，in vivo ラット小核試験において，PF-07055087 および PF-07054874 の遺伝毒性は，それぞれ雄で 18 倍および 60 倍，ならびに雌で 5.6 倍および 81 倍まで評価されている（報告書番号 WIL-655033）。このように，104 週間がん原性試験および in vivo 小核試験結果を踏まえ，PF-07055087 のがん原性は評価可能と考えた。

以上，アブロシチニブのヒト血漿中の主代謝物はラット血漿中にも十分量存在しており，アブロシチニブのヒト血中の主代謝物 PF-07055087 および PF-07054874 の全身毒性，遺伝毒性および生殖発生毒性に関する評価は，ラットの反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験ならびにがん原性試験において適切に実施されていると考えた。

Table 5.　ラットを用いた毒性試験におけるアブロシチニブ, PF-07055087 および PF-07054874 のヒト曝露量に対する曝露量比

投与量 (mg/kg/日) / 性	アブロシチニブ		PF-07055087		PF-07054874	
	AUC_{24} (ng•h/mL)	曝露量比	AUC_{24} (ng•h/mL)	曝露量比	AUC_{24} (ng•h/mL)	曝露量比
ヒト（B7451043 試験）						
200 mg	4750	--	1020	--	2170	--
ラットを用いた 5 日間反復投与薬物動態試験（報告書番号 8439720）						
45 雄	48500	10	1370	1.3	9720	4.5
70 雌	164000	35	662	0.65	20500	9.4
ラットを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験（報告書番号 [redacted]GR318）						
25 雄	19600	4.1	--	0.75	--	2.5
75 雄	124000	26	--	2.2	--	7.5
200 雄	236000	50	--	6.0	--	20
25 雌	36300	7.6	--	0.23	--	3.4
75 雌	135000	28	--	0.70	--	10
200 雌	305000	64	--	1.9	--	27
ラットを用いた 6 ヵ月間反復投与毒性試験（報告書番号 8289422）						
30 雄	59700	13	--	0.90	--	3.0
45 雄	95600	20	--	1.3	--	4.5
70 雄	142000	30	--	2.1	--	7.0
30 雌	64500	14	--	0.28	--	4.0
45 雌	102000	21	--	0.42	--	6.1
70 雌	191000	40	--	0.65	--	9.4
In vivor ラット小核試験（報告書番号 WIL-655033）						
100 雄	106000	22	--	3.0	--	10
300 雄	354000	75	--	9.0	--	30
600 雄	649000	137	--	18	--	60
100 雌	NA	--	--	0.93[a]	--	13[a]
300 雌	NA	--	--	2.8[a]	--	40[a]
600 雌	NA	--	--	5.6[a]	--	81[a]

Table 5.　ラットを用いた毒性試験におけるアブロシチニブ，PF-07055087 および PF-07054874 のヒト曝露量に対する曝露量比

投与量 (mg/kg/日) / 性	アブロシチニブ		PF-07055087		PF-07054874	
	AUC_{24} (ng•h/mL)	曝露量比	AUC_{24} (ng•h/mL)	曝露量比	AUC_{24} (ng•h/mL)	曝露量比
ラットを用いた 104 週間がん原性試験（報告書番号 8373335）						
3 雄	2560	0.54	--	0.09	--	0.30
10 雄	15100	3.2	--	0.30	--	1.0
30 雄	75100	16	--	0.90	--	3.0
3 雌	3750	0.79	--	0.03	--	0.40
10 雌	15300	3.2	--	0.09	--	1.3
30 雌	76900	16	--	0.28	--	4.0
ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験（報告書番号 [redacted]GR261）						
3 雌	3320	0.70	--	0.03	--	0.40
10 雌	11000	2.3	--	0.09	--	1.3
70 雌	157000	33	--	0.65	--	9.4
ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（報告書番号 20055528）						
10 雌	12900	2.7	--	0.09	--	1.3
30 雌	58300	12	--	0.28	--	4.0
60 雌	90000	19	--	0.56	--	8.1
有色ラットを用いた光毒性試験（報告書番号 20052793）						
50 雌	57300	12	--	0.46	--	6.7
150 雌	176000	37	--	1.4	--	20
300 雌	390000	82	--	2.8	--	40

非結合型分率はラット（0.38）とヒト（0.36）で同程度であったことから（CTD 2.6.4.4.3），総濃度に基づきラットとヒトの曝露量比を算出した。
a. In vivo ラット小核試験（報告書番号 WIL-655033）における雌ラットの曝露量比は，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（報告書番号 20055528）の雌の曝露量から推定した。

9.7. 不純物に関する試験

9.7.1. PF-01323624 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171491 試験，概要表 2.6.7.17）

アブロシチニブの不純物である PF-01323624 について，*Salmonella typhimurium*（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 誘導ラット肝 S9）の存在下および非存在下で復帰突然変異誘発性の有無を検討した。1.7～5000 µg/プレートの濃度となるように PF-01323624 を DMSO で調製し，直接プレート法（初回本試験）およびプレインキュベーション法（2 回目本試験）で実施した。

用量設定試験では TA 100 および WP2 uvrA を用い，PF-01323624 を 5000 µg/プレートまでの濃度で直接プレート法により試験した。この濃度では，プレート上で PF-01323624 の析出は認められなかった。細胞毒性（復帰突然変異コロニー数の減少）が代謝活性化系の存在下および非存在下の TA 100 で認められた。WP2 uvrA では，試験したいずれの濃度においても細胞毒性は認められなかった。この用量設定試験の結果は，初回本試験の一環として実施した。

初回本試験では，TA 98，TA 100，TA 1535 および TA 1537 を用い，PF-01323624 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。この濃度では PF-01323624 の析出は認められなかった。細胞毒性は代謝活性化系非存在下の TA 1537 ならびに代謝活性化系存在下および非存在下の TA 98 において

認められた。2 回目本試験では，TA 98，TA 100，TA 1535 および TA 1537 ならびに WP2 uvrA を用い，PF-01323624 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。最高濃度である 5000 µg/プレートでは，PF-01323624 の析出が認められた。細胞毒性は，代謝活性化系存在下の TA 1535 ならびに代謝活性化系存在下および非存在下の WP2 uvrA を除き，代謝活性化系存在下および非存在下のすべての菌株で認められた。

陰性対照および陽性対照では適切な反応が得られたため，試験条件および代謝活性化系が適切であったことが確認された。

PF-01323624 は代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれにおいても，用いた全ての菌株において復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上のように，PF-01323624 は，*Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。

9.7.2. PF-03817968-09 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171440 試験，概要表 2.6.7.17）

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，アブロシチニブの不純物である PF-03817968-09（リン酸塩）の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。1.7～5000 µg/プレートの濃度となるように PF-03817968-09 を DMSO で調製し，直接プレート法（初回本試験）およびプレインキュベーション法（2 回目本試験）で実施した。

用量設定試験では TA 100 および WP2 uvrA を用い, PF-03817968-09 を最高 5000 µg/プレートの濃度で直接プレート法により試験した。初回本試験では，TA 98，TA 1535 および TA 1537 を用い，PF-03817968-09 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。2 回目本試験では，TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537 および WP2 uvrA を用い，PF-03817968-09 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。3 回の試験のいずれにおいても，PF-03817968-09 の析出は認められなかった。また，試験したいずれの濃度においても背景細菌叢の減少は認められなかった。代謝活性化系非存在下の TA 98，TA 100，TA 1535 および TA 1537 で細胞毒性（背景細菌叢の減少）が認められた 2 回目本試験を除き，復帰突然変異コロニー数の減少は認められなかった。

陰性対照および陽性対照の値は，試験施設の背景データの範囲内であったことから，試験条件および代謝活性化系が適切であったことが確認された。

PF-03817968-09 は代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれにおいても，用いた全ての菌株において復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上のように，PF-03817968-09 は，*Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。

9.7.3. PF-06238566 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171525 試験，概要表 2.6.7.17）

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，アブロシチニブの不純物である PF-06238566 の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。1.7～5000 µg/プ

レートの濃度となるように PF-06238566 を DMSO で調製し，直接プレート法（初回本試験）およびプレインキュベーション法（2 回目本試験）で実施した。

用量設定試験では，TA 100 および WP2 uvrA を用い，PF-06238566 を最高 5000 µg/プレートの濃度で直接プレート法により試験した。初回本試験では，TA 98，TA 1535 および TA 1537 を用い，PF-06238566 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。2 回目本試験では，TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537 および WP2 uvrA を用い，PF-06238566 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。3 回の試験のいずれにおいても，PF-06238566 の析出は認められなかった。また，試験したいずれの濃度においても背景細菌叢の減少は認められなかった。1 回目および 2 回目の本試験において，検討した最高濃度で細胞毒性が認められた代謝活性化系非存在下の TA 98 を除き，復帰突然変異コロニー数の減少は認められなかった。

陰性対照および陽性対照の値は，試験施設の背景データの範囲内であったことから，試験条件および代謝活性化系が適切であったことが確認された。

PF-06238566 は代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれにおいても，用いた全ての菌株において復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上のように，PF-06238566 は，*Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。

9.7.4. PF-07085579 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171473 試験，概要表 2.6.7.17）

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，アブロシチニブの不純物である PF-07085579 の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。1.7～5000 µg/プレートの濃度となるように PF-07085579 を DMSO で調製し，直接プレート法（初回本試験）およびプレインキュベーション法（2 回目本試験）で実施した。

用量設定試験では，TA 100 および WP2 uvrA を用い，PF-07085579 を最高 5000 µg/プレートの濃度で直接プレート法により試験した。5000 µg/プレートでは PF-07085579 の析出が認められた。試験したいずれの濃度においても背景細菌叢の減少は認められず，復帰突然変異コロニー数の減少も認められなかった。この用量設定試験の結果は，初回本試験の一環として実施した。

初回本試験では，TA 98，TA 1535 および TA 1537 を用い，PF-07085579 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。5000 µg/プレートの濃度で PF-07085579 の析出が認められた。試験したいずれの濃度においても背景細菌叢の減少は認められず，復帰突然変異コロニー数の減少も認められなかった。

2 回目本試験では，TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537 および WP2 uvrA を用い，PF-07085579 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。TA 100，TA 1537 および WP2 uvrA は 5000 µg/プレートの濃度で析出が認められたが，それ以外の菌株では 1600 および 5000 µg/プレートの濃度で析出が認められた。試験したいずれの濃度においても背景細菌叢の減少は認められず，復帰突然変異コロニー数の減少も認められなかった。WP2 uvrA の陽性対照物質では背景細菌叢の減少（細胞毒性）を示したが，復帰突然変異コロニー数は背景データの範囲内であったことから，試験の信頼性に影響しないと考えられた。

陰性対照および陽性対照の値は，試験施設の背景データの範囲内であったことから，試験条件および代謝活性化系が適切であったことが確認された。

3 種類の菌株（TA 98，TA 100 および TA 1537）を用いたプレインキュベーション法の試験でのみ，代謝活性化系の存在下および非存在下で復帰突然変異コロニー数の増加がみられた。

TA 100 および TA 1537 における 1600 µg/プレートでの増加は試験施設の背景データの範囲を超えており，対照群と比較して代謝活性化系の非存在下でそれぞれ 3.4 倍および 3.5 倍，代謝活性化系の存在下でそれぞれ 2.1 倍および 9.8 倍であった。TA98 における 1600 µg/プレートでの増加は背景データの範囲を超えておらず，対照群と比較して代謝活性化系の非存在下で 3.1 倍，代謝活性化系の存在下で 2.4 倍であった。

代謝活性化系の存在下および非存在下の両方において 3 種類の菌株で 2.1～9.8 倍の増加が認められたため，これらの増加は PF-07085579 に関連したものと考えられた。PF-07085579 は代謝活性化系の存在下および非存在下で変異原性を示した。その他の菌株では，復帰突然変異コロニー数の増加はみられなかった。

PF-07085579 は，*Salmonella typhimurium* を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示したが，*Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験では変異原性を示さなかった。変異原性が示されたのは，プレインキュベーションを含むインキュベーションによってのみであった。

9.7.5. PF-07094402 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171457 試験，概要表 2.6.7.17）

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，アブロシチニブの不純物である PF-07094402 の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。1.7～5000 µg/プレートの濃度となるように PF-07094402 を DMSO で調製し，直接プレート法（初回本試験）およびプレインキュベーション法（2 回目本試験）で実施した。

用量設定試験では，TA 100 および WP2 uvrA を用い，PF-07094402 を最高 5000 µg/プレートの濃度で直接プレート法により試験した。代謝活性化系非存在下の 1600 µg/プレートおよび 5000 µg/プレートでは，両菌株において細胞毒性（背景細菌叢の減少）が認められた。この用量設定試験の結果は，初回本試験の一環として実施した。

初回本試験では，TA 98，TA 1535 および TA 1537 を用い，PF-07094402 を最高 5000 µg/プレートまでの濃度で実施した。代謝活性化系非存在下の 2000 µg/プレートでは PF-07094402 の析出が認められた。試験した最高濃度における代謝活性化系存在下の TA 1537 でのみ細胞毒性が認められた。

2 回目本試験では，TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537 および WP2 uvrA を用い，PF-07094402 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。代謝活性化系非存在下の 1000 µg/プレートおよび 5000 µg/プレートでは，PF-07094402 の析出が認められた。細胞毒性は代謝活性化系存在下の TA 1537 でのみ認められた。代謝活性化系非存在下の TA 100，TA 1535，TA 1537 および WP2 uvrA では，5000 µg/プレートにおいて PF-07094402 の顕著な析出が認められたため，この濃度では復帰突然変異コロニーを計数できなかった。

陰性対照および陽性対照の値は，試験施設の背景データの範囲内であったことから，試験条件および代謝活性化系が適切であったことが確認された。

PF-07094402 は代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれにおいても，5 種類の菌株（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537 または WP2 uvrA）において復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上のように，PF-07094402 は，*Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。

9.7.6. PF-07097547-24 の細菌を用いた復帰突然変異試験（20171507 試験，概要表 2.6.7.17）

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，アブロシチニブの不純物である PF-07097547-24（コハク酸塩）の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。1.7～5000 µg/プレートの濃度となるように PF-07097547-24 を DMSO で調製し，直接プレート法（初回本試験）およびプレインキュベーション法（2 回目本試験）で実施した。

用量設定試験では，TA 100 および WP2 uvrA を用い，PF-07097547-24 を最高 5000 µg/プレートの濃度で直接プレート法により試験した。この用量設定試験の結果は，初回本試験の一環として実施した。初回本試験では，TA 98，TA 1535 および TA 1537 を用い，PF-07097547-24 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。2 回目本試験では，TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537 および WP2 uvrA を用い，PF-07097547-24 を最高 5000 µg/プレートの濃度で実施した。これら 3 回の試験のいずれにおいても， PF-07097547-24 の析出は認められなかった。試験したいずれの濃度においても，背景細菌叢の減少は認められず，復帰突然変異コロニー数の減少も認められなかった。

2 回目本試験において，陽性対照が代謝活性化系非存在下の WP2 uvrA で細胞毒性（背景細菌叢の減少）を示したため，当該菌株を用いて追加試験を実施した。追加試験では WP2 uvrA を用い，代謝活性化系非存在下で PF-07097547-24 を最高 5000 µg/プレートの濃度でプレインキュベーション法により実施した。この濃度では PF-07097547-24 の析出は認められなかった。試験したいずれの濃度においても背景細菌叢の減少は認められず，復帰突然変異コロニー数の減少も認められなかった。また，陽性対照は細胞毒性（背景細菌叢の減少）を示した。

陰性対照および陽性対照では適切な反応が得られたため，試験条件および代謝活性化系が適切であったことが確認された。

陽性対照は WP2 uvrA を用いた 2 回のプレインキュベーション法によるアッセイで細胞毒性を示したが，復帰突然変異コロニー数は背景データの範囲内であり，背景細菌叢の減少は試験の信頼性に影響しないと考えられた。

PF-07097547-24 は代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれにおいても，5 種類の菌株（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537 または WP2 uvrA）において復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上のように，PF-07097547-24 は *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。

9.7.7. PF-07297478 の細菌を用いた復帰突然変異試験（[redacted]GR050 試験，概要表 2.6.7.17）

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，アブロシチニブの不純物である PF-07297478 の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。313～5000 µg/プレートの濃度となるように PF-07097547-24 を DMSO で調製し，プレート法で実施した。

確認試験でのすべての菌株に対する陰性対照の値は背景データの範囲内にあり，陽性対照では適切な反応が得られた。

PF-07297478 は代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれにおいても，TA 1537 では 2500 µg/プレート以上の濃度で，TA 98 および TA 100 では試験した最高濃度（5000 µg/プレート）で細胞毒性が認められた。代謝活性化系の有無にかかわらず，TA 1535 および *E. coli* では細胞毒性は認められなかった。いずれの処理でも，復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同程度であり，用量反応性もみられなかった。

以上のように，PF-07297478 は *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。

9.7.8. PF-07275639 の細菌を用いた復帰突然変異試験（[redacted]GR051 試験，概要表 2.6.7.17）

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，アブロシチニブの不純物である PF-07275639 の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。313～5000 µg/プレートの濃度となるように PF-07275639 を DMSO で調製し，プレート法で実施した。37°C で培養したときに被験物質は溶解した。

確認試験でのすべての菌株に対する陰性対照の値は背景データの範囲内にあり，陽性対照では適切な反応が得られた。

PF-07275639 は代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれにおいても，TA 100 では 1250 µg/プレート以上，TA 1537 では 2500 µg/プレート以上，TA 98 では 5000 µg/プレートで細胞毒性が認められた。また，TA 1535 では代謝活性化系非存在下の 5000 µg/プレートの用量で細胞毒性が認められた。*E. coli* では代謝活性化系の有無にかかわらず，細胞毒性は認められなかった。

代謝活性化系の存在下および非存在下での復帰突然変異コロニー数には用量反応性がみられ，復帰突然変異コロニー数の増加は TA 1535（最大 119.4 倍），TA 98（最大 2.4 倍），TA 100（最大 11.0 倍）および *E. coli*（最大 6.2 倍）であった。TA 1537 の復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同程度であり，用量反応性もみられなかった。以上のように，PF-07275639 は変異原性を示した。

9.7.9. PF-07103166 の細菌を用いた復帰突然変異試験（[redacted]GR278 試験，概要表 2.6.7.17）

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，アブロ

シチニブの不純物である PF-07103166 の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。15～5000 µg/プレートの濃度となるように PF-07103166 を DMSO で調製した。

500 µg/プレート以上の濃度で PF-07103166 の析出が認められた。細胞毒性は，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても認められなかった。PF-07103166 の復帰突然変異コロニー数は，すべての条件下で陰性対照と同程度であった。

確認試験でのすべての菌株に対する陰性対照の値は背景データの範囲内にあり，陽性対照では適切な反応が得られた。

以上のように，最高用量を溶解性の限界としたとき，PF-07103166 は代謝活性化の有無にかかわらずいずれの菌株においても復帰突然変異を誘発しなかった。

9.7.10. PF-07216658 の細菌を用いた復帰突然変異試験（[redacted]GR277 試験，概要表 2.6.7.17）

Salmonella typhimurium（TA 98，TA 100，TA 1535，TA 1537）および *Escherichia coli*（WP2 uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，アブロシチニブの不純物である PF-07216658 の復帰突然変異誘発性の有無を検討した。15～5240 µg /プレートの濃度となるように PF-07216658 を DMSO で調製した。

確認試験でのすべての菌株に対する陰性対照の値は背景データの範囲内にあり，陽性対照では適切な反応が得られた。

最初の試験（試験 1）では，*Salmonella* および *E. coli* を用い，代謝活性化系の存在下および非存在下で 15，50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートで実施した。5000 µg/プレートでは PF-07216658 の析出が認められた。代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれにおいても，細胞毒性が TA 100 の 5000 µg/プレートで認められた。代謝活性化系の存在下での TA 1535 の復帰突然変異コロニー数が用量依存的に増加した（最大 3.7 倍）が，陰性対照の値（8.7）が背景データ（8～37）の下限にあり反応が弱かったことから，この菌株での試験を再度実施した。その他の菌株の復帰突然変異コロニー数は陰性対照と同程度であり，用量反応性も認められなかった。

2 回目の試験（試験 2）では，同一ロットの被験物質を用い，TA 1535 について代謝活性化系の存在下で 250，750，1500，3000 および 5000 µg/プレートの濃度で実施した。3000 µg/プレート以上の濃度で PF-07216658 の析出が認められた。細胞毒性は認められなかった。復帰突然変異コロニー数がわずかに増加した（最大 2.7 倍）。

3 回目の試験（試験 3）では，純度の高い別ロットの被験物質を用いた。TA 1535 について代謝活性化系の存在下で 262，790，1570，3140 および 5240 µg/プレートの濃度で実施した。3140 µg/プレート以上では PF-07216658 の析出が認められた。細胞毒性は認められなかった。復帰突然変異体コロニー数は，用量依存的にわずかに増加した（最大 3.1 倍）。以上のように，代謝活性化存在下の TA 1535 で認められた復帰突然変異体コロニー数の増加は，程度は軽いものの異なる 2 ロットで再現性がみられた。

9.7.11. C57BL/6 マウスを用いた PF-07216658 の 5 日間経口投与試験［AF66CZ.DRF1NGLP.BTL 試験（[redacted]GR077），概要表 2.6.7.17］

アブロシチニブの不純物である PF-07216658 の忍容性，MTD および投与可能な最大用量を検討し，Tg Big Blue®マウスを用いた試験での用量を設定するため，本試験を実施した。雌雄 C57BL/6 野生型マウス（5 例/性/群）に PF-07216658 を 0［0.5%（w/v）メチルセルロースおよび 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有脱イオン水］，300，600 また 1000 mg/kg/日の用量で，5 日間 QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察および体重測定を行った。試験 5 日の投与後 0.5，2，6 および 24 時間に全動物から採血し，血漿中 PF-07216658 濃度を測定した。

1000 mg/kg/日では，円背位，被毛の乱れ/立毛が認められた。600 mg/kg/日の雄 1 例においても被毛の乱れが認められた。体重増加量の減少が 300 mg/kg/日群の雄および雌（それぞれ 0.7%および 1.4%）および 1000 mg/kg/日の雄（8.4%）で，体重減少が 600 mg/kg/日の雌（3.5%）および 1000 mg/kg/日の雌（11.7%）でみられた。

試験 5 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，用量にほぼ比例して増加し，性差は認められなかった。

1000 mg/kg/日で一般状態の変化，体重増加量の減少および体重減少が認められたことから，MTD は 1000 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 5 日の C_{max} および AUC_{24}（雌雄合算）は，それぞれ 145000 ng/mL および 2640000 ng•h/mL であった。したがって，600 mg/kg/日を Big Blue マウスを用いた 28 日間投与試験の最高用量に設定した。

9.7.12. Big Blue®マウスを用いた PF-07216658 の 28 日間経口投与遺伝子変異試験［AF66CZ.170.BTL 試験（[redacted]GR088），概要表 2.6.7.17］

アブロシチニブの不純物である PF-07216658 について，Big Blue®マウスの肝臓および十二指腸における cII 遺伝子変異体の発現頻度を評価した。雄の Big Blue マウス（6 例/群）に PF-07216658 を 0［0.5%（w/v）メチルセルロース/0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有脱イオン水］，100，300 または 600 mg/kg/日の用量で 28 日間 QD 経口投与した。C57BL/6 マウスを用いた 5 日間投与用量設定試験の 1000 mg/kg/日群で体重増加量の減少（8.4%～11.7%）が認められたことから，600 mg/kg/日を最高用量に設定した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重・摂餌量・器官重量測定および遺伝子変異頻度の測定を行った。試験 28 日の投与後 0.5，2，6 および 24 時間にサテライト群（雄の C57BL/6 マウス，9 例または 12 例/群）から採血し，血漿中 PF-07216658 濃度を測定した。本試験群は投与終了後，試験 31 日に剖検し，肝臓，十二指腸および骨髄を採取して重量（骨髄を除く）を測定した。最初の 5 例/群のマウスの肝臓および十二指腸から DNA を抽出し，cII 遺伝子の変異体について評価した。

肝および十二指腸における変異体の評価時の陽性対照として，BioReliance 社内試験由来の陽性対照マウスのデータを用いた（試験報告書は入手可能）。この試験報告書の使用は，不必要な動物の使用を削減する方法として OECD TG 488 によって許可されている。この陽性対照として用いた試験では，雄の Big Blue マウスに，ENU（pH 6.0 の緩衝液で調製）を 40 mg/kg/日の用量で試験 1，2 および 3 日に経口投与していた。投与容量は 10 mL/kg とした。試験 31 日に十二指腸および肝臓組織を採取し，DNA の抽出・分析を行った。

本試験では，Big Blue®マウスの肝臓および十二指腸のいずれにおいても，100 mg/kg/日以上で cII 変異体の発現頻度が統計学的に有意に増加した。しかし，PF-07216658 を投与した動物における個々の cII 変異体の発現頻度は，肝臓における背景データの 95%信頼限界範囲内であった。ENU 陽性対照群では，肝臓および十二指腸の両方で cII 変異体発現頻度の統計学的に有意な増加が認められ，既知の直接作用型変異原曝露後に誘発された遺伝子変異体を検出および定量する試験系の有用性が確認された。

すべての用量（100 mg/kg/日以上）で PF-07216658 に関連した統計学的に有意な cII 遺伝子の変異頻度の上昇が認められたことから，NOGEL（遺伝毒性無作用量）は特定できなかった。LOGEL（遺伝毒性最小作用量）は最低用量の 100mg/kg/日と判断した。この用量における試験 28 日の C_{max} は 12900 ng/mL，AUC_{24} は 93600 ng•h/mL であった。

9.7.13. ラットを用いたアブロシチニブの 13 週間経口投与不純物評価試験（[redacted]GR270 試験，概要表 2.6.7.17）

アブロシチニブの 3 種類の不純物（PF-07103164，PF-07216658 および PF-07103166）を評価するため，in vivo 試験を実施した。雌雄 Wistar Han ラット（10 例/性/群）にアブロシチニブを単独で 30 mg/kg/日の用量で 13 週間 QD 経口投与した。同様に，3 種類の不純物と混合したアブロシチニブ 30 mg/kg/日を投与する群（10 例/性）を設けた。不純物の割合は，PF-07103164 が 0.44%，PF-07216658 が 0.44%, PF-07103166 が 0.43%とし, 最終用量はそれぞれ 0.132 mg/kg/日, 0.132 mg/kg/日および 0.129 mg/kg/日とした。溶媒対照群（10 例/性）には，0.5%（w/v）メチルセルロースおよび 0.1%（v/v）ポリソルベート 80 含有精製水を投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科検査および臨床病理検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査）を行った。試験 84 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にラット（5 例/性/群/時点）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。投与期間終了時に剖検，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

30 mg/kg/日の両群（アブロシチニブ単独およびアブロシチニブと不純物の混合）において，雌雄で主にリンパ球数の減少による白血球数の減少が認められた。30 mg/kg/日の両群で，好中球数の減少（雄のみ），大型非染色細胞の減少（雌雄）および好酸球数の減少（雌雄）が認められた。血液学的検査値に対する影響の程度は両群で同様であった。

30 mg/kg/日の両群の雌雄で，脾臓および胸腺重量の減少が認められ，変化の程度は両群で同様であった。不純物と混合したアブロシチニブ 30 mg/kg/日の雄 1 例において，胸腺の小型化が認められ，これは胸腺の実および比重量の減少ならびに病理組織学的検査におけるリンパ球密度の低下と関連していた。30 mg/kg/日の両群（アブロシチニブ単独およびアブロシチニブと不純物の混合）で，脾臓，胸腺および腸間膜リンパ節におけるリンパ球密度の低下ならびに前立腺での単核細胞（リンパ球/マクロファージ）浸潤の発現頻度および重篤度の低下が認められた。これらの影響の程度は両群で同等であった。

リンパ系でみられた所見は，アブロシチニブの薬理作用に関連したものであり，毒性学的意義は乏しいと判断された。アブロシチニブ単独および不純物と混合したアブロシチニブを 30 mg/kg/日の用量で投与した両群の総合的な毒性プロファイルは類似していた。

両群とも毒性変化が認められなかったことから，NOAEL はアブロシチニブ単独で 30 mg/kg/日，不純物を混合したアブロシチニブでも 30 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 84 日の C_{max} および AUC_{24}（雌雄合算）は，アブロシチニブ単独 30 mg/kg/日投与時でそれぞれ 8280 ng/mL および 54500 ng•h/mL，不純物と混合したアブロシチニブ 30 mg/kg/日投与時でそれぞれ 7560 ng/mL および 51000 ng•h/mL であった。

9.8. その他の試験

アブロシチニブについてその他の試験は実施していない。

10. 考察及び結論

ラットまたはサルを用いた反復投与毒性試験で認められたアブロシチニブの標的臓器は，免疫・リンパ造血系（胸腺，脾臓，リンパ節，骨髄，赤血球パラメータおよび循環血中のリンパ球），骨および腎臓であった。また，安全性薬理試験では心血管系（心拍数および拡張期血圧），自発運動量および体温への影響がみられた。なお，アブロシチニブの投与により嘔吐，肝臓，皮膚，BAT への影響もみられたが，その毒性学的意義は低いと考えられた。

免疫・リンパ造血系

動物の免疫系にみられたアブロシチニブの影響は JAK 阻害剤にみられる既知の影響であり，非臨床毒性試験は 12 歳以上の患者へのアブロシチニブの使用に必要となる免疫毒性の包括的な評価を行った。免疫系に及ぼすアブロシチニブの影響に関して毒性試験で検討したパラメータには以下のものが含まれる。

- サルの 1 ヵ月間および 9 ヵ月間投与試験における血中リンパ球サブセットのイムノフェノタイピング
- サル 9 ヵ月間投与毒性試験における血清グロブリン評価および TDAR 試験
- サル 9 ヵ月間投与毒性試験の 12 週間の休薬期間における免疫系パラメータ
- 最長 6 ヵ月間のラットおよび最長 9 ヵ月間のサルの反復投与試験における血液学的検査，リンパ系器官重量測定およびリンパ系組織の病理組織学的検査で認められた変化
- ヒト NK 細胞および細胞障害性 T 細胞の機能のアッセイならびにウイルス抗原特異的 T 細胞活性化に伴うサイトカイン産生のアッセイによる in vitro 評価

アブロシチニブの免疫系の評価は ICH S8 に準拠した。これらの試験成績をまとめると，想定外の免疫毒性はみられず，免疫・リンパ造血系（血中リンパ球の減少，脾臓あるいは胸腺重量の減少，脾臓，胸腺，リンパ節［腸間膜，鼠経］および GALT でのリンパ球の減少，TDAR の低下，好中球数，好酸球数および単球数の変化，赤血球パラメータの減少あるいは骨髄の細胞密度低下）が認められ，アブロシチニブの JAK 阻害により想定される変化と符合した。ラット 6 ヵ月間投与試験あるいはサル 9 ヵ月間投与試験における免疫系およびリンパ造血系に関する NOAEL は雄

ラットで 45 mg/kg/日，雌ラットで 70 mg/kg/日，サルで 75 mg/kg/日（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 10 倍以上[a]）であった。

Tg rasH2 マウスの 6 ヵ月間がん原性試験では，計画屠殺まで生存した雌の 25 mg/kg/日以上でリンパ球の減少を伴う胸腺上皮細胞の過形成の発現頻度の上昇がみられたが，アブロシチニブ投与に関連するものの毒性ではないと考えられた。ラット 2 年間がん原性試験では，同様の胸腺上皮細胞の過形成が 30 mg/kg/日の雌のみに，良性胸腺腫（胸腺上皮細胞の腫瘍）が 10 および 30 mg/kg/日の雌で認められた。げっ歯類でみられた胸腺上皮細胞の過形成と腫瘍は，アブロシチニブの薬理作用である免疫調節作用に加え，加齢，性（雌のみ），動物の系統に関連したものと考えられた。加齢による胸腺の病変は胸腺のリンパ球（胸腺細胞）と胸腺上皮細胞間の相互作用の傷害となる可能性があり，その結果，異なった時点で様々な上皮サブセットの増殖活性が高まる[25]。また，胸腺細胞における薬理学的な JAK シグナル伝達の阻害も胸腺細胞と上皮細胞の相互作用の中断の一因となった可能性が考えられる。さらに，げっ歯類の胸腺上皮細胞はエストロゲンにより刺激され，テストステロンによって抑制されることから[25]，雌のみにおいて作用がみられたことと一致する。既述のように加齢 Wistar Han ラットは免疫抑制剤によって進行がみられる胸腺腫が自然発生しやすい。

アブロシチニブを投与した Wistar ラットの雌にみられた胸腺腫の発現頻度増加は，以下の理由からヒトにアブロシチニブを投与した場合のリスクとはならないと考えられる。

- アブロシチニブは遺伝毒性を示さない。
- 雌の Wistar Han ラットは加齢に伴う生理的な胸腺の退縮が遅れるので，自然発生性の胸腺腫に特に感受性が高い。しかしながら，ヒトではそのような性差はみられない。
- いずれの用量においても雄の Wistar Han ラットではアブロシチニブに関連した胸腺腫の発現頻度の増加はみられていない（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の最高 14 倍）。
- 最長 9 ヵ月間アブロシチニブを投与した非げっ歯類（サル）では，胸腺腫やその他の腫瘍はみられていない（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の最高 10 倍）。

ラットの幼若動物毒性試験では，75 mg/kg/日で胸腺のリンパ球減少がみられたが，アブロシチニブの薬理学的免疫調節作用と符合し，可逆的であったことから毒性学的意義の低い変化と考えられた。また，この病理組織学的所見は胸腺重量の減少および血中リンパ球数減少と関連していた。胸腺の細胞密度低下と胸腺および脾臓の重量低下は程度が軽い（軽微～軽度）ことおよび全体的な免疫系への影響がみられないことから，毒性的意義は低いと考えられた。JAK1/ JAK 3 阻害剤のトファシチニブでは幼若動物と成熟動物の毒性試験でリンパ球のイムノフェノタイピングの

[a] 曝露量比はヒトに 200mg QD 投与したときの C_{max}（1123 ng/mL）および AUC（5662 ng•h/mL）に非結合型分率（fu）の 0.36 を掛けたときの非結合型 C_{max}（404 ng/mL）および非結合型 AUC（2040 ng•h/mL を基に算出した（PMAR-EQDD-B745d- DP4-962 Table 13）。

パラメータに明確な違いはみられなかった[26]。さらに，ラットやサルにトファシチニブを投与した際のリンパ球サブセットの変化はヒトとは質的，量的に異なっていた。したがって，このような免疫毒性の追加検討を行っても，ヒトにおける免疫学的影響やプロファイルまたは安全性を予測することは難しいと考える[26]。

骨

アブロシチニブに関連する骨の所見がラットの短期（1 ヵ月間以下）反復投与試験の高用量および高曝露量でみられた。ラットの 7 日間投与および 1 ヵ月間投与毒性試験で骨の形成不全（一次海綿骨の減少：細胞の変性，壊死あるいは炎症のない正常範囲内の成長板の変化）がみられた。これらの短期（7 日間および 1 ヵ月間投与）反復投与試験における投与開始時期はそれぞれ 6～8 週齢および 9 週齢であり，ヒトでは 12 歳以上に相当する年齢であった。骨の所見はそれぞれ 150 mg/kg/日以上および 75 mg/kg/日以上でみられ，1 ヵ月間投与試験における骨に関する NOEL は 25 mg/kg/日であった（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 6.4 倍）。

