目次

1. まとめ 3
2. 単回投与毒性試験....6
3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）....7
3.1 SDラットを用いた7日間反復経口投与毒性試験（124431試験）....7
3.2 SDラットを用いた28日間反復経口投与毒性及び28日間回復性試験（150428試験）....8
3.3 SDラットを用いた2カ月間の回復期間を設定した3カ月間反復経口投与毒性試験（150432試験）....9
3.4 雌のビーグル犬を用いた探索的な7日間経口投与毒性試験（124273試験）....12
3.5 ビーグル犬を用いた探索的な7日間経口投与毒性試験（151550試験）....13
3.6 ビーグル犬を用いた28日間反復経口投与毒性試験（150429試験）....13
3.7 ビーグル犬を用いた3カ月間1日2回反復経口投与毒性試験（150433試験）....14
4. 遺伝毒性試験....16
4.1 In vitro試験....16
4.1.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（150436試験）....16
4.2 In vivo試験....16
4.2.1 ラットを用いたin vivoにおける哺乳類赤血球による小核試験及びアルカリコメットアッセイの併用試験（150435試験）....16
5. がん原性試験....17
6. 生殖発生毒性試験....17
6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験....17
6.2 胚・胎児発生に関する試験....17
6.2.1 SDラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（150434試験）....17
6.2.2 New Zealand Whiteウサギを用いた母動物における忍容性試験（150808試験）....18
6.2.3 New Zealand Whiteウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験（150810試験）....19
6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験....20
6.4 幼若動物を用いた試験....20
7. 局所刺激性試験....20
8. その他の毒性試験....20
8.1 毒性発現の機序に関する試験（153127試験）....20
8.2 ビーグル犬の培養肝細胞を用いたsotorasib及びM24によるチトクロームP450及びUDPグルクロン酸転移酵素の誘導に関する試験（153409試験）....25
8.3 代謝物に関する試験....26
8.4 不純物に関する試験....27
8.5 SDラットを用いたsotorasibと不純物の混合物による28日間反復経口投与毒性試験（152458試験）....28
8.6 SDラットを用いたsotorasibと不純物の混合物による28日間反復経口投与毒性試験（153451試験）....29
8.7 不純物の遺伝毒性に関する評価....30
9. 光毒性試験 31
10. 考察及び結論....32
11. 参考文献 49

略語一覧

略語又は用語	定義／説明
AUC	area under the concentration-time curve　濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{0-2}	area under the concentration-time curve from time 0 to 2 hours after dosing　0から2時間までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{0-8}	area under the concentration-time curve from time 0 to 8 hours after dosing　0から8時間までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{0-24}	area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours after dosing　0から24時間までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve from time 0 to last quantifiable concentration　0から最終定量可能時点までの濃度 - 時間曲線下面積
BID	twice daily　1日2回
BUN	blood urea nitrogen　血中尿素窒素
C_{max}	maximum observed drug concentration during a dosing interval　投与間隔中の最高血中濃度
DNA	deoxyribonucleic acid　デオキシリボ核酸
ERK1/2	extracellular signal-regulated kinases 1/2　細胞外シグナル調節キナーゼ1/2
GD	gestation day　妊娠
GLP	Good Laboratory Practice　医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
FDA	Food and Drug Administration　米国食品医薬品局
hERG	human ether-à-go-go-related gene　ヒトether-à-go-go 関連遺伝子
HNSTD	highest non-severely toxic dose　重篤な毒性が発現しない最大投与量
HPBL	human peripheral blood lymphocyte(s)　ヒト末梢血リンパ球
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use　医薬品規制調和国際会議
IC_{50}	50% inhibitory concentration　50%阻害濃度
ISOM	inner stripes of the outer medulla of the kidney　腎髄質内層
KIM-1	kidney injury molecule　腎障害分子-1
KRAS	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (protein)　Kirstenラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ（タンパク）
KRAS	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (DNA)　Kirstenラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ（DNA）
KRAS G12C	KRAS protein with a G12C mutation at the protein level　タンパクレベルでG12C変異を有するKRASタンパク
KRAS p.G12C	*KRAS* DNA with a mutation resulting in a G12C mutation at the protein level　タンパクレベルでG12C変異を有するKRAS DNA
MALDI	matrix-assisted laser desorption/ionization　マトリックス支援レーザー脱離イオン化法
MCH	mean corpuscular hemoglobin　平均赤血球ヘモグロビン
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration　平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	mean corpuscular volume　平均赤血球容積
NA	not applicable　適応せず
ND	not done　検出不可
NSCLC	non-small cell lung cancer　非小細胞肺癌
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development　経済協力開発機構
OSOM	outer stripes of the outer medulla of the kidney　腎髄質外帯外層
PAC	(S)-1-(3-methylpiperazin-1-yl)prop-2-en-1-one
QD	once daily　1日1回
R_{AUC}	accumulation ratio　蓄積率
RBC	red blood cell(s)　赤血球
RRF	relative response factor　相対応答係数
STD_{10}	severely toxic dose in 10% of animals　10%の動物に重篤な毒性が発現する投与量
T_{max}	time to reach C_{max}　最高血中濃度到達時間
WBC(s)	white blood cell(s)　白血球

1. まとめ

sotorasibはKRAS G12Cの強力かつ選択的な共有結合性の阻害剤であり、KRAS G12C変異を有する進行性悪性腫瘍患者の治療を目的として開発中の薬剤である。

sotorasibの非臨床安全性は、探索的毒性試験、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠したラット及びイヌを用いた最長3カ月間の反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する毒性試験、作用機序試験、代謝物及び不純物に関する試験、並びにin vitro光毒性試験を含むその他の毒性試験により評価した。安全性薬理試験については、モジュール2.6.2 4項に記載する。

sotorasibの非臨床安全性を評価する動物種としてSprague Dawley（SD）ラット及びビーグル犬を選択した。sotorasibは野生型KRASと比較してKRAS G12C変異に高い選択性を有し（モジュール2.6.2 2.1項）、また、*KRAS p.G12C*変異は腫瘍組織でのみで認められ、正常組織では認められていない（AACR GENIE Consortium, 2017、Karnoub and Weinberg, 2008）。In vitroで生成したヒト代謝物は、ラット及びイヌのin vitroにおいても生成がみられた（モジュール2.6.4 5.1項）。In vivo非臨床毒性試験では、予定されている臨床投与経路に基づき経口投与を選択した。

GLP条件下で実施したラットを用いた28日間反復投与毒性試において、sotorasibの30、100及び200 mg/kgを投与したときの忍容性は良好であり、使用した動物の10%に重篤な毒性が発現する投与量（STD_{10}）は200 mg/kgを超えていた。ラットで認められたsotorasibの投与に関連した主な変化は軽微から軽度であり、腎尿細管上皮の変性／壊死、脾臓重量の増加、白血球の増加及び網状赤血球数及び赤血球指数の変化を伴う循環赤血球（RBC）量の減少（ヘモグロビン、赤血球数及びヘマトクリット）、並びに病理組織学的検査における腎臓髄質外帯外側（OSOM）での腎尿細管上皮の変性／壊死であった。尿細管における変化は28日間の休薬期間終了後に部分的に回復したことから、回復あるいは修復が持続していることが確認された。しかしながら、少数の尿細管の周辺に間質性繊維増殖がみられた。ラットにおけるsotorasibの投与に関連した脾臓重量の増加は、28日間の休薬期間終了時には認められず、血液学的パラメータの変化はすべて対照群と同程度であった。ラットを用いた3カ月間反復投与毒性試験及び2カ月間回復性試験では、sotorasibのより高い用量（60、180及び750 mg/kg）まで評価しており、ヒトの臨床曝露量を網羅する、より高い全身曝露が得られた。腎尿細管変性／壊死の発現頻度及び重症度（軽微から顕著）は、28日間反復投与毒性試験における腎臓の変化と比較して高かった。これは、試験期間が長いこと及びsotorasibの全身曝露量が高いことに起因したものと考えられた。休薬期間終了時、すべての用量において、sotorasibの投与に関連した腎臓の変化は部分的に回復した。ラットを用いた3カ月間反復投与毒性試験におけるSTD_{10}は180 mg/kgであった。

GLP条件下で実施したイヌを用いた28日間反復投与毒性試験において、sotorasibの10、30及び300 mg/kgを投与したときの忍容性は良好であった。重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は300 mg/kgを超えていた。イヌにおけるsotorasibの投与に関連した主な変化は、網状赤血球数の減少を伴う軽微から軽度の赤血球系パラメータの減少であった。GLP条件下で実施したイヌを用いた3カ月間反復投与毒性試験では、sotorasibのより高い全身曝露を得るために、高い用量［200及び1000 mg/kg/dayを100及び500 mg/kgの用量で1日2回（BID）投与］を用いて評価した。しかしながら、sotorasibの1000 mg/kg/dayを投与しても、ラットを用いた3カ月間反復投与毒性試験と

比較して高い曝露は得られなかった。sotorasibの投与に関連した所見として、胆嚢内の異物、軽微から軽度の血液学的検査及び血液生化学的検査パラメータの変化、肝臓、下垂体又は甲状腺の病理組織学的変化がみられたが、これらは重篤な毒性ではなく、肝細胞酵素誘導に対する適応性反応又は二次的反応と判断した。イヌにおいて腎毒性は認められなかった。本試験におけるHNSTDは1000 mg/kg/dayであった。

GLP条件下で実施した細菌を用いた復帰突然変異試験及び哺乳類の培養細胞を用いたin vivo小核試験、並びにラットを用いたアルカリコメットアッセイにおいて、sotorasibは遺伝毒性を示さなかった。sotorasibは、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験において、最高用量である540 mg/kgまで胚・胎児の発生に影響せず、催奇形性も認められなかった。ウサギにおいて、投与期間中の母動物で体重増加量及び摂餌量の減少がみられた用量である100 mg/kgでのみ、胎児体重の減少及び胎児の中手骨骨化数の減少が認められた。骨化遅延は、胎児体重の減少に伴う成長遅延に起因したものと考えられ、母動物での毒性に伴う非特異的な胎児への影響であると判断した（Nitzsche, 2017）。sotorasibはin vitroにおいて光毒性を示さなかった。

ヒトの血中代謝物［AMG3368167（M24）、AMG3413829（M18）、AMG3375854（M10）］を用い、潜在的な薬理作用について、in vitroにおけるヒトether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）カリウムチャネルアッセイ（モジュール2.6.2）及び変異原性試験により評価した。その結果、安全性に大きな問題は認められなかった。

sotorasibの原薬中、安全性の確認が必要な閾値を超えて含有されている不純物について、日米欧医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン（ICH Q3A(R2), 2006、ICH Q3B(R2), 2006）に従い安全性の確認を行った。

sotorasibを用いた非臨床毒性試験の一覧を表 1に示す。重要な非臨床試験は、いずれも経済協力開発機構（OECD）のデータ相互受入れ制度の加盟国である米国及びカナダのGLP適合試験施設において、OECD試験ガイドライン及びGLPに準拠して実施した。

表 1　sotorasib：非臨床毒性試験

Study Title	Testing Facility	GLP	Amgen Study No.
Repeat-dose Studies			
AMG3365648: 7-Day Oral Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat	[redacted]	No	124431
AMG 510: 28-Day Oral Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat With a 28-Day Recovery Period		Yes	150428
AMG 510: A 3-Month Oral Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat With a 2-Month Recovery Period		Yes	150432
AMG3365648: Exploratory 7-Day Oral Toxicology Study in the Female Beagle Dog		No	124273
AMG 510: Exploratory 7-Day Oral Toxicology Study in the Beagle Dog		No	151550
AMG 510: 28-Day Oral Toxicology Study in the Beagle Dog		Yes	150429
AMG 510: A 3-Month BID Oral Toxicology Study in the Beagle Dog		Yes	150433
Genotoxicity Studies			
Bacterial Reverse Mutation Assay in 24-well Plates (Micro Ames) with AMG3365648#6		No	124824
In vitro Micro HPBL Micronucleus Assay with AMG3365648#6		No	124825
AMG 510: Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	150436
AMG 510: Combined In Vivo Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test and Alkaline Comet Assay in Rat		Yes	150435
Reproductive and Developmental Toxicity Studies			
AMG 510: Embryo-fetal Development Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat		Yes	150434
AMG 510: Maternal Tolerability Study in the Pregnant New Zealand White Rabbit		No	150808
AMG 510: Embryo-fetal Development Toxicology Study in the New Zealand White Rabbit		Yes	150810
Other Toxicity Studies – Mechanistic			
AMG 510: Exploratory 7-Day Oral Toxicology Study in the Male Sprague Dawley Rat		No	153127
AMG 510 and AMG3368167: Cytochrome P450 and UDP Glucuronosyltransferase Induction in Cultured Beagle Dog Hepatocytes		No	153409
Other Toxicity Studies – Metabolites			
In-silico Mutagenicity Prediction of AMG3413829 (M18)	Amgen Inc. Cambridge, MA	No	153305
In-silico Mutagenicity Prediction of AMG3375854 (M10)	Amgen Inc. Cambridge, MA	No	153306
Bacterial Reverse Mutation Assay in 24-well Plates (Micro Ames) with AMG3368167#2		No	125020
In Vitro Micro HPBL Micronucleus Assay with AMG3368167#4		No	125324
Other Toxicity Studies – Impurities			
Mixture of AMG 510 and Impurities: A 28-Day Oral Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat		Yes	152458
Mixture of AMG 510 and Impurities: A 28-Day Oral Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat		Yes	153451

Footnotes are on the last page of the table.