Table 6.　ラットの 7 日間および 1 ヵ月間投与試験でみられた骨への影響

									骨に関する NOEL
雄 SD ラットを用いた 7 日間投与毒性試験（[redacted]MA026）									
投与開始時週齢：6～8 週齢									
投与量（mg/kg/日）	**0（対照）**		**50**		**150**		**300**		**50（6x[a]）**
性別	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	
動物数	5	0	5	0	5	0	5	0	
病理組織学的検査									
検査例数	5	NA	5	NA	5	NA	5	NA	
大腿骨/脛骨									
軟骨石灰化の抑制									
軽微	0	NA	0	NA	5	NA	2	NA	
軽度	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA	
Wistar Han ラットを用いた 1 ヵ月間投与毒性試験（[redacted]GR318）									
投与開始時週齢：9 週齢									
投与量（mg/kg/日）	**0（対照）**		**25**		**75**		**200**		**25（6.4x[a]）**
性別	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	**雄**	**雌**	
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	
病理組織学的検査									
検査例数	10	10	10	10	10	10	10	10	
膝関節（大腿骨/脛骨）									
形成不全									
軽微	0	0	0	0	6	0	1	4	
軽度	0	0	0	0	4	10	6	6	
中等度	0	0	0	0	0	0	3	0	

a. 非結合型AUCでの曝露比

ラット（投与開始時 6～7 週齢：ヒトでは約 12 歳相当）[27]では 6 ヵ月間投与試験のいずれの用量（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の最高 26 倍）においても，サル（投与開

始時 2 歳齢以上：ヒトでは約 8 歳齢相当）[27] では最長 9 ヵ月間投与試験のいずれの用量（14 日間投与試験，1 ヵ月間投与試験および 9 ヵ月間投与試験で，それぞれ臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の最高 21，31，10 倍）においても，一般状態，剖検所見，病理組織学的検査には異常はみられなかった。このことは，急速な成長期にあるラットでは骨の形成不全に対する高い感受性がみられるものの，成長期を過ぎたラットやサルには影響がないことを示すものである。

ヒトの青少年期（12 歳以上）では成長板は発達途上にあり，実験動物とヒトで骨の成長と発達パターンには類似性がある[28]ものの，アブロシチニブを投与したラットでみられた骨の形成不全の病理組織学的所見は，以下の理由から，12 歳以上の患者に臨床用量を投与してもリスクにはならないと考える。

- ラットでみられた病理組織学的所見に関する NOEL は，ラット 7 日間および 1 ヵ月間投与試験で臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC のそれぞれ 6 倍および 6.4 倍であった。
- 成長板は正常であり，細胞の変性，壊死あるいは炎症はみられなかった。
- 幼若ラットでみられた骨の形成不全は 2 ヵ月間の休薬により回復した。
- サルでは最長 9 ヵ月間（サル 9 ヵ月間投与試験の最高用量投与時の曝露量は臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 10 倍）までいずれの反復投与毒性試験（投与開始時 2 歳齢以上）においても，アブロシチニブ投与に関連した骨の病理組織学的所見はみられなかった。

以上のように，非臨床安全性データパッケージによって骨への影響は十分に明らかにされており，12 歳以上の患者へのアブロシチニブ投与の妥当性を裏付けているものと考える。

12 歳未満の小児へのアブロシチニブ投与を考慮し，幼若動物試験を実施した。幼若ラット毒性試験（ヒトの 3 ヵ月齢相当する 10 日齢で投与を開始）では，一般状態観察における骨の変化（前肢または後肢の回転異常または使用障害：25 mg/kg/日以上），骨折/骨の屈曲（25 mg/kg/日以上）および大腿骨頭異常（5 mg/kg/日以上）が認められた（NOAEL は求められず，これらの所見に回復性はみられなかった）。脛骨近位部と大腿骨遠位部の成長板直下の骨幹端でも一次海綿骨の減少がみられた。このほかに肢端や脛骨遠位部の骨にも影響がみられた。病理組織学的検査でみられた一次海綿骨の減少は休薬後に回復したが，この変化は 25 mg/kg/日以上で骨の大きさ（長さおよび幅の減少）に影響を及ぼし，75 mg/kg/日では休薬後も持続したことから，これらの用量では一般状態観察でみられた肢の回転異常および剖検でみられた骨折や骨の屈曲の原因となった可能性があり，一次海綿骨の減少は毒性変化と考えられた。特に，幼若動物の毒性試験における「一次海綿骨の減少」は，反復投与毒性試験でみられた大腿骨の「軟骨石灰化の抑制」および膝関節（大腿骨/脛骨）の「骨端軟骨の形成不全」と同質の変化を表していると考えられる。

ラットの長期投与毒性試験やサルのいずれの毒性試験でも骨への影響はみられず，また，10 日齢でアブロシチニブ投与を開始した幼若ラット毒性試験で骨の所見がみられたことと考え併せると，急速な成長期にあるラットにおける JAK 阻害には，生後早期に感受性が高い時期があると考えられる。このことは JAK1/ JAK 3 阻害薬であるトファシチニブについて実施した幼若ラットお

よびサルの毒性試験成績によっても裏付けられている。トファシチニブで用いられた幼若ラットあるいはサルの年齢は，2 歳以上のヒトへの投与を前提に選定された。アブロシチニブのラット幼若試験（投与開始時 10 日齢）で用いられた試験デザインとは異なり，トファシチニブの幼若ラット毒性試験および幼若ラット受胎能試験では 21 日齢（ヒトの 2 歳齢相当）で投与を開始し，幼若サル 9 ヵ月間投与試験では約 13 カ月齢（ヒトの 4 歳齢相当）で投与を開始した。これらのラット/サル幼若動物試験ではアブロシチニブ投与でみられたような一般状態観察での四肢の使用障害，回転異常，剖検時の骨の屈曲，骨折あるいは長骨の長さの変化はみられなかった。なお，脛骨・橈骨など長骨の長さの計測は，幼若動物の骨成長に対する薬物関連の影響を調べる方法として推奨されている測定法である[29]。

以上のことおよびすべてのデータを総合的に考慮すると，急速な成長期にあるラットにおいて，アブロシチニブ投与による生後の骨発達に対する影響は，骨発達に感受性の高い特定の期間（一般的には 21 日齢未満：ヒトの 2 歳齢未満に相当）に投与を開始した時に生じるものと考えられた。

腎臓

アブロシチニブ投与に関連してラットでみられた尿中の結晶，マウスでみられた結晶による閉塞性腎症は，げっ歯類の尿が高濃縮であることによるげっ歯類に特異的な現象と考えられ[1]，その結果，高濃度のアブロシチニブ代謝物が排泄された。

マウス尿中の代謝物を検索したところ，可溶性分画と抽出可能な薬物関連の沈殿には主に M4 が含まれ，未変化体を含むその他の薬物関連物質はわずかであった。M4 はヒトにおける酸化代謝物の 1 つであるが，ラットでみられた尿中の結晶，マウスでみられた結晶による閉塞性腎症はげっ歯類の高い尿濃縮によるげっ歯類に特異的な現象であり，ヒトへの外挿性はないと考えられた[1]。

非臨床試験動物種とヒトで代謝および排泄プロファイルは質的に類似することから，このようなげっ歯類と非げっ歯類の種差は，げっ歯類の腎臓の高濃縮能に関連している可能性が考えられる。生理学的には，ヒトや霊長類に比しラットやマウスは高濃縮尿を産生し，マウスには長いヘンレ係蹄や髄質に直細動脈があることと関連がある[1]。特に，ヒトの尿浸透圧は最高 300 mOsm/kg，カニクイザルの尿浸透圧は 182～1081 mOsm/kg である[30]のに対し，ラットとマウスの尿浸透圧は最高 4300 mOsm/kg である[1]。この高い尿濃度が尿中の結晶の形で代謝物（マウス尿中の M4）の沈殿を起こしやすくしていると考えられる。したがって，ラットでみられた尿中の結晶，マウスでみられた結晶による閉塞性腎症はげっ歯類の高い尿濃縮によるげっ歯類に特異的な現象であり，ヒトへの外挿性はないと考えられた[1]。

心血管系

サル単回投与安全性薬理試験で心拍数の増加（15 mg/kg/日以上）および拡張期血圧の上昇（150 mg/kg/日）がみられ，この時の曝露量比は臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 C_{max} のそれぞれ 0.9 倍および 3.4 倍であった。サル安全性薬理試験で 150 mg/kg/日投与時の平均血漿中アブロシチニブ濃度（1360 ng/mL，非結合型）は投与後 4 時間に測定されており，アブロシチニブの T_{max} が 2.2 時間であることを考慮すると 150 mg/kg/日投与時の真の C_{max} よりも過小評価されていると考えられる。したがって，サルに 150 mg/kg/日投与時の C_{max} はサル単回投与試験（12MA052）の C_{max}（4960 ng/mL，非結合型；臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 C_{max}

の 12 倍）を用いるほうが妥当と考える。投与後 22 時間以内にはすべての値が対照群と同等まで低下した。ラットおよびサルの反復投与毒性試験では心血管系および心電図パラメータ（QT および QTc 間隔を含む）への影響はみられなかった。

雄ラットを用いた in vivo 心血管系評価では，心拍数，血圧，体温および活動性にアブロシチニブによる影響はみられなかった。

ラットの最長 6 ヵ月間およびサルの最長 9 カ月間の毒性試験では，アブロシチニブ投与に関連した血栓，塞栓あるいは血液凝固パラメータへの影響はみられなかった。

自発運動量および体温

神経および肺機能についてのラットを用いた安全性薬理試験では，75 mg/kg/日以上で自発運動量の減少が，200 mg/kg/日以上で体温の低下（-0.6°C）がみられた。しかしながら，一般毒性試験では一般状態観察で活動性低下はみられず，安全性薬理試験でもラットの心血管に対する試験（テレメトリーによる運動量評価）やサルの心血管系に対する試験では影響はみられなかった。ラットの神経機能評価でみられた自発運動量の減少は水平移動の減少（75，200 および 600 mg/kg/日でそれぞれ-40%，-46%，-49%，対照群との比較）と垂直移動の減少（75，200 および 600 mg/kg/日でそれぞれ-46%，-48%，-59%）によるものであった。FOB の他のパラメータに影響はみられなかった。

その他の所見

肝臓

マウス，ラットおよびサルで血清トランスアミナーゼの変動，肝重量の変化あるいは肝細胞肥大が認められたが，肝障害を示す病理組織学的所見（肝細胞の変性，壊死あるいは炎症）はみられず，毒性学的意義の低い変化と考えられた。事実，マウス，ラット，サルのいずれの試験でも肝細胞の変性，壊死，炎症，色素沈着あるいは過形成は認められなかった。肝毒性を示唆する病理組織学的変化や臨床病理学的変化を伴わないげっ歯類の肝細胞肥大は適応反応であり，毒性学的意義の低い変化でヒトへの外挿性はほとんどないと考えられている[31]。ラット 6 ヵ月間投与試験およびサル 9 ヵ月間投与試験における肝臓に関する NOAEL はそれぞれ 70 mg/kg/日および 75 mg/kg/日（臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC のそれぞれ 26 倍および 10 倍）であった。

皮膚

アブロシチニブ投与に関連した皮膚への影響は，ラットでは程度は軽く，限局性で，発現頻度も低く，サルでは関連する病理組織学的変化はなく，両動物種の全般的な健康状態に影響を及ぼさなかったことから，毒性学的意義は低いと考えられた。ラット 6 ヵ月間投与試験およびサル 9 ヵ月間投与試験における皮膚に関する NOAEL はラットで 70 mg/kg/日，サルで 75 mg/kg/日であった。ラット 6 ヵ月間投与試験でみられた皮膚の所見は 12 週間の休薬期間中もみられた。サル 9 ヵ月間投与試験では 75mg/kg/日でも毒性学的に意義のある皮膚の所見はみられず，この時の曝露量は臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 10 倍であった。

嘔吐

サルの 1 ヵ月間投与試験，14 日間投与試験および心血管系評価試験では，アブロシチニブ投与に関連した嘔吐が 80 mg/kg/日以上の用量でみられたが，9 ヵ月間投与試験ではアブロシチニブ投与に関連した嘔吐はみられなかった。また，いずれの毒性試験においても消化管の剖検所見および病理組織学的所見はみられなかった。摂食下（給餌後約 1～3 時間に投与）でサルに投与した単回投与試験および 9 ヵ月間投与試験（[redacted]MA052 および 8289421）では嘔吐はみられなかった。

褐色脂肪組織

ラット 1 ヵ月間投与試験の雌で 75 mg/kg/日以上の投与により肩甲骨間の褐色脂肪組織（BAT）にアブロシチニブ投与に関連した細胞質内の小空胞の増加が観察されたが，炎症や細胞変性はみられず，毒性学的意義の低い変化と考えられた。BAT 内の空胞の大きさや数は動物の代謝状態に応じて多様であり，細胞内の小空胞は，活動性の高い（より代謝が活発な）げっ歯類の BAT でみられる[32]。観察された所見は，BAT 中の空胞の大きさが正常で生理的な変動範囲内のものであり，その程度も軽く，この所見に伴う炎症や細胞変性もみられなかったことから，毒性学的に意義のある変化とは考えなかった。

考察及び結論の総括

まず，単回および反復投与毒性試験によりアブロシチニブを評価した。反復投与試験の投与開始時のラット（約 6～7 週齢：ヒトの 12 歳相当）およびカニクイザル（2～4 歳齢：ヒトの 8 歳相当）の年齢は，ヒトでは青少年期（12 歳以上）に相当する。

代謝物の M2 および M4 については，5 日間反復投与 PK 試験においてラット 6 ヵ月間投与試験の NOAEL である雄 45 mg/kg/日，雌 70 mg/kg/日を投与し，曝露量を測定した（CTD 2.6.4.5.3.2）。臨床用量［200 mg］投与後の定常状態における曝露量と比較すると，曝露比（総 AUC 比）は M2 で 0.5 倍超，M4 で 4 倍超であった。これらの代謝物については，ラットの NOAEL で十分な曝露量に達していると考えられたことから，ICH M3(R2)に従い，追加の毒性試験は必要ないと考えられた。

がん原性については，Tg マウスの 6 ヵ月間投与がん原性試験およびラット 2 年間投与がん原性試験の 2 試験を実施した。Tg マウスの 6 ヵ月間投与がん原性試験では，アブロシチニブ投与に関連する腫瘍はみられなかった。雌マウスでは胸腺上皮細胞過形成の発現頻度の上昇がみられ，アブロシチニブ投与に関連する所見と考えられた。ラットの 2 年間がん原性試験では 10 mg/kg/日以上の雌で良性胸腺腫の発生頻度の上昇（CTD 2.6.6.6.2.1 および 1.8.1，臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 2.8 倍以上[a]）がみられ，アブロシチニブ投与に関連する所見と考えられたが，アブロシチニブには遺伝毒性はないことから，遺伝毒性以外のメカニズムの関与が示唆された。また，他の JAK 阻害剤（トファシチニブ）やその他の免疫抑制剤（ELIDEL® ［ピメクロリムス］，USPI，2014）でもラット 2 年間投与がん原性試験で胸腺腫の発生頻度上昇が報告されている。

[a] 曝露量比はヒトに 200mg QD 投与したときの AUC（5662 ng•h/mL）に非結合型分率（fu）の 0.36 を掛けたときの非結合型 AUC（2040 ng•h/mL を基に算出した（PMAR-EQDD-B745d- DP4-962 Table 13）。

アブロシチニブは雄の受胎能に影響を与えなかった。雌では受胎能の低下が認められたが，1 ヵ月間の休薬により回復性がみられた。ラットおよびウサギの胚・胎児発生試験では，胎児に奇形がみられなかったことから，アブロシチニブ投与による催奇形性は認められなかった。また，胸部，腹部および骨盤腔内の器官に異常がみられなかったことから，アブロシチニブ投与による母動物への影響は認められなかった。ラットの胚・胎児発生試験では 60 mg/kg/日で胚・胎児の生存率の低下（CTD 2.6.6.7.2.2 および 1.8.1，臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 17 倍）がみられ，次世代の発生に関する NOAEL での曝露量は臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 2.4 倍であった。ラットの出生前および出生後の発生に関する試験では 30 mg/kg/日以上で出生児体重または出生後生存率の低下（CTD 2.6.6.7.3 および 1.8.1，臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 11 倍以上）がみられ，母動物および次世代の発生に関する NOAEL（10 mg/kg/日）での曝露量は臨床用量［200 mg QD］投与時のヒト非結合型 AUC の 2.4 倍であった。

有色の Long-Evans ラットにアブロシチニブを経口投与したところ，皮膚または眼に光毒性を示す所見は認められなかった。

マウス，ラットおよびサルにおけるアブロシチニブの標的臓器は，免疫・リンパ造血系，骨および腎臓であった。想定外の免疫毒性はみられず，免疫・リンパ造血系でみられた変化はアブロシチニブの JAK シグナル伝達阻害により予想されたものであった。最長 6 ヵ月間のラット反復投与毒性試験および最長 9 カ月間のサル反復投与毒性試験では，アブロシチニブ投与に関連した血栓，塞栓あるいは血液凝固パラメータへの影響はみられなかった。

アブロシチニブ投与に関連する骨の所見がラット短期間反復投与（1 ヵ月以内）毒性試験でみられた。成熟ラットにみられた骨の病理組織所見は 12 歳以上の患者に臨床用量を投与する際のリスクとはならないと考えられた。

腎臓の所見として，ラット 6 ヵ月間投与試験で尿中の結晶，マウスで結晶による閉塞性腎症が認められたが，サルでは尿中の結晶や腎臓の所見は認められなかった。尿中での結晶の形成はげっ歯類の高い尿濃縮によるげっ歯類に特異的な現象であり，ヒトにおけるリスクとはならないと考えられた [1]。マウスにおける尿中の薬物関連沈殿物は主に代謝物 M4 を含んでいた。

以上のように，非臨床安全性試験の成績は 12 歳以上の患者へのアブロシチニブ投与の妥当性を裏付けているものと考える。なお，12 歳未満の患者へのアブロシチニブ投与を考慮し，幼若ラット毒性試験を実施した。幼若ラットの用量設定試験ではアブロシチニブに関連した影響はみられなかった。10 日齢から 5 mg/kg/日以上を投与した幼若ラット毒性試験では，骨の変化（前肢または後肢の回転異常または使用障害，骨折，大腿骨頭異常がみられ，NOAEL は求められなかった。トファシチニブの幼若ラット毒性試験（21～49 日齢）では，トファシチニブに関連した骨および関節の発達への影響はみられなかった。これらのことから，JAK 阻害剤における骨への影響には，ヒトにおける 2 歳齢未満に相当する生後の明らかな感受性期があるものと考えられる。

11. 図表

本文中に記載した。

参考文献

[1] Radi ZA. Kidney pathophysiology, toxicology, and drug-induced injury in drug development. Int J Toxicol 2019;38(3):215-27.

[2] Besch-Williford C, Pesavento P, Hamilton S, et al. A naturally transmitted epitheliotropic polyomavirus pathogenic in immunodeficient rats: characterization, transmission, and preliminary epidemiologic studies. Toxicol Pathol 2017;45(5):593-603.

[3] Olaharski AJ, Gonzaludo N, Bitter H, et al. Identification of a kinase profile that predicts chromosome damage induced by small molecule kinase inhibitors. PLoS Computational Biology 2009;5(7):e1000446.

[4] Sasaki JC, Allemang A, Bryce SM, et al. Application of the adverse outcome pathway framework to genotoxic modes of action. Environ Mol Mutagen 2020;61(1):114-34.

[5] Elhajouji A, Van Hummelen P, Kirsch-Volders M. Indications for a threshold of chemically-induced aneuploidy in vitro in human lymphocytes. Environ Mol Mutagen 1995;26(4):292-304.

[6] Parry JM, Parry EM, Bourner R, et al. The detection and evaluation of aneugenic chemicals. Mutat Res 1996;353(1-2):11-46.

[7] Ma HT, Poon RY. How protein kinases co-ordinate mitosis in animal cells. Biochem J 2011;435(1):17-31.

[8] Nigg EA. Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints. Nat Rev Mol Cell Biol 2001;2(1):21-32.

[9] Takaoka M, Sehata S, Maejima T, et al. Interlaboratory comparison of short-term carcinogenicity studies using CB6F1-rasH2 transgenic mice. Toxicol Pathol 2003;31(2):191-9.

[10] Iwata H, Weber K, Gaehle S, et al. Spontaneous thymoma observed in Wister Han rats. In: 29th Annual Meeting of the Japanese Society of Toxicologic Pathology; 31 Jan - 1 Feb 2013; Ibaraki, Japan. 2013: P-39.

[11] Tomonari Y, Sato J, Kurotaki T, et al. Thymomas and associated hyperplastic lesions in Wistar Hannover rats. Toxicol Pathol 2019;47(2):129-37.

[12] Blankenship B, Eighmy JJ, Hoffmann G, et al. Findings in historical control Harlan RCCHan™:WIST rats from 104-week oral gavage studies. Toxicol Pathol 2016;44(7):947-61.

[13] ICH S5(R3): Detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals. 18 February 2020.

[14] Chahoud I, Paumgartten FJ. Dose-response relationships of rat fetal skeleton variations: Relevance for risk assessment. Environ Res 2009;109(7):922-9.

[15] Carney EW, Kimmel CA. Interpretation of skeletal variations for human risk assessment: delayed ossification and wavy ribs. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol 2007;80(6):473-96.

[16] Daston GP, Seed J. Skeletal malformations and variations in developmental toxicity studies: interpretation issues for human risk assessment. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol 2007;80(6):421-4.

[17] Hofmann T, Buesen R, Schneider S, et al. Postnatal fate of prenatal-induced fetal alterations in laboratory animals. Reprod Toxicol 2016;61:177-85.

[18] Price CJ, Strong PL, Marr MC, et al. Developmental toxicity NOAEL and postnatal recovery in rats fed boric acid during gestation. Fundam Appl Toxicol 1996;32(2):179-83.

[19] Marr MC, Price CJ, Myers CB, et al. Developmental stages of the CD (Sprague-Dawley) rat skeleton after maternal exposure to ethylene glycol. Teratology 1992;46(2):169-81.

[20] Palmieri MA, Freeman C, Kotkoskie LA. Developmental toxicity study of Aquacoat®1 ECD ethylcellulose aqueous dispersion administered orally to rats. Food and Chemical Toxicol. Volume 38, Issue 1, January 2000, Pages 71-74.

[21] Kimmel CA, Garry MR, DeSesso JM. Relationship between bent long bones, bent scapulae, and wavy ribs: malformations or variations? Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol 2014;101(5):379-92.

[22] Leonard WJ, Lin JX, O'Shea JJ. The γc family of cytokines: basic biology to therapeutic ramifications. Immunity 2019;50(4):832-50.

[23] Meyer DM, Jesson MI, Li X, et al. Anti-inflammatory activity and neutrophil reductions mediated by the JAK1/JAK3 inhibitor, CP-690,550, in rat adjuvant-induced arthritis. J Inflamm 2010;7:41-52.

[24] ICH M3(R2). Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals. Step 4 version. 11 Jun 2009.

[25] Willard-Mack CL, Elmore SA, Hall WC, et al. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and mouse hematolymphoid system. Toxicol Pathol 2019;47(6):665-783.

[26] Collinge M, Ball DJ, Bowman CJ, et al. Immunologic effects of chronic administration of tofacitinib, a Janus kinase inhibitor, in cynomolgus monkeys and rats - Comparison of juvenile and adult responses. Regul Toxicol Pharmacol 2018;94:306-22.

[27] Kim NN, Parker RM, Weinbauer GF, et al. Points to consider in designing and conducting juvenile toxicology studies. Int J Toxicol 2017;36(4):325-39.

[28] Zoetis T, Tassinari MS, Bagi C, et al. Species comparison of postnatal bone growth and development. Birth Defects Res. (Part B) 2003;68(2):86-110.

[29] ICH S11. Nonclinical safety testing in support of development of paediatric pharmaceuticals. 14 April 2020.

[30] Weekley LB, Deldar A, Tapp E. Development of renal function tests for measurement of urine concentrating ability, urine acidification, and glomerular filtration rate in female cynomolgus monkeys. Contemp Top Lab Anim Sci. 2003;42(3):22-5.

[31] Hall AP, Elcombe CR, Foster JR, et al. Liver hypertrophy: a review of adaptive (adverse and non-adverse) changes- conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop. Toxicol Pathol 2012;40(7):971-94.

[32] Arbuthnott E. Brown adipose tissue: structure and function. Proc Nutr Soc 1989;48(2):177-82.

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW 3
2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES 10
2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA 12
2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE 18
2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY 21
2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 23
2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY 25
2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY 30
2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY 36
2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY 41
2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO 46
2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO 49
2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO 51
2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO 52
2.6.7.10A CARCINOGENICITY – DOSE RANGE-FINDING 53
2.6.7.10B CARCINOGENICITY: DOSE RANGE-FINDING 54
2.6.7.10C CARCINOGENICITY: DOSE RANGE-FINDING 59
2.6.7.10D CARCINOGENICITY 61
2.6.7.10E CARCINOGENICITY 68
2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 76
2.6.7.12A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION 78
2.6.7.12B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION 81
2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 85
2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 88
2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION 91
2.6.7.15A REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL JUVENILE STUDIES 96
2.6.7.15B STUDIES IN JUVENILE ANIMALS 97
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES 103
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES 104
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES) 106
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES) 110

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES) 114
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES) 117
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES) 121
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES) 125
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES) 129
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES) 131
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES 133
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES 135
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES) 138

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Abrocitinib

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module No.	Sponsor Reference Number
Single-Dose Toxicity								
Toxicokinetic	Rat/Sprague Dawley (males)	Oral Gavage	Single dose	0, 250, 500, 1000	No	PWRDM	[redacted]MA015/ 4.2.3.1.1	NA
Toxicokinetic	Monkey/ Cynomolgus	Oral Gavage	Single dose	150 SDD[b c] (QD; fed state)	No	PWRDM	[redacted]MA052/ 4.2.3.1.2	NA
Repeat-Dose Toxicity[d]								
DRF	Rat/Sprague Dawley (males)	Oral Gavage	7 Days	0, 50, 150, 300	No	PWRDM	[redacted]MA026/ 4.2.3.2.1	NA
Toxicity	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	1 Month	0, 25, 75, 200	Yes	PWRDM	[redacted]GR318/ 4.2.3.2.2	NA
Toxicity With 12-Week Recovery	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	6 Months	0, 30, 45[e], 70[e]	Yes	Covance[f]	8289422/ 4.2.3.2.3	[redacted]MA056
DRF	Monkey/ Cynomolgus	Oral Gavage	14 Days	0, 50, 100 SDD[b] (fed state)	No	PWRDM	[redacted]MA068/ 4.2.3.2.4	NA
Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	Oral Gavage	1 Month	0, 40, 80, 150 SDD[b] (fed state)	Yes	PWRDM	[redacted]GR319/ 4.2.3.2.5	NA
Toxicity With 12-Week Recovery	Monkey/ Cynomolgus	Oral Gavage	9 Months	0, 15, 35, 75 SDD[b] (fed state)	Yes	Covance[f]	8289421/ 4.2.3.2.6	[redacted]MA055
Genotoxicity								
Bacterial Reverse Mutation	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	25-5000 µg/plate	Yes	WIL[g]	MBR[redacted]-381/ 4.2.3.3.1.1	[redacted]GR326
Micronucleus	TK6 human lymphoblastoid cells	In Vitro	NA	27.5-204 µg/mL	Yes	WIL[g]	MBR[redacted]-382/ 4.2.3.3.1.2	[redacted]GR325
FISH Micronucleus Assay	TK6 human lymphoblastoid cells	In Vitro	NA	121, 166 µM	No	PWRDM	[redacted]GTX03/ 4.2.3.3.1.3	NA
In Vivo Micronucleus	Rat/Wistar Han	Oral gavage	2 Days	0, 100, 300, 600	Yes	WIL[g]	WIL-655033/ 4.2.3.3.2.1	[redacted]GR327

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Abrocitinib

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module No.	Sponsor Reference Number
Carcinogenicity								
DRF Tolerability	Mouse/CD-1	Oral Gavage	2 Weeks	0, 100, 300, 600	No	Covance[f]	8380217/ 4.2.3.4.2.1	[redacted]MA077
DRF	Mouse/CByB6F1 (rasH2 [wt/wt])	Oral Gavage	1 Month	0, 100/75[h], 250/150[i], 450	Yes	Covance[f]	8384615/ 4.2.3.4.2.2	[redacted]GR044
DRF	Mouse/CByB6F1 (rasH2 [wt/wt])	Oral Gavage	1 Month	0, 10, 30, 60	Yes	Covance[f]	8391764/ 4.2.3.4.2.3	[redacted]GR129
Carcinogenicity	Mouse/CByB6F1 (rasH2 [tg/wt])	Oral Gavage	6 Months	Males: 0, 10, 20, 60 Females: 0, 10, 25, 75	Yes	Covance[f]	8398640 / 4.2.3.4.2.4	[redacted]GR243
Carcinogenicity	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	104 Weeks	0, 3, 10, 30	Yes	Covance[f]	8373335/ 4.2.3.4.1.1	[redacted]MA056
Reproductive and Developmental Toxicity								
Fertility and Early Embryonic Development to Implantation								
Male and Female Fertility	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	Females: 14 days prior to mating to GD 7 Males: 28 days prior to mating to euthanasia	0, 30, 45, 70[j]	Yes	CRL[k]	655170/ 4.2.3.5.1.1	[redacted]GR089
Female Fertility With 1-Month Recovery	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	Females: 14 days prior to mating to GD 7	0, 3, 10[l], 70[l]	Yes	PWRDM	[redacted]GR261/ 4.2.3.5.1.2	NA
Embryo-Fetal Development								
DRF EFD	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	GD 6-17	0, 75, 200, 400	No	CRL[m]	20052794/ 4.2.3.5.2.1	[redacted]GR307
Definitive EFD	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	GD 6-17	0, 10[n], 30, 60[n]	Yes	CRL[m]	20055528/ 4.2.3.5.2.2	[redacted]GR073
DRF EFD	Rabbit/NZW	Oral Gavage	GD 7-19	0, 30, 75, 150, 300	No	CRL[m]	20052795/ 4.2.3.5.2.3	[redacted]GR306

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Abrocitinib

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module No.	Sponsor Reference Number
Definitive EFD	Rabbit/NZW	Oral Gavage	GD 7-19	0, 10, 30, 75[o]	Yes	CRL[m]	20058757/ 4.2.3.5.2.4	[redacted]GR183
Pre- and Postnatal Development in Rats, Including Maternal Function								
PPND	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	GD 6 to LD 20	0, 10[p], 30, 60	Yes	CRL[k]	00655212/ 4.2.3.5.3.1	[redacted]GR074
Studies in Juvenile Animals								
DRF Juvenile	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	PND 10-24	0, 5, 25, 75	No	CRL[k]	00655213/ 4.2.3.5.4.1	[redacted]GR060
Juvenile With 2-Month Recovery	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	PND 10-63	0, 5, 25, 75[q]	Yes	CRL[k]	00655225/ 4.2.3.5.4.2	[redacted]GR039
Local Tolerance								
Studies not conducted								
Other Toxicity Studies								
Phototoxicity	Rat/Long-Evans (females)	Oral Gavage	7 Days	0, 50, 150, 300	Yes	CRL[m]	20052793/ 4.2.3.7.7.1	[redacted]MA095
Immunotoxicity								
Abrocitinib/ Tofacitinib Comparison	Assays of Human Immune Cellular Function	In Vitro	NA	0.0003 to 30 µM	No	PWRDM	[redacted]GR190/ 4.2.3.7.2.1	NA
Studies on Metabolites								
Nav1.5 and Cav1.2 Patch-clamp Assays								
PF-06471658	CHO cells	In Vitro	NA	0.001 to 100 µM	No	PWRDM	[redacted]LJ058/ 4.2.3.7.5.1	NA
PF-07054874	CHO cells	In Vitro	NA	0.001 to 100 µM	No	PWRDM	[redacted]LJ059/ 4.2.3.7.5.2	NA
PF-07055087	CHO cells	In Vitro	NA	0.001 to 100 µM	No	PWRDM	[redacted]LJ060/ 4.2.3.7.5.3	NA
hERG Patch-clamp Assays								
PF-06471658	HEK293 cells	In Vitro	NA	30, 300 µM	Yes	CRL[r]	[redacted]0403.QHJ/ 4.2.3.7.5.4	[redacted]LJ049

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Abrocitinib

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module No.	Sponsor Reference Number
PF-07054874	HEK293 cells	In Vitro	NA	30, 100, 300 µM	Yes	CRL[r]	[redacted]0404.QHJ/ 4.2.3.7.5.5	[redacted]LJ048
PF-07055087	HEK293 cells	In Vitro	NA	30, 300 µM	Yes	CRL[r]	[redacted]0405.QHJ/ 4.2.3.7.5.6	[redacted]LJ051
Studies on Impurities								
In Vitro Bacterial Mutagenicity of PF-01323624	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	1.7 to 5000 µg/plate	Yes	CRL[s]	20171491/ 4.2.3.7.6.1	NA
In Vitro Bacterial Mutagenicity of PF-03817968-09 (phosphate salt)	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	1.7 to 5000 µg/plate	Yes	CRL[s]	20171440/ 4.2.3.7.6.2	NA
In Vitro Bacterial Mutagenicity of PF-06238566	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	1.7 to 5000 µg/plate	Yes	CRL[s]	20171525/ 4.2.3.7.6.3	NA
In Vitro Bacterial Mutagenicity of PF-07085579	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	1.7 to 5000 µg/plate	Yes	CRL[s]	20171473/ 4.2.3.7.6.4	NA

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Abrocitinib

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module No.	Sponsor Reference Number
In Vitro Bacterial Mutagenicity of PF-07094402	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	1.7 to 5000 µg/plate	Yes	CRL[s]	20171457/ 4.2.3.7.6.5	NA
In Vitro Bacterial Mutagenicity of PF-07097547-24 (succinate salt)	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	1.7 to 5000 µg/plate	Yes	CRL[s]	20171507/ 4.2.3.7.6.6	NA
In Vitro Bacterial Mutagenicity of PF-07297478	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	313 to 5000 µg/plate	No	PWRDM	[redacted]GR050/ 4.2.3.7.6.7	NA
In Vitro Bacterial Mutagenicity of PF-07275639	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	313 to 5000 µg/plate	No	PWRDM	[redacted]GR051/ 4.2.3.7.6.8	NA

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Abrocitinib

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module No.	Sponsor Reference Number
In Vitro Bacterial Reverse Mutation of PF-07103166	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	15 to 5000 µg/plate	No	PWRDM	[redacted]GR278/ 4.2.3.7.6.9	NA
In Vitro Bacterial Reverse Mutation of PF-07216658	*Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537) *Escherichia coli* (WP2 uvrA pKM101)	In Vitro	NA	15 to 5240 µg/plate	No	PWRDM	[redacted]GR277/ 4.2.3.7.6.10	NA
In Vivo Tolerability/ TK of PF-07216658	Mouse/ C57BL/6 (wt)	Oral Gavage	5 Days	0, 300, 600, 1000	No	Bio-Reliance[t]	AF66CZ.DRF 1NGLP.BTL/ 4.2.3.7.6.11	[redacted]GR077
In Vivo Toxicity of PF-07216658	Mouse/ Tg Big Blue® (males)	Oral Gavage	28 Days	0, 100, 300, 600	Yes	Bio-Reliance[t]	AF66CZ.170. BTL/ 4.2.3.7.6.12	[redacted]GR088
In Vivo Qualification of PF-07103164, PF-07216658, PF-07103166	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	13 Weeks	0, 30, 30[u]	Yes	PWRDM	[redacted]GR270/ 4.2.3.7.6.13	NA

CRL = Charles River Laboratories; DRF = dose range-finding; EFD = embryo-fetal development; FISH = fluorescent in situ hybridization; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; HEK = human embryonic kidney; HPMCAS-HF = hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-high fine; HPMCAS-MG = hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-medium granular; LD = Lactation Day; NA = not applicable; NOAEL = no observed adverse effect level; NZW = New Zealand White; PND = Postnatal Day; PPND = pre- and postnatal development; PWRDM = Pfizer Worldwide Research, Development & Medical; QD = once daily; SDD = spray dried dispersion; Tg = transgenic; TK = toxicokinetic; TK6 = thymidine kinase-6; wt = wild type.
a. Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Abrocitinib

b. Abrocitinib was formulated as an SDD approximately 25% abrocitinib and approximately 75% HPMCAS-MG or HPMCAS -HF, except the 9-month study in cynomolgus monkeys in which the SDD was approximately 10% abrocitinib and approximately 90% HPMCAS-HF.
c. Abrocitinib was administered to cynomolgus monkeys with different formulations, doses, routes, and dosing regimens to identify an optimal formulation and dosing regimen for use in the subsequent cynomolgus monkey studies; the optimal dosing regimen is presented.
d. For pivotal repeat-dose, reproductive and developmental toxicity, and juvenile studies, the NOAEL is underlined.
e. The NOAELs were 45 mg/kg/day and 70 mg/kg/day for males and females, respectively.
f. Madison, Wisconsin.
g. Skokie, Illinois.
h. Due to abrocitinib-related moribundity at 450 mg//kg/day, the 100 mg/kg/day dose was lowered to 75 mg/kg/day beginning Day 12.
i. Due to abrocitinib-related body weight loss at 250 mg/kg/day, the dose was lowered to 150 mg/kg/day beginning Day 15 after a 4-day dosing holiday on Days 11-14.
j. The male and female systemic toxicity and male reproductive toxicity NOAEL was 70 mg/kg/day. The NOAEL for female reproductive toxicity and early embryonic toxicity was not determined (adverse effects at all doses).
k. Ashland, Ohio.
l. The female systemic toxicity NOAEL was 70 mg/kg/day and female reproductive toxicity NOAEL was 10 mg/kg/day.
m. Horsham, PA.
n. The maternal NOAEL was 60 mg/kg/day and the developmental NOAEL was 10 mg/kg/day.
o. The maternal and developmental NOAEL was 75 mg/kg/day.
p. The maternal and developmental NOAEL was 10 mg/kg/day.
q. The NOAEL was not determined due to adverse effects at all doses.
r. Cleveland, OH.
s. The Netherlands.
t. Rockville, MD.
u. Rats were administered 30 mg/kg/day of abrocitinib alone or 30 mg/kg/day of abrocitinib blended with 3 impurities: PF-07103164, PF-07216658, and PF-07103166.

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES

Test Article: Abrocitinib

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number	Sponsor Reference Number
Single-Dose TK	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	250, 500, 1000	No	[redacted]MA015	NA
Single-Dose TK	Monkey/Cynomolgus	Oral Gavage	150 SDD[b c]	No	[redacted]MA052	NA
7-Day Dose Range-Finding	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	50, 150, 300	No	[redacted]MA026	NA
1-Month Toxicity	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	25, 75, 200	Yes	[redacted]GR318	NA
6-Month Toxicity With 12-Week Recovery	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	30, 45, 70	Yes	8289422	[redacted]MA056
14-Day Toxicity	Monkey/Cynomolgus	Oral Gavage	50, 100 SDD[b]	No	[redacted]MA068	NA
1-Month Toxicity	Monkey/Cynomolgus	Oral Gavage	40, 80, 150 SDD[b]	Yes	[redacted]GR319	NA
9-Month Toxicity With 12-Week Recovery	Monkey/Cynomolgus	Oral Gavage	15, 35, 75 SDD[b]	Yes	8289421	[redacted]MA055
In Vivo Micronucleus	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	100, 300, 600	Yes	WIL-655033	[redacted]GR327
2-Week Dose Range-Finding	Mouse/CD-1	Oral Gavage	100, 300, 600	No	8380217	[redacted]MA077
1-Month Dose Range-Finding	Mouse/CByB6F1 (rasH2 [wt/wt])	Oral Gavage	100/75[d], 250/150[e], 450	Yes	8384615	[redacted]GR044
1-Month Dose Range-Finding	Mouse/CByB6F1 (rasH2 [wt/wt])	Oral Gavage	10, 30, 60	Yes	8391764	[redacted]GR129
6-Month Carcinogenicity	Mouse/CByB6F1 (rasH2 [tg/wt])	Oral Gavage	Males: 10, 20, 60 Females: 10, 25, 75	Yes	8398640	[redacted]GR243
104-Week Carcinogenicity	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	3, 10, 30	Yes	8373335	[redacted]MA056
Fertility and Early Embryonic Development	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	30, 45, 70	Yes	655170	[redacted]GR089
Female Fertility With 1-Month Recovery	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	3, 10, 70	Yes	[redacted]GR261	NA
Definitive Embryo-Fetal Development	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	10, 30, 60	Yes	20055528	[redacted]GR073
Definitive Embryo-Fetal Development	Rabbit/NZW	Oral Gavage	10, 30, 75	Yes	20058757	[redacted]GR183
Juvenile With 2-Month Recovery	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	5, 25, 75	Yes	00655225	[redacted]GR039
Phototoxicity	Rat/Long-Evans	Oral Gavage	50, 150, 300	Yes	20052793	[redacted]MA095
Qualification of Impurities	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	30, 30[f]	Yes	[redacted]GR270	NA

GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; NZW = New Zealand White; SDD = spray dried dispersion; Tg = transgenic; TK = toxicokinetic; wt = wild type.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES Test Article: ABROCITINIB (continued)

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)

b. Abrocitinib was formulated as an SDD approximately 25% abrocitinib and approximately 75% HPMCAS-MG or -HF.
c. Abrocitinib was administered to cynomolgus monkeys with different formulations, doses, routes, and dosing regimens to identify an optimal formulation and dosing regimen for use in the subsequent cynomolgus monkey studies; the optimal dosing regimen is presented.
d. Due to abrocitinib-related moribundity at 450 mg//kg/day, the 100 mg/kg/day dose was lowered to 75 mg/kg/day beginning Day 12.
e. Due to abrocitinib-related body weight loss at 250 mg/kg/day, the dose was lowered to 150 mg/kg/day beginning Day 15 after a 4-day dosing holiday on Days 11-14.
f. Rats were administered 30 mg/kg/day of abrocitinib alone or 30 mg/kg/day of abrocitinib blended with 3 impurities: PF-07103164, PF-07216658, and PF-07103166.

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Abrocitinib

Dose (mg/kg/day)[a]	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Total Steady State AUC_{24} (ng•h/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Cynomolgus Monkey	Human
				Combined Sexes[b]	Combined Sexes[b]	F	Combined Sexes[b]	
3	104-Week Carcinogenicity	8373335 ([redacted]MA056)	178		3150			
3	Female Fertility (1-Month Recovery)	[redacted]GR261	10		3320 (F)			
5	Juvenile (2-Month Recovery)	00655225 ([redacted]GR039)	PND 63		4270			
10	1-Month Dose Range-Finding	8391764 ([redacted]GR129)	28	NR[c]				
10	6-Month Carcinogenicity	8398640 ([redacted]GR243)	29	111/91.1 (M/F)				
10	104-Week Carcinogenicity	8373335 ([redacted]MA056)	178		15200			
10	Female Fertility (1-Month Recovery)	[redacted]GR261	10		11000 (F)			
10	Definitive EFD	20055528 ([redacted]GR073)	GD 17		12900 (F)			
10	Definitive EFD	20058757 ([redacted]GR183)	GD 19			1520 (F)		
15	9-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289421 ([redacted]MA055)	273				5760	
20 (M)	6-Month Carcinogenicity	8398640 ([redacted]GR243)	29	244 (M)				
25 (F)	6-Month Carcinogenicity	8398640 ([redacted]GR243)	29	274 (F)				
25	1-Month Toxicity	[redacted]GR318	29		34500			
25	Juvenile (2-Month Recovery)	00655225 ([redacted]GR039)	PND 63		38600			
30	6-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289422 ([redacted]MA056)	182		58500			
30	1-Month Dose Range-Finding	8391764 ([redacted]GR129)	28	309/NR[c] (M/F)				
30	104-Week Carcinogenicity	8373335 ([redacted]MA056)	178		76000			
30	Definitive EFD	20055528 ([redacted]GR073)	GD 17		58300 (F)			
30	Definitive EFD	20058757 ([redacted]GR183)	GD 19			10300 (F)		
30[d]	Impurity (abrocitinib alone)	[redacted]GR270	84		54500			
30[d]	Impurity (abrocitinib with impurities)	[redacted]GR270	84		51000			
35	9-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289421 ([redacted]MA055)	273				21400	
40	1-Month Toxicity	[redacted]GR319	29				13800	

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Abrocitinib

Dose (mg/kg/day)[a]	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Total Steady State AUC_{24} (ng•h/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Cynomolgus Monkey	Human
				Combined Sexes[b]	Combined Sexes[b]	F	Combined Sexes[b]	
45	6-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289422 ([redacted]MA056)	182		91200			
50	7-Day Dose Range-Finding	[redacted]MA026	7		32000			
50	Phototoxicity in Females	20052793 ([redacted]MA095)	7		57300 (F)			
50	14-Day Dose Range-Finding	[redacted]MA068	14				20100	
60	1-Month Dose Range-Finding	8391764 ([redacted]GR129)	28	728/NR[c] (M/F)				
60 (M)	6-Month Carcinogenicity	8398640 ([redacted]GR243)	29	1350 (M)				
60	Definitive EFD	20055528 ([redacted]GR073)	GD 17		90000 (F)			
70	6-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289422 ([redacted]MA056)	182		141000			
70	Female Fertility (1-Month Recovery)	[redacted]GR261	10		157000 (F)			
75	1-Month Toxicity	[redacted]GR318	29		130000			
75	9-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289421 ([redacted]MA055)	273				55200	
75 (F)	6-Month Carcinogenicity	8398640 ([redacted]GR243)	29	3200 (F)				
75	Definitive EFD	20058757 ([redacted]GR183)	GD 19			43000 (F)		
75	Juvenile (2-Month Recovery)	00655225 ([redacted]GR039)	PND 63		147000			
80	1-Month Toxicity	[redacted]GR319	29				46900	
100/75[e]	1-Month Dose Range-Finding	8384615 ([redacted]GR044)	28	NR[c]/469 (M/F)				
100	2-Week Dose Range-Finding	8380217 ([redacted]MA077)	14	3320				
100	14-Day Dose Range-Finding	[redacted]MA068	14				115000	
100	In Vivo Micronucleus	WIL-655033 ([redacted]GR327)	1		106000 (M)			
150 QD	Single-Dose TK	[redacted]MA052	1				99600/ 271000 (M/F)	
150	7-Day Dose Range-Finding	[redacted]MA026	7		126000			
150	Phototoxicity in Females	20052793 ([redacted]MA095)	7		176000 (F)			
150	1-Month Toxicity	[redacted]GR319	29				171000	
200	1-Month Toxicity	[redacted]GR318	29		310000			

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Abrocitinib

Dose (mg/kg/day)[a]	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Total Steady State AUC_{24} (ng•h/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Cynomolgus Monkey	Human
				Combined Sexes[b]	Combined Sexes[b]	F	Combined Sexes[b]	
250/150[f]	1-Month Dose Range-Finding	8384615 (18GR044)	28	5150/2810 (M/F)				
250	Single-Dose TK in Males	[redacted]MA015	1		318000 (M)			
300	2-Week Dose Range-Finding	8380217 ([redacted]MA077)	14	34700				
300	7-Day Dose Range-Finding	[redacted]MA026	7		205000			
300	In Vivo Micronucleus	WIL-655033 ([redacted]GR327)	1		354000 (M)			
300	Phototoxicity in Females	20052793 ([redacted]MA095)	7		390000 (F)			
450	1-Month Dose Range-Finding	8384615 ([redacted]GR044)	8/11[g]	48300/192000 (M/F)				
500	Single-Dose TK in Males	[redacted]MA015	1		391000 (M)			
600	In Vivo Micronucleus	WIL-655033 ([redacted]GR327)	1		649000 (M)			
600	2-Week Dose Range-Finding	8380217 ([redacted]MA077)	14	233000				
1000	Single-Dose TK in Males	[redacted]MA015	1		NC (M)[h]			
200 mg	Clinical Study	PMAR-EQDD-B745d-DP4-962						5660

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Abrocitinib

Dose (mg/kg/day)[a]	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Total Steady State C_{max} (ng/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Cynomolgus Monkey	Human
				Combined Sexes[b]	Combined Sexes[b]	F	Combined Sexes[b]	
3	104-Week Carcinogenicity	8373335 ([redacted]MA056)	178		930			
3	Female Fertility (1-Month Recovery)	[redacted]GR261	10		932 (F)			
5	Juvenile (2-Month Recovery)	00655225 ([redacted]GR039)	PND 63		988			
10	1-Month Dose Range-Finding	8391764 ([redacted]GR129)	28	44.4/15.6 (M/F)				
10	6-Month Carcinogenicity	8398640 ([redacted]GR243)	29	96.4/60.2 (M/F)				
10	104-Week Carcinogenicity	8373335 ([redacted]MA056)	178		3530			
10	Female Fertility (1-Month Recovery)	[redacted]GR261	10		2660 (F)			
10	Definitive EFD	20055528 ([redacted]GR073)	GD 17		2180 (F)			
10	Definitive EFD	20058757 ([redacted]GR183)	GD 19			667 (F)		
15	9-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289421 ([redacted]MA055)	273				861	
20 (M)	6-Month Carcinogenicity	8398640 ([redacted]GR243)	29	284 (M)				
25 (F)	6-Month Carcinogenicity	8398640 ([redacted]GR243)	29	262 (F)				
25	1-Month Toxicity	[redacted]GR318	29		5760			
25	Juvenile (2-Month Recovery)	00655225 ([redacted]GR039)	PND 63		5340			
30	6-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289422 ([redacted]MA056)	182		9110			
30	1-Month Dose Range-Finding	8391764 ([redacted]GR129)	28	126/41.7 (M/F)				
30	104-Week Carcinogenicity	8373335 ([redacted]MA056)	178		10700			
30	Definitive EFD	20055528 ([redacted]GR073)	GD 17		4880 (F)			
30	Definitive EFD	20058757 ([redacted]GR183)	GD 19			4750 (F)		
30[d]	Impurity (abrocitinib alone)	[redacted]GR270	84		8280			
30[d]	Impurity (abrocitinib with impurities)	[redacted]GR270	84		7560			
35	9-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289421 ([redacted]MA055)	273				2170	
40	1-Month Toxicity	[redacted]GR319	29				2430	
45	6-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289422 ([redacted]MA056)	182		12100			

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Abrocitinib

Dose (mg/kg/day)[a]	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Total Steady State C_{max} (ng/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Cynomolgus Monkey	Human
				Combined Sexes[b]	Combined Sexes[b]	F	Combined Sexes[b]	
50	7-Day Dose Range-Finding	[redacted]MA026	7		4690			
50	Phototoxicity in Females	20052793 ([redacted]MA095)	7		8430 (F)			
50	14-Day Dose Range-Finding	[redacted]MA068	14				3420	
60	1-Month Dose Range-Finding	8391764 ([redacted]GR129)	28	310/226 (M/F)				
60 (M)	6-Month Carcinogenicity	8398640 ([redacted]GR243)	29	980 (M)				
60	Definitive EFD	20055528 ([redacted]GR073)	GD 17		6410 (F)			
70	6-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289422 ([redacted]MA056)	182		14900			
70	Female Fertility (1-Month Recovery)	[redacted]GR261	10		12600 (F)			
75	1-Month Toxicity	[redacted]GR318	29		11400			
75	9-Month Toxicity (12-Week Recovery)	8289421 ([redacted]MA055)	273				5170	
75 (F)	6-Month Carcinogenicity	8398640 (18GR243)	29	1290 (F)				
75	Definitive EFD	20058757 ([redacted]GR183)	GD 19			16800 (F)		
75	Juvenile (2-Month Recovery)	00655225 ([redacted]GR039)	PND 63		13800			
80	1-Month Toxicity	[redacted]GR319	29				3780	
100/75[e]	1-Month Dose Range-Finding	8384615 ([redacted]GR044)	28	850/201 (M/F)				
100	2-Week Dose Range-Finding	8380217 ([redacted]MA077)	14	1060				
100	14-Day Dose Range-Finding	[redacted]MA068	14				12800	
100	In Vivo Micronucleus	WIL-655033 ([redacted]GR327)	1		9610 (M)			
150 QD	Single-Dose TK	[redacted]MA052	1				13400/21400 (M/F)	
150	7-Day Dose Range-Finding	[redacted]MA026	7		9990			
150	Phototoxicity in Females	20052793 ([redacted]MA095)	7		17100 (F)			
150	1-Month Toxicity	[redacted]GR319	29				14100	
200	1-Month Toxicity	[redacted]GR318	29		23400			
250/150[f]	1-Month Dose Range-Finding	8384615 ([redacted]GR044)	28	1500/641 (M/F)				
250	Single-Dose TK in Males	[redacted]MA015	1		27300 (M)			
300	2-Week Dose Range-Finding	8380217 ([redacted]MA077)	14	8850				
300	7-Day Dose Range-Finding	[redacted]MA026	7		15400			

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Abrocitinib

Dose (mg/kg/day)[a]	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Total Steady State C_{max} (ng/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Cynomolgus Monkey	Human
				Combined Sexes[b]	Combined Sexes[b]	F	Combined Sexes[b]	
300	In Vivo Micronucleus	WIL-655033 ([redacted]GR327)	1		27900 (M)			
300	Phototoxicity in Females	20052793 ([redacted]MA095)	7		25700 (F)			
450	1-Month Dose Range-Finding	8384615 ([redacted]GR044)	8/11[g]	7930/19900 (M/F)				
500	Single-Dose TK in Males	[redacted]MA015	1		40600 (M)			
600	2-Week Dose Range-Finding	8380217 ([redacted]MA077)	14	21100				
600	In Vivo Micronucleus	WIL-655033 ([redacted]GR327)	1		35400 (M)			
1000	Single-Dose TK in Males	[redacted]MA015	1		52700 (M)			
30	Fertility and EED	655170 ([redacted]GR089)	12		6990/10700 (M/F)			
45	Fertility and EED	655170 ([redacted]GR089)	12		13100/12100 (M/F)			
70	Fertility and EED	655170 ([redacted]GR089)	12		12500/16500 (M/F)			
200 mg	Clinical Study	PMAR-EQDD-B745d-DP4-962						1120

NOTE: Shaded areas = Not applicable.
C_{max} = maximum observed concentration; EED = early embryonic development; EFD = embryo-fetal development; F = female; GD = Gestation Day; M = male; NA = not applicable; NR = not reported; PND = Postnatal Day; TK = toxicokinetic.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Combined-sex values unless otherwise specified.
c. Profile had less than 3 measurable concentrations.
d. Dose of 30 mg/kg/day of abrocitinib alone or 30 mg/kg/day of abrocitinib blended with 3 impurities: PF-07103164, PF-07216658, and PF-07103166.
e. Due to abrocitinib-related moribundity at the high dose (450 mg//kg/day), the 100 mg/kg/day dose was lowered to 75 mg/kg/day beginning Day 12.
f. Due to abrocitinib-related body weight loss at 250 mg/kg/day, the dose was lowered to 150 mg/kg/day beginning Day 15 after a 4-day dosing holiday on Days 11-14.
g. Due to abrocitinib-related moribundity at the high dose (450 mg/kg/day), blood samples were collected on Day 8 (males) and Day 11 (females).
h. All animals were euthanized or died prior to the 24-hour collection period.

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: Abrocitinib

Lot/Batch Number	Assay (%)	Specified Impurities			Study Number (Sponsor Reference Number)	Type of Study
		PF-03817968	PF-06794710	PF-02124391[a]		
PF-04965842-00-0005	99.0%[b]	NA	NA	NA	[redacted]GTX03	In Vitro Mechanistic FISH Assay in TK6 cells
PF-04965842-00-0007	99.4%[b]	NA	NA	NA	[redacted]MA015	Single Dose TK Rat
PF-04965842-00-0007	99.4%[b]	NA	NA	NA	[redacted]GR190	In Vitro Comparison to Tofacitinib in Human Cellular Immune Function Assays
PF-04965842-00-0008	99.7%[b]	NA	NA	NA	[redacted]MA026	7-Day DRF Rat
PF-04965842-00-0010[c]	99.5%[b]	NA	NA	NA	[redacted]MA052	Single Dose TK Cynomolgus Monkey
PF-04965842-00-0012[c]	99.6%[b]	NA	NA	NA	[redacted]MA052	Single Dose TK Cynomolgus Monkey
PF-04965842-00-0012[c]	99.6%[b]	NA	NA	NA	[redacted]MA068	14-Day DRF Cynomolgus Monkey
PF-04965842-00-0013	99.4%[b]	NA	NA	NA	[redacted]GR190	In Vitro Comparison to Tofacitinib in Human Cellular Immune Function Assays
GR06528	99.1%	0.10%	0.07%	NMT 0.05%	[redacted]GR318	1-Month Rat
GR06528[c]	99.1%	0.10%	0.07%	NMT 0.05%	[redacted]GR319	1-Month Cynomolgus Monkey
GR06528	99.1%	0.10%	0.07%	NMT 0.05%	MBR[redacted]-381 ([redacted]GR326)	In Vitro Bacterial Reverse Mutagenicity
GR06528	99.1%	0.10%	0.07%	NMT 0.05%	MBR[redacted]-382 ([redacted]GR325)	In Vitro Micronucleus in TK6 Cells
GR06528	99.1%	0.10%	0.07%	NMT 0.05%	WIL-655033 ([redacted]GR327)	In Vivo Rat Bone Marrow Micronucleus
GR06528	99.1%	0.10%	0.07%	NMT 0.05%	20058757	Definitive EFD Rabbit
GR07194	99.4%	NMT 0.05%	NMT 0.05%	0.14%	([redacted]GR183)	
GR07194	99.4%	NMT 0.05%	NMT 0.05%	0.14%	20052793 ([redacted]MA095)	7-Day Phototoxicity Rat
GR07194	99.4%	NMT 0.05%	NMT 0.05%	0.14%	8289422 ([redacted]MA056)	6-Month Rat With 12-Week Recovery

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: Abrocitinib

Lot/Batch Number	Assay (%)	Specified Impurities			Study Number (Sponsor Reference Number)	Type of Study
		PF-03817968	PF-06794710	PF-02124391[a]		
GR07194[c]	99.4%	NMT 0.05%	NMT 0.05%	0.14%	8289421 ([redacted]MA055)	9-Month Cynomolgus Monkey With 12-Week Recovery
GR07194	99.4%	NMT 0.05%	NMT 0.05%	0.14%	20052794 ([redacted]GR307)	DRF EFD Rat
GR07194	99.4%	NMT 0.05%	NMT 0.05%	0.14%	20055528 ([redacted]GR073)	Definitive EFD Rat
GR07194	99.4%	NMT 0.05%	NMT 0.05%	0.14%	20052795 ([redacted]GR306)	DRF EFD Rabbit
GR07194	99.4%	NMT 0.05%	NMT 0.05%	0.14%	20058757 ([redacted]GR183)	Definitive EFD Rabbit
GR10502	98.0%	NMT 0.05%	0.22%	NMT 0.05%	8380217 ([redacted]MA077)	2-Week Tolerability and TK Mouse
GR10502	98.0%	NMT 0.05%	0.22%	NMT 0.05%	8384615 ([redacted]GR044)	1-Month DRF Mouse
GR10502	98.0%	NMT 0.05%	0.22%	NMT 0.05%	8391764 ([redacted]GR129)	1-Month DRF Mouse
GR10502	98.0%	NMT 0.05%	0.22%	NMT 0.05%	8398640 ([redacted]GR243)	6-Month Carcinogenicity Tg Mouse
GR10502	98.0%	NMT 0.05%	0.22%	NMT 0.05%	655170 ([redacted]GR089)	Fertility and Early Embryonic Development to Implantation Rat
GR10502	98.0%	NMT 0.05%	0.22%	NMT 0.05%	[redacted]GR261	Fertility With 1-Month Reversibility Female Rat
GR10502	98.0%	NMT 0.05%	0.22%	NMT 0.05%	00655212 ([redacted]GR074)	Pre- and Postnatal Development Rat
GR10502	98.0%	NMT 0.05%	0.22%	NMT 0.05%	00655213 ([redacted]GR060)	DRF Juvenile Rat
GR10502	98.0%	NMT 0.05%	0.22%	NMT 0.05%	00655225 ([redacted]GR039)	Definitive Juvenile Rat With 2-Month Recovery
GR11722[d]	99.0%	NMT 0.05%	0.09%	NMT 0.05%	8373335 ([redacted]MA056)	104-Week Carcinogenicity Rat

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: Abrocitinib

Lot/Batch Number	Assay (%)	Specified Impurities					Study Number (Sponsor Reference Number)	Type of Study
		PF-03817968	PF-06794710	PF-02124391[a]	PF-07103164	PF-04988748		
705848-806-01	99.9%	NMT 0.05%	NMT 0.05%	NMT 0.05%	0.44%	NMT 0.05%	[redacted]GR270	13-Week Impurity Qualification study in Rats

DRF = dose range-finding; EFD = embryo-fetal development; FISH = fluorescent in situ hybridization; NA = not applicable; NMT = not more than; TK6 = thymidine kinase-6; TK = toxicokinetic.
a. PF-02124391 is an impurity specific to route SRID A and is not present in the commercial route.
b. Purity based on area percent.
c. Data taken from ingoing drug substance batch.
d. Parent Lot E010018400.

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY

Test Article: Abrocitinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/ Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] Methylcellulose/ 0.1% [v/v] Polysorbate 80)/ Suspension) Lot PF-04965842-00-0007	0, 250, 500, 1000	3M	Not reported	**1000 mg/kg**: Mortality (1/3 died at 7 hours postdose; 2/3 euthanized moribund at 8 hours postdose), ↓ activity, chromodacryorrhea	[redacted]MA015/ No

Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes):

Dose (mg/kg)	0	250	500	1000
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	27300	40600	52700
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	318000	391000	NC[c]

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; NOAEL = no observed adverse effect level; QD = once daily.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight.

b. Samples collected, but not analyzed for plasma test article concentrations.

c. All animals were euthanized or died prior to the 24-hour collection period.

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY

Test Article: Abrocitinib

Species/ Strain	Study Phase	Method of Administration and Dose Volume	Vehicle/ Formulation	Test Article Lot Number	Dose[a] (mg/kg)	Number/ Sex/ Group[b]	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Monkey/ Cynomolgus	**Arm 1**	Oral Gavage 10 mL/kg	0.5% (w/v) Methylcellulose/ 0.5% HPMCAS-HF in 20 mM tris buffer (pH 7.4)/ SDD[c] Suspension	PF-04965842-00-0010	150 (fed state 1 hour prior to dose)	1M, 1F	**150 mg/kg:** None (optimal formulation dosed in the fed state)	[redacted]MA052/ No
	Arm 2	Oral Gavage 5 mL/kg (BID)	0.5% (w/v) Methylcellulose/ 0.5% HPMCAS-HF in 20 mM tris buffer (pH 7.4)/SDD[c] Suspension	PF-04965842-00-0010	150 (75 BID 4 hours apart)	1M, 1F	**150 (75 BID) mg/kg:** Emesis (M; 7-10 hours postdose)	
	Arm 3	Oral Gavage 5 mL/kg	1.25% HPC-SL/ 0.05% DOSS in deionized water/Nanosuspension	PF-04965842-00-0012	50, 150	2M, 2F	**≥50 mg/kg:** None	
	Arm 4	IV Bolus 5 mL/kg	10% SBECD in sterile water for injection	PF-04965842-00-0012	1	1M, 1F	**1 mg/kg:** None	
	Arm 5	Oral Gavage 5 mL/kg	0.5% (w/v) Methylcellulose/ 0.1% (v/v) Polysorbate 80 in deionized water	PF-04965842-00-0012	3	1M, 1F	**3 mg/kg:** None	

Toxicokinetic Parameters (M/F):	Arm 1	Arm 2	Arm 3		Arm 4	Arm 5
Dose (mg/kg)	150	150 (75 BID)	50	150	1	3
C_{max} (ng/mL)	13400/21400	22500/16200	2730/5220	6740/2020	NA	NA
AUC_{24} (ng•h/mL)	99600/271000	175000/174000	15400/42100	81900/25400	NA	NA
Clearance (mL/min/kg)	NA	NA	NA	NA	29.2/32.4	NA
V_{ss} (L/kg)	NA	NA	NA	NA	0.650/0.984	NA
Absolute Bioavailability (%)	NA	NA	NA	NA	NA	10.1/9.7

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BID = twice daily; C_{max} = maximum observed concentration; DOSS = Dioctyl sodium sulfosuccinate; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HF = high fine; HPC = hydroxypropyl cellulose; HPMCAS-HF = hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-high fine; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; SBECD = sulfobutylether-β-cyclodextrin; SDD = spray dried dispersion; V_{ss} = steady-state volume of distribution.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight.

b. Total of 2 males and 2 females utilized. All animals were given at least a 48-hour washout (dose free) between doses.

c. Formulated as an SDD with 26.5% PF-04965842 and 73.5% HPMCAS-medium grade.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Abrocitinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/ Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] Methylcellulose/ 0.1% [v/v] Polysorbate 80 in deionized water/ Suspension) Lot PF-04965842-00-0008	7 Days	0, 50, 150, 300	5M	Not reported	**≥50 mg/kg/day:** ↓ BWG, ↓ reticulocytes, ↓ WBC, ↓ lymphocytes, ↓ thymus weights (absolute & relative), ↓ spleen weights (absolute & relative), small thymus, ↓ lymphoid cellularity of thymus, ↓ lymphoid cellularity of mesenteric lymph node, ↓ hematopoiesis of spleen **≥150 mg/kg/day:** ↓ Eosinophils, ↓ cellularity of bone marrow, ↓ lymphoid cellularity of splenic PALS, ↓ mineralized cartilage in femur and/or tibia bone **300 mg/kg/day**: ↓ FC, ↓ platelets, ↑ neutrophils, ↑ ALT, ↑ AST, ↑ GLDH, ↑ BUN, ↑ creatinine ↑ ALB, ↓ phosphorus, ↑ HDL, small spleen	[redacted]MA026/ No

Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes):

Dose (mg/kg/day)	0	50	150	300
Day 1				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	6810	11800	14600
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	35000	157000	203000
Day 7				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	4690	9990	15400
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	32000	126000	205000

ALB = albumin; ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BUN = blood urea nitrogen; BWG = body weight gain; C_{max} = maximum observed concentration; FC = food consumption; GLDH = glutamate dehydrogenase; GLP = Good Laboratory Practice; HDL = high density lipoprotein; M = male; NA = not applicable; NOAEL= no observed adverse effect level; PALS = periarteriolar lymphoid sheaths; QD = once daily; WBC = white blood cell.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. Samples collected but not analyzed for plasma test article concentrations.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Abrocitinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] Methylcellulose/ 0.5% HPMCAS-HF in 20 mM tris buffer in purified water, pH 7.4, SDD[c]/Suspension) Lot PF-04965842-00-0012	15 Days	0, 50, 100 (fed state)	0: 1M, 1F 50, 100: 2M, 1F	Not reported	**50 mg/kg/day:** ↓ WBC, ↓ lymphocytes **≥50 mg/kg/day:** ↓ Thymus weights (absolute & relative), small thymus (M), ↓ lymphoid cellularity of thymus (M), ↓ lymphoid cellularity of spleen, ↓ lymphoid cellularity of GALT, ↓ lymphoid cellularity of mesenteric lymph node **100 mg/kg/day:** Emesis, ↓ LDL, ↓ lymphoid cellularity of thymus (M + F)	[redacted]MA068/ No

Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes):

Dose (mg/kg/day)	0	50	100
Day 7			
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	3740	15200
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	21400	106000
Day 14			
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	3420	12800
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	20100	115000

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GALT = gut-associated lymphoid tissue; GLP = Good Laboratory Practice; HPMCAS-HF = hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-high fine; HPMCAS-MG = hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-medium granular; LDL = low density lipoprotein; M = male; NA = not applicable; NOAEL= no observed adverse effect level; QD = once daily; SDD = spray dried dispersion; WBC = white blood cells.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. Samples were not analyzed for plasma drug concentrations.

c. Formulated as an SDD with 24.4% PF-04965842 and 75.6% HPMCAS-MG.