表 1 sotorasib：非臨床毒性試験（続き）

Study Title	Testing Facility	GLP	Amgen Study No.
Other Toxicity Studies – Impurities (continued) Bacterial Reverse Mutation Assay in 24-well Plates (Micro Ames) with AMG3379613	[redacted]	No	125621
AMG3379613 GLP Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	153053
AMG3379613 Lot No. [redacted] and Lot No. [redacted]: Bacterial Reverse Mutation Test in 24-well Plates (Micro Ames) in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	153494
AMG3379620 GLP Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	153054
AMG3368167 GLP Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	153052
AMG3396902 GLP Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	153049
AMG3412607 GLP Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	153051
AMG3414168 GLP Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	153050
AMG3422551: Bacterial Reverse Mutation Test in 24-well Plates (Micro Ames) in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	154030
AMG3422536: Bacterial Reverse Mutation Test in 24-well Plates (Micro Ames) in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	154031
AMG3422547: Bacterial Reverse Mutation Test in 24-well Plates (Micro Ames) in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*		Yes	154032
Other Toxicity Studies – Phototoxicity Screening Assay to Assess the Phototoxic Potential of AMG3365648	[redacted]	No	124666

AMG 510 = sotorasib; AMG 510 was previously known as AMG3365648 and 3365648; BID = twice a day; GLP = Good Laboratory Practice; HPBL = human peripheral blood lymphocytes; UDP = uridine diphosphate

2. 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施しなかった。しかし、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験によりsotorasibの急性毒性を評価した。ラット及びイヌにおいて、sotorasibの投与に関連した急性毒性は認められなかった。

3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

3.1 SDラットを用いた7日間反復経口投与毒性試験（124431試験）

探索的な試験として、SDラット（5例／性／群）を用い、sotorasibの0、30、100又は300 mg/kgを7日間反復経口投与した時のsotorasibの潜在的な毒性を評価し、トキシコキネティクス測定を実施した（124431試験）。

sotorasib及びその代謝物であるM24のトキシコキネティクス解析データを表 2に示す。sotorasibのDay 7における曝露量［投与間隔中の最高血漿中濃度（C_{max}）及び投与後0から8時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積（AUC_{0-8}）］は、300 mg/kg投与群の雄を除くすべての群で、Day 1の曝露量の2倍以内であった。300 mg/kg投与群の雄で、Day 7における曝露量は低かった。この原因は不明であるが、300 mg/kg投与群の雄の肝臓において薬物代謝関連遺伝子（チトクロムP450など）の発現の増加はみられなかった。sotorasibの血中濃度の性差は概して2倍以内であった。曝露量は、30～100 mg/kgの投与では用量にほぼ比例して増加し、100～300 mg/kgの投与では用量比を上回り増加した（300 mg/kg投与群の雄を除く）。M24は、以前実施した単回投与薬物動態試験でも認められたことから、本試験においても測定した。M24の曝露量の割合は、概して用量の増加に伴い減少した（30 mg/kgの投与ではsotorasibのAUCの51%、300 mg/kgの投与ではsotorasibのAUCの23%）。

表 2 Sprague Dawleyラットにsotorasibを7日間反復経口投与した後のsotorasib及び代謝物であるM24（AMG3368167）のDay 7におけるトキシコキネティクスパラメータ（平均値±SD）

Analyte	AMG 510 Dose (mg/kg)	Sex	T_{max} (hr)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-8} (µg·h/mL)	R_{AUC}
AMG 510	30	Male	0.5 to 1	2.96 ± 0.602	5.16 ± 0.747	1.47
		Female	0.5 to 1	7.17 ± 2.14	8.55 ± 0.591	1.59
	100	Male	1	10.8 ± 3.17	22.8 ± 3.56	1.87
		Female	0.5 to 1	13.8 ± 4.29	26.9 ± 9.04	1.83
	300	Male	0.5 to 1	3.84 ± 1.31[a]	8.05 ± 0.954[a]	0.110[a]
		Female	1 to 8	15.4 ± 3.95	90.3 ± 20.7	0.901
Metabolite M24 (AMG 3368167)	30	Male	1 to 4	0.253 ± 0.082	1.37 ± 0.367	1.07
		Female	1 to 4	0.611 ± 0.216	3.86 ± 2.73	1.36
	100	Male	1 to 4	0.572 ± 0.139	3.24 ± 0.811	1.43
		Female	4 to 8	0.788 ± 0.219	5.23 ± 1.37	1.59
	300	Male	1 to 4	0.577 ± 0.117	2.73 ± 0.643	0.364
		Female	4 to 8	2.41 ± 0.587	13.5 ± 3.24	1.41

AMG 510 = sotorasib; AUC_{0-8} = area under the concentration-time curve from time zero to 8 hours after dosing; C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; RAUC = accumulation ratio (day 7 AUC_{0-8}/day 1 AUC_{0-8}); T_{max} = time to reach C_{max} reported as the range.

[a] The reason for the lower exposure in males at 300 mg/kg on day 7 is unknown. Exposures on day 1 were similar to females (C_{max} 14.0 ± 2.60 µg/mL; AUC_{0-8} 75.7 ± 14.7 µg·h/mL)

AMG 510 concentrations were not quantifiable in plasma samples collected from the control group.

Source: Study 124431

死亡の有無、一般状態、体重、血液凝固及び尿検査において、sotorasibの投与に関連した変化はみられなかった。sotorasibの投与に関連した変化として、30 mg/kg以上の投与群で白血球の軽微な増加（好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球を含む）、300 mg/kg投与群の雄で網状赤血球の減少を伴う赤血球系パラメータの軽微な減少（ヘモグロビン、赤血球数及びヘマトクリット）、100 mg/kg投与群でグルコースの軽微な減少が認められた。腎臓に対し、100 mg/kg（雄5例中1例）

及び300 mg/kg（雄5例、雌4例）投与群で、腎尿細管上皮の軽微から中等度の用量依存的な変性/壊死がみられた。尿細管の変性／壊死は、主にOSOMにみられ、細胞質における好酸球増加を伴う脱落した個々の上皮細胞及び濃縮した核（単細胞壊死）、並びに好塩基性細胞質を伴う軽微に腫脹した無秩序な上皮細胞を特徴としたものであった。300 mg/kg投与群でみられた軽微から軽度の好酸性顆粒円柱は、脱落した上皮細胞に起因するものであった。変性／壊死は、100 mg/kg以上での投与群でみられた剖検所見である腎臓の蒼白化、並びに300 mg/kg投与群における腎臓の絶対及び相対重量の増加と関連していた（絶対重量で最大1.16倍増加）。

3.2 SDラットを用いた28日間反復経口投与毒性及び28日間回復性試験（150428試験）

GLP条件下で実施した本試験では、SDラットにsotorasibを28日間連日反復経口投与した後、28日間の休薬期間を設け、潜在的な毒性及びトキシコキネティクスについて評価した（150428試験）。ラットを用い［主試験：雌雄各10例／群、回復試験：雌雄各5例／群（0及び200 mg/kg投与群）、トキシコキネティクス評価用サテライト動物：雌雄各4例／群］、sotorasibを0、30、100又は200 mg/kgの用量で投与した。7日間反復投与毒性試験（124431試験）の結果に基づき、腎毒性による予定外の死亡を回避するため、高用量群として200 mg/kgを選択した。

トキシコキネティクス解析の結果を表 3に示す。200 mg/kg投与群の雌のDay 1を除き、雌では概して雄よりも曝露量が高かった（AUCが2倍以上）。Day 27にAUCが約3倍増加した200 mg/kg投与群の雌を除き、いずれの投与群でもsotorasibの顕著な蓄積は認められなかった。28日間反復投与毒性試験におけるsotorasibの曝露量は、7日間反復投与毒性試験でより溶解性の高い結晶形のsotorasib（無水遊離形II）を投与しており、28日間反復投与毒性試験では、より安定で溶解性の低い結晶形（臨床試験及び計画中の市販製剤に用いる原薬である無水遊離形I）を用いたことから、7日間反復投与毒性試験よりも低かった。

表 3 SDラットにsotorasibを28日間連日反復経口投与した時のトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD)

Day	AMG 510 Dose (mg/kg)	Sex	T_{max} (hr)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg·h/mL)
1	30	Male	0.5	1.43 ± 0.220	2.23 ± 0.504
		Female	0.5	3.05 ± 1.81	4.40 ± 2.40
	100	Male	0.5	2.16 ± 0.211	4.89 ± 1.55
		Female	0.5	4.91 ± 1.46	9.88 ± 3.58
	200	Male	0.5 to 1	6.67 ± 2.59	18.6 ± 8.93
		Female	1 to 2	3.89 ± 0.956	14.8 ± 2.08
27	30	Male	0.5 to 1	1.05 ± 0.474	1.72 ± 0.849
		Female	0.5	2.62 ± 0.743	3.76 ± 1.05
	100	Male	0.5 to 1	1.92 ± 1.17	3.99 ± 1.85
		Female	0.5 to 1	6.56 ± 4.70	12.9 ± 12.7
	200	Male	0.5 to 1	6.33 ± 2.35	19.9 ± 12.6
		Female	0.5 to 1	15.3 ± 8.61	50.8 ± 53.7

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours): C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; T_{max} = time to reach C_{max} reported as the range.

sotorasib concentrations were not quantifiable in plasma samples collected from the control group.