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 1-Month Oral Gavage Toxicity Study of PF-04965842 in Rats

Test Article: Abrocitinib

Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age of First Dose: ~ 9 Weeks
Date of First Dose: 14 Nov 20[redacted]
Duration of Dosing: 1 Month
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: [redacted]GR318
Lot Number: GR06528
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5 % (w/v) Methylcellulose/0.1% (v/v) Polysorbate 80 in purified water/Suspension
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 25 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**25**		**75**		**200**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicokinetics	3	3	4	4	4	4	4	4
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]		4610		10700		17600	
Day 29	NA[b]		5760		11400		23400	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]		27900		129000		271000	
Day 29	NA[b]		34500		130000		310000	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g)	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR318 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		200	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations								
Abrasion (mouth, lips, jaw, shoulder, and/or cervical region)[c]	0	0	1	0	1	1	4	3
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation (Day 30)								
Red Blood Cells (10e6/µL)	-	8.103	-	7.787	-	8.083	-	7.343§
Hemoglobin (g/dL)	-	14.42	-	14.38	-	14.93	-	13.91*
Hematocrit (%)	-	44.78	-	43.63	-	45.46	-	41.72§
Mean Cell Hemoglobin (pg)	-	17.83	-	18.50	-	18.47	-	18.92*
Mean Cell Hemoglobin Concentration (g/dL)	-	32.22	-	32.93	-	32.86	-	33.32*
Red Cell Distribution Width (%)	-	11.07	-	11.46*	-	12.20‡	-	15.86§
Reticulocytes (10e3/µL)	244.7	237.3	210.0*	193.8	208.2*	217.2	191.2†	321.3§
Platelets (10e3/µL)	950.4	-	946.9	-	834.8‡	-	820.0§	-
White Blood Cells (10e3/µL)	4.87	2.52	3.06‡	1.68*	1.82§	1.09‡	1.85§	1.67‡
Lymphocytes (10e3/µL)	3.939	1.868	2.426‡	1.157*	1.287§	0.713‡	1.038§	0.950‡
Monocytes (10e3/µL)	0.113	-	0.067*	-	0.059*	-	0.093*	-
Eosinophils (10e3/µL)	0.077	0.047	0.032‡	0.022*	0.013§	0.009§	0.014§	0.004§
Neutrophils (10e3/µL)	-	0.523	-	0.437	-	0.318	-	0.625*
Clinical Chemistry (Day 30)								
Alanine Aminotransferase (U/L)	23.4	16.1	24.0	16.1	25.5	22.1‡	37.3§	34.1§
Aspartate Aminotransferase (U/L)	77.6	61.9	76.9	75.6†	89.3*	83.9‡	102.9§	90.9§
Alkaline Phosphatase (U/L)	-	36.9	-	53.9*	-	82.7§	-	89.8§
Total Bilirubin (mg/dL)	-	<0.10	-	0.10*	-	<0.12*	-	0.15‡
Cholesterol (mg/dL)	51.9	41.0	51.6	42.8	56.9	50.9	62.0*	59.9†
High Density Lipoprotein (mg/dL)	49.3	38.5	50.4	40.9	53.9	48.6	60.1*	59.8‡
Total Protein (g/dL)	5.86	6.23	5.96	6.08	6.23‡	6.41	6.52§	6.60§
Albumin (g/dL)	3.72	3.96	3.79	3.90	3.94‡	4.06	4.21§	4.21‡
Globulin (g/dL)	2.14	2.26	2.17	2.18	2.29*	2.35	2.31*	2.39†
Albumin/Globulin Ratio	1.77	-	1.74	-	1.72	-	1.83*	-

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR318 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**25**		**75**		**200**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[d]								
Thymus								
Absolute (g)	0.5018	0.3332	-31†	-35§	-62§	-56§	-63§	-69§
Relative (g/g x 100 body weight)	0.1637	0.1801	-32‡	-36§	-62§	-58§	-64§	-71§
Relative (g/g brain weight)	0.2501	0.1813	-30*	-34‡	-62§	-55§	-60§	-68§
Spleen								
Absolute (g)	0.581	0.455	-21†	-31§	-27§	-34§	-45§	-40§
Relative (g/g x 100 body weight)	0.190	0.246	-23‡	-32§	-28§	-38§	-46§	-44§
Relative (g/g brain weight)	0.289	0.246	-20†	-29§	-27§	-33§	-42§	-39§
Liver								
Absolute (g)	8.07	4.89	+4	-2	+2	+4	+7	+19§
Relative (g/g x 100 body weight)	2.64	2.65	+2	-5	+1	-2	+6*	+10§
Relative (g/g brain weight)	4.01	2.65	+5	0	+2	+5	+14*	+22§
Gross Pathology								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Thymus, small	0	0	0	0	0	1	0	3
Skin, wound/scar/crust	0	0	1	0	1	0	2	2
Histopathology								
Number Examined[e]	10	10	10	10	10	10	10	10
Thymus								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Mild	0	0	10	9	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	7	8	1	0
Marked	0	0	0	0	3	1	3	7
Severe	0	0	0	0	0	1	5	3

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR318 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		200	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spleen								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	4	5	2	0	3	0
Mild	0	0	6	5	8	10	7	10
Hematopoiesis, extramedullary								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	4
GALT								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0 (9)	0 (8)	3	9
Mesenteric Lymph Node								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	6	10	2	0 (9)	1	0
Mild	0	0	0	0	7	9 (9)	9	0
Moderate	0	0	0	0	0	0 (9)	0	10
Inguinofemoral Lymph Node								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0 (9)	0	0 (8)	0	6 (7)	7	3 (8)	3 (9)
Mild	0 (9)	0	0 (8)	0	0 (7)	0	4 (8)	5 (9)
Moderate	0 (9)	0	0 (8)	0	0 (7)	0	0 (8)	1 (9)
Liver								
Hepatocyte hypertrophy, periportal								
Minimal	0	0	0	0	0	0	6	7
Mild	0	0	0	0	0	0	0	3
Stifle Joint (Bone)								
Dystrophy, physis								
Minimal	0	0	0	0	6	0	1	4
Mild	0	0	0	0	4	10	6	6
Moderate	0	0	0	0	0	0	3	0

Study Number: [redacted]GR318 (continued)

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		200	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Brown Adipose Tissue								
Increased vacuolation, coarse								
Minimal	0	0	0	0	0	7	0	4
Mild	0	0	0	0	0	0	0	6
Skin and Adnexa								
Hyperkeratosis, epidermis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Erosion/ulcer								
Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	1	0	2	1

∗ p ≤0.05, † p ≤0.01, ‡ p ≤0.005, § p ≤0.001, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.

- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GALT = gut-associated lymphoid tissue; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; QD = once daily.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. All samples below assay limit of quantitation (1.00 ng/mL).

c. The abrasions were first observed on Day 13, and in some instances, resolved by study end.

d. Group means are shown for controls. Percent differences from controls are shown for treated groups. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences.

e. Missing protocol-required organs/tissues in some groups. Number in () indicates number of organs/tissues examined microscopically.

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: **A 6-Month Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of PF-04965842 in Rats With a 12-Week Recovery Phase**

Test Article: **Abrocitinib**

Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age of First Dose: 6 to 7 Weeks
Date of First Dose: 16 Oct 20[redacted]
Duration of Dosing: 6 Months
Duration of Postdose: 12 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: 8289422
Sponsor Reference: [redacted]MA056
Lot Number: GR07194
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.1% (v/v) Polysorbate 80 in reverse osmosis water
GLP Compliance: Yes
Special Features: Transmission electron microscopic evaluation of the prostate was conducted on selected males
No Observed Adverse Effect Level: 45 mg/kg/day (males)
70 mg/kg/day (females)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**30**		**45**		**70**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	20	20	15	15	15	15	20	20
Toxicokinetics	5	5	5	5	5	5	5	5
Toxicokinetics (Combined Sexes):	**Combined Sexes**		**Combined Sexes**		**Combined Sexes**		**Combined Sexes**	
C_{max} (ng/mL)								
Day 92	NA[b]		7770		9950		15500	
Day 182	NA[b]		9110		12100		14900	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 92	NA[b]		62400		98900		167000	
Day 182	NA[b]		58500		91200		141000	
Toxicokinetics (M/F):	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
C_{max} (ng/mL)								
Day 92	NA[b]	NA[b]	6730	8610	8720	11200	12800	18100
Day 182	NA[b]	NA[b]	7240	10600	11000	13200	12700	17000
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 92	NA[b]	NA[b]	59700	64500	95600	102000	142000	191000
Day 182	NA[b]	NA[b]	50600	64800	97800	84600	142000	140000
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	0	0	2[c]
Toxicokinetics	0	0	1[c]	0	0	0	0	0

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8289422 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		30		45		70	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Body Weight (g)[d]								
Day 183	470	-	1.0	-	0.98	-	0.95	-
Body Weight Change (g)[d]								
Interval Day 1-183	255	-	1.0	-	0.95	-	0.91	-
Food Consumption (g)[d]								
Interval Day 176-183	125	-	1.0	-	0.95	-	0.95	-
Clinical Observations								
Scab (various locations)	0	0	3	1	2	3	4	9
Sore (various locations)	0	1	0	1	1	0	0	3
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Red Blood Cells (E6/µL)								
Day 92	9.39	8.64	9.36	8.53	9.31	8.40	9.03*	8.20*
Day 183	9.81	9.04	9.68	8.95	9.36*	8.58*	9.10*	8.51*
Hemoglobin (g/dL)								
Day 183	16.9	-	16.7	-	16.4*	-	16.2*	-
Hematocrit (%)								
Day 183	53.2	50.9	52.4	50.4	52.0	49.3*	50.4*	48.4*
Red Blood Cell Distribution Width (%)								
Day 92	13.2	11.7	13.8	12.5*	14.3*	13.4*	14.7*	14.1*
Day 183	13.7	11.2	14.2	12.1*	14.7	13.0*	15.1*	13.7*
Reticulocytes (E3/µL)								
Day 92	170.8	-	145.5*	-	147.3*	-	157.6	-
Platelet Count (E3/µL)								
Day 92	755	734	662*	634*	643*	642*	661*	568*
Day 183	783	771	669*	635*	688*	577*	718	683
Mean Platelet Volume (fL)								
Day 92	7.9	-	8.0	-	8.3*	-	8.1	-
Day 183	8.0	-	8.2	-	8.5*	-	8.0	-
White Blood Cells (E3/µL)								
Day 92	5.45	3.36	2.43*	2.00*	2.53*	1.62*	1.89*	1.83*
Day 183	5.29	2.98	2.06*	1.44*	1.75*	1.44*	1.69*	2.26*

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8289422 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		30		45		70	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Neutrophils (E3/µL)								
Day 92	1.31	-	0.83*	-	1.28*	-	0.88*	-
Day 183	1.61	-	0.93*	-	0.92*	-	0.97*	-
Lymphocytes (E3/µL)								
Day 92	3.76	2.41	1.41*	1.16*	0.98*	0.82*	0.83*	0.71*
Day 183	3.36	2.03	0.97*	0.73*	0.68*	0.61*	0.59*	0.62*
Monocytes (E3/µL)								
Day 92	0.21	-	0.13*	-	0.24*	-	0.14*	-
Day 183	0.20	-	0.12*	-	0.12*	-	0.11*	-
Eosinophils (E3/µL)								
Day 92	0.08	0.07	0.02*	0.02*	0.01*	0.02*	0.01*	0.04*
Day 183	0.08	0.06	0.03*	0.02*	0.02*	0.02*	0.01*	0.02*
Clinical Chemistry								
Albumin (g/dL)								
Day 92	-	5.1	-	4.8*	-	4.8*	-	4.8*
Day 183	-	5.2	-	5.0	-	4.9*	-	4.9*
Albumin Globulin Ratio								
Day 92	-	2.3	-	2.0*	-	2.0*	-	2.1*
Day 183	-	2.3	-	2.1	-	2.1*	-	2.1*
Aspartate Aminotransferase (U/L)								
Day 183	91	-	109*	-	109*	-	121*	-
Alanine Aminostransferase (U/L)								
Day 183	29	-	30	-	34*	-	37*	-
Alkaline Phosphatase (U/L)								
Day 92	-	23	-	35*	-	33*	-	34*
Day 183	-	18	-	30*	-	28*	-	30*
Calcium (mg/dL)								
Day 183	-	11.8	-	11.5	-	11.4*	-	11.5*
Urinalysis								
Abnormal Crystals[e]								
Day 92	0/20	0/19	0/15	0/15	1/15	2/15	13/20	14/20
Day 183	0/20	0/18	0/15	0/15	3/15	2/15	13/20	12/18

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8289422 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		30		45		70	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Organ Weights[d]								
Spleen								
Absolute (g)	0.7778	0.5517	0.69*	0.71*	0.67*	0.67*	0.59*	0.73*
Relative to body weight (%)	0.1668	0.2197	0.67*	0.69*	0.69*	0.69*	0.62*	0.74*
Relative to brain weight (%)	36.4848	27.8952	0.69*	0.71*	0.68*	0.68*	0.61*	0.74*
Thymus								
Absolute (g)	0.2201	0.2198	0.66*	0.57*	0.47*	0.46*	0.37*	0.44*
Relative to body weight (%)	0.0476	0.0878	0.64*	0.55*	0.48*	0.48*	0.38*	0.44*
Relative to brain weight (%)	10.3199	11.1453	0.66*	0.57*	0.48*	0.47*	0.38*	0.44*
Gross Pathology								
Number Examined	15	15	15	15	15	15	15	15[g]
Skin/subcutis, scab	0	0	0	0	0	1	0	2
Spleen, small	0	0	1	2	0	5	2	3
Histopathology[f]								
Number Examined	15	15	15	15	15	15	15	15[g]
Spleen								
Decreased Lymphoid Cellularity								
Minimal	0	0	4	5	1	2	0	0
Mild	0	0	9	9	5	5	2	8
Moderate	0	0	2	1	8	8	13	6
Marked	0	0	0	0	1	0	0	1
Increased Extramedullary Hematopoiesis								
Minimal	2	3	5	8	8	7	6	8
Mild	0	0	2	0	2	3	3	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Thymus								
Decreased Lymphoid Cellularity								
Minimal	0	0	6	2	1 (14)	3 (14)	0 (14)	0
Mild	0	0	5	6	5 (14)	4 (14)	2 (14)	3
Moderate	0	0	3	3	4 (14)	5 (14)	10 (14)	9
Marked	0	0	0	1	4 (14)	2 (14)	2 (14)	2

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8289422 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		30		45		70	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number Examined	15	15	15	15	15	15	15	15[g]
Mesenteric Lymph Node								
Decreased Lymphoid Cellularity								
Minimal	0	0	7 (14)	3	4	5	1	1
Mild	0	0	2 (14)	7	9	7	11	7
Moderate	0	0	1 (14)	0	1	3	3	6
Inguinal Lymph Node								
Decreased Lymphoid Cellularity								
Minimal	0	0	6 (12)	3	0 (14)	2 (14)	1 (12)	1 (11)
Mild	0	0	5 (12)	7	8 (14)	8 (14)	2 (12)	3 (11)
Moderate	0	0	1 (12)	4	5 (14)	3 (14)	5 (12)	6 (11)
Marked	0	0	0 (12)	0	1 (14)	1 (14)	4 (12)	1 (11)
Gut-associated Lymphoid Tissue								
Decreased Lymphoid Cellularity								
Minimal	0	0	1	0 (14)	3 (13)	2 (14)	5 (12)	3
Liver								
Mononuclear Infiltrates								
Minimal	14	14	0	1	0	1	1	1
Prostate								
Inflammation With Intranuclear Inclusions								
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Skin and Adnexa[h]								
Erosion/Ulcer								
Mild	NA	NA	NA	NA	NA	0 (1)	NA	2 (2)
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	1 (1)	NA	0 (2)
Granuloma								
Present	NA	NA	NA	NA	NA	0 (1)	NA	2 (2)
Electron Microscopy[i]								
Number Evaluated	1	NA	NA	NA	1	NA	2	NA
Prostate								
Viral Particles, Present	0	NA	NA	NA	0	NA	1	NA

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8289422 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		30		45		70	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	5	5	NA	NA	NA	NA	5	5
Body Weight Change (g)[d]								
Interval Recovery Day 1-85	45	-	NA	NA	NA	NA	0.36∗	-
Food Consumption (g)[d]								
Interval Recovery Day 1-8	135	-	NA	NA	NA	NA	0.78∗	-
Interval Recovery Day 8-15	140	-	NA	NA	NA	NA	0.84∗	-
Clinical Observations								
Scab (various locations)	1	0	NA	NA	NA	NA	2	3
Hematology/Coagulation								
Monocytes (E3/µL)								
Recovery Day 85	0.25	-	NA	NA	NA	NA	0.13∗	-

∗ p ≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.

- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; QD = once daily.

a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.

b. All samples were below the lower limit of quantitation (1.00 ng/mL).

c. Two 70 mg/kg/day females died following the scheduled clinical pathology blood collection on Day 92; these deaths were considered accidental and related to the blood collection procedure. One 30 mg/kg/day male was euthanized in a moribund condition on Day 101; on the day of euthanasia, ataxia, hypoactivity, audible respiration, and rough haircoat were observed. Based on the lack of similar observations or mortality for any other study animals, the moribund condition and death of this male was considered to be incidental and not related to the test article.

d. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

e. Number of animals with observation/total number of samples with sufficient quantity for analysis; urinary crystals were designated as either “calcium oxalate, “unknown” (comparable to the size of an epithelial cell and resemble fan shaped structures; some are full circles and some are halved), or “no type”.

f. Missing protocol-required organs/tissues in some groups. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically.

g. Includes the two 70 mg/kg/day females that died on Day 92 except for the inguinal lymph node, which included only 1/2 females.

h. Findings only presented for animals with macroscopic skin lesions noted at necropsy: one 45 mg/kg/day female and two 70 mg/kg/day females.

i. Viral particles observed were morphologically consistent in intracellular location, diameter, and shape with polyoma virus.

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 1-Month Oral Gavage Toxicity Study of PF-04965842 in Monkeys

Test Article: Abrocitinib

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Age of First Dose: ~ 3-7 Years
Date of First Dose: 10 Dec 20[redacted]

Duration of Dosing: 1 Month
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg (fed state)

Study Number: [redacted]GR319
Lot Number: 3623-101
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.5% (w/v) HPMCAS-HF in 20 mM tris buffer, pH 7.4/Suspension SDD[a]
Special Features: Blood samples were collected for immunophenotyping of lymphocyte subsets and for exploratory cytokine analysis of IL-6 and IP-10 on Days 8 and 30. All animals were treated with 5-10 mg/kg Baytril (enrofloxacin, a broad-spectrum antibiotic, to minimize the effects of enteric bacterial pathogens) was administered QD by IM injection (100 mg/mL) for 5 consecutive days prior to dose initiation and ending 2 days before the first day of dosing.
No Observed Adverse Effect Level: 80 mg/kg/day

Dose[b] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**40**		**80**		**150**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	3	3	3	3	3	3	3	3
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 8	NA[c]		1810		4840		15900	
Day 29	NA[c]		2430		3780		14100	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 8	NA[c]		10100		40700		196000	
Day 29	NA[c]		13800		46900		171000	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight Change During Interval (kg)[d]								
Interval Day 1-8	-0.03	-	-0.30†	-	-0.30‡	-	-0.33‡	-
Food Consumption								
Days 1-10	-	-	-	-	-	-	↓[e]	-

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR319 (continued)

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)		40		80		150	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations								
Emesis	1	0	0	1	3	0	3	1
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Red Blood Cells (10e6/µL)								
Day 30	6.657	6.287	6.233	6.230	5.810∗	5.280	5.633∗	5.487
Hemoglobin (g/dL)								
Day 30	13.67	13.03	12.73	12.17	11.87∗	10.63∗	11.90∗	10.70†
Hematocrit (%)								
Day 30	44.63	44.13	42.50	41.00	39.53∗	35.60∗	37.73∗	36.17†
Reticulocytes (10e3/µL)								
Day 8	45.3	67.3	38.0	33.0∗	20.7∗	22.3∗	10.7∗	10.3∗
Day 30	26.7	-	43.0	-	32.3	-	9.0	-
Lymphocytes (10e3/µL)								
Day 8	5.373	5.413	4.597	4.573	3.067	2.727∗	3.303	2.367∗
Day 30	4.667	4.457	3.147	3.950	3.093	2.957	1.203∗	1.850∗
Monocytes (10e3/µL)								
Day 8	0.443	0.313	0.440	0.407	0.353	0.517	0.247	0.297
Day 30	0.540	0.317	0.440	0.403	0.350	0.563	0.157∗	0.300
Clinical Chemistry								
Alanine Aminotransferase (U/L)								
Day 8	40.7	-	59.0	-	58.0	-	61.0∗	-
Day 30	40.3	-	71.3∗	-	60.0∗	-	67.3∗	-
Aspartate Aminotransferase (U/L)								
Day 8	33.3	-	47.0	-	41.3	-	45.3	-
Day 30	37.7	-	55.3∗	-	44.7∗	-	54.7∗	-

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR319 (continued)

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)		40		80		150	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Exploratory Cytokine Analysis								
Interferon-inducible protein-10 (pg/mL)								
Day 8	275.887	286.013	248.347	557.353	438.770	1032.043	832.663	1194.633
Day 30	294.013	215.860	287.343	403.797*	520.797	1139.723†	2817.850*	1959.153†
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[f]								
Thymus								
Absolute (g)	-	2.7607	-	1.1	-	0.60	-	0.51
Relative (g/g x 100 body weight)	-	0.0825	-	1.1	-	0.58*	-	0.51*
Relative (g/g brain weight)	-	0.0404	-	1.1	-	0.64	-	0.54
Liver								
Absolute (g)	-	61.26	-	1.1	-	1.2	-	1.3
Relative (g/g x 100 body weight)	-	1.77	-	1.2‡	-	1.2§	-	1.3§
Relative (g/g brain weight)	-	0.90	-	1.2	-	1.3	-	1.4
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Histopathology								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Cytomegalic cells (cytomegalovirus infection)[g]	0	0	0	0	0	0	3	0
Thymus								
Decreased cellularity, lymphoid								
Mild	0	0	0	0	0	1	0	2
Moderate	1	0	1	0	0	0	1	0
Marked	0	0	0	0	2	0	1	0
Severe	0	0	0	0	0	0	1	0
Spleen								
Decreased cellularity, germinal center								
Mild	0	0	0	0	2	1	0	1
Moderate	0	0	1	0	0	0	3	1

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR319 (continued)

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)		40		80		150	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Bone Marrow (Sternum)								
Decreased cellularity, all types (erythroid and myeloid precursors and megakaryocytes)								
Minimal	0	0	1	0	1	2	0	0
Mild	0	0	1	0	0	1	0	1
Moderate	0	0	1	0	2	0	3	2
Immunophenotyping								
T cells (cells/µL)								
Day 8	3634.0	3578.0	3187.3	2837.3*	1826.3	1918.7*	2125.7	1582.3*
Day 30	3312.7	3059.7	2301.7	2580.7	1969.3*	2233.0	798.7*	1273.7*
T Helper (cells/µL)								
Day 8	1789.7	1853.0	1903.3	1467.3	1023.3	990.7*	1163.7	848.0*
Day 30	1662.7	1629.7	1275.3	1353.7	1131.0	1201.3	526.7	783.7*
T Cytotoxic (cells/µL)								
Day 8	1384.7	1358.3	1477.0	1057.3	591.7	790.3*	758.7	557.0*
Day 30	1268.0	1136.0	1020.3	989.0	674.7	862.0	223.7*	408.0*
B Cell (cells/µL)								
Day 30	806.7	-	658.7	-	985.3	-	361.7	-
Natural Killer Cell (cells/µL)								
Day 8	549.7	985.7	431.7	366.0*	162.7*	219.7*	146.3*	129.3*
Day 30	354.7	711.0	154.0*	180.3*	32.7†	91.0*	12.3†	16.0*
Plasma Cells (B CD27_38) (cells/µL)								
Day 8	-	213.0	-	387.3	-	110.0	-	133.0
Day 30	263.0	212.7	199.3	379.7	259.7	128.3*	61.3*	103.7*

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: [redacted]GR319 (continued)

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)		40		80		150	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F

∗ p ≤0.05, † p ≤0.01, ‡ p ≤0.005, § p ≤0.001, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HPMCAS-HF = hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-high fine; HPMCAS-MG = hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-medium granular; IL-6 = interleukin-6; IP-10 = interferon inducible protein 10; IM = intramuscular; M = male; QD = once daily; SDD = spray dried dispersion.
a. Abrocitinib was formulated as an SDD 24.3% arocitinib and 75.7% HPMCAS-MG and contained a similar ratio of excipients as the 150 mg/kg/day arocitinib formulation.
b. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
c. All samples below assay limit of quantitation (1.00 ng/mL).
d. Actual negative body weight values are presented for all groups.
e. Animals generally consumed approximately 50% or less of total daily ration while control animals consumed approximately 75%-100% of total daily ration.
f. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
g. All males at 150 mg/kg/day had lesions consistent with cytomegalovirus sub-clinical infection which reflected expected pharmacologic over-immunosuppression by the test article at 150 mg/kg/day and did not indicate direct target organ toxicity to organs with this specific finding. Cytomegalovirus infection was characterized by neutrophilic to histiocytic inflammation with characteristic cytomegalic cells and intranuclear inclusions in multiple organs. Affected organs in individual animals included kidney, adrenal gland, mesenteric lymph node, heart, gallbladder, jejunum, ileum, and spleen.

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: **A 9-Month Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study of PF-04965842 in Cynomolgus Monkeys With a 12-Week Recovery Phase**

Test Article: **Abrocitinib**

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Age of First Dose: 2 to 4 Years
Date of First Dose: 15 Oct 20[redacted]
Duration of Dosing: 9 Months
Duration of Postdose: 12 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg (fed state)
Study Number: 8289421
Sponsor Reference: [redacted]MA055
Lot Numbers: 3626-076, 3626-080, 3626-084, 3626-088
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.5% (w/v) HPMCAS-HF in 20 mM tris buffer in reverse osmosis water, pH 7.4/Suspension SDD[a]
Special Features: Animals designated for terminal euthanasia (the first 4 animals/sex/group) were administered KLH by SC injection once on Day 183 of the dosing phase. All animals designated for the recovery euthanasia (0 and 35 mg/kg/day; 3 animals/sex) were administered KLH by SC injection once on Recovery Day 51. The KLH was administered at a concentration of 1 mg/mL, a dose of 1 mg/animal, and a constant volume of 1 mL/animal. Blood samples were collected for serum immunoglobulin, T cell-dependent antibody response, and immunophenotyping analyses. All animals were treated with 5 mg/kg (22.7 mg/mL) Baytril® (enrofloxacin, a broad-spectrum antibiotic, to minimize the effects of preexisting enteric bacterial pathogens at dose initiation), and was administered by oral gavage QD for 5 days beginning 10 days prior and ending 5 days before the first day of dosing.
No Observed Adverse Effect Level: 75 mg/kg/day

Dose[b] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**15**		**35**		**75**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	7	7	4	4	7	7	4	4
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 92	NA[c]		1080		2670		2780	
Day 273	NA[c]		861		2170		5170	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 92	NA[c]		4770		15600		22000	
Day 273	NA[c]		5760		21400		55200	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	1[d]
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8289421 (Continued)

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)		15		35		75	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations[e]								
Skin and pelage, alopecia (various locations)	0	2	1	0	1	3	0	3
Skin and pelage, thinning hair coat (various locations)	0	5	2	1	3	4	1	4
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Immunoglobulin								
IgA (mg/dL)								
Baseline	368.3	346.0	221.4	290.9	303.2	372.2	290.2	357.0
Day 177	339.1	325.7	214.2	250.6	284.2	292.7	184.8	207.8
Day 274	377.7	331.0	227.3	244.4	316.2	300.4	183.4	181.9
Immunophenotyping								
Natural killer cells (cells/µL)								
Baseline	977.6	715.3	730.3	563.8	611.0	638.6	602.8	799.5
Day 22	795.4	719.9	593.0	421.8	358.9	443.0	310.0	327.0
Day 50	914.9	767.3	607.5	374.5	350.1	405.0	258.5	412.3
Day 274	579.1	501.1	290.8	213.8	276.1	213.6	284.8	166.7
T Cell-Dependent Antibody Response[f]								
Anti-KLH IgM Response (Interpolated Titer)								
Baseline (Day 1 Predose)	58	50	50	50	50	50	50	50
Day 190	687	987	627	439*	139*	215*	50*	114*
Day 197	771	1049	745	548	333*	523	76*	216*
Day 204	425	582	478	427	251	402	66*	174
Day 211	323	461	402	330	196	354	70*	147
Anti-KLH IgG Response (Interpolated Titer)								
Baseline (Day 1 Predose)	50	50	93	50	50	50	50	75
Day 190	1855	1492	1192	337*	164*	126*	50*	50*
Day 197	3922	6725	5514	1365*	1488	1486*	236*	390*
Day 204	2472	6761	4862	1645*	2912	1927*	237	501*
Day 211	3195	5167	5081	1944*	3431	1781*	216*	563*
Hematology/Coagulation								
Red blood cell count (E6/µL)								
Baseline	6.50	-	6.61	-	6.92	-	6.35	-

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8289421 (Continued)

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)		15		35		75	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day 22	6.95	-	6.80	-	7.14	-	6.51	-
Day 50	6.98	-	7.11	-	7.09	-	6.19*	-
Day 92	6.81	-	6.57	-	6.72	-	5.97*	-
Day 274	6.59	-	6.48	-	6.40	-	5.75*	-
Hemoglobin (g/dL)								
Baseline	13.1	-	13.6	-	13.9	-	12.9	-
Day 22	14.2	-	14.2	-	14.5	-	13.4	-
Day 50	14.3	-	14.6	-	14.4	-	12.9*	-
Day 92	14.0	-	13.7	-	13.9	-	12.8	-
Day 274	13.4	-	13.4	-	13.2	-	12.1	-
Hematocrit (%)								
Baseline	44.3	-	46.6	-	46.0	-	44.3	-
Day 22	47.3	-	48.0	-	47.4	-	44.5	-
Day 50	47.6	-	51.1*	-	47.7	-	43.1	-
Day 92	46.4	-	46.7	-	45.4	-	42.6	-
Day 274	44.3	-	45.8	-	43.6	-	40.5	-
Lymphocytes (E3/µL)								
Baseline	5.64	4.14	5.47	3.61	5.35	4.17	4.56	3.85
Day 22	4.57	4.45	4.50	2.97	3.41	3.45	3.34	2.77*
Day 50	5.10	4.89	4.44	3.02*	3.65*	3.52*	3.44*	3.55
Day 92	5.28	4.60	4.34	2.75*	4.15	3.63	3.61	2.82*
Day 274	5.38	4.36	4.20	2.55*	3.75	2.92*	3.88	2.55*
Clinical Chemistry								
Phosphorus (mg/dL)								
Baseline	6.9	-	6.5	-	6.6	-	6.2	-
Day 92	6.7	-	6.2	-	6.3	-	5.6*	-
Day 274	6.5	-	6.1	-	6.2	-	4.9*	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[g]								
Spleen								
Absolute (g)	-	6.845	-	0.89	-	0.82	-	0.77
Relative to body weight (%)	-	0.1610	-	0.86	-	0.88	-	0.75
Relative to brain weight (%)	-	10.4107	-	0.86	-	0.83	-	0.78

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8289421 (Continued)

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)		15		35		75	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Thymus								
Absolute (g)	3.460	4.000	0.92	0.74	1.0	0.75	0.77	0.60
Relative to body weight (%)	0.0787	0.0971	0.89	0.69	1.0	0.77	0.68	0.56
Relative to brain weight (%)	4.5608	6.1540	0.97	0.71	1.0	0.75	0.77	0.60
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4[h]
Thymus								
Decreased lymphoid cellularity								
Minimal	1	2	1	2	4	1	0	3
Mild	0	0	0	1	0	1	1	1
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Spleen								
Decreased lymphoid cellularity								
Minimal	0	0	0	2	0	1	1	3
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	3	3	NA	NA	3	3	NA	NA
T Cell-Dependent Antibody Response[f]								
Anti-KLH IgM Response (Interpolated Titer)								
Recovery Day 65	919	1170	NA	NA	666	511	NA	NA
Anti-KLH IgG Response (Interpolated Titer)								
Recovery Day 65	2938	4202	NA	NA	2269	1413	NA	NA

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8289421 (Continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		15		35		75	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F

∗ $p \leq 0.05$, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HPMCAS-HF = hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate-high fine; Ig = Immunoglobulin; KLH = keyhole limpet hemocyanin; M = male; NA = not applicable; QD = Once daily; SC = subcutaneous; SDD = spray dried dispersion.
a. Abrocitinib was formulated as an SDD (approximately 25% abrocitinib and approximately 75% HPMCAS-HF). Control animals were administered the same amount of excipients as the 75 mg/kg/day formulation.
b. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
c. All samples below assay limit of quantitation (1.00 ng/mL).
d. One 75 mg/kg/day female was euthanized on Day 271 due to self-mutilation of the right foot, which was suspected to have been caused by severe neuropathic pain or numbness secondary to sciatic nerve injection with ketamine for study-related procedures; observations, findings, and euthanasia were not considered to be abrocitinib related.
e. Abrocitinib-related higher incidence (total number of study days) for clinical observations of alopecia and thinning hair coat (various locations) was observed for females administered 75 mg/kg/day during the dosing phase.
f. Predose anti-KLH IgM and IgG titers were below the detectable limit (1:100 cutpoint dilution for anti-KLH IgM and IgG) for all animals. The relatively high percentage of IgM and IgG titers during the recovery phase compared with the dosing phase suggest partial recovery in animals at 35 mg/kg/day.
g. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
h. Includes the 75 mg/kg/day female that was euthanized on Day 271 (3 days before the scheduled terminal euthanasia).

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: PF-04965842 Salmonella-E. Coli/Mammalian Microsome Reverse Mutation Assay

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells **Number of Independent Assays:** 2
Species/Strains: *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* **Number of Replicate Cultures:** 3
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 mixture (7.5% S9)
Vehicles: **For Test Article:** DMSO **For Positive Controls:** DMSO
Treatment: Plate incubation for 48 hours at 37°C

Study Number: MBR[redacted]-381
Sponsor Reference: [redacted]GR326
Lot Number: GR06528
S9 Batch Number: 2974 and 2975
GLP Compliance: Yes
Dates of Treatment: 29 Nov 20[redacted] and 13 Dec 20[redacted]

Cytotoxic Effects: >50% reduction in mean number of revertant colonies at ≥2500 µg/plate in TA1537 (without S9) and at 5000 µg/plate in TA98 (without S9), and TA1535 (with S9)
Genotoxic Effects: None

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	11 ± 2	70 ± 4	8 ± 3	7 ± 1	174 ± 37
PF-04965842	25	7 ± 3	80 ± 8	9 ± 0	3 ± 1	165 ± 24
	50	7 ± 2	60 ± 9	6 ± 2	4 ± 4	159 ± 3
	100	9 ± 2	82 ± 6	8 ± 4	4 ± 4	155 ± 8
	250	12 ± 4	80 ± 13	3 ± 2	3 ± 4	163 ± 11
	500	11 ± 4	82 ± 14	6 ± 2	3 ± 2	166 ± 14
	1000	9 ± 1	76 ± 7	7 ± 2	6 ± 2	132 ± 10
	2500	7 ± 3	71 ± 9	4 ± 1	2 ± 1[b]	107 ± 13
	5000[a]	5 ± 2[b]	67 ± 9	7 ± 0	1 ± 0[b]	112 ± 13
Positive controls						
2-Nitrofluorene	2.5	494 ± 97	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	436 ± 43	333 ± 11	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	192 ± 13	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	1819 ± 124

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: MBR[redacted]-381 (continued)

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	13 ± 5	73 ± 5	7 ± 0	5 ± 1	165 ± 12
PF-04965842	25	9 ± 1	69 ± 10	8 ± 3	3 ± 2	167 ± 33
	50	11 ± 3	73 ± 7	7 ± 2	5 ± 4	170 ± 9
	100	13 ± 4	82 ± 21	4 ± 5	5 ± 3	178 ± 29
	250	15 ± 6	74 ± 7	4 ± 3	4 ± 1	159 ± 6
	500	7 ± 2	78 ± 10	6 ± 3	4 ± 1	155 ± 8
	1000	13 ± 5	92 ± 17	5 ± 3	4 ± 1	141 ± 10
	2500	5 ± 0	61 ± 15	4 ± 2	3 ± 0	109 ± 11
	5000[a]	8 ± 2	69 ± 20	3 ± 2[b]	3 ± 2	109 ± 12
Positive control						
2-Aminoanthracene	2.5	1285 ± 70	846 ± 60	117 ± 45	75 ± 12	NT
	10	NT	NT	NT	NT	1759 ± 149

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: MBR[redacted]-381 (continued)

Test Article	Dose (µg/plate)	Confirmatory Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 plates ± Standard Deviation)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	12 ± 7	73 ± 17	6 ± 3	4 ± 1	152 ± 10
PF-04965842	100	7 ± 1	80 ± 11	8 ± 1	4 ± 1	145 ± 9
	250	9 ± 4	73 ± 9	3 ± 1	6 ± 1	115 ± 17
	500	7 ± 3	74 ± 13	7 ± 2	3 ± 2	123 ± 8
	1000	10 ± 1	79 ± 9	8 ± 5	2 ± 2	120 ± 10
	2500	6 ± 2	63 ± 14	8 ± 1	2 ± 1	105 ± 3
	5000[a]	5 ± 3[b]	67 ± 13	4 ± 3	3 ± 2	93 ± 9
Positive Controls:						
2-Nitrofluorene	2.5	580 ± 185	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	439 ± 63	348 ± 14	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	207 ± 30	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	1912 ± 252
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	11 ± 6	75 ± 5	5 ± 3	4 ± 1	162 ± 15
PF-04965842	100	9 ± 4	87 v 13	6 ± 4	2 ± 2	154 ± 25
	250	13 ± 7	78 ± 9	5 ± 3	5 ± 1	132 ± 12
	500	9 ± 3	88 ± 9	7 ± 5	4 ± 3	134 ± 11
	1000	12 ± 3	63 ± 13	8 ± 3	3 ± 2	140 ± 9
	2500	8 ± 3	60 ± 12	4 ± 4	4 ± 3	99 ± 3
	5000[a]	8 ± 4	72 ± 12	4 ± 3	3 ± 2	82 ± 4
Positive Control:						
2-Aminoanthracene	2.5	1520 ± 53	1152 ± 90	108 ± 5	97 ± 32	NT
	10	NT	NT	NT	NT	1523 ± 135

DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant.
a. Precipitates present.
b. Cytotoxicity: >50% reduction in mean number of revertant colonies.

2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: PF-04965842 In Vitro Micronucleus Assay in TK6 Cells

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Micronuclei
Test Cells: TK6 Human Lymphoblastoid Cells
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** DMSO
Treatment: 4-hour treatment without metabolic activation, 4-hour treatment with metabolic activation, and 27-hour treatment without metabolic activation

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 2
Number of Cells Analyzed/Culture: 2000

Study Number: MBR[redacted]-382
Sponsor Reference: [redacted]GR325
Lot Number: GR06528
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: Lot 2975
Dates of Treatment: 28 Nov and 12 Dec 20[redacted]

Cytotoxic Effects[a]: 52% cytotoxicity at 43.6 µg/mL (27 hours without metabolic activation); no cytotoxic responses >50% in the 4-hour treatments with or without metabolic activation

Genotoxic Effects: Statistically significant increases in % micronucleated cells above vehicle at 37.4 and 43.6 µg/mL in the 27-hour treatment without S9. No genotoxic effects observed in the 4-hour treatments with or without metabolic activation.

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Cytotoxicity[a] Mean %	% MN[b]	P value[c]	Trend[d]
4-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0	0.50	NA	NA
PF-04965842	150	2000	16	0.25	0.3008	
PF-04965842	175	2000	16	0.30	0.4536	NA
PF-04965842	204[e]	2000	18	0.50	1.177	
Mitomycin C	0.125	2000	30	2.75	≤0.01†	NA
4-Hour Treatment With Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0	0.30	NA	NA
PF-04965842	128	2000	3	0.25	1	
PF-04965842	150	2000	19	0.15	0.5073	NA
PF-04965842	175[e]	2000	14	0.40	0.7902	
Cyclophosphamide	11.9	2000	60	4.30	≤0.01†	NA

Study Number: MBR[redacted]-382 (continued)

2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Cytotoxicity[a] Mean %	% MN[b]	P value[c]	Trend[d]
27-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0	0.30	NA	NA
PF-04965842	27.5	2000	10	0.45	0.6065	≤0.01†
PF-04965842	37.4	2000	38	1.10	≤0.01†	
PF-04965842	43.6	2000	52	1.75	≤0.01†	
Vinblastine Sulfate	0.0025	2000	149	2.30	≤0.01†	NA

† p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MN = micronucleated mononucleates; NA = not Applicable; RPD = relative population doubling; S9 = postmitochondrial supernatant; TK6 = thymidine kinase-6.
a. Cytotoxicity = 100 - RPD, where RPD = (the number of population doublings in the treated cultures/the number of population doublings in the negative control cultures) x 100.
b. Percent MN = Mean % Micronucleated mononucleates of the replicate cultures at each dose group.
c. p value based on a Fisher's Exact Test. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
d. Trend: A Cochran-Armitage Trend Test is performed. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
e. Test article precipitate present at the end of treatment.

2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: Mechanistic Follow-up Testing for In Vitro Micronucleus Results With PF-04965842

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Centromere Positive Micronuclei[a] **Number of Independent Assays:** 1 **Study Number:** [redacted]GTX03
Test Cells: TK6 human lymphoblastoid cells **Number of Slides:** 2 **Lot Number:** PF-04965842-00-0005
Treatment: 27 Hours (direct) **GLP Compliance:** No
Vehicles: DMSO **Positive Controls:** Vinblastine **Date of Hybridization:** 07 to 10 Sep 20[redacted]
Cytotoxic Effects: NA
Genotoxic Effects: This level of centromere positive signal is indicative of an aneugenic mechanism contributing to the elevated micronucleus response

Test Article	Concentration (μM)	Total Number Micronuclei per 1000 cells[b]	Micronucleated Cells[c] (%)	Total Number Micronuclei Evaluated	Total Number C+ Micronuclei[d]	Total Number C- Micronuclei[e]	%C+[f]	%C-[g]
27-Hour Direct Test (without activation)								
Solvent Control: DMSO	1%	5	0.5	40	22	18	55.0	45.0
PF-04965842	121	23	2.3	100	66	34	66.0	34.0
PF-04965842	166	72	7.2	100	84	16	84.0	16.0
Vinblastine	0.0028	19	1.9	100	65	35	65.0	35.0

DMSO = dimethyl sulfoxide; FISH = Fluorescent In Situ Hybridization; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable.
a. FISH assay was used in this study.
b. Total number of micronuclei observed per 1000 cells scored by microscopy using Acridine Orange method on separate slides as part of Study eTK62012-15 prior to FISH analysis.
c. Percent micronucleated cells = (number of micronucleated cells / total number cells scored) x 100.
d. Total number of evaluated micronuclei which displayed centromere signal.
e. Total number of evaluated micronuclei which did not display centromere signal.
f. Percent C+ = (Total C+)/(Total C+) + (Total C-) x 100.
g. Percent C- = (Total C-)/(Total C+) + (Total C-) x 100.

2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO

Report Title: In Vivo Bone Marrow Micronucleus Assay With PF-04965842

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Bone marrow micronuclei
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age: 7 Weeks
Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes

Treatment Schedule: 2 Consecutive days
Sample Time: 18-24 Hours following the last dose
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose (w/v)/ 0.1% Polysorbate 80 (v/v) in deionized water

Study Number: WIL-655033
Spo nsor Reference: [redacted]GR327
Lot Number: GR06528
GLP Compliance: Yes
Dates of Treatment: 26 to 27 Nov 20[redacted]

Number of Cells Analyzed/Animal: 2000 PCE for micronuclei; 1000 erythrocytes for PCE:TE ratio
Special Features: None
Toxic/Cytotoxic Effects: One death and clinical signs observed at 600 mg/kg
Genotoxic Effects: None
Evidence of Exposure: Overt toxicity at 600 mg/kg/day

Test Article	Dose (mg/kg/day)	Number/ Sex/ Group	PCE:TE ratio Mean ± SD		MNPCE (%) Mean ± SD	
			Male	Female	Male	Female
Vehicle	0	5	0.60 ± 0.15	0.57 ± 0.22	0.02 ± 0.04	0.06 ± 0.04
PF-04965842	100	5	0.67 ± 0.17	0.53 ± 0.16	0.04 ± 0.04	0.08 ± 0.06
PF-04965842	300	5	0.66 ± 0.21	0.57 ± 0.08	0.03 ± 0.04	0.03 ± 0.03
PF-04965842	600	5	0.60 ± 0.10	0.66 ± 0.18	0.02 ± 0.03	0.03 ± 0.04
Positive Control	60	5	0.49 ± 0.09	0.51 ± 0.19	1.03 ± 0.52∗	0.67 ± 0.22∗
Toxicokinetic parameters (Males)						
Dose (mg/kg/day)	100	300	600			
Day 1						
C_{max} (ng/mL)	9610	27900	35400			
AUC_{24} (ng•h/mL)	106000	354000	649000			

∗ p ≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice; MNPCE = micronucleated PCEs; NCE = normochromatic erythrocytes; PCE = polychromatic erythrocytes; TE = total erythrocytes.

2.6.7.10A CARCINOGENICITY – DOSE RANGE-FINDING

Test Article: Abrocitinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	MTD (mg/kg/ day)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Mouse/ CD-1	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] Methylcellulose/ 0.1% [v/v] Polysorbate 80 in reverse osmosis water) Lot GR10502	2 Weeks	0, 100, 300, 600	12M, 12F	300	**100 mg/kg/day:** ↓ FC **300 mg/kg/day:** Piloerection (1 M), ↓ BW, ↓ BWG, ↓ FC **600 mg/kg/day:** Found dead (1 M, 1 F)[b], Euthanized as moribund (4 M, 3 F)[b], hunched appearance, cold to touch, piloerection, squinting eyes, intermittent head tremors, pale ears, rough haircoat, thin appearance, ↓ BW, ↓ BWG, ↓ FC	8380217 ([redacted]MA077)/ No

Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes) – Day 14

Dose (mg/kg/day)	0	100	300	600
C_{max} (ng/mL)	NA[c]	1060	8850	21100
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[c]	3320	34700	233000

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BW = body weight; BWG = body weight gain; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; FC = food consumption; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; MTD = maximum tolerated dose; NA = not applicable; QD = once daily.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. One male and 1 female were found dead on Days 6 or 8 and considered test article related. Four males and 3 females were euthanized as moribund between Days 7 and 11 and considered test article related. Remaining 3 animals were euthanized on Day 15.

c. Samples were collected, but not analyzed.

2.6.7.10B CARCINOGENICITY: DOSE RANGE-FINDING

Report Title: **1-Month Oral Gavage Dose Range-Finding Study of PF-04965842 in rasH2 (wt/wt) Mice**

Test Article: **Abrocitinib**

Species/Strain: Mouse/CByB6F1-Tg rasH2 (wt/wt)
Age at First Dose: 8-9 Weeks
Date of First Dose: 23 March 20[redacted]
Duration of Dosing: 1 Month
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Oral Gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.1% (v/v) Polysorbate 80 in reverse osmosis water
Study Number: 8384615
Sponsor Reference Number: [redacted]GR044
Lot Number: GR10502
GLP Compliance: Yes
Basis for High-Dose Selection: Doses were selected based on results of the 2-week tolerability study in CD-1 mice (Study 8380217 [Sponsor Reference 17MA077]). The high dose of 450 mg/kg/day was selected to aid in identification of the maximum tolerated dose.
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Females: 100/75 mg/kg/day
Males: Not Determined – Adverse effects at all doses

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100/75[b]**		**250/150[c]**		**450**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicokinetic	9	9	12	12	12	12	12	12
Toxicokinetics:								
C_{max} (ng/mL)								
Day 8 (M) / Day 11 (F)[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	7930	19900
Day 28	NA[e]	NA[e]	850	201	1500	641	NA[d]	NA[d]
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 8 (M) / Day 11 (F)[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	NA[d]	48300	192000
Day 28	NA[e]	NA[e]	NR[f]	469	5150	2810	NA[d]	NA[d]
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	0	8[g]	3[g]
Toxicokinetic	0	0	0	0	2[g]	0	4[g]	1[g]
Body Weight (g)[h]								
Day 8	28.3	21.4	0.94*	1.0	0.85*	0.91*	0.83*	0.83*
Day 15	28.7	-	0.93*	-	0.92*	-	NA[i]	NA[i]
Day 22	28.7	-	0.94*	-	0.91*	-	NA[i]	NA[i]
Day 28	29.3	-	0.92*	-	0.86*	-	NA[i]	NA[i]

2.6.7.10B CARCINOGENICITY: DOSE RANGE-FINDING

Study Number: 8384615 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		100/75[b]		250/150[c]		450	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Body Weight Change (g)[j]								
Day 1-8	0.4	0.4	-0.9*	0.4	-3.6*	-1.5*	-4.2*	-3.1*
Day 8-15	0.4	0.0	0.0	0.1	2.5*	2.3*	NA[i]	NA[i]
Day 15-22	0.0	0.3	0.4	0.4	-0.6	-0.9*	NA[i]	NA[i]
Day 22-28	0.6	0.7	0.1	0.6	-0.9*	0.3	NA[i]	NA[i]
Day 1-28	1.4	1.5	-0.4*	1.5	-2.5*	0.2*	NA[i]	NA[i]
Food Consumption (g)[h]								
Day 1-8	3.9	4.3	0.95	0.70	0.74*	0.70	0.67*	0.58*
Day 8-15	-	3.8	-	0.84	-	0.92	NA[i]	NA[i]
Day 22-28	-	4.5	-	1.0	-	0.80	NA[i]	NA[i]
Clinical Observations								
Hunched	0	0	0	0	0	0	2	0
Thin	0	0	0	0	0	1	3	6
Hematology – Day 29								
Red blood cells (E^6/µL)	10.68	10.11	10.05	9.93	9.79*	9.01*	NA[i]	NA[i]
Hemoglobin (g/dL)	15.8	15.3	14.6*	15.0	13.7*	12.7*	NA[i]	NA[i]
Hematocrit (%)	51.7	49.8	48.2*	49.1	45.6*	42.5*	NA[i]	NA[i]
Mean corpuscular volume (fL)	48.4	49.3	48.0	49.4	46.6*	47.1*	NA[i]	NA[i]
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	14.8	15.2	14.5	15.1	14.0*	14.0*	NA[i]	NA[i]
Platelets (E^3/µL)	1319	1079	1473	1167	1636*	1779*	NA[i]	NA[i]
Neutrophils (E^3/µL)	0.22	0.22	1.12	1.67*	1.97*	1.11*	NA[i]	NA[i]
Lymphocytes (E^3/µL)	-	2.60	-	1.71	-	1.39*	NA[i]	NA[i]
Monocytes (E^3/µL)	0.02	-	0.09	-	0.06*	-	NA[i]	NA[i]
Eosinophils (E^3/µL)	0.03	0.06	0.05	0.06	0.10	0.11	NA[i]	NA[i]
Clinical Chemistry – Day 29								
Urea nitrogen (mg/dL)	18	20	51*	21	35*	29*	NA[i]	NA[i]
Creatinine (mg/dL)	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.4	NA[i]	NA[i]
Total protein (g/dL)	-	5.0	-	5.3	-	5.5*	NA[i]	NA[i]
Albumin (g/dL)	-	3.4	-	3.5	-	3.6	NA[i]	NA[i]
Globulin (g/dL)	-	1.6	-	1.7	-	2.0	NA[i]	NA[i]
Cholesterol (mg/dL)	-	91	-	102	-	120*	NA[i]	NA[i]

2.6.7.10B CARCINOGENICITY: DOSE RANGE-FINDING

Study Number: 8384615 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		100/75[b]		250/150[c]		450	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Alkaline phosphatase (U/L)	81	-	73	-	110*	-	NA[i]	NA[i]
Calcium (mg/dL)	10.0	9.9	10.6	10.0	10.5*	10.5	NA[i]	NA[i]
Organ Weights[h]								
Thymus								
Absolute (g)	0.0450	-	0.78*	-	0.63*	-	NA[i]	NA[i]
Relative (g/100 g body weight)	0.1596	-	0.84*	-	0.73*	-	NA[i]	NA[i]
Relative (g/g brain weight)	9.4608	-	0.80*	-	0.64*	-	NA[i]	NA[i]
Gross Pathology (Scheduled and Unscheduled)								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Kidney								
Cyst	0	0	2	0	0	0	0	0
Discolored	0	0	1	0	0	1	3	2
Large	0	0	0	0	0	0	4	0
Raised Area	0	0	1	0	0	1	0	0
Rough Surface	0	0	0	0	7	1	0	0
Small	0	0	0	0	1	1	0	0
Histopathology								
Number Examined[k]	10	10	10	10	10	10	NA[i]	NA[i]
Kidney								
Obstructive Nephropathy								
Minimal	0	0	1	4	0	0	NA[i]	NA[i]
Mild	0	0	1	3	0	1	NA[i]	NA[i]
Moderate	0	0	5	0	6	4	NA[i]	NA[i]
Marked	0	0	2	0	4	5	NA[i]	NA[i]
Dilatation, pelvis								
Minimal	0	0	1	1	0	0	NA[i]	NA[i]
Mild	0	0	4	1	3	5	NA[i]	NA[i]
Moderate	0	0	1	0	1	2	NA[i]	NA[i]
Marked	0	0	2	0	0	0	NA[i]	NA[i]
Inflammation, acute, pelvis								
Minimal	0	0	1	1	1	2	NA[i]	NA[i]
Mild	0	0	1	1	2	0	NA[i]	NA[i]

2.6.7.10B CARCINOGENICITY: DOSE RANGE-FINDING

Study Number: 8384615 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		100/75[b]		250/150[c]		450	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Moderate	0	0	3	0	2	4	NA[i]	NA[i]
Marked	0	0	0	0	1	0	NA[i]	NA[i]
Crystals, renal, pelvis								
Present	0	0	0	0	1	0	NA[i]	NA[i]
Spleen								
Decrease cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	5	1	NA[i]	NA[i]
Mild	0	0	0	0	5	0	NA[i]	NA[i]
Thymus								
Decrease cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	5	0	NA[i]	NA[i]
Mild	0	0	0	0	3	1	NA[i]	NA[i]
Lymph Node, Mesenteric								
Decrease cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0 (9)	0	8	1	NA[i]	NA[i]
Mild	0	0	0 (9)	0	2	0	NA[i]	NA[i]

2.6.7.10B CARCINOGENICITY: DOSE RANGE-FINDING

Study Number: 8384615 (continued)

∗ p ≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; NR = not reported; QD = once daily.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Due to abrocitinib-related moribundity at 450 mg//kg/day, the 100 mg/kg/day dose was lowered to 75 mg/kg/day beginning Day 12.
c. Due to abrocitinib-related body weight loss at 250 mg/kg/day, the dose was lowered to 150 mg/kg/day beginning Day 15 after a 4-day dosing holiday on Days 11-14.
d. Due to abrocitinib-related moribundity at 450 mg/kg/day, blood samples were collected only from 450 mg/kg/day toxicokinetic animals including 3 toxicity males and 1 toxicity female (due to limited toxicokinetic animals) on Day 8 (males) and Day 11 (females) prior to unscheduled euthanasia.
e. All samples below assay limit of quantitation (<5.00 ng/mL).
f. Profile had fewer than 3 measureable concentrations.
g. Abrocitinib-related death/moribundity: 250 mg/kg/day: 2 toxicokinetic males were euthanized on Day 8 due to moribund condition and body weight loss. 450 mg/kg/day: 2 toxicity males were found dead, one each on Day 3 and Day 6. Nine toxicity animals (6 males and 3 females) and 5 toxicokinetic animals (4 males and 1 female) were euthanized as moribund on Days 5-10; abrocitinib-related macroscopic findings of large and/or discolored kidneys were observed and correlated with moribund conditions and/or death at 450 mg/kg/day.
h. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered abrocitinib. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
i. Due to abrocitinib-related moribundity at 450 mg//kg/day, remaining animals were euthanized on Day 8 (males) and Day 11 (females); organs were not weighed and a microscopic evaluation was not conducted.
j. Actual values shown for dosing intervals for all groups. Statistical significance is based on changes from controls.
k. Missing protocol-required organs/tissues in some groups. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically.

2.6.7.10C CARCINOGENICITY: DOSE RANGE-FINDING

Report Title: 1-Month Oral Gavage Dose Range-Finding Study of PF-04965842 in rasH2 (wt/wt) Mice

Test Article: Abrocitinib

Species/Strain: Mouse/CByB6F1-Tg rasH2 (wt/wt)
Age at First Dose: 9 Weeks
Date of First Dose: 09 Aug 20[redacted]
Duration of Dosing: 1 Month
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.1% (v/v) Polysorbate 80 in reverse osmosis water
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 60 mg/kg/day
Study Number: 8391764
Sponsor Reference Number: [redacted]GR129
Lot Number: GR10502
GLP Compliance: Yes

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**60**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicokinetics	12	12	12	12	12	12	12	12
Toxicokinetics: Day 28								
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	NA[b]	NR[c]	NR[c]	309	NR[c]	728	NR[c]
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	NA[b]	44.4	15.6	126	41.7	310	226
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	1[d]	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry – Day 29								
Alanine aminotransferase (U/L)	28	-	32	-	50	-	86*	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.10C CARCINOGENICITY: DOSE RANGE-FINDING

Study Number: 8391764 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		30		60	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Histopathology								
Number Examined	10	10	10	10	9	10	10	10
Kidney								
Dilatation, pelvis								
Mild	0	0	0	0	0	0	1[e]	0
Inflammation, acute, pelvis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1[e]	0
Nephropathy, obstructive								
Mild	0	0	0	0	0	0	1[e]	0
Ureters								
Inflammation, acute								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1[e]	0

∗ $p \leq 0.05$, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; NR = not reported; QD = once daily; wt = wild type.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (<5.00 ng/mL).
c. Profile had less than 3 measurable concentrations.
d. Euthanized in a moribund condition on Day 28 due to gavage error and not considered abrocitinib related.
e. All findings were noted in the same animal.

2.6.7.10D CARCINOGENICITY

Report Title: 6-Month Oral Gavage Carcinogenicity Study of PF-04965842 in rasH2 (tg/wt) Mice

Test Article: Abrocitinib

Species/Strain: Mouse/ CByB6F1-Tg rasH2 (tg/wt) and CByB6F1-Tg rasH2 (wt/wt)[a]
Duration of Dosing: 26 Weeks
Study Number: 8398640
Age at First Dose: 8-9 Weeks
Method of Administration: Oral gavage; QD, 10 mL/kg
Sponsor Reference Number: [redacted]GR243
Date of First Dose: 29 Jan 20[redacted] (M), 30 Jan 20[redacted] (F)
Lot Number: GR10502
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose, 0.1% (v/v) Polysorbate 80 in reverse osmosis water
GLP Compliance: Yes
Vehicle Controls: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.1% (v/v) Polysorbate 80 in reverse osmosis water
Positive Controls: N-methyl-N-nitrosourea[b]
Basis for High-Dose Selection: In the 1-month DRF (Study 8391764; Reference 18GR129), doses up to 60 mg/kg/day were tolerated and did not result in adverse findings. In a previous 1-month DRF study with rasH2 (wt/wt) mice (Study 8384615; Reference 18GR044), doses of ≥100/75 mg/kg/day were not tolerated and resulted in adverse abrocitinib-related kidney findings.
Special Features: None

Findings With Abrocitinib								
Dose Group	**Control**		**Low**		**Intermediate**		**High**	
Dose[c] (mg/kg/day)	**0**		**10**		**20**	**25**	**60**	**75**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Carcinogenicity – hemizygous	25	25	25	25	25	25	25	25
Toxicokinetics – wild type	12	12	15	15	15	15	15	15
Toxicokinetics – Day 29:								
C_{max} (ng/mL)	NA[d]	NA[d]	96.4	60.2	284	262	980	1290
AUC_{24} (h•ng/mL)	NA[d]	NA[d]	111	91.1	244	274	1350	3200
Died or Sacrificed Moribund								
Carcinogenicity[e]	0	1	2	0	1	1	4[f]	8[f]
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0
Survival of Carcinogenicity Animals (%)	100	96	92	100	96	100	92	71
Body Weight (g)[g]								
Day 8	-	19.2	-	1.0*	-	1.0	-	0.97
Day 15	-	19.3	-	1.0	-	1.0	-	0.97
Day 22	-	19.6	-	1.0	-	1.0	-	0.95
Day 29	-	19.9	-	1.0	-	1.0	-	0.98
Day 36	-	19.8	-	1.0	-	1.0	-	0.92*
Day 43	-	19.9	-	1.0	-	1.0	-	0.98

2.6.7.10D CARCINOGENICITY

Study Number: 8398640 (continued)

Findings With Abrocitinib								
Dose Group	**Control**		**Low**		**Intermediate**		**High**	
Dose[c] (mg/kg/day)	**0**		**10**		**20**	**25**	**60**	**75**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day 50	-	20.3	-	1.0	-	0.99	-	0.97
Day 57	-	20.4	-	1.0	-	1.0	-	0.99
Body Weight Gain (g)[g, h]								
Interval Day 1-182	-	3.3	-	1.0	-	1.2	-	1.4*
Food Consumption (g/animal/day)[g, h]								
Days 29-36	-	3.4	-	1.2	-	0.76	-	0.68*
Clinical Observations								
Appearance, thin	0	1	0	0	0	0	1	3
Skin and pelage, piloerection	0	1	0	0	0	0	2	3
Neoplastic Lesions – Abrocitinib-Related	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	25	25	25	25	25	25	25	25
Neoplastic Lesions – Incidental/Spontaneous	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	25	25	25	25	25	25	25	25
Harderian Gland								
Adenoma (B)	0	0	0	0	1	1	1	0
Hemolymphoreticular System								
Lymphoma (M)	0	1	0	0	0	1	0	0
Ileum								
Hemangiosarcoma (M)	0	0	0	0	0	1	0	0
Liver								
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	1	0	0	0	1	0	0
Lung								
Adenoma, Bronchiolo-Alveolar (B)	1	2	3	1	2	1	2	2
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	0	0	0	0	1	0	0
Carcinoma, Bronchiolo-Alveolar (M)	0	0	1	1	0	0	1	1
Marrow, Sternum								
Hemangiosarcoma (M)	1	0	0	0	0	0	0	0
Prostrate								
Carcinoma, Transitional Cell (M)	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Skin/Subcutis								
Papilloma, Squamous Cell (B)	0	0	0	0	1	0	1	0

2.6.7.10D CARCINOGENICITY

Study Number: 8398640 (continued)

Findings With Abrocitinib								
Dose Group	**Control**		**Low**		**Intermediate**		**High**	
Dose[c] (mg/kg/day)	**0**		**10**		**20**	**25**	**60**	**75**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spleen								
Hemangioma (B)	0	1	0	1	0	1	0	1
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	1	0	0	0	1	0	0
Hemangiosarcoma (M)	0	0	2	0	0	2	0	0
Vagina								
Hemangiosarcoma (M)	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Nonneoplastic Lesions – Abrocitinib-Related								
Number Examined	25	25	25	25	25	25	25	25
Kidney								
Nephropathy, obstructive								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	4	2
Marked	0	0	0	0	0	0	10	16
Severe	0	0	0	0	0	0	0	1
Dilatation, pelvis								
Mild	0	0	1	0	0	0	1	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	4	5
Marked	0	0	0	0	0	0	7	9
Thymus								
Hyperplasia, epithelium								
Minimal	0	0	0	0	1 (24)	4 (23)	0 (24)	1
Mild	0	0	0	1	1 (24)	2 (23)	0 (24)	5
Moderate	0	0	0	0	0 (24)	4 (23)	0 (24)	0
Marked	0	0	0	0	0 (24)	0 (23)	0 (24)	1
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	1 (24)	2 (23)	0 (24)	0
Mild	0	0	0	1	1 (24)	5 (23)	0 (24)	4
Moderate	0	1	0	0	0 (24)	1 (23)	1 (24)	6
Marked	0	0	0	0	0 (24)	0 (23)	0 (24)	0

2.6.7.10D CARCINOGENICITY

Study Number: 8398640 (continued)

Findings With Abrocitinib								
Dose Group	**Control**		**Low**		**Intermediate**		**High**	
Dose[c] (mg/kg/day)	**0**		**10**		**20**	**25**	**60**	**75**
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Gross Pathology								
Number Examined	25	25	25	25	25	25	25	25
Kidney								
Cyst	0	0	0	0	0	0	7	11
Abnormal shape	0	0	1	0	0	0	2	2
Large	0	0	0	0	0	0	0	3
Small	0	0	0	0	0	0	5	6
Rough Surface	0	0	0	0	0	0	1	0
Discolored	0	0	0	0	0	0	2	4
Abnormal contents	0	0	0	0	0	0	0	2

2.6.7.10D CARCINOGENICITY

Study Number: 8398640 (continued)

Findings with Positive Control[i]		
Sex	**M**	**F**
Number of Animals		
Carcinogenicity – hemizygous	15	15
Died or Sacrificed Moribund[j]	15	13
Survival (%) at Week 25	13	13
Neoplastic Lesions[i, k]		
Number Examined		
Duodenum		
Carcinoma (N)	0 (0)	1 (1)
Hemolymphoreticular System		
Lymphoma (M)	13 (13)	11 (11)
Kidney		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	3 (3)	1 (1)
Liver		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	6 (6)	3 (4)
Carcinoma (N)	0 (6)	1 (4)
Lung		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	1 (1)	0 (0)
Lymph Node, Axillary		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	1 (1)	3 (3)
Lymph Node, Hepatic		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	1 (1)	0 (0)
Lymph Node, Iliac, Internal		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	1 (1)	0 (0)
Lymph Node, Inguinal		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	4 (5)	5 (5)
Lymph Node, Mandibular		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	3 (3)	4 (4)
Lymph Node, Mediastinal		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	4 (4)	1 (1)
Lymph Node, Mesenteric		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	4 (4)	5 (5)
Lymph Node, Renal		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	1 (1)	0 (0)

2.6.7.10D CARCINOGENICITY

Study Number: 8398640 (continued)

Findings with Positive Control[i]		
Sex	**M**	**F**
Pancreas		
Carcinoma (N)	0 (0)	1 (1)
Skin/Subcutis		
Papilloma, Squamous Cell (B)	8 (9)	2 (3)
Carcinoma, Basal Cell (M)	1 (9)	1 (3)
Spleen		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	7 (7)	6 (7)
Stomach, Glandular		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	1 (3)	0 (2)
Carcinoma (N)	2 (3)	2 (2)
Stomach, Nonglandular		
Papilloma, Squamous Cell (B)	7 (11)	5 (7)
Carcinoma, Squamous Cell (M)	4 (11)	2 (7)
Thymus		
Hemolymphoreticular Tumor (F)	12	12
Uterus		
Carcinoma, Squamous Cell (M)	NA	1 (1)

2.6.7.10D CARCINOGENICITY

Study Number: 8398640 (continued)

Findings with Positive Control[i]		
Sex	**M**	**F**

∗ p ≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; B = benign neoplasm; M = malignant neoplasm; N = metastatic neoplasm; C_{max} = maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; F = female; NA = not applicable; QD = once daily; Tg = transgenic.
a. The 6-month carcinogenicity animals and toxicokinetic animals, respectively.
b. Single intraperitoneal injection of MNU at 75 mg/kg on Dosing Day 1 was administered to positive control animals.
c. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
d. All samples below assay limit of quantitation (<5.00 ng/mL).
e. Clinical observations for moribund euthanized animals were associated with general debilitation and included hypoactivity, recumbency, labored respiration, irregular respiration, cold to touch, pale, hunched posture, thin appearance, low carriage, piloerection, head tilt, and/or swollen abdomen. Two deaths were attributed oral gavage-related injury (1 male at 60 mg/kg/day and 1 female at 25 mg/kg/day), 1 female at 75 mg/kg/day was euthanized after being found outside of its cage and considered accidental, and 1 male death at 60 mg/kg/day was due to a fracture of the right front limb. The female that was found outside of its cage was noted with kidney lesions microscopically.
f. Abrocitinib-related mortality, resulting from a nonneoplastic renal lesion, obstructive nephropathy occurred for 1 male and 6 females.
g. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance was based on actual data and not on the multiples.
h. Beginning after Day 29, water bottles and DietGel food supplement was provided for animals with body weight change ≤0.90x from the previous week.
i. Missing protocol-required organs/tissues in some groups. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically.
j. All but 2 positive control animals were found dead or euthanized in a moribund condition between Dosing Days 71 and 177. Deaths were considered related to MNU.
k. The survival incidence and MNU-related neoplasia, predominant masses noted macroscopically, and hematopoietic neoplasms noted microscopically, were consistent with the published data for rasH2 mice administered MNU.