Source: Study 150428

死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血清生化学的検査、血液凝固又は剖検所見において、sotorasibの投与に関連した変化はみられなかった。血液学パラメータにおけるsotorasibの投与に関連の変化として、すべての投与群の雌及び100 mg/kg以下の投与群の雄でみたれた赤血球量の軽微な減少がみられた。赤血球量の減少は、性別に関連した連網状赤血球反応の変動（雄で増加、雌で減少）及び赤血球パラメータの変化［平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球ヘモグロビン（MCH）及び平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）］、血小板の増加を含む、軽微な二次的変化と関連していた。すべての用量でリンパ球を含む白血球数（WBC）の軽微から軽度の増加が、また、100 mg/kg以上の投与群で、病理組織学的変化を伴わない軽微から軽度の単球の増加が認められた。28日間の休薬期間終了後、sotorasibの投与に関連した血液学パラメータの変化はすべてと対照群と同等であった。

200 mg/kg投与群で腎臓のOSOMにおいてsotorasibの投与に関連した近位尿細管上皮の変性／壊死がみられ、ラットを用いた7日間反復投与毒性試験で認められた腎臓における変化と同等であった（124431試験）。尿細管変性／壊死がみられた雌の1例は、尿中のグルコース、ケトン、血液及びタンパクを含む尿検査パラメータの軽微から中程度の増加を伴っていた。尿細管損傷は、28日間の休薬期間終了後に部分的に回復したが、いくつかの尿細管では周辺に間質性線維増殖がみられた。

結論として、sotorasibの0、30、100及び200 mg/kgをラットに強制経口投与した時の忍容性が確認された。sotorasibの投与により、赤血球量及び赤血球パラメータに関連した白血球数の変化が脾臓及び腎臓で観察された。STD_{10}は200 mg/kgを超えるものと判断した。

3.3 SDラットを用いた2カ月間の回復期間を設定した3カ月間反復経口投与毒性試験（150432試験）

GLP条件下で実施した150432試験では、SDラットにsotorasibを3カ月間連日経口投与し、その後2カ月間休薬したときの潜在的な毒性を評価するとともに、トキシコキネティクス測定を実施した。ラット（主試験では雌雄各15例／群、サテライト群では雌雄各5例／群）にsotorasibの0、60、180又は750 mg/kgを投与した。本試験で検討した用量は、より高いsotorasibの全身曝露量を達成するため、先に実施した28日間反復投与毒性試験（150428試験）よりも高い用量で実施した。

sotorasibの曝露量、C_{max}及び0から最終定量可能時間までの濃度-時間曲線下面積（AUC_{last}）は雌雄で同様であった。雌雄を併せたトキシコキネティクスデータを表 4に要約する。Day 1及びDay 91における各動物のsotorasibの血漿中濃度はばらつきがあり、sotorasibの平均曝露量は用量に比例して増加し、sotorasibの蓄積は認められなかった（AUCの2倍以内）。

表 4　SDラットにsotorasibを3カ月間反復経口投与した時のトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD）

Day	AMG 510 Dose (mg/kg)	T_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)
1	60	0.5	4.90 ± 2.34	10.8 ± 5.64
	180	0.5	5.63 ± 2.36	32.6 ± 25.7
	750	0.5	12.7 ± 2.72	116 ± 34.6
91	60	0.5	7.23 ± 3.80	15.9 ± 6.43
	180	0.5	10.1 ± 4.29	63.7 ± 22.7
	750	2.0	21.9 ± 7.54	208 ± 70.6

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours); C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; T_{max} = time to reach C_{max} reported as the range.

sotorasib concentrations were not quantifiable in plasma samples collected from the control group.

Source: Study 150432

sotorasibの投与に関連した計画外の剖検は実施しなかったが、4例で投与後の合併症又は偶発的所見に起因する計画外の剖検を実施した。投与期間中に計画外の剖検を実施した3例は、強制経口投与に起因する合併症によるものであった。休薬期間中に計画外の剖検を実施した1例は、自然発生的な腎芽細胞腫による合併症によるものであった。

750 mg/kg投与群では、状態の悪化と一致する一般状態の変化として、体重増加抑制、脱水及び円背位が認められた。眼科学的検査では、sotorasib投与に関連する変化はみられなかった。

sotorasibの投与に関連した血液学的パラメータの変化として、60 mg/kg以上の投与群で軽微から中等度の赤血球系パラメータの減少がみられ、750 mg/kg投与群の雌では二次的な生理学的な適応と考えられる網状赤血球数の軽微な増加、750 mg/kg投与群では赤血球パラメータ（MCV及びMCH）の軽微な増加がみられた。180 mg/kg以上の投与群の雌及び750 mg/kg投与群の雄で認められたその他の変化として、軽微から中等度の血小板数増加及び病理組織学的所見を伴わない軽微から軽度の白血球数の増加が認められた。休薬期間終了時（148日目）では、750 mg/kg投与群で認められた赤血球パラメータの減少（最小重症度）を除き、血液学的変化は回復した。赤血球パラメータの減少は、骨髄の再生能力に基づくものと考えられ、さらに休薬期間を置くことで完全に回復するものと予想された。

sotorasibの投与に関連した凝固系パラメータの変化は、750 mg/kg投与群でみられた軽微なフィブリノゲン減少のみであり、休薬期間終了時には完全に回復した。

sotorasibの投与に関連した血液生化学的検査、尿検査、尿生化学的検査及び尿中バイオマーカーにおける変化は、概して腎尿細管の損傷及び機能障害と一致していた。60 mg/kg以上の投与群の雄及び750 mg/kg投与群の雌で、軽微から軽度の尿量の増加が認められた（ときに尿比重低下を伴う）。180 mg/kg以上の投与群で認められたその他の尿検査パラメータの変化として、グルコース、タンパク及び電解質の尿中排泄量の増加、並びに尿細管障害の尿バイオマーカーの増加［腎障害分子-1（KIM-1）及びクラステリン］であり、750 mg/kg投与群では尿中白血球の発現頻度及び重症化が認められた。尿細管障害及び機能障害のマーカーの変化は、早ければDay 8に認められ、KIM-1及びクラステリンの増加が最も大きく、主に750 mg/kg投与群で認められた。Day 92における腎障害バイオマーカーの変化の程度は、しばしば腎臓の病理組織学的変化の重症度の上昇と相関していた。関連する血液生化学的変化として、尿素窒素及びクレアチニンの増加が、中等度又は顕著な尿細管

の変性／壊死がみられた個体で認められた。その他の血液生化学的変化として、180 mg/kg以上の投与群でリン及びカリウムの増加が、750 mg/kg投与群でグルコース、カルシウム、ナトリウム及びクロールの減少が認められた。休薬期間終了時に、血液生化学的検査、尿検査、尿生化学的検査又は尿バイオマーカーのいずれにおいても、sotorasibの投与に関連する変化は認められず、完全な回復がみられた。

その他、sotorasibの投与に関連した血液生化学的パラメータにおける変化は、肝胆道系パラメータ（180 mg/kg以上の投与群で軽度から中等度の総ビリルビンの増加、750 mg/kg投与群でγ-グルタミルトランスフェラーゼの増加）、脂質（すべての投与群で軽度のコレステロールの増加、180 mg/kg以上の投与群で軽度から顕著なトリグリセリドの減少）及びタンパク（750 mg/kg投与群で軽微から中等度のグロブリンの減少）で認められた。休薬期間終了時には、すべての血液生化学的検査値の変化は完全又は部分的に回復した。部分的に回復した変化は、750 mg/kg投与群の雄におけるグロブリンの軽微な減少及びトリグリセリドの軽度な減少であった。

すべての投与群の雄及び180 mg/kg以上の投与群の雌で、腎臓の絶対及び相対（体重及び脳重量に対する）重量が用量依存的に増加した。休薬期間終了時には、750 mg/kg投与群の雌において腎臓の絶対及び相対重量が増加し、部分的な回復がみられた。

sotorasibの投与に関連した剖検所見は、750 mg/kg投与群の2例で腎臓における腎臓表面の粗造化又は暗色化のみであった。休薬期間終了時において、sotorasibの投与に関連した剖検所見は認められなかった。

sotorasibの投与に関連する病理組織学的変化が腎臓及び脾臓で認められた。腎臓では、すべての投与群で軽微から顕著な慢性尿細管変性／壊死が認められ、これは腎臓重量の増加、腎臓の剖検所見、並びに尿細管障害及び機能障害と一致する臨床病理学的パラメータの変化と関連していた。尿細管の変性／壊死の発現率及び重症度は、概して用量依存的であった。60 mg/kg投与群では、20例中7例に尿細管の変性／壊死が認められた。1例における軽度の変化を除き、残り6例における重症度は軽微であった。その特徴として、皮質及び髄質全体に2カ所を超える好塩基性尿細管が散在し、基底膜の肥厚の有無を問わず、発生頻度は低いものの尿細管の多巣性拡張も認められた。180 mg/kg投与群では、19例中12例で尿細管の変性／壊死が認められ、中等度の1例を除き、残り11例における重症度は軽微から軽度であった。軽度の尿細管変性／壊死には、腎臓の外髄質におけるOSOM及び／又は腎髄質内層（ISOM）の大部分を含む尿細管上皮のその他の形態学的特徴がみられた。OSOMでは、尿細管上皮の孤発性又は小部分の限局性壊死を伴うあるいは伴わない細胞質好塩基球増加が認められた。ISOMでは、萎縮した過好酸性細胞質と核濃縮として特徴付けられる、尿細管上皮の散発性急性壊死がみられた。OSOMでは、尿細管壊死を伴う中等度の尿細管変性がみられ、顆粒状から好酸性の細胞質及び核の濃縮又は欠如を伴う尿細管上皮の多数の短い断片を特徴としていた。
750 mg/kg投与群では、投与過誤により早期に安楽死させた2例を含むすべての動物で、様々な重症度の尿細管変性／壊死がみられ、そのうちの3例（1例は早期に安楽死させた）では、中等度又は顕著な尿細管の変性／壊死が認められた。顕著な尿細管の変性／壊死は間質性線維症及び糸球体硬化症を伴っており、これらは不可逆的な変化と考えられた。中等度又は顕著な尿細管変性／壊死がみられた動物では、血清尿素窒素及びクレアチニンの増加が認められた。一方、軽微から軽度の尿細管変性／壊死がみられた動物では、血清尿素窒素又はクレアチニンに変化は認められなかったが、

軽微以上の重症度を示した動物では、尿検査及び尿生化学的／バイオマーカーパラメータ［尿量、比重、蛋白、白血球、グルコース、クラステリン、KIM-1（クレアチンノーマライズブドウ糖、クラステリン及びKIM-1を含む）、ナトリウム及び/又はカリウムの排泄分画］に複数の変化が認められた。休薬期間終了時には、sotorasibの投与に関連した腎臓の所見は60 mg/kg以上の投与群で部分的に回復した。休薬期間中における腎臓の病理組織学的変化として、60及び750 mg/kg投与群で軽度の尿細管の変性/再生が、180 mg/kg以上の投与群で軽微な尿細管拡張が認められた。

750 mg/kg投与群の脾臓において、白脾髄の細胞密度の軽微な低下が認められ、その主な特徴は辺縁帯の菲薄化であった。休薬期間終了時において、sotorasibの投与に関連した脾臓の変化は完全に回復した。

750 mg/kg投与群で認められた尿細管の変性／壊死の程度から、STD_{10}は180 mg/kgと判断した。

3.4　雌のビーグル犬を用いた探索的な7日間経口投与毒性試験（124273試験）

本探索的試験では、雌のビーグル犬（雌3例／群）にsotorasibを30又は300 mg/kgの用量で7日間経口投与したときの毒性について評価し、トキシコキネティクス測定を実施した（124273試験）。

トキシコキネティクスパラメータを表 5に示す。血漿中曝露量（C_{max}及びAUC_{0-24}）は30～300 mg/kgの用量範囲で用量比を下回って増加した。sotorasibの投与後Day 7における平均曝露量は、Day 1における曝露量の2.2倍以内であった。代謝物であるAMG3368167の曝露量は、投与量及び投与日数を通じて未変化体のAUCに対し184～253%であった。

表 5　sotorasibを雌のビーグル犬に7日間反復経口投与した時のsotorasib及び代謝物であるAMG3368167のトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD）

Analyte	AMG 510 Dose (mg/kg)	T_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)	R_{AUC}
AMG 510	30	0.5	6.78 ± 0.191	7.44 ± 0.762	1.13
	300	0.5	17.6 ± 4.55	40.7 ± 6.24	2.18
Metabolite AMG3368167 (M24)	30	2	1.37 ± 0.276	12.2 ± 4.59	0.950
	300	1 to 2	6.68 ± 2.97	64.4 ± 8.43	2.45

AMG 510 = sotorasib; AUC_{0-24} = area under the concentration-time curve from time zero to 24 hr after dosing; C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; R_{AUC} = accumulation ratio (day 7 AUC_{0-24}/day 1 AUC_{0-24}); T_{max} = time to reach C_{max} reported as the range.