2.6.7.10E CARCINOGENICITY

Report Title: 104-Week Oral Gavage Carcinogenicity and Toxicokinetic Study with PF-04965842 in Rats

Test Article: Abrocitinib

Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: 6 to 7 Weeks
Date of First Dose: 16 Oct 20[redacted]

Duration of Dosing: 104 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.1% (v/v) Polysorbate 80 in reverse osmosis water/Suspension

Study Number: 8373335
Sponsor Reference Number: [redacted]MA056
Lot Number: GR11722
GLP Compliance: Yes

Treatment of Controls: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.1% (v/v) Polysorbate 80 in reverse osmosis water
Basis for High-Dose Selection: The high dose of 30 mg/kg/day was the low dose in the 6-month rat study (8289422 [Reference 13MA056]). In the 6-month rat study, adverse immunosuppression at 70 mg/kg/day and lymphocyte immunosuppression, skin scabs/sores, and abnormal crystalluria at 45 or 70 mg/kg/day were observed.
Special Features: None

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Carcinogenicity	60	60	60	60	60	60	60	60
Toxicokinetics	5	5	5	5	5	5	5	5
Toxicokinetics – Day 178	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)	NA[b]		930		3530		10700	
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]		3150		15200		76000	
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	15	35	21	28	23	19	32	29
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0
Survival of Carcinogenicity Animals (%)	75	42	65	53	62	68*	47*	52
Body Weight (g)[c]								
Day 176 (6 Months)	480	263	0.98	0.97	0.96	0.99	0.97	0.98
Day 456	616	-	0.97	-	0.97	-	0.92*	-
Day 680	668	-	1.0	-	0.99	-	0.90*	-
Day 729	665	-	0.99	-	0.98	-	0.88*	-
Food Consumption (g/animal/day)[c]								
Day 169-176 (6 Months)	22	15	1.0	1.0	0.95	1.1	0.95	1.0

2.6.7.10E CARCINOGENICITY

Study Number: 8373335 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations								
Malocclusion	2	3	3	1	3	1	21	13
White Teeth	0	1	0	0	0	1	21	27
Hyperplastic and Neoplastic Lesions: Abrocitinib Related								
Number Examined[d]	60	60	60	60	60	60	60	60
Thymus								
Thymoma (B)[e]	1 (57)	2 (57)	2 (58)	10 (56)	7 (58)	20	5 (56)	15 (57)
Incidence (%)[f]	2	4	3	18	12	33	9	26
Hyperplasia[g]								
Minimal	3 (57)	3 (57)	0 (58)	0 (56)	1 (58)	0	2 (56)	11 (57)
Mild	1 (57)	0 (57)	2 (58)	4 (56)	3 (58)	2	2 (56)	5 (57)
Moderate	1 (57)	0 (57)	0 (58)	1 (56)	1 (58)	2	1 (56)	1 (57)
Marked	0 (57)	0 (57)	0 (58)	1 (56)	0 (58)	0	0 (56)	0 (57)
Neoplastic Lesions: Incidental/Spontaneous								
Number Examined[d]	60	60	60	60	60	60	60	60
Abdominal Cavity								
Lipoma (B)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
Carcinoma (N)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)
Adipose, Other								
Schwannoma (M)	0 (0)	0 (4)	1 (4)	0 (3)	0 (3)	0 (4)	0 (3)	0 (6)
Carcinoma (N)	0 (0)	0 (4)	1 (4)	0 (3)	0 (3)	0 (4)	0 (3)	0 (6)
Hemangiosarcoma (N)	0 (0)	0 (4)	1 (4)	0 (3)	0 (3)	0 (4)	0 (3)	0 (6)
Adrenal, Cortex								
Adenoma (B)	1	1	1	2	0	1	1	0
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	0	0	0	0	0	1	0
Carcinoma (M)	1	0	1	0	0	0	1	0
Carcinoma (N)	0	0	1	0	0	0	0	0
Adrenal, Medulla								
Pheochromocytoma (B)	0 (59)	0	2	1	0	0 (59)	1	0
Pheochromocytoma (M)	0 (59)	0	1	0	0	0 (59)	1	0
Bone, Other								
Ameloblastic Odontoma (B)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

2.6.7.10E CARCINOGENICITY

Study Number: 8373335 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Brain								
Granular Cell Tumor (B)	0	0	1	1	0	2	0	1
Oligodendroglioma (M)	0	0	1	0	0	0	0	1
Cavity, Other								
Sarcoma (M)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Cecum								
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	0	0	0	0 (59)	0 (59)	1 (56)	0
Carcinoma (N)	0	0	1	0	0 (59)	0 (59)	0 (56)	0
Cervix								
Polyp (B)	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Sarcoma (I)	NA	1	NA	0	NA	2	NA	0
Carcinoma (M)	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Sarcoma, Stromal (M)	NA	1	NA	2	NA	0	NA	1
Coagulating Gland								
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Colon								
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	0	0	0	0 (59)	0	1 (59)	0
Duodenum								
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	0	0	0	0 (58)	0 (59)	1 (57)	0
Epididymis								
Carcinoma (I)	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Carcinoma (N)	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Harderian Gland								
Adenoma (B)	1 (59)	0	0	0	0	0	0	0
Heart								
Schwannoma (B)	0	0	0	0	2 (58)	0	0	0
Histiocytic Sarcoma (F)	0	0	0	0	0 (58)	0	1	0
Endocardial Schwannoma (M)	1	0	0	0	0 (58)	1	0	0
Jejunum								
Malignant Lymphoma (F)	1	0	0	0 (59)	0 (59)	0 (59)	0 (53)	0 (58)

2.6.7.10E CARCINOGENICITY

Study Number: 8373335 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Kidney								
Lipoma (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
Polyp, Pelvis (B)	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	0	0	0	0	0	2	0
Carcinoma, Primary Unknown (X)	0	0	0	0	1	0	0	0
Liver								
Adenoma, Hepatocellular (B)	0	0	0	1	0	3	0	0
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	1	0	0	0	0	2	0
Sarcoma (I)	1	0	0	0	0	0	0	0
Carcinoma, Hepatocellular (M)	1	0	1	1	0	0	0	0
Sarcoma (N)	0	1	0	0	1	0	0	0
Lung								
Adenoma, Bronciolo-aveolar (B)	2	0	0	0	0	0	1	0
Histiocytic Sarcoma (F)	0	1	0	0	0	0	1	0
Carcinoma, Bronciolo-aveolar (M)	1	0	0	0	0	0	1	0
Carcinoma (N)	0	0	3	0	2	0	1	1
Sarcoma (N)	1	0	0	0	1	0	0	0
Carcinoma, Primary Unknown (X)	0	0	0	0	1	0	0	0
Sarcoma, Metastatic, Primary Unknown (X)	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph Node, Mesenteric								
Hemangioma (B)	2	0	1	1	3	1	1 (59)	0 (59)
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	0	0	0	0	0	2 (59)	0 (59)
Hemangiosarcoma (M)	4	1	5	1	4	1	3 (59)	1 (59)
Sarcoma (N)	0	1	0	0	0	0	0 (59)	0 (59)
Sarcoma, Metastatic, Primary Unknown (X)	0	0	1	0	0	0	0 (59)	0 (59)
Mammary Gland								
Adenolipoma (B)	0 (44)	0	0 (51)	0 (58)	0 (42)	0 (59)	0 (44)	1 (59)
Adenoma (B)	0 (44)	3	0 (51)	1 (58)	0 (42)	3 (59)	0 (44)	1 (59)
Fibroadenoma (B)	2 (44)	11	0 (51)	7 (58)	0 (42)	10 (59)	0 (44)	8 (59)
Carcinoma (M)	0 (44)	6	0 (51)	8 (58)	0 (42)	10 (59)	0 (44)	11 (59)
Carcinosarcoma (M)	0 (44)	0	0 (51)	1 (58)	0 (42)	0 (59)	0 (44)	0 (59)

2.6.7.10E CARCINOGENICITY

Study Number: 8373335 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Mandibular Salivary Gland								
Adenoma (B)	0	0 (59)	0	0	0 (59)	0	1	0
Muscle, Skeletal, Other								
Mesothelioma (I)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Ovary								
Adenoma, Tubulostromal (B)	NA	1	NA	0	NA	3	NA	1
Granulosa/Theca Cell Tumor (B)	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Mesothelioma (I)	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Granulosa/Theca Cell Tumor (M)	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
Pancreas								
Adenoma, Acinar Cell (B)	2	0	1	0	0	0	0	0
Adenoma, Islet Cell (B)	1	2	2	0	4	3	2	0
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	0	0	0	0	0	2	0
Carcinoma, Acinar Cell (M)	0	1	1	0	0	0	0	0
Mesothelioma (M)	0	1	0	0	0	0	0	0
Carcinoma (N)	0	0	0	0	0	0	0	1
Sarcoma (N)	0	0	0	0	1	0	0	0
Parathyroid								
Adenoma (B)	1	0 (59)	1 (59)	0 (54)	0 (59)	0 (59)	0 (58)	0 (58)
Carcinoma (I)	0	0 (59)	0 (59)	0 (54)	1 (59)	0 (59)	0 (58)	0 (58)
Pituitary								
Adenoma (B)	22	41	24	36	29 (59)	46	14	32
Preputial Gland								
Carcinoma, Squamous Cell (M)	0 (1)	NA	0 (8)	NA	0 (7)	NA	1 (7)	NA
Prostrate								
Adenoma (B)	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Leiomyosarcoma (M)	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Carcinoma (N)	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Seminal Vesicle								
Carcinoma (M)	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Carcinoma (N)	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA

2.6.7.10E CARCINOGENICITY

Study Number: 8373335 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Skin/Subcutis								
Adenoma, Sebaceous (B)	1	0 (59)	1	0	0	0	0	0
Basal Cell Tumor (B)	0	0 (59)	0	0	0	0	1	0
Fibroma (B)	1	0 (59)	1	0	2	0	3	2
Keratoacanthoma (B)	3	0 (59)	5	0	5	2	3	3
Lipoma (B)	0	0 (59)	0	1	2	0	0	1
Neural Crest Tumor (B)	0	0 (59)	0	1	0	0	0	0
Papilloma, Squamous Cell (B)	0	0 (59)	0	1	1	2	1	0
Carcinoma (M)	0	1 (59)	1	1	2	0	0	0
Carcinoma, Basal Cell (M)	0	2 (59)	0	0	0	0	0	0
Fibrosarcoma (M)	0	0 (59)	0	0	3	0	1	0
Hemangiosarcoma (M)	0	1 (59)	0	0	0	0	0	0
Melanoma(M)	0	0 (59)	0	0	0	1	0	0
Schwannoma (M)	1	0 (59)	1	0	1	0	2	0
Osteosarcoma (M)	0	0 (59)	0	0	0	1	0	0
Spleen								
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemangiosarcoma (M)	0	0	0	0	0	0	1	0
Sarcoma (M)	0	0	0	0	1	0	0	0
Sarcoma (N)	0	0	0	0	1	0	0	0
Stomach, Glandular								
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0	0	0	0	0	0	1	0
Mesothelioma (I)	0	1	0	0	0	0	0	0
Neuroendocrine Cell Tumor (M)	1	1	0	0	0	0	0	0
Carcinoma (N)	0	0	1	0	0	0	0	0
Stomach, Nonglandular								
Papilloma, Squamous Cell (B)	0	0	0	1	0	0	0	0
Sarcoma (I)	0	1	0	0	0	0	0	0
Testis								
Interstitial Cell Tumor (B)	2	NA	1	NA	2	NA	4	NA
Carcinoma (N)	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA

2.6.7.10E CARCINOGENICITY

Study Number: 8373335 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Thymus								
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0 (57)	0 (57)	0 (58)	0 (56)	0 (58)	0	1 (56)	0 (57)
Malignant Lymphoma (F)	0 (57)	0 (57)	0 (58)	0 (56)	0 (58)	1	0 (56)	0 (57)
Sarcoma (I)	1 (57)	0 (57)	0 (58)	0 (56)	0 (58)	0	0 (56)	0 (57)
Thymoma (M)	0 (57)	0 (57)	0 (58)	0 (56)	0 (58)	1	0 (56)	0 (57)
Carcinoma (N)	0 (57)	0 (57)	0 (58)	0 (56)	0 (58)	0	1 (56)	0 (57)
Mesothelioma (N)	0 (57)	1 (57)	0 (58)	0 (56)	0 (58)	0	0 (56)	0 (57)
Carcinoma, Primary Unknown (X)	0 (57)	0 (57)	0 (58)	0 (56)	1 (58)	0	0 (56)	0 (57)
Thyroid								
Adenoma, C Cell (B)	8	13	10	12	12	9	5	10
Adenoma, Follicular Cell (B)	8	4	13	4	9	3	6	4
Carcinoma, C Cell (M)	0	0	1	0	2	0	0	0
Carcinoma, Follicular Cell (M)	1	1	3	1	2	1	0	2
Ureter								
Hemolymphoreticular Tumor (F)	0 (59)	0 (59)	0 (56)	0 (59)	0 (57)	0 (59)	1 (59)	0 (59)
Urinary Bladder								
Carcinoma (N)	0 (59)	0 (59)	1 (59)	0 (59)	0	0	0 (59)	1
Sarcoma (N)	0 (59)	0 (59)	0 (59)	0 (59)	1	0	0 (59)	0
Uterus								
Polyp, Endometrial Stromal (B)	NA	3	NA	3	NA	4	NA	1
Sarcoma (I)	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Carcinoma (M)	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
Sarcoma, Endometrial Stromal (M)	NA	1	NA	0	NA	2	NA	1
Carcinoma (N)	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Vagina								
Sarcoma (I)	NA	0	NA	1 (59)	NA	0	NA	1
Sarcoma (M)	NA	1	NA	0 (59)	NA	0	NA	1
Zymbal Gland								
Carcinoma, Squamous Cell (M)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

2.6.7.10E CARCINOGENICITY

Study Number: 8373335 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Gross Pathology								
Number Examined[d]	60	60	60	60	60	60	60	60
Thymus								
Large	0	0	0	1	1	3	0	4
Mass	0	0	2	3	1	9	1	5
Tooth, Left Lower Incisor								
Abnormal Shape	0 (54)	0 (42)	0 (50)	0 (48)	0 (50)	0 (52)	0 (44)	1 (49)
Discolored	0 (54)	0 (42)	0 (50)	0 (48)	0 (50)	0 (52)	14 (44)	10 (49)
Tooth, Left Upper Incisor								
Discolored	0 (54)	0 (42)	0 (50)	0 (48)	0 (50)	0 (52)	1 (44)	3 (49)
Tooth, Other								
Discolored	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
Tooth, Right Lower Incisor								
Abnormal Shape	0 (54)	0 (42)	0 (50)	0 (48)	0 (50)	0 (52)	0 (44)	1(49)
Discolored	0 (54)	0 (42)	0 (50)	0 (48)	0 (50)	0 (52)	13 (44)	10 (49)
Tooth, Right Upper Incisor								
Discolored	0 (54)	0 (42)	0 (50)	0 (48)	0 (50)	0 (52)	1 (44)	3 (49)

∗ $p \leq 0.05$, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.

- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; B = benign neoplasm; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; F = infiltrating neoplasm; GLP = Good Laboratory Practice; I = locally invasive neoplasm; M = male; M = malignant neoplasm; N = metastatic neoplasm; NA = not applicable; QD = once daily; X = other neoplasm.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. All samples below assay limit of quantitation (<1.00 ng/mL).

c. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

d. Missing protocol-required organs/tissues in some groups; number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically.

e. Abrocitinib-related, dose-dependent increases in number of benign thymomas in females at ≥10 mg/kg/day. Interpreted as not statistically significant (at $p \geq 0.005$) based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.

f. Percent incidence was calculated by dividing number of observed by number examined.

g. Abrocitinib-related thymus epithelial cell hyperplasia was higher in females at 30 mg/kg/day.

2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Abrocitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)/ Test Article Lot Number	Dosing Period	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose/ 0.1% Polysorbate 80 in reverse osmosis water) Lot GR07194	GD 6-17	0, 75, 200, 400	6F	**75 mg/kg/day:** ↓ Maternal BWG, ↓ gravid uterine weight, ↑ late resorptions, total litter loss (1F), 3 dead fetuses, ↑ postimplantation loss, ↑ percent dead or resorbed conceptuses/litter, ↓ litter size, ↓ fetal BW, whole body edema, umbilical hernia, and medially rotated forelimbs in 1 fetus **≥75 mg/kg/day:** ↓ Maternal BW, ↓ maternal FC **200 mg/kg/day:** Died (4F) or euthanized (2F)[b], pale body, red substance abdomen, early resorptions and/or dead fetuses (6/6 pregnant F) **≥200 mg/kg/day:** ↓ Motor activity, ptosis, red substance perivagina or cage pan, pale ears or forepaws/hindpaws, ungroomed coat, dehydration, thin body, hunched posture, cold to touch, scant feces, hyperpnea, vaginal bleeding **400 mg/kg/day:** Died (2F) or euthanized (4F)[c], ataxia, lacrimation, urine-stained abdominal fur, chromodacryorrhea, low carriage, bradypnea, red substance tail, piloerection, dark concentrated urine, total litter loss (4/5 pregnant F)	20052794/ No

BW = body weight; BWG = body weight gain; F = female; FC = food consumption; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; QD = once daily.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Found dead or euthanized due to declining condition between GD 16-19 following 10-12 doses; considered test article related.
c. Found dead on GD 8 or GD 14 and remaining animals were euthanized on GD 14 due to reduced food consumption and/or body weight loss following 2-9 doses; considered test article related.

2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Abrocitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Dosing Period	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rabbit/ New Zealand White	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose/ 0.1% Polysorbate 80 in reverse osmosis deionized water) Lot GR07194	GD 7-19	0, 30, 75, 150, 300	6F	**30 mg/kg/day:** Euthanized (1F)[b], ↓ maternal BWG,↑ late resorptions, ↑ postimplantation loss, ↑ percent dead or resorbed conceptuses/litter, ↑ F with any resorptions **≥30 mg/kg/day:** Ungroomed coat, scant feces, ↓ maternal FC **75 mg/kg/day:** ↓ Maternal BWG, ↑ late resorptions, ↑ postimplantation loss, ↑ percent dead or resorbed conceptuses/litter, ↑ F with any resorptions, distended abdomen (1 fetus) **≥75 mg/kg/day:** Soft or liquid feces, thin body **150 mg/kg/day:** Aborted and euthanized (2F)[c] and early and/or late resorptions (2 euthanized F), ↓ maternal BWG, ↑ late resorptions, ↑ postimplantation loss, ↑ percent dead or resorbed conceptuses/litter, ↑ F with any resorptions, ↓ fetal BW, open eyelid (1 fetus) **≥150 mg/kg/day:** No feces, ↓ maternal BW **300 mg/kg/day:** Died (1F) or euthanized (5F)[d], scant or no feces, ungroomed coat, thin, ↓ motor activity, impaired righting reflex, ptosis, ataxia, splayed hindlimbs, salivation, and dyspnea (1F), early resorptions (4/6 F)	20052795/ No

BW = body weight; BWG = body weight gain; F = female; FC = food consumption; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; QD = once daily.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Euthanized due to declining condition on GD 21 following 13 doses (dehydration, ↓ motor activity, impaired righting reflex, ptosis, splayed hindlimbs, low carriage, bradypnea, scant feces, ungroomed coat, red stained fur, red substance on cage liner, ↓ BW, ↓ FC, tan areas on liver lobes and 12 late resorptions); the relationship of these findings to the test article were considered unclear.
c. Euthanized on GD 19 or GD 24 following 12 or 13 doses; considered test article related.
d. Found dead on GD 13 and euthanized on GD 13-14 due to clinical signs, ↓ BW, and/or ↓ FC following 6-8 doses; considered test article related.

2.6.7.12A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of PF-04965842 on Male and Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Rats

Test Article: Abrocitinib

Design Similar to ICH 4.1.1: Yes
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose:
M: ~9 Weeks
F: 10 Weeks
Date of First Dose: 02 May 20[redacted]

Dosing Period:
M: 28 Days prior to mating to euthanasia (64-65 days)
F: 14 Days premating through cohabitation to GD 7 (22-28 days)
Day of Mating (F): GD 0
Day of Cesarean Section: GD 14
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg

Study Number: 655170
Sponsor Reference: [redacted]GR089
Lot Number: GR10502
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.1% (v/v)/Polysorbate 80 in deionized water/Suspension
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Male Systemic Toxicity: 70 mg/kg/day
Female Systemic Toxicity: 70 mg/kg/day
Male Fertility: 70 mg/kg/day
Female Fertility and Early Embryonic Development: Not Determined – Adverse effects at all doses

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**30**		**45**		**70**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	20	20	20	20	20	20	20	20
Plasma Concentrations (ng/mL) – Day 12[b]	NA[c]	NA[c]	6990	10700	13100	12100	12500	16500
Males								
Number Died or Euthanized Moribund	0		0		0		0	
Clinical Observations Red material around nose	4		6		7		12	
Body Weight	-		-		-		-	
Food Consumption	-		-		-		-	
Mean Number Days Prior to Mating	-		-		-		-	
Number of Males Mated (Confirmed)	20		19		19		20	
Number of Fertile Males	20		19		19		19	
Necropsy Observations	-		-		-		-	
Sperm Motility (% motile cells)	-		-		-		-	
Sperm Count (million sperm/gram cauda weight)	-		-		-		-	

2.6.7.12A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: [redacted]GR089 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	30	45	70
Females				
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	2[d]
Clinical Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight	-	-	-	-
Gestation Body Weight	-	-	-	-
Premating Food Consumption	-	-	-	-
Gestation Food Consumption	-	-	-	-
Estrous Cycle Length	-	-	-	-
Cohabitation Length	-	-	-	-
Number of Females Mated (Confirmed)	20	20	20	18
Number of Pregnant Females	19	20	19	10
Number of Nongravid Females	1	0	1	8
Fertility Index (%)[e]	95	100	95	55.6*
Conception Index (%)[f]	95	100	95	55.6*
Number with Total Resorption of Litter	0	0	3	4
Necropsy Observations	-	-	-	-
Number Evaluated	20	20	20	20
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	19	20	19	10
Mean Number Corpora Lutea	12.4	11.9	12.2	9.6†
Mean Number Implantation Sites	11.9	11.2	10.6	8.8†
Mean % Preimplantation Loss	3.4	5.9	13.6	10.8
Mean % Postimplantation Loss	5.3	24.8	43.6†	60.6†
Mean Number Viable Embryos	11.3	8.3*	6.3†	4.2†
Mean Number Early Resorptions	5.3	24.8	43.6†	60.6†

2.6.7.12A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: [redacted]GR089 (continued)

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01; significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; F = female; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; M = male.
a. All doses are expressed as active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Samples collected at 1 hour postdose.
c. All samples below assay limit of quantitation (<1.00 ng/mL).
d. One female found dead on GD 7 and 1 female was electively euthanized on GD 22. Gross necropsy findings for both animals were consistent with oral gavage trauma.
e. Female fertility index = Number of females with confirmed pregnancy / Total number of females used for mating x 100.
f. Female conception index = Number of females with confirmed pregnancy / Number of females with evidence of mating (or confirmed pregnancy x 100.

2.6.7.12B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Report Title: Oral Female Fertility Study Of PF-04965842 In Wistar Han Rats With 1-Month Reversibility

Test Article: Abrocitinib

Design Similar to ICH 4.1.1: Yes
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: 12-14 Weeks
Date of First Dose: 18 Feb 20[redacted]

Dosing Period:
Toxicity: 14 Days premating through cohabitation to GD 7
Recovery: 21 Days
Day of Mating (F): GD 0
Day of Cesarean Section: GD 14
Method of Administration: Oral gavage, 10 mL/kg, QD

Study Number: [redacted]GR261
Lot Number: GR10502
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.1% (v/v) Polysorbate 80 in purified water/Suspension
Special Features: Male rats were utilized for mating purposes and were not dosed. Recovery females (20/group) in the control and 70 mg/kg/day groups were dosed for 21 days followed by a 1-month recovery phase. Recovery females were paired with nondosed male rats on Recovery Day 28. Reversibility was assessed for any deficits in ovulation, tubal transport, implantation, functional reproduction, and development of the embryo consequent to exposure of the female until implantation.
No Observed Adverse Effect Level:
Female Systemic Toxicity: 70 mg/kg/day
Female Fertility and Early Embryonic Development: 10 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**70**
Sex	**F**	**F**	**F**	**F**
Number of Toxicity Animals	20	20	20	20
Number of Recovery Animals	20	0	0	20
Toxicokinetics – Dosing Day 10				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	932	2660	12600
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	3320	11000	157000
Noteworthy Findings				
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight Gain (g)[c]				
Dosing Interval Day 1-14 (All Females)	10.92	0.89	0.90	1.6†
Dosing Interval Day 1-21 (Recovery Females)	15.81	NA	NA	1.5†

2.6.7.12B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: [redacted]GR261 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	3	10	70
Gestation Mean Body Weight (g)[c]				
GD 14	269.93	1.0	1.0	0.93†
Gestation Body Weight Gain (g)[c]				
Interval GD 0-14	51.86	0.99	0.99	0.54†
Premating Food Consumption (g)[c]				
Dosing Interval Day 1-14 (All Females)	194.96	1.0	0.96	1.1*
Gestation Food Consumption (g)[c]				
Interval GD 10-14	81.04	1.0	0.98	0.81†
Estrous Cycle Length (days)	-	-	-	-
Cohabitation Length	-	-	-	-
Females Cohabited	20	20	20	20
Number of Females Mated (Confirmed)	20	20	20	20
Number of Pregnant Females	19	17	19	10
Number of Nonpregnant Females	1	3	1	10
Mating Index (%)	-	-	-	-
Fecundity Index (%)	95	85	95	50†
Fertility Index (%)	95	85	95	50†
Number with Total Resorption of Litter	0	0	0	10
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	19	17	19	10
Mean Number Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean Number Implantations	11.8	11.5	11.5	7.5†
Mean % Preimplantation Loss	4.66	7.53	6.87	30.79
Mean % Postimplantation Loss	5.27	10.07	9.34	100.0†
Mean Number Viable Embryos	11.2	10.5	10.4	0†
Mean Number Early Resorptions	0.6	1.1	1.1	7.5†

2.6.7.12B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: [redacted]GR261 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	3	10	70
Postdose Evaluation				
Number Examined	20	NA	NA	20
Noteworthy Findings				
Number Died or Euthanized Moribund	0	NA	NA	0
Clinical Observations	-	NA	NA	-
Premating Body Weight Gain (g)[c]				
Recovery Interval Day 1-28	13.31	NA	NA	0.37†
Gestation Body Weight	-	NA	NA	-
Premating Food Consumption				
Recovery Interval Day 1-28	411.22	NA	NA	0.93†
Gestation Food Consumption	-	NA	NA	-
Estrous Cycle Length (days)	-	NA	NA	-
Cohabitation Length	-	NA	NA	-
Females Cohabited	20	NA	NA	20
Number of Females Mated (Confirmed)	20	NA	NA	20
Number of Pregnant Females	19	NA	NA	18
Number of Nonpregnant Females	1	NA	NA	2
Mating Index (%)	-	NA	NA	-
Fecundity Index (%)	-	NA	NA	-
Fertility Index (%)	-	NA	NA	-
Number with Total Resorption of Litter	0	NA	NA	0
Necropsy Observations	-	NA	NA	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	19	NA	NA	18
Mean Number Corpora Lutea	-	NA	NA	-
Mean Number Implantations	-	NA	NA	-
Mean % Preimplantation Loss	-	NA	NA	-
Mean % Postimplantation Loss	-	NA	NA	-
Mean Number Viable Embryos	-	NA	NA	-
Mean Number Early Resorptions	-	NA	NA	-

2.6.7.12B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: [redacted]GR261 (continued)

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; NA = not applicable; QD = once daily.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (<1.00 ng/mL).
c. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: **An Embryo-Fetal Development Study of PF-04965842 by Oral (Gavage) in Rats**

Test Article: **Abrocitinib**

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Age at First Dose: ~12-13 Weeks
Date of First Dose: 30 Mar 20[redacted]
Dosing Period: GD 6-17
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 21
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: 20055528
Sponsor Reference Number: [redacted]GR073
Lot Number: GR07194
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose/0.1% Polysorbate 80 in reverse osmosis deionized water
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal: 60 mg/kg/day
Developmental: 10 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	60
Maternal Females				
Number of Animals				
Toxicity	22	22	22	22
Toxicokinetics	3	5	5	5
Toxicokinetics – GD 17				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	2180	4880	6410
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	12900	58300	90000
Number Died or Euthanized Moribund				
Toxicity	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0
Number Pregnant (Toxicity)	22	22	22	21
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Body Weight Gain	-	-	-	-
Corrected Maternal Body Weight Gain	-	-	-	-
Food Consumption[c] (Interval Day 6-21)				
Absolute (g/day)	22.6	1.0	1.0	0.92†
Relative (g/kg/day)	77.2	0.99	0.99	0.93†
Uterine Weight	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Study Number: 20055528 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	60
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	22	22	22	21
Mean Number Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean Number Implantations	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	-
Mean % Postimplantation Loss	7.2	7.8	4.3	9.5
Mean Number Viable Conceptuses	-	-	-	-
Mean Number Early Resorptions	-	-	-	-
Mean Number Late Resorptions	1	0	0	13
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	236/22	260/22	259/22	215/21
Mean Number Live Fetuses	-	-	-	-
Mean Number Dead Fetuses	0	0	0	3
Mean Fetal Body Weight	-	-	-	-
Sex Ratios (% males)	-	-	-	-
% Dead or Resorbed Conceptuses/Litter	7.2	7.8	4.3	9.5
Fetal Observations[d]				
Number Fetuses/Litters Evaluated	236/22	260/22	259/22	218/21
External Malformation	-	-	-	-
External Variations	-	-	-	-
Number Fetuses/Litters Evaluated	112/22	126/22	127/22	102/21
Visceral Malformations	-	-	-	-
Visceral Variations	-	-	-	-
Number Fetuses/Litters Evaluated	124/22	134/22	133/22	113/21
Skeletal Malformations	-	-	-	-
Skeletal Variations[d]				
Rib (13th), short	0/0	0/0	2.2∗/13.6	3.5†/14.3
Rib, thickened	0/0	0/0	0/0	6.2†/19.0†
Cervical vertebrae, arch, reduced ventral process	0.8/4.5	0.7/4.5	0/0	4.4†/23.8†
Hindlimb, metatarsal, not ossified	4.8/22.7	0.7/4.5∗	0.8/4.5∗	9.7∗/33.3

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Study Number: 20055528 (continued)

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonization; NA = not applicable; QD = once daily.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (<1.00 ng/mL).
c. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
d. Values shown are fetuses affected (mean %/litter) followed by litter incidence (%).

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study of PF-04965842 by Oral (Gavage) in Rabbits

Test Article: Abrocitinib

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White
Age at First Dose: 4-5.5 Months receipt
Date of First Dose: 02 Jun 20[redacted]
Dosing Period: GD 7-19
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 29
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: 20058757
Sponsor Reference Number: [redacted]GR183
Lot Numbers: GR07194, GR06528
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose/0.1% Polysorbate 80 in reverse osmosis deionized water
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal: 75 mg/kg/day
Developmental: 75 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**75**
Maternal Females				
Number of Animals				
Toxicity	20	20	20	20
Toxicokinetics	3	5	5	5
Toxicokinetics – GD 19				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	667	4750	16800
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	1520	10300	43000
Number Died or Euthanized Moribund				
Toxicity	0	0	2[c]	0
Toxicokinetics	0	0	0	0
Number Pregnant (Toxicity)	20	18	16	19
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	1[d]	2[c]	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Body Weight Change	-	-	-	-
Corrected Maternal Body Weight Change	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Gravid Uterine Weight	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Number Evaluated	20	20	20	20

Study Number: 20058757 (continued)

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	75
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	20	18	14	19
Mean Number Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean Number Implantations	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	-
Mean % Postimplantation Loss	-	-	-	-
Mean Number Viable Conceptuses	-	-	-	-
Mean Number Early Resorptions	-	-	-	-
Mean Number Late Resorptions	-	-	-	-
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	197/20	156/17	139/14	197/19
Mean Number Live Fetuses	-	-	-	-
Mean Number Dead Fetuses	0	1	0	1
Mean Fetal Body Weight (g)	-	-	-	-
Sex Ratios (% males)	-	-	-	-
Fetal Observations				
Number Fetuses/Litters Evaluated	197/20	156/17	139/14	197/19
External Malformation	-	-	-	-
External Variations	-	-	-	-
Number Fetuses/Litters Evaluated	197/20	155/17	139/14	196/19
Visceral Malformations	-	-	-	-
Visceral Variations	-	-	-	-
Number Fetuses/Litters Evaluated	197/20	155/17	139/14	196/19
Skeletal Malformations	-	-	-	-
Skeletal Variations				
Forelimb, phalanx, not ossified				
Litter incidence	5.0	29.4*	14.3	47.4†
Fetal incidence	0.5	3.2	2.2	6.6†

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Study Number: 20058757 (continued)

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration;
GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; NA = not applicable; QD = once daily.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (<1.00 ng/mL).
c. Two females had total litter loss including early and/or late resorptions. Abortions were not dose-dependent and not considered abrocitinib related.
d. Total litter loss (100% late resorptions).

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of PF-04965842 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function, in Sprague Dawley Rats

Test Article: Abrocitinib

Design Similar to ICH 4.1.2: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley
Age at First Dose: ~11-13 Weeks receipt
Date of First Dose: 14 May 20[redacted]

Dosing Period: GD 6 to LD 20
Day of Mating: GD 0
Method of Administration: Oral gavage, 10 mL/kg, QD
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose/ 0.1% (w/v) Polysorbate 80 in deionized water/Suspension
Litters Culled/Not Culled: Culled to 8 pups/sex/litter on PND 4

Study Number: 00655212
Sponsor Reference Number: [redacted]GR074
Lot Number: GR10502
GLP Compliance: Yes

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
F0 Females: 10 mg/kg/day
F1 Males: 10 mg/kg/day
F1 Females: 10 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**60**
F0 Females				
Number of Animals	20	20	20	20
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	1[b]	0
Number Euthanized due to Early Termination	0	0	0	13[c]
Number with Total Litter Loss	0	0	0	7[c]
Number Pregnant	20	20	20	20
Number Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	2[c]
Clinical Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight (g)	-	-	-	-
Lactation Body Weight (g)	-	-	-	NA
Gestation Food Consumption (g/animal/day)	-	-	-	-
Lactation Food Consumption (g/animal/day)	-	-	-	NA
Mean Duration of Gestation (days)	21.6	21.8	21.7	21.7 (23)[d]
Abnormal Parturition Dystocia	0	0	1	1
Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 00655212 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	60
F1 Litters (Preweaning)				
Number Litters Evaluated	20	20	20	13
Mean Number Pups/Litter	12.0	11.3	12.2	11.2
Mean Number Liveborn Pups/Litter	11.9	11.3	12.2	9.8
Postnatal Survival from Birth to Day 4 (%)	98.5	97.0	98.2	0.0†
Postnatal Survival from PND 4 to Weaning (%)[f]	-	-	-	NA
Mean Body Weights (g)[e]				
PND 4				
Males	11.2	1.1	0.91*	NA
Females	10.9	1.1	0.88†	NA
PND 21				
Males	56.8	0.99	0.87†	NA
Females	55.8	0.98	0.85†	NA
Sex Ratios (% males)	-	-	-	-
Clinical Observations				
Pale Body	0	0	0	8
Cool Body	0	0	0	4
Necropsy Observations (pups/litters)				
Stomach, Milk Not Present	1/1	0/0	0/0	41/9

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 00655212 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	60
F1 Males (Postweaning)[f]				
Number Evaluated	20	18	19	NA
Number Died or Euthanized Moribund	1[g]	0	0	NA
Clinical Observations	-	-	-	NA
Mean Body Weight (g)[e]				
PND 28	96	1.0	0.93*	NA
PND 105	561	1.0	0.95	NA
Body Weight Change (g)[e]				
PND 21-84 (Premating Period)	433	1.0	0.94*	NA
PND 21-105 (Entire Generation)	505	1.0	0.96	NA
Preputial Separation	-	-	-	NA
Acoustic Startle Response	-	-	-	NA
Motor Activity	-	-	-	NA
Biel Water Maze	-	-	-	NA
Number of Males Mated (Confirmed)	19	18	19	NA
Number of Fertile Males	18	16	19	NA
Necropsy Observations	-	-	-	NA
F1 Females (Postweaning)[f]				
Number Evaluated	20	20	19	NA
Number Died or Euthanized Moribund	1[g]	0	0	NA
Clinical Observations	-	-	-	NA
Premating Body Weight Change (g)[e]				
PND 28	90	1.0	0.92*	NA
PND 21-84 (Premating Period)	217	1.1*	1.0	NA
Gestation Body Weight Change (g)	-	-	-	NA
Mean Age of Vaginal Patency (days)	-	-	-	NA
Acoustic Startle Response	-	-	-	NA
Motor Activity	-	-	-	NA

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 00655212 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	60
F1 Females (Postweaning) Continued				
Biel Water Maze	-	-	-	NA
Estrous Cycle Length (days)	-	-	-	NA
Cohabitation Length (days)	-	-	-	NA
Number of Females Mated (Confirmed)	19	20	19	NA
Number of Pregnant Females	18	17	19	NA
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	NA
Necropsy Observations	-	-	-	NA
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	18	17	19	NA
Mean Number Corpora Lutea	-	-	-	NA
Mean Number Implantations	-	-	-	NA
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	NA
Mean % Postimplantation Loss	-	-	-	NA
Mean Number Viable Conceptuses	-	-	-	NA
Mean Number Early Resorptions	-	-	-	NA
Mean Number Late Resorptions	-	-	-	NA

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 00655212 (continued)

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; F0 = maternal/paternal generation; F1 = first generation; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; LD = Lactation Day; NA = not applicable; PND = Postnatal Day.
a. All doses are expressed as active test article moiety per kg of body weight per day.
b. One 30 mg/kg/day F0 female was electively euthanized on LD 3 due to abrocitinob-related dystocia which was noted on the previous day (third day of delivery). This female delivered 6 pups and had 1 dead fetus and 1 late resorption in utero at necropsy.
c. One 60 mg/kg/day F0 female was observed with abrocitinob-related dystocia on the second day of delivery and was euthanized as part of the early group termination as follows: Abrocitinob-related total litter loss during LD 1-3 was observed in seven 60 mg/kg/day females (including the aforementioned female); these females were then euthanized. The remaining females (6 of which had already initiated delivery [LD 0-2 at termination] and 7 of which had not [GD 20-22 at termination]) were euthanized due to low viability of the F1 pups. The 7 females that had not delivered prior to early termination were all gravid (2 with entirely resorbed litters).
d. Group mean is shown followed by one 60 mg/kg/day F0 female shown in parentheses; this female did not initiate delivery until GD 23, and was potentially in dystocia as this female was in active parturition for approximately 19 hours prior to early group termination.
e. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
f. Due to low postnatal survival at 60 mg/kg/day, the neonatal offspring prior to weaning were electively euthanized. Therefore, evaluation of postweaning parameters was precluded at this dose.
g. One male and 1 female in the control group were found dead on PND 75 and 56, respectively; no clinical observations were noted for these animals prior to death, and there were no macroscopic findings at necropsy.