Source: Study 124273

死亡、体重、摂餌量、心電図、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査において、sotorasibの投与に関連した影響は認められなかった。sotorasibの投与に関連した一般状態の変化は300 mg/kg投与群のみにみられ、軟便、流涎及び部分的に嘔吐が認められた。30 mg/kg以上の投与群で、軽度から中等度の網状赤血球数の減少が認められたが、赤血球量の減少はみられなかった。

3.5 ビーグル犬を用いた探索的な7日間経口投与毒性試験（151550試験）

本探索的試験では、ビーグル犬（3例／性／群）にsotorasibを500 mg/kgを1日2回（BID）7日間経口投与した時の毒性発現の可能性を評価し、トキシコキネティクス測定を実施した（151550試験）。

トキシコキネティクスパラメータを表 6に示す。曝露量に大きなばらつきが認められたものの、sotorasibの曝露量は雌雄で同程度であり、Day 7におけるsotorasibの曝露量は、Day 1における曝露量と同程度であった。

表 6 ビーグル犬にsotorasibを7日間反復経口投与した時のトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD)

Day	AMG 510 Dose (mg/kg)	T_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)
1	500 BID	0.5 to 14[a]	5.59 ± 4.16	40.8 ± 40.7
7	500 BID	12.5 to 14[a]	4.84 ± 2.77	23.5 ± 10.5

AMG 510 = sotorasib; AUC_{0-24} = area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours after dosing; C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; T_{max} = time to reach C_{max} reported as the range; BID = twice daily.

[a] t_{max} collection intervals are determined from the first daily dose (t_{max} values greater than 12 hours occurred after the second daily dose).

sotorasib concentrations were not quantifiable in plasma samples collected from the control group.

Source: Study 151550

sotorasibの投与に関連した死亡、体重、心電図、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、尿生化学的検査、尿中腎バイオマーカー、剖検所見及び病理組織学的検査所見への影響は認められなかった。sotorasibの投与に関連した所見として、軟便、一過性の摂餌量減少（雌のみ）及びDay 8における中等度の網状赤血球数の減少が認められた。

3.6 ビーグル犬を用いた28日間反復経口投与毒性試験（150429試験）

GLP条件下で実施した本試験は、ビーグル犬（雌雄各3例／群）を用い、sotorasibの0、30、100又は300 mg/kgの用量で28日間反復経口投与し、潜在的な毒性発現の可能性及びトキシコキネティクスについて評価した（150429試験）。

トキシコキネティクス解析の結果を表 7に示す。sotorasibの曝露量は雌雄で同程度であった（AUCは2倍以内）。sotorasibの曝露量は、30～100 mg/kgの用量範囲で用量にほぼ比例して増加し、100～300 mg/kgの用量範囲では、その増加は用量比を下回っていた。30及び100 mg/kg投与群では、AUC値はDay 27に約2倍増加した。300 mg/kgを投与したとき、Day 27におけるAUCに顕著な変化は認められなかった。sotorasibの曝露量は、28日間反復投与試験の方が、先に実施した探索的な7日間反復投与毒性試験よりも低かった。

表 7　ビーグル犬にsotorasibを28日間反復経口投与した時のトキシコキネティクスパラメータ（雌雄合算、平均±SD）

Day	AMG 510 Dose (mg/kg)	T_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)
1	30	0.5 to 2	1.09 ± 0.741	1.94 ± 1.13
	100	0.25 to 1	3.54 ± 3.59	5.76 ± 4.98
	300	0.5 to 2	3.31 ± 2.02	13.1 ± 12.1
27	30	0.25 to 0.5	1.35 ± 0.515	4.75 ± 3.35
	100	0.25 to 8	3.90 ± 2.49	12.3 ± 5.13
	300	0.25 to 2	3.68 ± 2.32	15.8 ± 8.18

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours); C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; T_{max} = time to reach C_{max} reported as the range.

sotorasib concentrations were not quantifiable in plasma samples collected from the control group.

Source: Study 150429

sotorasibの投与に関連した死亡、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図、凝固系検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的所見に影響は認められなかった。sotorasibの投与に関連する一般状態の変化として、300 mg/kg投与群で流涎及び被毛の濡れ（下顎及び鼻口部）が試験期間を通じて一例に認められた。sotorasibの投与に関連した軽微から軽度の赤血球系パラメータの減少が、300 mg/kg以上の投与群の雄及び100 mg/kg以上の投与群の雌でみられ、網状赤血球数の減少が100 mg/kg以上の投与群の雄及び300 mg/kg投与群の雌で認められた。また、100 mg/kg以上の投与群でMCVの軽微な増加、300 mg/kg投与群の雄及び100 mg/kg以上の投与群の雌で、軽微なMCHCの減少が認められた。sotorasibの投与に関連した赤血球量及び網状赤血球数の減少は、赤血球/網状赤血球の破壊によるものと考えられ、骨髄における病理組織学的所見が認められないことから、造血系の産生能の低下によるものではないと考えられる。sotorasibの投与に関連した血液生化学的パラメータの変化は、100 mg/kg以上の投与群の雌における軽度の尿素窒素の増加のみであり、クレアチニンの変化及び腎臓における病理組織学的所見は認められなかった。

結論として、イヌにsotorasibを0、30、100及び300 mg/kgの用量で強制経口投与したときの忍容性は良好であった。sotorasibの投与に関連した変化は、赤血球系パラメータの減少のみであった。本試験におけるHNSTDは300 mg/kg以上と判断した。

3.7　ビーグル犬を用いた3カ月間1日2回反復経口投与毒性試験（150433試験）

GLP条件下で実施した150433試験では、ビーグル犬にsotorasibの0、200又は1000 mg/kg/day（100又は500 mg/kg BID）を3カ月間連日経口投与した時の、毒性発現の可能性について評価し、トキシコキネティクス測定を実施した（雌雄各3例／群）。本試験ではより高い曝露量を得るため、これまでの試験より高い用量を用いて評価した。しかしながら、イヌに投与可能な最大用量である1000 mg/kg/dayを投与しても、ラットの3カ月間反復投与毒性試験（表 4）で認められた曝露量に達しなかった。

sotorasibの曝露量は、200～1000 mg/kgの範囲で中程度に増加し、反復投与による蓄積は認められなかった（表 8）。Day 1における1000 mg/kg/day投与による曝露量を除き、曝露量に雌雄差は認められなかった。

表 8　ビーグル犬にsotorasibを3カ月間反復経口投与した時のトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD）

Day	AMG 510 Dose (mg/kg BID)	T_{max} [a] (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)
1	100	0.5 to 13	3.07 ± 1.07	10.5 ± 5.41
	500	0.5 to 16	4.15 ± 2.77	18.6 ± 15.0
43	100	13	4.31 ± 2.01	9.56 ± 4.66
	500	0.5 to 13	3.28 ± 2.68	10.5 ± 9.76
90	100	0.5 to 13	4.11 ± 1.68	12.7 ± 7.62
	500	0.5 to 14	4.63 ± 1.17	14.1 ± 6.46

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours); BID = twice daily; C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; T_{max} = time to reach C_{max} reported as the range.

[a] t_{max} collection intervals determined from the first daily dose (t_{max} values greater than 12 hours occurred after the second daily dose).

sotorasib concentrations were not quantifiable in plasma samples collected from the control group.

Source: Study 150433

sotorasibの投与に関連した一般状態の変化として、流涎、濡れた状態又は油性の被毛、あるいはケージ内における乾燥、液状又は粘液状物質が認められた。

sotorasibの投与に関連した血液学的パラメータの変化として、200 mg/kg/day以上の投与群で軽微から軽度の赤血球系パラメータの減少（MCVの増加及びMCHCの減少）がみられた。骨髄に関連する病理組織学的所見は認められなかった。

sotorasibの投与に関連した血液生化学的パラメータの変化として、200 mg/kg/day以上の投与群で総ビリルビン、アルカリホスファターゼ（1000 mg/kg/day投与群の雄のみ）、軽微から軽度のコレステロール及びトリグリセリドの増加が認められた。さらに、200 mg/kg/day以上の投与群で軽微から軽度の尿素窒素及びクレアチニンの増加がみられたが、腎臓に関連する病理組織学的所見は認められなかった。

sotorasibの投与に関連した剖検所見として、200 mg/kg以上の投与群の雄で胆嚢の内容物異常（胆汁スラッジ）、1000 mg/kg/day投与群の雌で甲状腺の蒼白化が認められた。胆嚢内の胆泥に関連する病理組織学的所見はみられなかった。

200 mg/kg/day以上の投与群で、sotorasibの投与に関連した肝臓の絶対及び相対重量（体重及び脳重量に対する）及び下垂体重量の増加、並びに甲状腺の絶対及び相対重量（体重及び脳重量に対する）の減少が認められた。

sotorasibの投与に関連する病理組織学的変化が肝臓、下垂体及び甲状腺に認められた。200 mg/kg/day以上の投与群で、肝臓に軽微から軽度の小葉中心性肝細胞肥大が認められ、これは肝臓重量の増加と関連していた。下垂体では、200 mg/kg/day以上の投与群で下垂体前葉に軽微から軽度の下垂体好塩基球肥大が認められ、下垂体重量の増加と関連していた。甲状腺では、200 mg/kg/day以上の投与群で軽度から中等度の濾胞細胞肥大及び中等度から顕著なコロイド枯渇が認められ、コロイド枯渇は甲状腺重量の減少と関連していた。さらに、1000 mg/kg/day投与群の雌雄各1例において、顕著な甲状腺萎縮が認められ、これはコロイドの枯渇とともに剖検で認められた甲状腺の蒼白化と関連していた。sotorasibの投与に関連する変化はすべて、肝細胞酵素誘導及び二次

的な甲状腺機能低下に対する適応反応であると考えられた（Houle et al, 2014、Zabka et al, 2011、Mesich et al, 2009、Laurberg, 1989）。

1000 mg/kg/day投与群の肝臓について電子顕微鏡により検査したところ、中等度から顕著な肝細胞グリコーゲンが認められ、これは細胞質を拡張し、他の細胞質構造及び核とは異なっていた。対照群の肝細胞の形態は類似していたが、細胞質グリコーゲンは少なかった。

結論として、sotorasibの投与に関連した変化として、軽微から軽度の血液学的及び血液生化学的パラメータの変化、胆嚢内の異常な内容物、並びに肝臓、下垂体又は甲状腺の病理組織学的変化が認められ、これらは肝臓及び下垂体重量の増加及び甲状腺重量の減少と関連していた。肝臓、下垂体及び甲状腺の変化は、肝細胞酵素誘導及び二次的な甲状腺機能低下症に対する適応性又は二次性反応と考えられた。イヌにおいて腎毒性は認められなかった。本試験におけるHNSTDは1000 mg/kg/dayであった。

4. 遺伝毒性試験

sotorasibの予備的な遺伝毒性試験を実施した結果、細菌を用いた探索的な復帰突然変異（Ames）試験の結果は陰性であった（124824試験）が、ヒト末梢血リンパ球（HPBL）用いた探索的なin vitro微小小核試験の結果は陽性であった（124825試験）。したがって、ICH S2ガイドライン（ICH S2(R1), 2011）に基づき、GLPに準拠したin vitroでの細菌を用いたAmes試験（150436試験）及び2つの異なる組織を用いたin vivo遺伝毒性試験（150435試験）により、sotorasibの遺伝毒性について評価した。これらの遺伝毒性試験の結果、sotorasibは遺伝毒性を誘発するリスクがないことが示された。

4.1 In vitro試験

4.1.1 ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験（150436試験）

GLP条件下で実施した本試験は、sotorasibの遺伝毒性について細菌を用いたAmes試験により評価した（150436試験）。

ネズミチフス菌株であるTA1535、TA1537、TA98、TA100及び大腸菌のWP 2 *uvr*A株を用い、sotorasibの1.58～5000 µg/plate（本試験の標準限界量）の濃度範囲で、ラット肝細胞画分（S9ミックス）添加の有無の条件下での細菌の突然変異試験をプレート法により実施した結果、sotorasibによる遺伝毒性は認められなかった。

4.2 In vivo試験

4.2.1 ラットを用いたin vivoにおける哺乳類赤血球による小核試験及びアルカリコメットアッセイの併用試験（150435試験）

GLP条件下で実施した本試験では、sotorasibをラットに4日間連日強制経口投与した後、末梢血を用いた小核試験及び肝細胞を用いたコメットアッセイにより遺伝毒性について評価した（150435試験）。