2.6.7.15A REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL JUVENILE STUDIES

Test Article: Abrocitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/ Wistar Han	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] Methylcellulose, and 0.1% [v/v] polysorbate 80 in deionized water) Lot GR10502	15 Days (PND 10-24)	0, 5, 25, 75	10M, 10F	**25 mg/kg/day:** Found dead (1M)[b]	00655213/ No

F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; PND = Postnatal Day; QD = once daily.
a. All doses are expressed as active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Found dead on PND 17 following body weight loss (1.1 g) from PND 16-17. There were no clinical observations noted for this male prior to death and no macroscopic findings or cause of death noted at necropsy; death was not considered abrocitinib related due to the lack of adverse findings or mortality at 75 mg/kg/day.

2.6.7.15B STUDIES IN JUVENILE ANIMALS

Report Title: **An Oral (Gavage) Juvenile (PND 10 Through 63) Toxicity Study of PF-04965842 in Wistar Han Rats With a 2-Month Recovery**

Test Article: **Abrocitinib**

Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: 10 Days
Date of First Dose: 06 Jun 20[redacted]
Duration of Dosing: PND 10-63
Duration of Postdose: 2 Months
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: 00655225
Sponsor Reference Number: [redacted]GR039
Lot Number: GR10502
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose/0.1% (v/v) Polysorbate 80 in deionized water/Suspension
GLP Compliance: Yes
Special Features: In addition to a subset of standard toxicity study parameters, developmental landmarks (balanopreputial separation for males and vaginal patency for females) were evaluated and the right femur length and width were measured
No Observed Adverse Effect Level: Not determined – adverse effects at all doses

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**25**		**75**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity[b]	15	15	10	10	10	10	15	15
Toxicokinetics[c]	20	20	20	20	20	19	21	20
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
PND 10	NA[d]		1250		6640		17300	
PND 63	NA[d]		988		5340		13800	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
PND 10	NA[d]		12800		81100		219000	
PND 63	NA[d]		4270		38600		147000	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	1[e]	1[e]	3[e]	2[e]
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	2[e]	1[e]
Body Weight (g)[f, g]								
PND 21	53.1	50.7	0.96	0.98	0.92	0.96	0.89†	0.92
PND 24	67.9	62.9	0.96	0.98	0.88†	0.92	0.84†	0.86†
PND 63	294.5	184.5	1.0	0.99	0.90†	0.96	0.88†	0.91*
Body Weight Change (g)[f, h]								
PND 10-63	270.2	161.1	1.0	0.99	0.89†	0.96	0.86†	0.90*

2.6.7.15B STUDIES IN JUVENILE ANIMALS

Study Number: 00655225 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		25		75	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Food Consumption (g/animal/day)[f, i]								
PND 21-24	8	-	0.88	-	0.75*	-	0.75†	-
PND 59-63	20	-	1.1	-	0.95	-	0.90	-
Clinical Observations								
Malrotated/Malrotation								
Forelimb, Right	0	0	0	0	0	0	1	0
Forelimb, Left	0	0	0	0	1	0	2	0
Hindlimb, Right	0	0	0	0	2	1	3	4
Hindlimb, Left	0	0	0	0	2	2	3	6
Impaired Use								
Forelimb, Right	0	0	0	0	0	0	1	0
Forelimb, Left	1[j]	0	0	0	0	0	1	0
Hindlimb, Right	0	0	0	0	1	0	2	1
Hindlimb, Left	0	0	0	0	0	0	1	1
Development Landmarks								
Balanopreputial Separation	-	-	-	-	-	-	-	-
Vaginal Patency	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation – PND 64								
White Blood Cells (10^3/μL)	7.38	4.00	6.59	2.88†	4.71†	2.55†	3.49†	2.10†
Lymphocytes (10^3/μL)	6.24	3.39	5.28	2.12†	3.39†	1.57†	2.41†	1.29†
Femur Measurements[f]								
Length (mm)	33.76	30.13	0.99	1.01	0.95†	0.97	0.91†	0.94†
Width (mm)	4.01	3.55	0.99	1.02	0.91†	0.94	0.85†	0.89†
Organ Weights[f]								
Spleen								
Absolute (g)	0.58	0.37	0.86*	0.92	0.66†	0.70†	0.53†	0.54†
Relative (g/100 g body weight)	0.218	0.217	0.87*	0.89*	0.74†	0.71†	0.58†	0.61†
Thymus								
Absolute (g)	0.5690	0.4564	0.85	0.76†	0.60†	0.57†	0.40†	0.38†
Relative (g/100 g body weight)	0.218	0.269	0.78*	0.75†	0.61†	0.58†	0.42†	0.42†

2.6.7.15B STUDIES IN JUVENILE ANIMALS

Study Number: 00655225 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		25		75	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Gross Pathology – Unscheduled								
Number Examined	NA	NA	NA	NA	1	1	3	2
Paw (Hindpaw)								
Malrotated/Malrotation	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
Swollen	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
Bone								
Fracture (Tibia, Right)	NA	NA	NA	NA	0	0	0	1
Short (Radius, Ulna, Bilateral)	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
Dark Red (Right Femur, Right Tibia)	NA	NA	NA	NA	0	0	0	1
Skeletal Muscle, Quadriceps								
Mass	NA	NA	NA	NA	1	0	1	0
Gross Pathology – Scheduled								
Number Examined	10	10	10	10	9	9	10	9
Femur, Left								
Femoral Head, Small	0	0	0	1	3	3	7	4
Femoral Head, Misshapen	0	0	0	0	0	0	1	0
Femur, Right								
Femoral Head, Small	0	0	0	0	4	5	8	6
Paw								
Malrotated/Malrotation	0	0	0	0	0	1	1	4
Bone, Tibia								
Bent	0	0	0	0	2	1	0	1
Skeletal Muscle, Quadriceps								
Mass	0	0	0	0	0	0	1	0

2.6.7.15B STUDIES IN JUVENILE ANIMALS

Study Number: 00655225 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		25		75	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Histopathology – Scheduled								
Number Examined[k]	10	10	10	10	9	9	10	9
Femur, Left								
Abnormal Morphology, Femoral Head								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	3	1
Moderate	0	0	0	1	3	3	4	2
Decreased Primary Spongiosa, Metaphysis								
Minimal	0	0	3	2	3	7	5	2
Mild	0	0	0	0	0	0	4	7
Tibia, Left								
Decreased Primary Spongiosa, Metaphysis								
Minimal	0	0	4	2	6	5	5	2
Mild	0	0	0	0	0	1	3	7
Paws								
Fracture, Chronic								
Present	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1 (1)	1 (3)
Degeneration								
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0 (1)	1 (3)
Thymus, Cortex								
Decreased Cellularity, Lymphoid								
Minimal	0	0	NA	NA	0	0	4	2
Mild	0	0	NA	NA	0	0	1	0
Skeletal Muscle, Quadriceps								
Mineralization								
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1 (1)	NA
Lymph Node, Mesenteric								
Erythrocytosis, Sinus								
Minimal	3	1	1	1	4	4	7	6

2.6.7.15B STUDIES IN JUVENILE ANIMALS

Study Number: 00655225 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		25		75	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Postdose Evaluation – PND 64-118								
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5
Body Weight (g)[f, l]								
PND 64	-	193	-	0.97	-	0.97	-	0.90†
PND 70	308	205	0.96	0.96	1.0	0.96	0.89∗	0.89†
PND 73	312	202	0.96	0.96	1.0	0.99	0.89∗	0.89†
PND 77	328	212	0.96	0.96	1.0	0.98	0.90∗	0.89†
PND 112	-	237	-	0.98	-	1.0	-	0.92∗
Clinical Observations								
Malrotated/Malrotation								
Hindlimb, Right	0	0	0	0	1	2	4	1
Hindlimb, Left	0	0	0	0	1	1	4	3
Femur Measurements[f]								
Length (mm)	38.10	33.89	0.97	0.98	1.01	0.97	0.95∗	0.94†
Width (mm)	4.32	3.67	0.95	0.99	0.99	0.95	0.88†	0.86†
Gross Pathology								
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5
Femur, Left								
Femoral Head, Small	0	0	0	0	0	1	4	4
Femoral Head, Soft	0	0	0	0	0	0	2	0
Femur, Right								
Femoral Head, Small	0	0	1	0	2	2	4	5
Femoral Head, Soft	0	0	0	0	1	1	2	0
Paws								
Malrotation	0	0	0	0	0	2	2	2
Histopathology								
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	4	5
Femur, Left								
Abnormal Morphology								
Moderate	0	0	0	0	0	1	1	1
Marked	0	0	0	0	0	0	3	3

2.6.7.15B STUDIES IN JUVENILE ANIMALS

Study Number: 00655225 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		25		75	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = no noteworthy findings; AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; PND = Postnatal Day; QD = once daily; TK = toxicokinetic.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Nine to 10 animals/sex/group were assigned to the primary necropsy. The remaining ≤5 animals/sex/group in the control and 75 mg/kg/day groups were necropsied following a 2-month recovery phase. Additional animals from the TK phase were assigned to the recovery phase to obtain at least 5 animals/sex in each group, including 5, 5, and 3 males and 5, 5, and 1 females at 5, 25, and 75 mg/kg/day, respectively.
c. To evaluate recovery in all dose groups, some 5 and 25 mg/kg/day TK animals were utilized for the recovery phase. Due to unscheduled deaths in 75 mg/kg/day toxicity, some 75 mg/kg/day TK animals were assigned to the recovery phase after completion of TK sample collection. Overall, 5, 5, and 3 males and 5, 5, and 1 females at 5, 25, and 75 mg/kg/day, respectively, were moved from the TK phase to the toxicity phase. On PND 11, 2, 2, 2, and 3 males and 3, 3, 1, and 2 females at 0, 5, 25, and 75 mg/kg/day, respectively, scheduled for the 24-hour postdose TK blood collection were dosed prior to blood collection; therefore, 9 (PND 10) males and 7 (PND 10) females were added to the study to obtain the 24-hour postdose TK blood samples.
d. All samples below assay limit of quantitation (<1.00 ng/mL).
e. **Electively Euthanized:** One male at 25 mg/kg/day on PND 27; and 3 males at 75 mg/kg/day on PNDs 19, 21, and 27; and 2 females at 75 mg/kg/day on PNDs 16 and 26; due to abrocitinib-related adverse clinical signs of impaired use and/or malrotated of 1 or both hindlimbs or forelimbs or which corresponded to bone fractures, secondary joint inflammation, and/or secondary skeletal muscle mineralization. **Found Dead:** One 25 mg/kg/day female on PND 16 (cause of death not determined), one 75 mg/kg/day male on PND 10 after a single dose (cause of death not determined), one 75 mg/kg/day female on PND 58 (cause of death due to kidney inflammation), and one 75 mg/kg/day male on PND 51 (cause of death due to dosing error); animals found dead were not considered abrocitinib-related.
f. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
g. Lower mean body weights in males at 25 and 75 mg/kg/day were statistically significantly PND 24-63 and PND 21-63, respectively. Lower mean body weights in females were observed during PND 21-63.
h. Mean body weight gains were lower in males at 25 and 75 mg/kg/day generally throughout dosing phase (PND 10-63) with sporadic statistically significant differences. Mean body weight gains were lower in females at 75 mg/kg/day during PND 10-31 with statistically significant differences during PND 14-17 and PND 21-24.
i. Mean food consumption was lower in males at 25 and 75 mg/kg/day throughout PND 21-63.
j. one control male was observed with impaired use of the left forelimb on PND 58 and 60. However this male was observed as normal on PND 62.
k. Missing protocol-required organs/tissues in some groups. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically.
l. Mean body weights in males at 75 mg/kg/day remained lower throughout the recovery phase with statistically significant during PND 70-77. Mean body weights in females at 75 mg/kg/day remained statistically significantly lower through PND 112.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Abrocitinib

In Vivo

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Phototoxicity						
Rat/ Long-Evans	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose/ 0.1% Polysorbate 80 in reverse osmosis deionized water) Lot GR07194	7 Days[b]	0, 50, 150, 300	5F	**≥50 mg/kg/day:** No evidence of cutaneous or ocular phototoxicity	20052793 ([redacted]MA095)/ Yes
Toxicokinetic Parameters (6F/group) – Day 7:						
Dose (mg/kg/day)		0	50	150	300	
C_{max} (ng/mL)		NA[c]	8430	17100	25700	
AUC_{24} (ng•h/mL)		NA[c]	57300	176000	390000	

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; QD = once daily; UVR = ultraviolet radiation.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. Approximately 150 minutes following dose administration, the eyes and skin were given single UVR exposure for approximately 42 minutes from a xenon lamp to simulate sunlight. An additional group of rats were administered 300 mg/kg/day of the abrocitinib, but with no UVR exposure and served as the negative control. For phototoxicity potential, another group of rats (3 females) were administered 50 mg/kg/day of 8-methoxypsoralen as served as comparator, and positive cutaneous and ocular signs of phototoxicity were observed.

c. All samples were below assay limit of quantitation (<1.00 ng/mL).

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Abrocitinib

In Vitro

Type of Test	Test System	Number of Donors	Concentrations of Abrocitinib and Tofacitinib[a] (μM)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Comparison of Abrocitinib and Tofacitinib in Assays of Human Immune Cellular Function					
NK cell Killing of K562 Tumor Cells	Human PBMCs	4	0.0073 to 30	**Abrocitinib:** Mean IC_{50} = 11.69 μM **Tofacitinib:** Mean IC_{50} = 15.78 μM	[redacted]GR190/ No
Degranulation of Activated CD8+ T Cells	Human PBMCs	5	0.001 to 30	**Abrocitinib:** Mean IC_{50} = >30 μM **Tofacitinib:** Mean IC_{50} = 21.12 μM	
Intracellular IFN-γ Accumulation in Activated CD8+ T Cells	Human PBMCs	5	0.001 to 30	**Abrocitinib:** Mean IC_{50} = >30 μM **Tofacitinib:** Mean IC_{50} = 26.26 μM	
IFN-γ Production Following CMV Antigen-Specific T Cell Activation	Human PBMCs	6	0.0003 to 1	**Abrocitinib:** Mean IC_{50} = 0.164 μM **Tofacitinib:** Mean IC_{50} = 0.022 μM	
IFN-γ Production Following VZV Antigen-Specific T Cell Activation	Human PBMCs	6	0.0003 to 1	**Abrocitinib:** Mean IC_{50} = 0.214 μM **Tofacitinib:** Mean IC_{50} = 0.01 μM	
IP-10 Secretion from IFN-α Stimulated PBMCs	Human PBMCs	4	0.00152 to 30	**Abrocitinib:** Mean IC_{50} = 0.292 μM **Tofacitinib:** Mean IC_{50} = 0.064 μM	
IP-10 Secretion from IFN-γ Stimulated PBMCs	Human PBMCs	4	0.00152 to 30	**Abrocitinib:** Mean IC_{50} = 1.06 μM **Tofacitinib:** Mean IC_{50} = 0.41 μM	
HSV-1 Replication in IFN-β Treated HDF Cells	HDFs	3	0.0098 to 10	**Abrocitinib:** Mean IC_{50} = 0.380 μM **Tofacitinib:** Mean IC_{50} = 0.121 μM	

CD = cluster of differentiation; CMV = cytomegalovirus; DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; HDF = human dermal fibroblast; HSV = herpes simplex virus; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; IFN = interferon; IP-10 = interferon inducible protein-10; NK = natural killer; PBMCs = peripheral blood mononuclear cells; VZV = varicella zoster virus.
a. Abrocitinib (Lots PF-04965842-00-0007 and PF-04965842-00-0013) and tofacitinib (Lot PF-04524477-00-0005) were formulated in 0.1% DMSO. The vehicle control was 0.1% DMSO for all assays.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Abrocitinib

In Vitro - Metabolites

Type of Test	Test Cells/ Tissues	Test Article (Metabolite)	Test Concentration (µM)	Results	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)
Patch-clamp	CHO cells stably expressing Nav1.5 sodium current CHO cells stably expressing Cav1.2 calcium current	PF-06471658	0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100	Inhibition of Nav1.5 current: -2.2%, -3.3%, -4.2%, -2.0%, -0.8%, and 1.6% at 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, and 100 µM, respectively; IC_{50} >100 µM. Inhibition of Cav1.2 current: 0.8%, 3.2%, 5.3%, 7.6%, 10.5%, and 14.9% at 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, and 100 µM, respectively; IC_{50} >100 µM.	No	[redacted]LJ058
Patch-clamp	CHO cells stably expressing Nav1.5 sodium current CHO cells stably expressing Cav1.2 calcium current	PF-07054874	0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100	Inhibition of Nav1.5 current: -0.2%, 0.0%, 1.7%, 2.5%, 3.7%, and 6.0% at 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, and 100 µM, respectively; IC_{50} >100 µM. Inhibition of Cav1.2 current: -1.8%, -0.9%, 1.2%, 5.1%, 5.3%, and 6.2% at 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, and 100 µM, respectively; IC_{50} >100 µM.	No	[redacted]LJ059
Patch-clamp	CHO cells stably expressing Nav1.5 sodium current CHO cells stably expressing Cav1.2 calcium current	PF-07055087	0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100	Inhibition of Nav1.5 current: 1.5%, 0.0%, 0.3%, 3.0%, 5.4%, and 8.3% at 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, and 100 µM, respectively; IC_{50} >100 µM. Inhibition of Cav1.2 current: 0.2%, -0.3%, 1.8%, 5.9%, 7.4%, and 10.7% at 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, and 100 µM, respectively; IC_{50} >100 µM.	No	[redacted]LJ060
Patch-clamp	HEK293 stably expressing hERG potassium current	PF-06471658	30, 300	Inhibition of hERG current: 1.9% and 3.6% at 30 and 300 µM, respectively; IC_{50} >300 µM.	Yes	[redacted]0403.QHJ ([redacted]LJ049)
Patch-clamp	HEK293 stably expressing hERG potassium current	PF-07054874	30, 100, 300	Inhibition of hERG current: 3.5%, 11.9%, and 31.3% at at 30, 100, and 300 µM, respectively; IC_{50} >300 µM.	Yes	[redacted]0404.QHJ ([redacted]LJ048)
Patch-clamp	HEK293 stably expressing hERG potassium current	PF-07055087	30, 300	Inhibition of hERG current: 0.8% and 8.2% at 30 and 300 µM, respectively; IC_{50} >300 µM.	Yes	[redacted]0405.QHJ ([redacted]LJ051)

CHO = Chinese hamster ovary; GLP = Good Laboratory Practice; HEK = human embryonic kidney; hERG = human ether-à-go-go-related gene; IC_{50} = 50% inhibitive concentration.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of PF-01323624 in the *Salmonella typhimurium* Reverse Mutation Assay and the *Escherichia coli* Reverse Mutation Assay (Plate Incorporation and Pre-incubation Methods)

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli*
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** DMSO
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium azide which uses saline
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3
Study Number: 20171491
Lot Number: GR13290
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: Not available
Date of Treatment: 03 Dec 20[redacted]

Treatment: Plate incorporation for 48 ± 4 hours with and without metabolic activation.
Preincubation: with and without metabolic activation for 30 minutes ± 2 minutes followed by plate incubation for 48 ± 4 hours

Cytotoxic Effects: Yes, in the plate incorporation assay, cytotoxicity was observed as a reduction in the number of revertants at 5000 µg/plate (TA 98, TA 100 both with and without S9 and TA 1537 without S9). In the preincubation assay, cytotoxicity was observed as a in a reduction in the number of revertants at 5000 µg/plate in the presence of S9 (TA 98, TA 100, TA 1537) and in the absence of S9 (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537).

Genotoxic Effects: No

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	7 ± 2	91 ± 20	8 ± 3	5 ± 3	43 ± 8
PF-01323624	1.7	NT	106 ± 13	NT	NT	43 ± 16
PF-01323624	5.4	NT	64 ± 12	NT	NT	44 ± 5
PF-01323624	17	NT	87 ± 13	NT	NT	42 ± 8
PF-01323624	52	13 ± 4	91 ± 14	11 ± 4	5 ± 2	31 ± 3
PF-01323624	164	10 ± 2	75 ± 14	12 ± 4	3 ± 1	45 ± 11
PF-01323624	512	10 ± 6	94 ± 8	9 ± 4	5 ± 1	42 ± 9
PF-01323624	1600	6 ± 6	72 ± 14	8 ± 4	3 ± 1	39 ± 6
PF-01323624	5000	2 ± 1, T	26 ± 9, T	5 ± 4	2 ± 2, T	33 ± 4

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171491 (continued)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1052 ± 315	NT	NT	NT	NT
ICR-191	2.5	NT	NT	NT	876 ± 85	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	1911 ± 139
Methylmethanesulfonate	650	NT	966 ± 60	NT	NT	NT
Sodium Azide	5	NT	NT	912 ± 27	NT	NT
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	14 ± 1	90 ± 7	13 ± 8	7 ± 1	46 ± 7
PF-01323624	1.7	NT	85 ± 16	NT	NT	50 ± 4
PF-01323624	5.4	NT	78 ± 5	NT	NT	38 ± 10
PF-01323624	17	NT	93 ± 1	NT	NT	41 ± 11
PF-01323624	52	13 ± 3	94 ± 7	8 ± 6	7 ± 6	35 ± 6
PF-01323624	164	15 ± 5	70 ± 15	8 ± 6	6 ± 2	41 ± 9
PF-01323624	512	11 ± 4	76 ± 8	17 ± 3	7 ± 2	50 ± 12
PF-01323624	1600	11 ± 6	68 ± 14	12 ± 2	3 ± 2	48 ± 8
PF-01323624	5000	2 ± 2, T	36 ± 7, T	7 ± 5	7 ± 5	43 ± 11
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	1203 ± 99	1807 ± 141	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	386 ± 13	294 ± 55	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	491 ± 38

Study Number: 20171491 (continued)

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Preincubation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	13 ± 5	106 ± 6	11 ± 4	3 ± 3	35 ± 2
PF-01323624	52	8 ± 2	100 ± 12	9 ± 4	4 ± 4	51 ± 5
PF-01323624	164	13 ± 2	90 ± 10	6 ± 2	5 ± 4	44 ± 11
PF-01323624	512	11 ± 4	81 ± 3	11 ± 1	2 ± 1	36 ± 8
PF-01323624	1600	6 ± 2	80 ± 10	8 ± 2	2 ± 1	46 ± 6
PF-01323624	5000[a]	3 ± 2, T	2 ± 2, T	0 ±1, T	0 ± 1, T	21 ± 11
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1430 ± 23	NT	NT	NT	NT
2-Nitrofluorene	15	NT	NT	NT	161 ± 22	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	98 ± 17
Methylmethanesulfonate	650	NT	872 ± 8	NT	NT	NT
Sodium Azide	5	NT	NT	1082 ± 102	NT	NT
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	22 ± 7	100 ± 10	11 ± 3	4 ± 1	49 ± 4
PF-01323624	52	21 ± 9	105 ± 9	11 ± 4	2 ± 2	48 ±12
PF-01323624	164	17 ± 10	108 ± 8	12 ± 4	4 ± 6	42 ± 6
PF-01323624	512	17 ± 1	101 ± 11	9 ± 5	2 ± 1	43 ± 2
PF-01323624	1600	18 ± 4	63 ± 11	11 ± 4	4 ± 3	46 ± 7
PF-01323624	5000[a]	3 ± 2, T	1 ± 2, T	3 ± 2	0 ± 0, T	28 ± 3
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	654 ± 48	NT	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	386 ± 11	188 ± 25	NT
2-Aminoanthracene	5	NT	1606 ± 239	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	458 ± 39

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171491 (continued)

Criteria for significance: 2x (TA 100 and WP2 uvrA pKM101) and 3x (TA 98, TA 1535, and TA 1537) over controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant; T = toxic, a reduction in the number of revertants compared to the solvent control.
a. Precipitate observed at this dose.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of PF-03817968-09 in the *Salmonella typhimurium* Reverse Mutation Assay and the *Escherichia coli* Reverse Mutation Assay (Plate Incorporation and Pre-incubation Methods)

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli*
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** Water
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium azide which uses saline
Treatment: Plate incorporation for 48 ± 4 hours with and without metabolic activation
Preincubation: with and without metabolic activation for 30 minutes ± 2 minutes followed by plate incubation for 48 ± 4 hours
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3
Study Number: 20171440
Lot Number: GR13472
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: Not available
Date of Treatment: 30 Nov 20[redacted]

Cytotoxic Effects: No cytotoxicity was observed in the plate incorporation assay. However in the preincubation assay cytotoxicity, as evidenced by a reduction in the bacterial background lawn, was observed in the absence of S9 at ≥1600 µg/plate (TA 98 and TA 100) and 5000 µg/plate (TA 1535 and TA 1537).
Genotoxic Effects: No

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
Water	0.1 mL	13 ± 4	112 ± 21	13 ± 6	7 ± 2	48 ± 13
PF-03817968-09	1.7	NT	91 ± 19	NT	NT	39 ± 4
PF-03817968-09	5.4	NT	95 ± 12	NT	NT	47 ± 9
PF-03817968-09	17	NT	103 ± 15	NT	NT	47 ± 8
PF-03817968-09	52	11 ± 1	84 ± 15	10 ± 2	4 ± 4	56 ± 10
PF-03817968-09	164	16 ± 2	101 ± 10	10 ± 5	8 ± 1	49 ± 3
PF-03817968-09	512	13 ± 1	91 ± 17	13 ± 4	3 ± 2	51 ± 6
PF-03817968-09	1600	12 ± 2	101 ± 15	11 ± 8	6 ± 4	47 ± 1
PF-03817968-09	5000	20 ± 2	103 ± 15	11 ± 6	7 ± 2	52 ± 7

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171440 (continued)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1416 ± 107	NT	NT	NT	NT
ICR-191	2.5	NT	NT	NT	858 ± 62	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	1661 ± 82
Methylmethanesulfonate	650	NT	1003 ± 138	NT	NT	NT
Sodium Azide	5	NT	NT	1068 ± 43	NT	NT
With Metabolic Activation						
Water	0.1 mL	17 ± 6	112 ± 6	14 ± 7	4 ± 1	55 ± 4
PF-03817968-09	1.7	NT	93 ± 3	NT	NT	51 ± 8
PF-03817968-09	5.4	NT	103 ± 16	NT	NT	56 ± 10
PF-03817968-09	17	NT	108 ± 8	NT	NT	48 ± 6
PF-03817968-09	52	21 ± 14	126 ± 24	14 ± 6	7 ± 3	58 ± 14
PF-03817968-09	164	22 ± 6	113 ± 9	12 ± 5	10 ± 3	52 ± 5
PF-03817968-09	512	14 ± 2	114 ± 25	12 ± 6	7 ± 4	50 ± 5
PF-03817968-09	1600	16 ± 5	109 ± 4	16 ± 2	6 ± 2	49 ± 8
PF-03817968-09	5000	14 ± 2	95 ± 6	12 ± 3	7 ± 3	45 ± 8
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	1430 ± 67	1394 ± 112	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	416 ± 15	326 ± 27	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	443 ± 15

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171440 (continued)

Test Article	Concentration (μg/plate)	Preincubation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
Water	0.1 mL	18 ± 6	121 ± 24	10 ± 5	7 ± 6	38 ± 7
PF-03817968-09	52	13 ± 6	122 ± 13	13 ± 4	3 ± 2	42 ± 4
PF-03817968-09	164	13 ± 3	97 ± 6	11 ± 6	6 ± 1	37 ± 7
PF-03817968-09	512	14 ± 4	121 ± 23	13 ± 7	3 ± 2	33 ± 9
PF-03817968-09	1600	15 ± 6, T	101 ± 10, T	15 ± 4	9 ± 3	45 ± 7
PF-03817968-09	5000	18 ± 7, T	103 ± 18, T	8 ± 3, T	3 ± 1, T	41 ± 4
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1529 ± 79	NT	NT	NT	NT
2-Nitrofluorene	15	NT	NT	NT	217 ± 18	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	249 ± 22
Methylmethanesulfonate	650	NT	881 ± 102	NT	NT	NT
Sodium azide	5	NT	NT	347 ± 18	NT	NT
With Metabolic Activation						
Water	0.1 mL	18 ± 3	127 ± 14	14 ± 3	3 ± 2	44 ± 5
PF-03817968-09	52	18 ± 3	122 ± 24	12 ± 6	3 ± 2	46 ± 5
PF-03817968-09	164	24 ± 3	111 ± 10	10 ± 5	4 ± 1	53 ± 7
PF-03817968-09	512	21 ± 9	108 ± 9	14 ± 3	2 ± 1	54 ± 11
PF-03817968-09	1600	19 ± 5	116 ± 8	9 ± 5	9 ± 5	54 ± 4
PF-03817968-09	5000	26 ± 6	127 ± 3	19 ± 3	5 ± 4	46 ± 9
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	775 ± 81	NT	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	1195 ± 78	281 ± 50	NT
2-Aminoanthracene	5.0	NT	1553 ± 277	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	582 ± 23

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171440 (continued)

PF-03817968-09 (phosphate salt).
Criteria for significance: 2x (TA 100 and WP2 uvrA pKM101) and 3x (TA 98, TA 1535, and TA 1537) over controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant; T = toxic, reduced background lawn observed.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of PF-06238566 in the *Salmonella typhimurium* Reverse Mutation Assay and the *Escherichia coli* Reverse Mutation Assay (Plate Incorporation and Pre-incubation Methods)

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli*
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** DMSO
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium azide which uses saline
Treatment: Plate incorporation for 48 ± 4 hours with and without metabolic activation
Preincubation: with and without metabolic activation for 30 minutes ± 2 minutes followed by plate incubation for 48 ± 4 hours
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3
Study Number: 20171525
Lot Number: GR13224
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: Not available
Date of Treatment: 12 Nov 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Yes, cytotoxicity was observed as a reduced number of revertants compared to the solvent control at 5000 µg/plate (TA 98 without S9)
Genotoxic Effects: No

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	9 ± 2	87 ± 4	9 ± 5	5 ± 0	24 ± 7
PF-06238566	1.7	NT	80 ± 8	NT	NT	27 ± 8
PF-06238566	5.4	NT	88 ± 5	NT	NT	22 ± 3
PF-06238566	17	NT	90 ± 5	NT	NT	23 ± 2
PF-06238566	52	12 ± 7	86 ± 18	11 ± 3	5 ± 2	30 ± 7
PF-06238566	164	13 ± 4	71 ± 9	9 ± 2	4 ± 2	27 ± 12
PF-06238566	512	9 ± 3	97 ± 3	11 ± 1	3 ± 1	33 ± 12
PF-06238566	1600	11 ± 3	109 ± 4	9 ± 2	6 ± 1	25 ± 4
PF-06238566	5000	6 ± 2, T	94 ± 10	8 ± 3	4 ± 1	29 ± 4

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171525 (continued)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	918 ± 128	NT	NT	NT	NT
ICR-191	2.5	NT	NT	NT	1186 ± 53	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	1526 ± 255
Methylmethanesulfonate	650	NT	850 ± 93	NT	NT	NT
Sodium Azide	5	NT	NT	940 ± 84	NT	NT
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	15 ± 5	84 ± 11	7 ± 1	3 ± 0	38 ± 4
PF-06238566	1.7	NT	87 ± 6	NT	NT	32 ± 8
PF-06238566	5.4	NT	104 ± 8	NT	NT	31 ± 7
PF-06238566	17	NT	92 ± 6	NT	NT	33 ± 6
PF-06238566	52	16 ± 5	89 ± 1	9 ± 2	3 ± 2	26 ± 5
PF-06238566	164	14 ± 7	95 ± 11	8 ± 4	3 ± 2	33 ± 10
PF-06238566	512	14 ± 1	97 ± 10	12 ± 3	5 ± 4	29 ± 4
PF-06238566	1600	16 ± 4	90 ± 6	8 ± 3	3 ± 2	28 ± 10
PF-06238566	5000	9 ± 3	88 ± 8	11 ± 6	4 ± 2	31 ± 12
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	515 ± 31	1864 ± 93	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	311 ± 24	416 ± 60	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	458 ± 96

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171525 (continued)

Test Article	Concentration (μg/plate)	Preincubation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	14 ± 2	96 ± 20	12 ± 4	4 ± 1	19 ± 10
PF-06238566	52	16 ± 4	103 ± 15	8 ± 2	3 ± 1	18 ± 6
PF-06238566	164	13 ± 8	105 ± 2	8 ± 4	2 ± 2	33 ± 4
PF-06238566	512	13 ± 3	105 ± 10	10 ± 2	3 ± 1	30 ± 11
PF-06238566	1600	11 ± 1	124 ± 7	13 ± 3	3 ± 1	24 ± 6
PF-06238566	5000	7 ± 4, T	104 ± 10	25 ± 8	4 ± 1	21 ± 9
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1413 ± 62	NT	NT	NT	NT
2-Nitrofluorene	15	NT	NT	NT	121 ± 1	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	143 ± 11
Methylmethanesulfonate	650	NT	870 ± 39	NT	NT	NT
Sodium Azide	5	NT	NT	1086 ± 66	NT	NT
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	19 ± 1	116 ± 16	15 ± 4	4 ± 1	33 ± 2
PF-06238566	52	19 ± 4	108 ± 14	11 ± 3	3 ± 1	29 ± 9
PF-06238566	164	19 ± 3	115 ± 10	10 ± 2	7 ± 2	25 ± 5
PF-06238566	512	16 ± 4	105 ± 15	14 ± 2	6 ± 3	29 ± 5
PF-06238566	1600	17 ± 6	100 ± 1	16 ± 3	4 ± 3	38 ± 4
PF-06238566	5000	24 ± 10	141 ± 9	34 ± 3	3 ± 1	22 ± 5
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	766 ± 29	NT	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	254 ± 14	207 ± 23	NT
2-Aminoanthracene	5	NT	2017 ± 78	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	533 ± 13

Criteria for significance: 2x (TA 100 and WP2 uvrA pKM101) and 3x (TA 98, TA 1535, and TA 1537) over controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant; T = toxic, reduced number of revertant colonies compared to the negative control.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of PF-07085579 in the *Salmonella typhimurium* Reverse Mutation Assay and the *Escherichia coli* Reverse Mutation Assay (Plate Incorporation and Pre-incubation Methods)

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli*
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** DMSO
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium azide which uses saline
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3
Study Number: 20171473
Lot Number: GR13449
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: Not available
Date of Treatment: 19 Nov 20[redacted]
Treatment: Plate incorporation for 48 ± 4 hours with and without metabolic activation
Preincubation: with and without metabolic activation for 30 minutes ± 2 minutes followed by plate incubation for 48 ± 4 hours
Cytotoxic Effects: No
Genotoxic Effects: No genotoxic effects were observed in the plate incorporation assay; however, genotoxic effects were observed in the preincubation assay in strains TA 98, TA 100, and TA 1537 in both with and without S9

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	24 ± 4	119 ± 5	13 ± 2	4 ± 1	22 ± 10
PF-07085579	1.7	NT	129 ± 16	NT	NT	21 ± 4
PF-07085579	5.4	NT	130 ± 10	NT	NT	17 ± 5
PF-07085579	17	NT	133 ± 19	NT	NT	20 ± 6
PF-07085579	52	21 ± 3	129 ± 14	13 ± 3	5 ± 3	18 ± 4
PF-07085579	164	18 ± 6	120 ± 6	12 ± 2	5 ± 2	21 ± 9
PF-07085579	512	14 ± 7	131 ± 10	12 ± 6	6 ± 5	21 ± 3
PF-07085579	1600	22 ± 4	161 ± 28	17 ± 5	8 ± 3	36 ± 5
PF-07085579	5000[a]	21 ± 4	127 ± 6	12 ± 0	9 ± 2	24 ± 3
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1111 ± 69	NT	NT	NT	NT
ICR-191	2.5	NT	NT	NT	989 ± 88	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	1523 ± 70