雌のSDラット（5例／群）を用い、sotorasibの0、200、600又は2000 mg/kgを強制経口投与した。投与量は、各群雌雄各3例にsotorasibを500、1000又は2000 mg/kgで強制経口投与した時の用量設定試験の結果に基づき決定した。sotorasibを投与したラットは、すべての動物で全身曝露の徴候が認められた。Day 4における投与3時間後のsotorasibの平均血漿中濃度は、6.76、17.0及び33.1 µg/mL（200、600及び2000 mg/kg）であった。

小核を有する網状赤血球の割合又はデオキシリボ核酸（DNA）のテールの強度の割合は、2000 mg/kgまで統計学的に有意な増加は認められなかった。sotorasibは、本小核試験において末梢血の未成熟赤血球の細胞遺伝学的損傷を誘発せず、また、in vivoコメットアッセイにおいて肝臓のDNA損傷を誘発しなかった。結論として、in vivoにおいてsotorasibは遺伝毒性を示さなかった。

5. がん原性試験

ICH S9ガイドラインに従い、がん原性試験は実施していない（ICH S9, 2009）。

6. 生殖発生毒性試験

ICHガイドラインにおいて、受胎能及び初期胚発生に関する試験又は出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は、進行癌患者に対する治療用医薬品の製造販売承認には必須ではないことから（ICH S9）、ICH S5に従い、ラット及びウサギの2種の動物を用いた胚・胎児発生に関する試験のみを実施した（ICH S5(R3), 2020）。

6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ICH S9に従い、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかった。

6.2 胚・胎児発生に関する試験

6.2.1 SDラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（150434試験）

GLP条件下で実施した本試験では、sotorasibを妊娠SDラットに着床から硬口蓋の閉鎖までの期間に投与することで、母動物及び胚・胎児の発生に対するsotorasibの影響について評価した（150434試験）。

妊娠ラット（主試験：20例／群、トキシコキネティクス試験：3例／群）を用い、sotorasibの0、60、180又は540 mg/kgを妊娠（GD）7～17まで連日強制経口投与した。トキシコキネティクス試験に割り付けられたすべてのラットをGD13に、主試験に割り付けられたラットをGD21に安楽死させた。

sotorasibの曝露量（C_{max}及びAUC_{last}）は用量に伴い増加し（表 9）、非妊娠ラットを用いた反復投与毒性試験における曝露量（表 4）と概ね一致していた。妊娠ラットに高用量である540 mg/kgを投与したときのAUC_{last}は149 µg·h/mLであり、ヒトに960 mgを投与したときの曝露量（AUC_{0-24}：38.2 µg·h/mL、20170543試験、第I相部分パート2a：960 mg投与時のDay 8）の3.9倍であった。

表 9　SDラットにsotorasibを妊娠7日から12日まで反復経口投与した時のトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD）

Gestation Day	AMG 510 Dose (mg/kg)	T_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)
12	60	0.5	6.08 ± 2.52	14.5 ± 6.32
	180	0.5	12.7 ± 4.67	105 ± 50.6
	540	1.0	17.1 ± 0.80	149 ± 48.4

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to time of last quantifiable concentration (up to 24 hours); C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; T_{max} = time to reach C_{max} reported as the median.

sotorasib concentrations were not quantifiable in plasma samples collected from the control group.

Source: Study 150434

投与したすべてのラットが剖検時まで生存し、sotorasibの投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。

sotorasibの投与に関連した母動物への影響が540 mg/kg投与群で認められ、母動物の平均体重増加量の減少（対照群の47～90%）がGD7～15まで、母動物の平均体重の減少（対照群の94～96%）がGD10～17まで、母動物の平均摂餌量の減少（対照群の85%）がGD7～18までの期間に認められた。

sotorasibの投与に関連した剖検所見はみられず、卵巣、子宮又は同腹児に対する影響も認められなかった。sotorasibによる胚・胎児の生存率及び胎児体重への影響はみられず、胎児の外表、内臓及び骨格の奇形又は変異も認められなかった。

6.2.2　New Zealand Whiteウサギを用いた母動物における忍容性試験（150808試験）

本探索的試験では、妊娠New Zealand Whiteウサギを用い、着床から硬口蓋の閉鎖までの期間にsotorasibを妊娠動物に投与したときの忍容性について評価した（150808試験）。

妊娠ウサギ（4例／群）を用い、sotorasibを300又は1000 mg/kgでGD7～19まで強制経口投与した。300 mg/kg投与群では、GD16にsotorasibの投与に関連した体重減少がみられたため、計画外の安楽死を実施した。1000 mg/kg投与群の雌1例が、GD9に投与過誤により死亡した。1000 mg/kg投与群における残りのウサギでは、sotorasibの投与に関連した体重減少及び重度の摂餌量減少がみられたため、GD11に安楽死させた。そのため、1000 mg/kg投与群では卵巣及び子宮の検査は実施しなかった。300 mg/kgを投与した他のウサギでは、すべてGD29の計画した剖検時まで生存した。

GD11におけるC_{max}及びAUC_{last}の平均値を表 10に示す。ウサギにおけるsotorasibの曝露量は、ラット（表 4）又はイヌ（表 8）と比較して、明らかに高かった。

表 10　New Zealand Whiteウサギにsotorasibを妊娠7日から妊娠11日まで反復経口投与した時のトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD）

Gestation Day	AMG 510 Dose (mg/kg)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)
11	300	64.7 ± 21.0	264 ± 84.3
	1000	80.7 ± 41.1	110 ± 69.0

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to time of last quantifiable concentration (up to 24 hours at 300 mg/kg, but 2 hours at 1000 mg/kg because of early euthanasia); C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval.

Source: Study 150808

sotorasibの投与に関連した変化として、300及び1000 mg/kg投与群で投与期間中における母動物の平均体重及び摂餌量の減少、並びに平均体重の減少が認められた。300 mg/kg投与群では、投与期間終了後に母動物の体重及び摂餌量の回復がみられた。

sotorasibの投与に関連した剖検所見は、いずれの投与群でもみられなかった。300 mg/kg投与群では、妊娠状態及び胚・胎児の生存に関する影響は認められなかった。

6.2.3 New Zealand Whiteウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験（150810試験）

GLP条件下で実施した本試験では、雌の妊娠New Zealand Whiteウサギを用い、着床から硬口蓋の閉鎖までの期間にsotorasibを投与した時の、妊娠ウサギの胚及び胎児の発生に及ぼす影響について評価した（150810試験）。

妊娠ウサギ（20例／群）にsotorasibの0、10、30又は100 mg/kgをGD7～19まで強制経口投与した。生存したウサギはすべてGD29に安楽死させた。GD11に血液試料を採取し、血漿中のsotorasib濃度を測定した。

sotorasib曝露量（C_{max}及びAUC_{last}）は、投与量に伴い増加した（表 11）。妊娠ウサギに高用量である100 mg/kgを投与したときのAUC_{last}は84.4 μg·h/mLであり、ヒトに960 mgを投与したときの曝露量（AUC_{0-24}：38.2 μg·h/mL、20170543試験、第I相部分パート2a：960 mg投与時のDay 8）の2.2倍であった。

表 11 New Zealand Whiteウサギにsotorasibを妊娠7日から妊娠19日まで反復経口投与したときのトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD）

Gestation Day	AMG 510 Dose (mg/kg)	T_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)
11	10	0.5	1.81 ± 0.729	3.56 ± 0.288
	30	0.5	8.21 ± 2.70	16.4 ± 3.96
	100	1.0	24.4 ± 5.38	84.4 ± 30.6

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to time of last quantifiable concentration (up to 24 hours); C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; T_{max} = time to reach C_{max} reported as the median.

sotorasib concentrations were not quantifiable in plasma samples collected from the control group.

Source: Study 150810

sotorasibの投与に関連した死亡が100 mg/kg投与群で認められたが、これにはsotorasibの投与に関連した体重減少及び重度の摂餌量減少による、GD21における計画外の安楽死が含まれた。この動物では、剖検において肉眼で観察できる所見は認められなかった。他のウサギは、すべてGD29の計画剖検時まで生存した。上記の早期に安楽死させた動物を除き、いずれの投与群でもsotorasibの投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。

sotorasibの投与に関連した母動物の平均体重増加量及び摂餌量の減少が、100 mg/kg投与群で投与期間中にみられたが、計画剖検時前に回復した。sotorasibの投与に関連した剖検所見は、いずれの投与群でも認められなかった。

さらに、sotorasibの投与に関連した卵巣又は子宮パラメータ（黄体、着床部位、生存又は死亡胎児、早期又は後期吸収胚及び胎児の性別）への影響はみられず、また、sotorasibの投与に関連した胎児の外表、内臓又は骨格の奇形又は変異も認められなかった。100 mg/kg投与群で平均胎児体重の減少及び平均中手骨骨化数の減少が認められた。これらの胎児の所見は、母動物で投与期間中に体重増加量及び摂餌量の減少がみられた投与群でのみ認められた。したがって、胎児体重の減少に伴う成長遅延に起因すると考えられる骨化遅延は、母動物でみられた毒性による胎児への非特異的な影響と判断した（Nitzsche, 2017）。

6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

ICH S9に従い、出生前及び出生後の発生に関する毒性試験は実施しなかった。

6.4 幼若動物を用いた試験

NSCLCは主に成人でみられる疾患であり、KRAS G12C変異を有する小児腫瘍が非常にまれであること、また、KRAS G12C変異を有し、sotorasibの投与対象となる疾患又は病態が特定の小児集団にはみられないことから、幼弱動物を用いた非臨床試験は実施しなかった。

7. 局所刺激性試験

sotorasibの局所刺激性について、反復投与試験における経口投与後に評価した。消化管に対する局所刺激性は確認されなかった。

8. その他の毒性試験

8.1 毒性発現の機序に関する試験（153127試験）

ラットを用いた反復投与毒性試験の結果、標的器官は腎臓であることが特定されている。本探索的試験は、腎毒性の発現機序及びトキシコキネティクスについて検討する目的で実施した（153127試験）。本試験は、雄のラットを用い、sotorasibの投与に関連した腎尿細管変性／壊死の経時変化を7日間確認するとともに、腎毒性及び腎毒性と血液及び尿バイオマーカー、並びにトキシコキネティクスとの関連を明らかにするためにデザインした。加えて、sotorasib及びその代謝物について、質量分析及び／又はマトリックスマトリックス支援レーザー脱離イオン化（MALDI）法を用い、血漿、尿、腎臓と肝臓において分析した。さらに、腎メッセンジャーリボ核酸（mRNA）量を、配列決定（トランスクリプトミクス）を用いて評価した。ラットにsotorasibを0、60又は750 mg/kgで経口投与した。

本試験は2つのパートから構成されており（表 12）、パート1では、雄のSDラット（5例／群／時点）にsotorasibを0、60又は750 mg/kgでDay 1、3又は7（Phase 1、Phase 2及びPhase 3）に経口投与し、最終投与24時間後に安楽死させた。パート2では、ラット（3例／群／時点）にsotorasibを0又は750 mg/kgで単回経口投与し、投与2、4又は8時間後に剖検した（Phase 4）。

表 12　ラットを用いた7日間探索的試験の試験デザイン

		AMG 510	Number of Animals			
Study Part	Group	Dose (mg/kg)	Phase 1	Phase 2	Phase 3	Phase 4
1[a]	1	0	5	5	5	-
	2	60	5	5	5	-
	3	750	5	5	5	-
2[b]	4	0	-	-	-	9 (3 × 3 timepoints)
	5	750	-	-	-	9 (3 × 3 timepoints)

AMG 510 = sotorasib

[a] Part 1, rats (5/group/timepoints) received AMG 510 at 0, 60, or 750 mg/kg for 1, 3, or 7 days (phases 1, 2 and 3, respectively), and were euthanized 24 hours after the last dose.

[b] Part 2, rats (3/group/timepoints) received AMG 510 at 0, or 750 mg/kg once, and were euthanized 2, 4, or 8 hours postdose (phase 4).

Source: Study 153127

sotorasibの全身曝露量は試験期間を通して維持され、反復投与後も変化はみられなかった（表13）。

表 13　SDラットにsotorasibを1、3又は7日間反復経口投与したときのトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD）

AMG 510 Dose (mg/kg)	Day	T_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)
60	1	0.5	6.34 ± 3.02	13.3 ± 4.80
	3	1 (0.5-1)	4.13 ± 2.68	17.2 ± 7.00
	7	0.5	6.31 ± 2.80	18.9 ± 5.78
750	1	2 (2-2)	27.9 ± 6.90	217 ± 32.7
	3	2 (0.5-8)	13.9 ± 9.93	139 ± 91.6
	7	1.5 (0.5-2)	33.3 ± 8.18	266 ± 137
750 (Phase 4)	Single dose	2	16.9	72.9

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the last quantifiable concentration (up to 24 hours for phases 1 to 3, and 8 hours for phase 4); C_{max} = maximum observed drug concentration; T_{max} = time to reach C_{max} reported as the range.

Source: Study 153127

750 mg/kg投与群の1例（Phase 3に割り付けられた動物番号3015）は、活動性低下及び努力性呼吸などの一般状態悪化のためDay 3に安楽死させた。一般状態の悪化は、sotorasibの投与に関連した腎尿細管変性／壊死によるものであった。sotorasibの投与に関連する一般状態の変化は、60 mg/kgを1、3又は7回投与したとき、あるいは750 mg/kgを1回投与したときには認められなかった。
750 mg/kg投与群のほとんどの動物（3日間及び7日間投与群）において、sotorasibの投与に関連した一般状態の変化がDay 4から認められ、最終剖検時まで持続した。一般状態観察では、円背位、立毛、軟便、被毛の汚れ、不規則呼吸数の増加、脱水の疑い及び冷触感が認められた。

750 mg/kg投与群において、Day 7にsotorasibの投与に関連した、Day 1の体重と比較した体重減少（8.5%）がみられた。

本試験のパート1（Day 2、4及び8）における病理学的評価項目として、限定的な血液生化学的パラメータ（血清及び尿）、尿中の尿細管障害バイオマーカー、腎臓及び肝臓重量、並びに腎臓及び肝臓の病理組織学的検査及び剖検所見の評価がを実施した。本試験のパート2（2、4及び8時間）では、腎臓及び肝臓の病理組織学的検査のみを実施した。sotorasibの投与に関連した臨床生化学的的

又は解剖病理学的パラメータの変化は、60 mg/kg投与群でみられた腎毒性を示唆するものではなかった。

750 mg/kg投与群では、sotorasibの投与に関連した血液生化学的変化として、軽微から顕著な血中尿素窒素（BUN）、クレアチニン及びカリウムの増加、並びに軽度のクロール減少が認められた（表 14）。BUN及びクレアチニンは750 mg/kg投与群でDay 2まで中等度に増加し、これらのパラメータはDay 4に最大となり中等度から顕著な増加を示した。Day 8には、BUN及びクレアチニンはほとんどの動物で対照群と比較して概ね同程度であった。さらに、750 mg/kg投与群では、Day 2及び4に軽微から軽度のカリウムの増加が、Day 4及びDay 8に軽度のクロールの減少が認められた。

表 14　sotorasibの投与に関連した血液生化学的パラメータの変化

Dose (mg/kg)	60			750		
Parameter	Day 2	Day 4	Day 8	Day 2	Day 4	Day 8
Blood urea nitrogen	1.12×	0.80×	1.00×	7.01×	18.75×	4.85×
Creatinine	0.91×	1.00×	1.00×	16.05×	20.71×	2.77×
Potassium	1.02×	1.05×	0.98×	1.16×	1.61×	0.86×
Chloride	1.00×	1.00×	1.00×	0.98×	0.90×	0.93×

Change from control mean values. Changes considered to be sotorasib -related are underlined.
Source: Study 153127

750 mg/kg投与群では、sotorasibの投与に関連した尿生化学パラメータの変化として、ナトリウム及びカリウム排泄分画、並びにグルコース／クレアチニン比の軽微から顕著な増加が認められた（表 15）。尿量は測定しなかったが、尿生化学的検査又は尿バイオマーカーの分析（それぞれ0.5及び0.2 mLの容量を必要とする）に十分な量の尿が、750 mg/kg投与群のDay 2で5例中2例から採取できなかったことから、750 mg/kg投与群のDay 2における尿量の減少が示唆された。

表 15　sotorasibの投与に関連した尿生化学パラメータの変化

Dose (mg/kg)	60			750		
Parameter	Day 2	Day 4	Day 8	Day 2	Day 4	Day 8
Fractional excretion of sodium	0.50×	0.58×	0.85×	34.73×	92.70×	1.25×
Fractional excretion of potassium	0.85×	1.09×	0.92×	24.83×	21.47×	2.57×
Glucose/creatinine ratio	0.98×	0.95×	1.01×	189.07×	26.85×	5.43×

Change from control mean values. Changes considered to be sotorasib-related are underlined.
Source: Study 153127

750 mg/kg投与では、sotorasibの投与に関連した尿中バイオマーカーパラメータの変化として、KIM-1／クレアチニン比及びクラステリン／クレアチニン比の中等度から重度の増加がDay 2、4及び8に認められ、クラステリン／クレアチニン比の増加はDay 4で最大となり、Day 8には軽度の増加がみられた（表 16）。

表 16　sotorasibの投与に関連した尿中バイオマーカーの変化

Dose (mg/kg)	60			750		
Parameter	Day 2	Day 4	Day 8	Day 2	Day 4	Day 8
KIM-1/creatinine ratio	1.24×	0.84×	1.52×	15.86×	20.84×	43.36×
Clusterin/creatinine ratio	0.90×	0.87×	1.29×	17.81×	28.41×	8.31×

KIM-1 = kidney injury molecule.
Change from control mean values. Changes considered to be sotorasib-related are underlined.
Source: Study 153127

750 mg/kg投与群において、すべての時点で腎臓重量の増加が認められた（表 17）。腎臓重量の変化の程度はDay 2～4まで増加し、Day 4～8までは同程度であった。肝臓重量も750 mg/kg投与群でDay 2及び4に増加した。肝臓重量の変化の程度は、Day 2～4まで増加した。

表 17　sotorasibの投与に関連した腎臓重量の変化

Dose (mg/kg)	60			750		
Parameter	Day 2	Day 4	Day 8	Day 2	Day 4	Day 8
Kidney						
Absolute weight	+6.34%	+5.14%	-0.79%	+44.53%	+86.29%	+73.44%
Relative to body weight	+7.34%	+2.57%	+1.02%	+43.71%	+87.96%	+120.05%

Change from control mean values.　Changes considered to be sotorasib-related are underlined.
Source: Study 153127

Day 4及び8において、750 mg/kg投与群でsotorasibの投与に関連した剖検所見が腎臓及び／又は胃に認められた。Day 4における剖検所見として、両側腎臓の褪色（5例中4例）、腺胃の暗色巣（5例中2例）及び胃の拡張［5例中1例（動物番号3010）］がみられた。Day 8の剖検では、4例中2例に両側性の腎臓の蒼白化が認められた。

すべての試験期間における腎臓について、病理組織学的評価を行った。腎臓において、750 mg/kg投与群でみられたsotorasib投与に関連した病理組織学的変化は、主に近位尿細管上皮の急性変性／壊死を特徴とし（表 18）、これは腎尿細管細胞損傷（KIM-1及びクラステリンの中等度から顕著な増加）及び腎機能障害（例えばBUN、クレアチニン及び電解質分画排泄率の中等度から著明な増加）と一致する、臨床病理パラメータの変化、腎臓重量の増加、並びに両側性の蒼白化の剖検所見と相関していた。sotorasib投与に関連した腎臓の変化に起因すると考えられる二次的変化として、一般状態の悪化（例えば円背位、立毛、脱水）、体重減少、胃粘膜の変性／再生（尿毒症性胃炎、暗焦点）が認められ、1例で計画外の安楽死を実施した。

表 18　sotorasibの投与に関連した腎臓における病理組織学的変化

Dose (mg/kg)	60			750					
	Day			Hour			Day		
	2	4	8	2	4	8	2	4	8
Number of animals	5	5	5	3	3	3	5	5	4 [a]
Degeneration/necrosis, tubular	0	0	0	1	3	3	5	5	4
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	3	3	0	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Marked	0	0	0	0	0	0	5	5	1

[a] One animal at 750 mg/kg assigned for necropsy on day 8 was euthanized early.
Source: Study 153127

750 mg/kg投与群では、尿細管細胞の変性／壊死の形態学的特徴が経時的に発現した。投与2、4及び8時間後には、尿細管上皮の限局性（軽微）からびまん性（軽度）の空胞化が認められ、尿細管内腔に様々な硝子様及び顆粒状円柱の形成がみられた。この変化は、代謝酵素が豊富なOSOM（S3領域又は直部）の近位尿細管にほぼ限定されていた（Cooper and Hanigan, 2018）。Day 2における尿細管上皮の変化は顕著であり、主にすべてのOSOMを含む急性尿細管壊死を特徴とし、硝子円柱形成を伴っていた。ヘンレ係蹄の太い上行脚及びOSOMを通過する集合管には影響がみられなかった。Day 4におけるネフロンの壊死部分はより広範囲であり、ジストロフィー性鉱質沈着のバンドと関連し、これは剖検で観察された蒼白変色と相関していた。この時点で、ほとんどの尿細管は、早期の修復反応と一致する扁平腎尿細管上皮細胞で覆われていた。Day 8において、いくつかの腎臓ではジストロフィー性ミネラル化の大きなバンドがみられたが、その他の腎臓では、個々の近位尿細管細胞の偶発的な急性変性／壊死が混在し、極めて低度のミネラル化及び上皮損傷の修復過程の進行を示していた（例えば好塩基性尿細管、有糸分裂像、核の密集）。

腎臓を用いたMALDI分析において、sotorasibと既知のsotorasibの代謝物に対する解剖学的な分布及び相対濃度を評価するとともに、in silicoにより生体内変化での未同定のシグナルについて予測した。MALDI分析では、750 mg/kg投与群でのみ、sotorasib及びその代謝物であるM10（システイン抱合体）、M11（酸化体）、M18（酸化体）及びM20（アセチルシステイン抱合体）が検出された。MALDI分析の結果、Phase 1～3の最終投与24時間後におけるsotorasibの量は、Phase 4（単回投与）と比較してはるかに低かった。この濃度の差は、sotorasibの全身曝露量の半減期及び経時変化と一致していた。MALDI分析における、投与2及び4時間後のM10及びM20のシグナルは、尿細管の変性／壊死がみられた腎臓の領域であるOSOMに限定されていた。一方、sotorasibはすべての時点で腎臓全体に検出され、特定の部位に限定されず、また、M11及びM18は腎臓全体で極めて低濃度であったものの、髄質ではより高濃度であった。

代謝物の質量分析の結果、主な代謝物［薬物関連物質（DRM）の10%超］としてM10及びM24（加水分解体）が血漿中で、M62（リジン抱合体）、M30（システイン-グリシン抱合体）、M10、M20及びM21（水素化体）が尿中で、M62、M10、M48（加水分解体／水酸化体／グルクロン酸抱合体）、M12（グルタチオン抱合体）、M22（加水分解体／水酸化体）、M24及びM56（+SCH4）が肝臓中で、M62、M10、M61（システイン／グリシン抱合体の酸化体）及びM20が腎臓中で確認された。腎臓におけるsotorasibの量は比較的少なく（10%以下）、Phase 4においてM61及びM20は顕著な代謝物であり、Phase 1～3では、M62及びM10が顕著な代謝物であった。M62及びM21を除き、腎

臓及び／又は尿中におけるsotorasibの代謝物（M30、M10、M20及びM61）は、メルカプツール酸経路を介して変換された（Cooper and Hanigan, 2018）。60 mg/kg投与時の腎臓におけるDRMの割合と比較して、750 mg/kg投与時においてM10は増加し、M62は減少した。