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171473 (continued)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Methylmethanesulfonate	650	NT	803 ± 29	NT	NT	NT
Sodium Azide	5	NT	NT	1046 ± 87	NT	NT
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	28 ± 8	125 ± 11	11 ± 8	4 ± 1	27 ± 5
PF-07085579	1.7	NT	126 ± 12	NT	NT	23 ± 4
PF-07085579	5.4	NT	118 ± 15	NT	NT	26 ± 1
PF-07085579	17	NT	131 ± 2	NT	NT	23 ± 3
PF-07085579	52	25 ± 2	110 ± 14	17 ± 2	4 ± 3	20 ± 6
PF-07085579	164	20 ± 4	121 ± 10	15 ± 4	2 ± 1	30 ± 3
PF-07085579	512	22 ± 8	125 ± 16	15 ± 6	3 ± 0	26 ± 6
PF-07085579	1600	26 ± 2	140 ± 13	15 ± 4	10 ± 2	38 ± 3
PF-07085579	5000[a]	29 ± 3	149 ± 24	12 ± 3	4 ± 4	28 ± 12
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	1432 ± 63	1667 ± 41	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	469 ± 35	352 ± 25	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	433 ± 22

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171473 (continued)

Test Article	Concentration (μg/plate)	Preincubation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	15	118 ± 20	11 ± 3	8 ± 4	40 ± 6
PF-07085579	52	10 ± 6	125 ± 3	8 ± 2	5 ± 1	37 ± 10
PF-07085579	164	17 ± 5	172 ± 51	12 ± 3	8 ± 3	56
PF-07085579	512	23 ± 5	209 ± 26	10 ± 5	13 ± 3	41 ± 8
PF-07085579	1600[b]	46 ± 7	403 ± 20	7 ± 2	28 ± 3	60 ± 1
PF-07085579	5000[b]	15 ± 2	114 ± 16	7 ± 0	7 ± 4	42 ± 7
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1351 ± 99	NT	NT	NT	NT
2-Nitrofluorene	15	NT	NT	NT	131 ± 12	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	95 ± 14
Methylmethanesulfonate	650	NT	900 ± 49	NT	NT	NT
Sodium Azide	5	NT	NT	944 ± 112	NT	NT
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	23 ± 9	123 ± 9	8 ± 3	4 ± 1	47 ± 6
PF-07085579	52	20 ± 4	123 ± 8	16 ± 5	9 ± 3	42 ± 3
PF-07085579	164	21 ± 1	122 ± 1	10 ± 4	8 ± 2	46 ± 13
PF-07085579	512	35 ± 2	165 ± 1	14 ± 5	18 ± 4	50 ± 13
PF-07085579	1600[b]	56 ± 2	261 ± 7	8 ± 4	39 ± 9	57 ± 1
PF-07085579	5000[a]	17 ± 2	119 ± 3	9 ± 2	12 ± 4	49 ± 1
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	650 ± 23	1363 ± 566	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	284 ± 44	278 ± 11	NT
2-Aminoanthracene	5	NT	NT	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	496 ± 61

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171473 (continued)

Criteria for significance: 2x (TA 100 and WP2 uvrA pKM101) and 3x (TA 98, TA 1535, and TA 1537) over controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant.
a. Precipitate observed at that dose.
b. Precipitate observed at this dose with the exception of TA 1537, TA 100, and *Escherichia coli* in the presence of S9.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of PF-07094402 in the *Salmonella typhimurium* Reverse Mutation Assay and the *Escherichia coli* Reverse Mutation Assay (Plate Incorporation and Pre-incubation Methods)

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli*
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** DMSO
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium azide which uses saline
Treatment: Plate incorporation for 48 ± 4 hours with and without metabolic activation
Preincubation: with and without metabolic activation for 30 minutes ± 2 minutes followed by plate incubation for 48 ± 4 hours
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3
Study Number: 20171457
Lot Number: GR13419
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: Not available
Date of Treatment: 17 Dec 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Yes, in the plate incorporation assay without S9 at ≥1600 µg/plate (TA 100 and *E. coli*) and with S9 at 5000 µg/plate (TA 1537). No cytotoxicity observed in the preincubation assay.
Genotoxic Effects: No

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	33 ± 4	92 ± 6	26 ± 3	4 ± 3	38 ± 4
PF-07094402	1.7	NT	98 ± 11	NT	NT	41 ± 6
PF-07094402	5.4	29 ± 3	84 ± 18	32 ± 6	6 ± 2	47 ± 9
PF-07094402	17	37 ± 7	95 ± 4	28 ± 5	7 ± 3	31 ± 3
PF-07094402	52	31 ± 2	99 ± 19	29 ± 8	6 ± 3	38 ± 11
PF-07094402	164	29 ± 9	102 ± 22	31 ± 9	8 ± 4	37 ± 13
PF-07094402	512	34 ± 8	95 ± 14	30 ± 13	6 ± 1	33 ± 9
PF-07094402	1600	NT	92 ± 9, T[b]	NT	NT	24 ± 5, T[b]
PF-07094402	2000	35 ± 7[b]	NT	28 ± 10[b]	5 ± 2[b]	NT
PF-07094402	5000	NT	80 ± 14, T[b]	NT	NT	28 ± 7, T[b]

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171457 (continued)

Test Article	Concentration (μg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1007 ± 28	NT	NT	NT	NT
ICR-191	2.5	NT	NT	NT	1291 ± 144	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	1698 ± 103
Methylmethanesulfonate	650	NT	1090 ± 48	NT	NT	NT
Sodium Azide	5	NT	NT	1199 ± 132	NT	NT
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	24 ± 2	115 ± 23	14 ± 3	7 ± 4	40 ± 14
DMSO	0.1 mL[a]	16 ± 8	NT	9 ± 2	6 ± 2	NT
PF-07094402	1.7	NT	109 ± 4	NT	NT	37 ± 9
PF-07094402	5.4	17 ± 6	107 ± 8	11 ± 7	5 ± 5	35 ± 11
PF-07094402	17	18 ± 5	103 ± 13	15 ± 5	5 ± 5	38 ± 11
PF-07094402	52	21 ± 6	107 ± 12	16 ± 2	6 ± 5	39 ± 3
PF-07094402	164	18 ± 11	96 ± 6	11 ± 3	5 ± 5	39 ± 12
PF-07094402	512	16 ± 4	96 ± 12[b]	14 ± 2	3 ± 2	39 ± 2
PF-07094402	1600	NT	100 ± 8[b]	NT	NT	42 ± 6
PF-07094402	2000	19 ± 7	NT	7 ± 3	7 ± 2	NT
PF-07094402	5000[a]	9 ± 4	92 ± 5[b]	7 ± 3	5 ± 5, T	40 ± 4[b]
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	1403 ± 176	2268 ± 254	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	1[a]	1717 ± 139	NT	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	489 ± 24	445 ± 34	NT
2-Aminoanthracene	2.5[a]	NT	NT	515 ± 170	424 ± 60	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	568 ± 4

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171457 (continued)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Preincubation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	13 ± 5	90 ± 12	6 ± 1	5 ± 5	34 ± 7
PF-07094402	17	10 ± 2	93 ± 4	7 ± 6	3 ± 4	33 ± 2
PF-07094402	52	9 ± 4	93 ± 6	5 ± 2	4 ± 4	38 ± 7
PF-07094402	164	10 ± 6	103 ± 4	5 ± 1	6 ± 2	37 ± 15
PF-07094402	512	12 ± 7	89 ± 6	8 ± 2	3 ± 2	40 ± 6
PF-07094402	1000[b]	7 ± 2	100 ± 5	9 ± 3	3 ± 4	34 ± 4
PF-07094402	5000[c]	19 ± 4	NS	NS	NS	NS
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1566 ± 27	NT	NT	NT	NT
2-Nitrofluorene	15	NT	NT	NT	128 ± 13	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	80 ± 10
Methylmethanesulfonate	650	NT	584 ± 55	NT	NT	NT
Sodium Azide	5	NT	NT	940 ± 76	NT	NT
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	17 ± 7	100 ± 2	8 ± 4	5 ± 2	51 ± 11
PF-07094402	17	21 ± 3	95 ± 11	8 ± 3	7 ± 3	42 ± 8
PF-07094402	52	15 ± 5	95 ± 14	8 ± 5	6 ± 2	45 ± 1
PF-07094402	164	17 ± 8	104 ± 10	8 ± 3	5 ± 4	42 ± 9
PF-07094402	512	23 ± 1	95 ± 9	8	7 ± 3	42 ± 6
PF-07094402	1000	13 ± 3	84 ± 13	10 ± 7	2 ± 2	44 ± 7
PF-07094402	5000	21 ± 6	77 ± 12	7 ± 4	2 ± 2, T	45 ± 7
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	984 ± 96	NT	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	238 ± 29	308 ± 14	NT
2-Aminoanthracene	5	NT	1172 ± 57	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	581 ± 19

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171457 (continued)

Criteria for significance: 2x (TA 100 and WP2 uvrA pKM101) and 3x (TA 98, TA 1535, and TA 1537) over controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; NS = plate not scored; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant; T = toxic, bacterial background lawn reduced to some degree.
a. An additional test was conducted with TA 98, TA 1535, and TA 1537 to evaluate the 5000 µg/plate. Solvent control and positive control data correspond to the test at 5000 µg/plate with those strains.
b. Precipitate observed in the plates at that dose for that strain.
c. Heavy precipitate observed at this dose and thereby, the number of revertants could not be determined for any of the strains with the exception of TA 98.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of PF-07097547-24 in the *Salmonella typhimurium* Reverse Mutation Assay and the *Escherichia coli* Reverse Mutation Assay (Plate Incorporation and Pre-incubation Methods)

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli*
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** Water
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium azide which uses saline
Treatment: Plate incorporation for 48 ± 4 hours with and without metabolic activation
Preincubation: with and without metabolic activation for 30 minutes ± 2 minutes followed by plate incubation for 48 ± 4 hours
Cytotoxic Effects: No
Genotoxic Effects: No

Number of Independent Assays: 3
Number of Replicate Cultures: 3

Study Number: 20171507
Lot Number: GR13335
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: Not available
Date of Treatment: 23 Nov 20[redacted]

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
Water	0.1 mL	14 ± 4	95 ± 20	12 ± 2	9 ± 3	20 ± 6
PF-07097547-24	1.7	NT	122 ± 10	NT	NT	23 ± 4
PF-07097547-24	5.4	NT	85 ± 8	NT	NT	21 ± 3
PF-07097547-24	17	NT	102 ± 8	NT	NT	18 ± 2
PF-07097547-24	52	16 ± 5	102 ± 14	10 ± 2	10 ± 5	16 ± 5
PF-07097547-24	164	12 ± 3	92 ± 18	10 ± 5	7 ± 3	24 ± 2
PF-07097547-24	512	15 ± 5	95 ± 18	12 ± 2	9 ± 3	21 ± 2
PF-07097547-24	1600	14 ± 2	99 ± 14	15 ± 2	8 ± 2	20 ± 2
PF-07097547-24	5000	12 ± 3	92 ± 3	10 ± 3	5 ± 4	24 ± 3

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: 20171507 (continued)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1105 ± 109	NT	NT	NT	NT
ICR-191	2.5	NT	NT	NT	965 ± 114	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	1562 ± 40
Methylmethanesulfonate	650	NT	1045 ± 39	NT	NT	NT
Sodium Azide	5	NT	NT	889 ± 38	NT	NT
With Metabolic Activation						
Water	0.1 mL	16 ± 5	99 ± 8	13 ± 7	4 ± 2	22 ± 5
PF-07097547-24	1.7	NT	90 ± 4	NT	NT	20 ± 5
PF-07097547-24	5.4	NT	94 ± 7	NT	NT	18 ± 6
PF-07097547-24	17	NT	94 ± 13	NT	NT	21 ± 3
PF-07097547-24	52	17 ± 3	93 ± 9	11 ± 4	4 ± 3	16 ± 1
PF-07097547-24	164	24 ± 18	99 ± 15	10 ± 3	7 ± 4	26 ± 6
PF-07097547-24	512	19 ± 8	90 ± 21	8 ± 3	7 ± 3	22 ± 4
PF-07097547-24	1600	18 ± 12	90 ± 10	17 ± 4	4 ± 1	24 ± 5
PF-07097547-24	5000	17 ± 6	82 ± 11	10 ± 2	4 ± 2	19 ± 5
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	1413 ± 150	1420 ± 112	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	322 ± 11	392 ± 35	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	412 ± 53

Study Number: 20171507 (continued)

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Preincubation Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
Water	0.1 mL	12 ± 2	122 ± 14	16 ± 6	5 ± 3	34 ± 11
PF-07097547-24	52	16 ± 6	111 ± 11	8 ± 3	3 ± 3	44 ± 8
PF-07097547-24	164	16 ± 8	134 ± 10	9 ± 1	6 ± 4	36 ± 11
PF-07097547-24	512	17 ± 3	125 ± 24	10 ± 5	5 ± 2	37 ± 5
PF-07097547-24	1600	19 ± 7	126 ± 14	12 ± 5	3 ± 2	36 ± 10
PF-07097547-24	5000	13 ± 7	113 ± 12	11 ± 8	5 ± 4	54 ± 17
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	10	1300 ± 18	NT	NT	NT	NT
2-Nitrofluorene	15	NT	NT	NT	182 ± 19	NT
4-Nitroquinoline N-oxide	10	NT	NT	NT	NT	176 ± 127
Methylmethanesulfonate	650	NT	900 ± 46	NT	NT	NT
Sodium azide	5	NT	NT	1161 ± 28	NT	NT
With Metabolic Activation						
Water	0.1 mL	20 ± 6	126 ± 4	11 ± 4	3 ± 1	47 ± 6
PF-07097547-24	52	15 ± 4	148 ± 11	11 ± 4	5 ± 4	46 ± 22
PF-07097547-24	164	23 ± 3	143 ± 6	7 ± 1	6 ± 4	51 ± 8
PF-07097547-24	512	24 ± 3	137 ± 8	15 ± 8	3 ± 1	52 ± 9
PF-07097547-24	1600	21 ± 7	134 ± 8	8 ± 3	5 ± 2	44 ± 1
PF-07094402	5000	14 ± 2	129 ± 12	15 ± 4	2 ± 1	44 ± 11
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	1	649 ± 34	NT	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	2.5	NT	NT	369 ± 49	249 ± 25	NT
2-Aminoanthracene	5	NT	1976 ± 94	NT	NT	NT
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	521 ± 64

Study Number: 20171507 (continued)

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Preincubation Confirmatory Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	**TA 100**	**TA 1535**	**TA 1537**	**WP2 uvrA** pKM101
Without Metabolic Activation						
Water	0.1 mL	NT	NT	NT	NT	48 ± 12
PF-07097547-24	52	NT	NT	NT	NT	49 ± 8
PF-07097547-24	164	NT	NT	NT	NT	51 ± 12
PF-07097547-24	512	NT	NT	NT	NT	46 ± 12
PF-07097547-24	1600	NT	NT	NT	NT	54 ± 2
PF-07094402	5000	NT	NT	NT	NT	46 ± 12
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	15	NT	NT	NT	NT	229 ± 106

PF-07097547-24 (succinate salt).
Criteria for significance: 2x (TA 100 and WP2 uvrA pKM101) and 3x (TA 98, TA 1535, and TA 1537) over controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Report Title: Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of PF-07297478, a Potential Impurity of PF-04965842

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells **Number of Independent Assays:** 1
Species/Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli* **Number of Replicate Cultures:** 3
Metabolizing System: Phenobarbital-5,6 Benzoflavone-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** DMSO
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium nitrite which uses 0.9% saline
Treatment: Plate incorporation for 48-72 hours with and without metabolic activation
Cytotoxic Effects: Yes, cytotoxicity was observed in the absence and presence of S9 at doses ≥2500 µg/plate in strain TA 1537 and at a dose of 5000 µg/plate in strains TA 98 and TA 100
Genotoxic Effects: No

Study Number: [redacted]GR050
Lot Number: 710536-639-01
GLP Compliance: No
S9 Batch Number: 4135
Date of Treatment: 17 Mar 20[redacted]

Test Article	Concentration (µg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	28 ± 3	114 ± 6	19 ± 2	10 ± 4	168 ± 30
PF-07297478	313	23 ± 5	117 ± 10	25 ± 4	9 ± 1	173 ± 18
PF-07297478	625	22 ± 5	130 ± 15	18 ± 7	12 ± 3	180 ± 10
PF-07297478	1250	23 ± 6	136 ± 31	21 ± 8	9 ± 4	163 ± 5
PF-07297478	2500	28 ± 5	138 ± 11	15 ± 1	12 ± 6, T	162 ± 11
PF-07297478	5000	18 ± 7, T	129 ± 5, T	24 ± 8	8 ± 4, T	161 ± 5
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	5	797 ± 18	NT	NT	NT	NT
9-Aminoacridine	50	NT	NT	NT	204 ± 13	NT
ENNG	5	NT	NT	NT	NT	832 ± 67
Nitrofurantoin	2	NT	1062 ± 98	NT	NT	NT
Sodium nitrite	2000	NT	NT	242 ± 14	NT	NT

Study Number: [redacted]GR050 (continued)

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	29 ± 4	128 ± 6	12 ± 1	10 ± 3	182 ± 10
PF-07297478	313	30 ± 1	148 ± 18	17 ± 4	12 ± 4	173 ± 13
PF-07297478	625	38 ± 8	131 ± 32	14 ± 3	15 ± 9	180 ± 8
PF-07297478	1250	27 ± 10	145 ± 18	10 ±4	9 ± 3	189 ± 12
PF-07297478	2500	35 ± 6	142 ± 14	14 ± 3	9 ± 3, T	147 ± 25
PF-07297478	5000	27 ± 5, T	130 ± 21, T	17 ± 6	11 ± 1, T	155 ± 16
Positive Controls						
2-Anthramine	1	NT	NT	107 ± 12	NT	NT
2-Anthramine	2	1792 ± 280	1570 ± 296	265 ± 59	162 ± 46	NT
2-Anthramine	100	NT	NT	NT	NT	986 ± 129

Criteria for significance: 2x (TA 98, TA 100, and WP2 uvrA pKM101) and 3x (TA 1535 and TA 1537) over controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; ENNG = N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; GLP = Good Laboratory Practice; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant; T = toxic; reduced background lawn observed.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Report Title: Exploratory Bacterial Mutagencity Assay of PF-07275639, a Potential Impurity of PF-04965842

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli*
Metabolizing System: Phenobarbital-5,6 Benzoflavone-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** DMSO
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium nitrite which uses 0.9% saline
Treatment: Plate incorporation for 48-72 hours with and without metabolic activation
Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 3
Study Number: [redacted]GR051
Lot Number: 710536-607B
GLP Compliance: No
S9 Batch Number: 4135
Date of Treatment: 17 Mar 20[redacted]

Cytotoxic Effects: Yes, cytotoxicity observed in the presence and absence of S9 at doses ≥1250 µg/plate with TA 100, at doses ≥2500 µg/plate with TA 1537 and at a dose of 5000 µg/plate with TA 98. Cytotoxicity was also observed in TA 1535 only in the absence of S9 at a dose of 5000 µg/plate.
Genotoxic Effects: Yes, both with and without metabolic activation in strains TA 98, TA 100, and TA 1535 and in *E. coli*

Test Article	Concentration[a] (µg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	28 ± 3	114 ± 6	19 ± 2	10 ± 4	168 ± 30
PF-07275639	313	24 ± 4	225 ± 15	187 ± 14	10 ± 3	246 ± 40
PF-07275639	625	36 ± 6	323 ± 37	348 ± 32	9 ± 3	349 ± 41
PF-07275639	1250	29 ± 4	523 ± 25, T	623 ± 64	12 ± 4	531 ± 97
PF-07275639	2500	44 ± 6	872 ± 7, T	970 ± 118	9 ± 2, T	925 ± 78
PF-07275639	5000	61 ± 5, T	1247 ± 84, T	1168 ± 333, T	10 ± 3, T	1017 ± 157
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	5	797 ± 18	NT	NT	NT	NT
9-Aminoacridine	50	NT	NT	NT	204 ± 13	NT
ENNG	5	NT	NT	NT	NT	832 ± 67
Nitrofurantoin	2	NT	1062 ± 98	NT	NT	NT
Sodium Nitrite	2000	NT	NT	242 ± 14	NT	NT

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Study Number: [redacted]GR051 (continued)

Test Article	Concentration[a] (µg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	29 ± 4	128 ± 6	12 ± 1	10 ± 3	182 ± 10
PF-07275639	313	30 ± 5	232 ± 16	169 ± 11	15 ± 5	298 ± 11
PF-07275639	625	42 ± 6	306 ± 26	361 ± 4	13 ± 6	369 ± 69
PF-07275639	1250	45 ± 7	584 ± 107, T	718 ± 51	11 ± 8	540 ± 93
PF-07275639	2500	51 ± 9	962 ± 53, T	1010 ± 53	13 ± 2, T	916 ± 159
PF-07275639	5000	68 ± 11, T	1180 ± 248, T	1433 ± 104	13 ± 2, T	1130 ± 66
Positive Controls						
2-Anthramine	1	NT	NT	107 ± 12	NT	NT
2-Anthramine	2	1792 ± 280	1570 ± 296	265 ± 59	162 ± 46	NT
2-Anthramine	100	NT	NT	NT	NT	986 ± 129

Criteria for significance: 2x (TA 98, TA 100, and WP2 uvrA pKM101) and 3x (TA 1535 and TA 1537) over controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; ENNG = N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; GLP = Good Laboratory Practice; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant; T = toxic; reduced background lawn observed.
a. These are nominal concentrations for PF-07275639. The exact volume of PF-07275639 that was weighed was not recorded. It is estimated that the top concentration was between 5 and 5.3 mg/plate and all subsequent dilutions are similarly affected.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Report Title: Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of PF-07103166, a Potential Impurity of PF-04965842

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Strains: *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** DMSO
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium nitrite which uses 0.9% saline
Treatment: Plate incorporation for 48-72 hours with and without metabolic activation
Cytotoxic Effects: No
Genotoxic Effects: No

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 3

Study Number: [redacted]GR278
Lot Number: 130921-2-3
GLP Compliance: No
S9 Batch Number: 3232
Date of Treatment: 04 Dec 20[redacted]

Test Article	Concentration (µg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	24 ± 2	112 ± 17	15 ± 0	9 ± 4	73 ± 2
PF-07103166	15	25 ± 8	126 ± 9	11 ± 3	10 ± 3	71 ± 10
PF-07103166	50	22 ± 4	125 ± 12	10 ± 4	6 ± 4	60 ± 7
PF-07103166	150	24 ± 4	134 ± 14	9 ± 4	6 ± 1	71 ± 9
PF-07103166	500[a]	31 ± 5	135 ± 4	14 ± 7	13 ± 1	66 ± 4
PF-07103166	1500[a]	20 ± 11	113 ± 7	11 ± 2	5 ± 2	84 ± 9
PF-07103166	5000[a]	16 ± 2	101 ± 8	13 ± 4	6 ± 2	66 ± 9
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	5	2063 ± 58	NT	NT	NT	NT
9-Aminoacridine	50	NT	NT	NT	279 ± 40	NT
ENNG	5	NT	NT	NT	NT	715 ± 6
Nitrofurantoin	2	NT	1130 ± 30	NT	NT	NT
Sodium nitrite	2000	NT	NT	287 ± 14	NT	NT

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Study Number: [redacted]GR278 (Continued)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	36 ± 5	131 ± 1	12 ± 2	11 ± 5	84 ± 14
PF-07103166	15	36 ± 8	123 ± 6	9 ± 3	11 ± 4	79 ± 4
PF-07103166	50	30 ± 4	133 ± 5	11 ± 1	11 ± 5	81 ± 13
PF-07103166	150	33 ± 6	137 ± 15	15 ± 2	11 ± 2	71 ± 8
PF-07103166	500[a]	28 ± 5	144 ± 4	14 ± 7	7 ± 1	74 ± 20
PF-07103166	1500[a]	23 ± 3	119 ± 6	14 ± 8	10 ± 2	66 ± 4
PF-07103166	5000[a]	20 ± 5	115 ± 9	12 ± 5	6 ± 1	60 ± 6
Positive Controls						
2-Anthramine	5	NT	1239	197 ± 72	NT	NT
2-Anthramine	10	2155 ± 404	NT	NT	267 ± 68	NT
2-Anthramine	100	NT	NT	NT	NT	841 ± 35

Criteria for significance: 2x (TA 98, TA 100, and WP2 uvrA pKM101) and 3x (TA 1535 and TA 1537) over controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; ENNG = N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; GLP = Good Laboratory Practice; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant.
a. Precipitate observed at this dose.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Report Title: Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of PF-07216658, A Potential Impurity of PF-04965842

Test Article: Abrocitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells **Number of Independent Assays:** 3
Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli* **Number of Replicate Cultures:** 3
Metabolizing System: Phenobarbitol 5-6-benzoflavone induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** DMSO
For Positive Controls: DMSO with the exception of sodium nitrite which uses 0.9% saline
Treatment: Plate incorporation for 48-72 hours with and without metabolic activation
Cytotoxic Effects: Yes, TA 100 with and without S9 at 5.0 mg/plate
Genotoxic Effects: Yes, TA 1535 with S9 activation up to 3.7x compared with negative solvent control

Study Number: [redacted]GR277
Lot Numbers: 131868-67-6 and 707748-114-01
GLP Compliance: No
S9 Batch Numbers: 3766 and 4025
Dates of Treatment: 27 Nov 20[redacted], 04 Dec 20[redacted], and 04 Jan 20[redacted]

Test Article	Concentration (µg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	18 ± 4	99 ± 10	12 ± 1	7 ± 5	78 ± 4
PF-07216658	15	21 ± 8	129 ± 14	18 ± 2	5 ± 2	80 ± 9
PF-07216658	50	16 ± 5	110 ± 19	13 ± 7	7 ± 1	80 ± 15
PF-07216658	150	23 ± 2	114 ± 13	11 ± 1	9 ± 3	74 ± 5
PF-07216658	500	23 ± 5	103 ± 8	10 ± 7	7 ± 5	79 ± 8
PF-07216658	1500	21 ± 4	98 ± 26	7 ± 3	5 ± 4	75 ± 5
PF-07216658	5000[a]	17 ± 4	90 ± 18, T	10 ± 3	9 ± 3	71 ± 4
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	5	1071 ± 42	NT	NT	NT	NT
9-Aminoacridine	50	NT	NT	NT	215 ± 84	NT
ENNG	5	NT	NT	NT	NT	977 ± 59
Nitrofurantoin	2	NT	1462 ± 38	NT	NT	NT
Sodium Nitrite	2000	NT	NT	297 ± 31	NT	NT
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	30 ± 10	118 ± 13	9 ± 6	12 ± 5	101 ± 13
PF-07216658	15	27 ± 3	130 ± 14	10 ± 4	13 ± 1	93 ± 3
PF-07216658	50	30 ± 7	114 ± 19	13 ± 5	11 ± 4	87 ± 11

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Study Number: [redacted]GR277 (Continued)

Test Article	Concentration (µg/plate)	Definitive Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
PF-07216658	150	32 ± 11	NC	15 ± 7	9 ± 3	83 ± 1
PF-07216658	500	23 ± 10	134 ± 18	23 ± 9	11 ± 3	78 ± 9
PF-07216658	1500	26 ± 8	132 ± 11	32 ± 4	7 ± 1	83 ± 11
PF-07216658	5000[a]	35 ± 7	120 ± 27, T	25 ± 7	9 ± 4	80 ± 13
Positive Controls						
2-Anthramine	2	479 ± 43	562 ± 61	97 ± 17	54 ± 8	NT
2-Anthramine	3	NT	NT	NT	72 ± 8	NT
2-Anthramine	100	NT	NT	NT	NT	907 ± 20
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	NT	NT	10 ± 4	NT	NT
PF-07216658	250	NT	NT	17 ± 2	NT	NT
PF-07216658	750	NT	NT	16 ± 4	NT	NT
PF-07216658	1500	NT	NT	NC	NT	NT
PF-07216658	3000[a]	NT	NT	20 ± 3	NT	NT
PF-07216658	5000[a]	NT	NT	28 ± 5	NT	NT
Positive Controls						
2-Anthramine	5	NT	NT	183 ± 44	NT	NT
With Metabolic Activation						
DMSO	0.1 mL	NT	NT	12 ± 0	NT	NT
PF-07216658	262	NT	NT	17 ± 6	NT	NT
PF-07216658	790	NT	NT	27 ± 8	NT	NT
PF-07216658	1570	NT	NT	38 ± 1	NT	NT
PF-07216658	3140[a]	NT	NT	27 ± 6	NT	NT
PF-07216658	5240[a]	NT	NT	29 ± 4	NT	NT
Positive Controls						
2-Anthramine	2	NT	NT	218 ± 9	NT	NT

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Study Number: [redacted]GR277 (Continued)

Criteria for significance: 2x (TA 98, TA 100, and WP2 uvrA pKM101) and 3x (TA 1535 and TA 1537) over controls.
DMSO = dimethyl sulfoxide; ENNG = N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; GLP = Good Laboratory Practice; NT = not tested; S9 = postmitochondrial supernatant; NC = no cells plated at this dose; T= toxicity in the form of a reduced background lawn.
a. Precipitate observed on the plates.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Test Article: Abrocitinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/ day)	Number/ Sex/Group	MTD (mg/kg/ day)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
In Vivo DRF Tolerability/TK of PF-07216658							
Mouse/ C57BL/6 (wild type)	Oral Gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose/ 0.1% Polysorbate 80 in deionized water/Suspension) Lot 712004-336-01	5 Days	0, 300, 600, 1000	5M, 5F	1000	**300 mg/kg/day:** ↓ BWG (-0.71% to 1.4%) **600 mg/kg/day:** Ruffled fur (1M), ↓ BWG (-3.5%; F) **1000 mg/kg/day:** Ruffled fur, piloerection, hunched posture, ↓ BWG (-8.4% to -11.7%)	AF66CZ.DRF 1NGLP.BTL ([redacted]GR077)/ No

Toxicokinetic Parameters[b] (Combined Sexes):

Dose (mg/kg/day)	0	300	600	1000
Day 5				
C_{max} (ng/mL)	NA[c]	39700	105000	145000
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[c]	354000	974000	2640000

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BWG = body weight gain; DRF = dose range-finding; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; MTD = maximum tolerated dose; NA = not applicable; QD = once daily.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. Blood samples (3/sex/group/time point) were collected from a separate satellite group of C57BL/6 (wild type) mice (12/sex/group for PF-07216658-dosed groups and 9/sex for the control group).

c. Samples collected but not analyzed for plasma PF-07216658 concentrations.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Test Article: Abrocitinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/ day)	Number/ Sex/Group	LOGEL (mg/kg/ day)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
In Vivo Mutation Study of PF-07216658							
Mouse/ Big Blue® Transgenic C57BL/6	Oral Gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose/ 0.1% Polysorbate 80 in deionized water/Suspension) Lot 710536-606-02	28 Days	Toxicity[b]: 0, 100, 300, 600 ENU PC[c]: 40	Toxicity[b]: 6M ENU PC[c]: 5M	100	**≥100 mg/kg/day:** ↑ Mutant frequency at the cII gene in liver and duodenum **40 mg/kg/day (PC):** ↑ Mutant frequency at the cII gene in liver and duodenum, which demonstrated the utility of the test system to detect and quantify induced mutants after administration of ENU (a direct acting mutagen)	AF66CZ.170. BTL ([redacted]GR088)/ Yes

Toxicokinetic Parameters[d]:

Dose (mg/kg/day)	0	100	300	600
Day 28				
C_{max} (ng/mL)	NA[e]	12900	15000	32100
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[e]	93600	108000	394000

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; ENU = N-ethyl-N-nitrosourea; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; LOGEL= lowest observed genotoxic effect level; NA = not applicable; PC = positive control; QD = once daily.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.

b. Liver and duodenum samples from the first 5 males/group were processed for DNA isolation.

c. DNA from positive control animals (from a separate BioReliance study) was used as a concurrent packaging positive control during postlife packaging and mutant analysis phase for each tissue. In that study, male Big Blue® mice were administered 40 mg/kg/day ENU (formulated in buffer solution, pH 6.0) via oral gavage on Days 1, 2, and 3 (dose volume of 10 mL/kg). Duodenum and liver tissues were collected on Day 31, flash frozen for later DNA extraction and analysis. This use of "packaging controls" is permitted to reduce unnecessary animal usage.

d. Blood samples (3/group/time point) were collected from a separate satellite group of C57BL/6 (wild type) male mice (12/group for PF-07216658-dosed groups and 9 for the control group).

e. All samples below assay limit of quantitation (<1.00 ng/mL).

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Test Article: Abrocitinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/ day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/ day)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
In Vivo Impurity Qualification (PF-07103164, PF-07216658, PF-07103166)							
Rat/ Wistar Han	Oral Gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose/ 0.1% Polysorbate 80 in purified water/ Suspension) Lot GR10502[b] Lot 705848-806-01[c]	13 Weeks	0, 30[b], 30[c]	10M, 10F	30[d]	**30 mg/kg/day [b]:** ↓ WBCs, ↓ lymphocytes, ↓ neutrophils (M), ↓ LUCs, ↓ eosinophils), ↓ spleen and ↓ thymus weights (absolute and relative), ↓ lymphocyte cellularity of spleen, thymus, and mesenteric lymph node, ↓ incidence and severity of mononuclear cell infiltration of prostate gland **30 mg/kg/day [c]:** ↓ WBCs, ↓ lymphocytes, ↓ neutrophils (M), ↓ LUCs, ↓ eosinophils, ↓ spleen and ↓ thymus weights (absolute and relative), small thymus (1M), ↓ lymphocyte cellularity of spleen, thymus, and mesenteric lymph node, ↓ incidence and severity of mononuclear cell infiltration of prostate gland The magnitude of effects was similar and there were no differences in abrocitinib-related findings between both groups and lots of abrocitinib	[redacted]GR270/ Yes

Toxicokinetic Parameters of Abrocitinib (Combined Sexes):			
Dose (mg/kg/day)	0	30[b]	30[c]
Day 84			
C_{max} (ng/mL)	NA[e]	8280	7560
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[e]	54500	51000

AUC_{24} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; LUC =large unstained cells; M = male; NA = not applicable; NOAEL = no observed adverse effect level; QD = once daily; WBCs = white blood cells.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Abrocitinib alone (30 mg/kg/day).

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES (STUDIES ON IMPURITIES)

Test Article: Abrocitinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/ day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/ day)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance

c. Abrocitinib (30 mg/kg/day) blended with 3 impurities: 0.44% of PF-07103164, 0.44% of PF-07216658, and 0.43% PF-07103166 resulting in doses of 0.132, 0.132, and 0.129 mg/kg/day, respectively.
d. NOAEL for both abrocitinib alone and abrocitinib combined with 3 impurities: PF-07103164, PF-07216658, and PF-07103166.
e. All samples below assay limit of quantitation (<1.00 ng/mL).