RNA分析において特異的な遺伝子が発現したことは、750 mg/kgで多くみられた主たる代謝経路は、この用量における尿細管上皮の変性／壊死と一致した酸化的リン酸化、ミトコンドリア機能不全及び炎症に関連した経路であることを示していた。高用量投与群では、一部の一般的な解毒経路における代謝酵素をコードするmRNAの大部分が減少したが、これは正常な機能を有する尿細管上皮の消失（変性／壊死）によるものと考えられた。

結論として、sotorasibの高用量である750 mg/kgを投与した群では、代謝酵素が多いOSOM（S3領域又は直部）で近位尿細管の尿細管変性／壊死として特徴付けられる腎毒性を誘導した。sotorasib投与に関連した腎臓の病理組織学的変化は、BUN、クレアチニン、KIM-1及びクラステリンの増加と相関していた。MALDI分析では、M10（システイン抱合体）及びM20（アセチルシステイン抱合体）が750 mg/kg投与群における腎臓での最も顕著な代謝物であり、いずれもOSOMに限定され、特に早期の時点で顕著であった（投与後2及び4時間）。尿及び腎臓で検出された代謝物は、M62（リジン抱合体）、M30（システイン-グリシン抱合体）、M10、M20及びM61（システイン／グリシン抱合体の酸化隊）、並びにM21（水素化体）であった。M62及びM21を除き、腎臓及び／又は尿中におけるsotorasibの代謝物は、メルカプツール酸経路による変換と一致していた。腎毒性がみられなかった60 mg/kg投与群における腎臓でのDRMの割合と比較して、750 mg/kg投与群ではM10が増加し、M62は減少していた。

本試験結果及びsotorasib（モジュール2.6.4）の代謝経路から、腎毒性はsotorasibがメルカプツール酸経路により代謝された後に生成される毒性反応代謝物に起因するものと考えられた。

8.2 ビーグル犬の培養肝細胞を用いたsotorasib及びM24によるチトクロームP450及びUDPグルクロン酸転移酵素の誘導に関する試験（153409試験）

本探索的試験は、イヌを用いた3カ月間反復投与試験で認められた所見のフォローアップ評価、並びに培養イヌ肝細胞におけるsotorasib及びその代謝物であるM24のチトクロームP450（CYP）及びUDPグルクロン酸転移酵素（UGT）誘導能について、qRTPCR及びin vitro酵素活性アッセイにより評価した（153409試験）。イヌを用いた3カ月間反復投与毒性試験では、肝細胞における酵素誘導を示唆する病理組織学的変化が、肝臓（肝重量増加を伴う肝細胞肥大）、下垂体（下垂体重量増加を伴う好塩基球肥大）及び甲状腺（コロイド減少及び甲状腺重量の減少を伴う濾胞上皮肥大）に認められた。

培養イヌ肝細胞を用い、sotorasibを20 μM以上の濃度で3日間処理した結果、細胞毒性を示す肝細胞の形態変化がみられた。sotorasibの200 μM処理において、肝細胞の完全な消失が認められた。M24を最大30 μMまでの濃度で処理したが、肝細胞の形態に顕著な変化はみられなかった。

イヌの培養肝細胞を用い、sotorasibを60 μMまでの濃度で処理したところ、CYP1A1、CYP2B11、CYP3A12、UGT1A6及びUGT2B31のmRNAの発現が濃度依存的に増加し、それぞれ最大4.42、10.7、3.79、2.37及び5.65倍増加した。CYP1A2のmRNA発現は、sotorasibを60 μMの濃度まで処理したが、ほとんど又は全く誘導はみられなかった（2倍未満の変化）。sotorasibの20又は60 μMの処理

によりCYP1A1/2、CYP2B11、CYP3A12、UGT1A及びUGT2B活性の低下が認められ（2倍未満の変化）、高濃度処理で認められた細胞毒性と一致していた。

イヌの培養肝細胞を用い、M24を30 μMまでの濃度で処理したところ、CYP1A1及びCYP3A12のmRNA発現がそれぞれ2.26及び2.91倍まで増加又は濃度依存的に増加した。M24を30 μMまで処理したが、CYP1A2、CYP2B11、UGT1A6又はUGT2B31のmRNA発現、又はCYP1A1/2、CYP2B11、CYP3A12、UGT1A又はUGT2B活性は、ほとんど又は全く誘導されなかった（2倍未満の変化）。

これらの結果から、イヌを用いた3カ月間反復投与試験で認められた肝臓、下垂体及び甲状腺の変化は、肝細胞における酵素誘導に対する適応性変化と考えられた。

8.3 代謝物に関する試験

抗悪性腫瘍薬の代謝物に関する非臨床試験は、ICH S9及びICH S9 Q&A（ICH S9 Q&A, 2018）から不要と考えられるが、ヒト、ラット及びイヌで同定された3種類の血中代謝物であるM24、M10及びM18について、種々のスクリーニング評価を実施した。スクリーニング評価には、効力を裏付ける又は副次的薬理作用、並びにin vitroでのhERGカリウムチャネルへの影響及び遺伝毒性評価が含まれる。試験の結果、臨床的に問題となる安全性上の懸念は認められなかった（表 19）。

3種類の代謝物の中で、M18はsotorasibと同じ二重結合性共有結合部位を有し、M24及びM10は本構造を有していない。その結果、M18のみが効力を維持しているものの、その効果はsotorasibと比較して著しく弱かった（R20150199試験）。

副次的薬理試験では、臨床的に重要なオフターゲット作用は認められなかった。in vitro hERGアッセイでは、臨床的に意義のある相互作用はみられなかった。

これらの代謝物の遺伝毒性について、探索的なin vitro遺伝毒性試験［M24：細菌を用いたAmes試験（125020試験）、in vitro小核試験（125324試験）］、又はin silico（M18：153305試験、M10：153306試験）により評価した。これらの評価の結果、いずれの代謝物においても遺伝毒性が発現するリスクは確認されなかった。

表 19　ヒト血中代謝物とそのプロファイル

		Metabolite		
Type of study (Study Numbers) [b]	AMG 510	AMG3368167 (M24)	AMG3413829 (M18)	AMG3375854 (M10)
Primary pharmacology				
Nucleotide Exchange (IC_{50}) (R20150198)	0.093 μM	123 μM or > 250 μM	0.311 μM	78.2 μM or > 250 μM
ERK1/2 phosphorylation (IC_{50}) (R20150199)	0.036 μM	ND	0.304 μM	ND
Cell viability (IC_{50}) (R20150199)	0.005 μM	ND	0.180 μM	ND
Secondary pharmacology				
Off target pharmacology – early panel	None 124452	None 124807	None 153413	None 153413
Off target pharmacology – late panel	None 124453	None 124808	None 153414	None 153414
Off target kinase screening panel	None 124787	ND	None 153415	None 153415
Safety pharmacology				
In vitro hERG (IC_{50})	54.8 μM 150431	> 30 μM 124803	> 29.9 μM 153419	> 29.9 μM 153419
Genotoxicity				
In silico mutagenicity predictions	NA	NA	Negative 153305	Negative 153306
Bacterial reverse mutation assay	Negative 150436	Negative 125020	ND	ND
In vivo micronucleus/comet	Negative 150435	ND	ND	ND

AMG 510 = sotorasib; hERG = human ether-a-go-go-related gene; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; ND = not done; NA = not applicable.

Detailed results for primary, secondary and safety pharmacology are discussed in Module 2.6.2, Pharmacology Written Summary, respectively.

[b] Study numbers are listed under the results for secondary pharmacology, safety pharmacology, and genotoxicity.

Sources: Studies R20150198, R20150199, 124452, 124453, 124807, 124808, 124787, 124803, 125020, 150431, 150435, 150436, 153305, 153306, 153413, 153414, 153415, and 153419

8.4　不純物に関する試験

sotorasibの臨床用量（960 mg/day又はヒト体重を50 kgとして換算した場合19.2 mg/kg）及びICH Q3ガイドライン（ICH Q3A(R2), 2006、ICH Q3B(R2), 2006）から、sotorasibの原薬及び製剤において安全性の確認が必要な含有量の閾値はそれぞれ0.1%（sotorasib 960 mgあたり1 mg）及び0.2%（sotorasib 960 mgあたり2 mg）であった。sotorasibの原薬中に存在する9種類の有機不純物は、安全性の確認が必要な閾値を超えているため（モジュール3.2.S.4.1）、非臨床試験による安全性の確認が必要であった（表 20）。これらの不純物の非臨床安全性は、細菌を用いたAmes試験（153049試験、153050試験、153051試験、153052試験、153053試験、153054試験、153494試験、154030試験、154031試験、154032試験）、並びにラット（152458試験又は153451試験）及びイヌを用いた一般的な28日間反復投与毒性試験（150429試験）により評価した。sotorasibは、in vitro小核試験（124825試験）において陽性であったが、2つの異なる組織を用いたin vivo遺伝毒性試験（150435試験）の結果は陰性であったことから、不純物を用いたin vitro染色体異常試験あるいは小核試験は、ICH S9 Q&A（ICH S9 Q&A, 2018）に基づき不要と判断した。

表 20　安全性評価が必要な閾値を上回る不純物とその非臨床安全性評価の結果

Organic Impurity	Acceptance Criteria in Drug Substance Specification (%w/w)	Genotoxicity Study/Results	Repeat-dose Toxicology Study		
			Study No./ Study Type	Impurity Level in Lot[a] (%w/w)	Qualified Level[b] (%w/w)
3379613 (beta-chloride)	≤ 2.0	Negative 153053/ 153494[d]	dog 28-day 150429	0.88[c]	13.8
3379620 (m/z 1067)	≤ 1.5	Negative 153054	dog 28-day 150429	0.75[c]	11.7
3368167 (DS dione)	≤ 1.0	Negative 153052	dog 28-day 150429	0.37[c]	5.8
3396902 (m/z 913)	≤ 0.5	Negative 153049	rat 28-day 152458	0.41	4.3
3412607 (m/z 579)	≤ 1.0	Negative 153051	dog 28-day 150429	0.48[c]	7.5
3414168 (m/z 453)	≤ 0.5	Negative 153050	rat 28-day 152458	0.48	5.0
3422551 (m/z 955)	≤ 0.5	Negative 154030	rat 28-day 153451	0.46	4.8
3422536 (m/z 603)	≤ 0.5	Negative 154031	rat 28-day 153451	0.51	5.3
3422547 (m/z 715)	≤ 0.5	Negative 154032	rat 28-day 153451	0.37	3.9

[a] Lot No.: 0010360426-IP3 for the dog 28-day study (150429), mcorbe01.02-322-2 for the rat 28-day study (152458), and MH147175-001 for the rat 28-day study (153451)

[b] Qualified level was calculated based on the highest dose tested in the repeat-dose toxicology study (rat: 200 mg/kg; dog: 300 mg/kg).
Qualified level (%) = dog impurity exposure (impurity concentration in the batch in the toxicology study [%] x AMG 510 dose level tested in the toxicology study [rat: 200 mg/kg; dog: 300 mg/kg])/human highest dose (19.2 mg/kg [960 mg/ 50 kg human])

[c] Recalculated by dividing % area by RRF (relative response factor) to sotorasib, ie, w/w% = area%/RRF (Liu, 2020).

[d] Because the first study (153053) had a false positive due to mutagenic contaminant(s), the additional confirmatory micro-Ames study (153494) was performed to confirm absence of mutagenicity.

Sources: Studies 125621, 152458, 153451, 150429, 153049, 153050, 153051, 153052, 153053, 153054, 153494, 154030, 154031, and 154032

8.5　SDラットを用いたsotorasibと不純物の混合物による28日間反復経口投与毒性試験（152458試験）

初期に実施したイヌを用いた28日間反復投与毒性試験（150429試験）で使用したバッチには、不純物の安全性の確認が必要な4種類の不純物、3379613（β-クロライド）、3379620（m/z 1067）、3368167（DS dione）及び3412607（m/z 579）が含まれていたが、残りの7種類の不純物は含まれていなかった（表 20）。そのため、GLP条件下で実施した本試験では、2種類の不純物である3396902（m/z 913以上）及び3414168（m/z 453以上）を添加したsotorasib混合物を用い、ラットを用いた28日間反復投与毒性試験により評価した（152458試験）。不純物に関連する可能性のある影響について比較するため、試験デザインはsotorasibを用いたラットの28日間反復投与毒性試験と同一とした（150428試験）。SDラット（主試験群：10例／性／群、トキシコキネティクス試験群：4例／性／群）を用い、sotorasibの0、100又は200 mg/kgに不純物を添加した混合物を、28日間反復経口投与した。

トキシコキネティクスパラメータは、先に実施したラットを用いsotorasibを28日間投与した、反復投与投与毒性試験（150428試験）と概ね一致していた（表 21）。

表 21　SDラットに不純物を添加したsotorasibを28日間反復経口投与したときのトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD）

Day	AMG 510 Dose (mg/kg)	Sex	T_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)
1	100	Male	0.50 to 2.00	1.54 ± 0.630	7.05 ± 3.33
		Female	0.50 to 1.12	2.82 ± 1.33	9.22 ± 5.56
	200	Male	0.50 to 2.00	4.18 ± 2.14	21.3 ± 11.1
		Female	0.50 to 1.00	3.88 ± 0.967	21.6 ± 5.32
27	100	Male	0.50 to 8.00	1.08 ± 0.868	4.72 ± 2.07
		Female	0.50 to 8.00	2.51 ± 0.837	14.8 ± 10.1
	200	Male	0.50 to 1.00	2.53 ± 0.572	13.5 ± 8.27
		Female	0.50	6.93 ± 2.14	39.0 ± 25.8

AMG 510 = sotorasib, AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last qualitifiable concentration (up to 24 hours); C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; T_{max} = time to reach C_{max} reported as the range.

AMG 510 concentrations were not quantifiable in plasma samples collected from the control group.

Source: Study 152458

投与に関連した死亡、一般状態の変化、摂餌量の変化、器官重量の変化、剖検及び病理組織学的所見は認められなかった。

200 mg/kg投与群の雌で、軽微な体重増加量の増加が認められた（1.22倍）。

血液学的パラメータの変化として、200 mg/kg投与群の雄及び100 mg/kg以上の投与群の雌で、軽微な赤血球系パラメータの減少がみられたが、軽微な網状赤血球の増加を伴う場合と伴わない場合があり、100 mg/kg以上の投与群では軽微な赤血球系パラメータの変化がみられた。骨髄に関連する病理組織学的所見は認められなかった。投与に関連した血液生化学的パラメータの変化として、100 mg/kg以上の投与群の雄で、軽度のグルコース減少が認められた。

結論として、sotorasibと不純物の混合物をラットに28日間反復経口投与した場合、200 mg/kgまでの忍容性は良好であった。先に実施したsotorasibのみを用いた28日間反復投与毒性試験（150428試験）と比較して、sotorasibと不純物の混合物を投与することで毒性学的に意義のある新たな所見は認められなかった。したがって、不純物である3396902（m/z 913以上）及び3414168（m/z 453）の安全性が確認された。

8.6　SDラットを用いたsotorasibと不純物の混合物による28日間反復経口投与毒性試験（153451試験）

先にGLP条件下で実施したラットを用いた不純物の安全性確認のための28日間反復投与毒性試験（152458試験）の後に、非臨床において安全性の確認が必要な新たな不純物の3種類、3422551（m/z 955）、3422536（m/z 603）及び3422547（m/z 715）が同定されたことから、sotorasibを用いたラットの28日間反復投与毒性試験（150428試験）と同一の試験デザインを用いて追加試験を実施した。SDラット（主試験群：10例／性／群、トキシコキネティクス試験群：4例／性／群）を用い、sotorasibの0、100又は200 mg/kgと不純物を添加した混合物を28日間反復経口投与した。

トキシコキネティクスパラメータは、先に実施したsotorasibのみを用いたラットの28日間反復投与毒性試験（150428試験）と概ね一致していた（表 22）。

表 22　SDラットに不純物を添加したsotorasibを28日間反復経口投与したときのトキシコキネティクスパラメータ（平均±SD）

Day	AMG 510 Dose (mg/kg)	Sex	T_{max} (hr)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg·h/mL)
1	100	Male	0.50 to 1.00	1.74 ± 0.424	5.32 ± 1.57
		Female	0.50 to 1.00	1.87 ± 0.181	4.36 ± 1.31
	200	Male	0.50	3.45 ± 1.85	12.8 ± 5.25
		Female	0.50	3.42 ± 1.01	9.60 ± 2.99
27	100	Male	0.50	0.592 ± 0.124	2.70 ± 1.18
		Female	0.50	1.89 ± 0.564	3.69 ± 1.32
	200	Male	0.50 to 2.00	2.92 ± 1.12	24.8 ± 15.1
		Female	0.50 to 1.00	5.98 ± 2.42	17.3 ± 5.38

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours); C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; T_{max} = time to reach C_{max}, reported as the range.

AMG 510 concentrations were not quantifiable in plasma samples collected from the control group.

Source: Study 153451

投与に関連した死亡、一般状態の変化、摂餌量、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的所見は認められなかった。

100 mg/kg投与群の雌（1.13倍）及び200 mg/kg投与群の雌雄（それぞれ1.22及び1.21倍）で軽微な体重増加がみられ、200 mg/kg投与群では摂餌量の増加も認められた。

投与に関連した血液学的パラメータの変化として、200 mg/kg投与群の雄及び100 mg/kg以上の投与群の雌で、軽微な赤血球及びヘモグロビンの減少、100 mg/kg投与群の雌のみで、ヘマトクリットの減少が認められた。赤血球指数の変化として、200 mg/kg投与群で軽微な平均赤血球容積の増加及び赤血球分布幅の減少が、100 mg/kg以上の投与群の雄及び200 mg/kg投与群の雌で、軽微な平均赤血球ヘモグロビン濃度の減少がみられた。これに対応する網状赤血球の変化は認められず、骨髄中に関連する病理組織学的所見はみられなかった。

結論として、sotorasibと不純物を添加した混合物をラットに28日間反復経口投与した場合、200 mg/kgまでの忍容性は良好であった。先に実施した28日間反復投与毒性試験（150428試験）と比較して、sotorasibと不純物の混合物を投与することで毒性学的に意義のある新たな所見は認められなかった。したがって、不純物である3422551（m/z 955）、3422536（m/z 603）及び3422547（m/z 715）の安全性が確認された。

8.7　不純物の遺伝毒性に関する評価

sotorasibの原薬において、安全性の評価が必要な閾値を超える不純物に関する遺伝毒性は、細菌を用いたAmes試験により、それぞれ単離した不純物を用いて評価した。ICH Q3ガイドラインから、不純物の安全性確認に必要な遺伝毒性試験として、点突然変異試験及び染色体異常試験（又は小核試験）が挙げられる。しかし、sotorasibは、in vitro小核試験（124825試験）では陽性であったものの、2つの異なる組織を用いたin vivo遺伝毒性評価では陰性であったことから（150435試験）、不純

物を用いたin vitro染色体異常試験あるいは小核試験は、ICH S9に関するQ&A解説に基づき不要と判断した。

細菌を用いたAmes試験の結果、すべての不純物が陰性（表 20）であった。

9. 光毒性試験

3T3線維芽細胞株を用いた探索的なin vitro光毒性試験において、sotorasibは0.032～100 µg/mLの濃度範囲で光毒性を示さなかった（124666試験）。

10. 考察及び結論

副次的及び安全性薬理試験（モジュール2.6.2 4項）、並びに毒性試験を含む包括的な安全性評価を実施し、sotorasib並びにラット、イヌ及びヒトの血中代謝物（M10、M18及びM24）及び9種類の不純物の非臨床安全性プロファイルについて評価した。sotorasibを用いた試験では、WTの*KRAS*と比較して、*KRAS p.G12C*変異を有する細胞株に対して高い選択性を示し、顕著なオフターゲット毒性は認められなかった。*KRASp.G12C*変異は、腫瘍組織のみで認められており、正常組織には存在していない（AACR GENIE Consortium, 2017、Karnoub and Weinberg, 2008）。薬剤の標的が腫瘍特異的であることと一致して、通常の腫瘍を有さない正常な動物を用いたGLP条件下で実施した主要な非臨床毒性試験（ラット及びイヌ）では、標的に対する明らかな薬理作用に関連したオンターゲット毒性は認められず、ラット及びウサギにおいて胚・胎児発生への直接的な影響も認められなかった。sotorasibが標的に関連した毒性を示さないことは、最近承認された及び／又は開発された他の新規低分子腫瘍治療薬と比較して異なる（Barrow and Schmitt, 2017、Keller et al, 2015、Maziasz et al, 2010）。癌特異的な選択的キナーゼ阻害剤等の新規低分子化合物の多くは、当初臨床において最小の副作用で有効性を改善することが期待されたが、これまで実現できていない。これらの新規の標的の多くは癌細胞に特有のものではなく、ほとんどは細胞周期、アポトーシス、細胞増殖及び発生過程において重要な役割を果たしていることから、それらの標的を介した一次的な薬理作用に起因する一定のレベルの標的毒性が予想される。また、一部の正常組織及び細胞、特に急速に増殖する細胞の機能又は恒常性に影響を及ぼす。これら新規かつ低分子の腫瘍に対する標的治療薬では、広範囲な有害作用が観察される。一般的に毒性発現の標的臓器は消化管、造血系、雌雄生殖器であり、これらの臓器でみられる毒性所見は用量制限毒性と判断される。また、新規の抗悪性腫瘍薬が標的とする、シグナル伝達経路や細胞マーカーの多くは発生過程にも関与することから、腫瘍形成過程に関与する経路を阻害する低分子阻害剤のほとんどで、催奇形性を含む胚・胎児発生に対し有害作用が予想される（Barrow and Schmitt, 2017）。このように、非臨床試験評価によるsotorasibの安全性プロファイルは、他剤と比較して極めて優れていると考えられ、KRAS G12Cを特異的に阻害するファーストインクラスの薬剤として、KRAS G12C変異を有する進行NSCLC治療に対する良好なベネフィット／リスクプロファイルを裏付けている。

臨床試験（20170543試験）における用量でのヒト曝露量及び曝露量比を表 23に示す。被験者にsotorasibを180、360、720及び960 mgの用量でQD投与したときに観察された平均曝露量（20170543試験）は、GLP条件下で実施したラットを用いた3カ月間反復投与毒性試験においてSTD_{10}である180 mg/kg投与時に観察された曝露量（150432試験）より低かったものの、GLP条件下で実施したイヌを用いた3カ月間反復投与毒性試験において、HNSTDである1000 mg/kg投与時に確認された曝露量（150433試験）より高かった。これらの臨床試験における曝露量では、被験者において用量制限毒性は認められなかった（モジュール2.7.4）。

表 23　*KRAS p.G12C*変異を有する固形腫瘍を有する進行癌患者における曝露量とSDラット及びイヌを用いたsotorasibの反復経口投与毒性試験における曝露量との比較

	Human Exposure[a] (Day 8)		Exposure Multiple			
			3-month Rat STD_{10}		3-month Dog HNSTD	
Clinical Dose (mg/day)	AUC_{0-24} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC [b] (µg·h/mL)	C_{max} [b] (µg/mL)	AUC [c] (µg·h/mL)	C_{max}[c] (µg/mL)
180	31.7	6.44	2.0	1.6	0.4	0.7
360	38.9	6.31	1.6	1.6	0.4	0.7
720	42.1	5.45	1.5	1.9	0.3	0.8
960	38.2	5.78	1.7	1.7	0.4	0.8

AUC = area under the concentration-time curve; AUC_{0-24} = AUC from time 0 to 24 hours after dosing; AUC_{last} = AUC from time 0 to last quantifiable concentration (up to 24 hours); BID = twice daily; C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval; HNSTD = highest non-severely toxic dose; *KRAS p.G12C* = KRAS gene with a mutation resulting in a G12C amino acid substitution; STD_{10} = severely toxic dose in 10% of animals.

[a] Human exposures (AUC_{0-24} and C_{max}) on day 8 from Study 20170543. Part 1A Cohort 1: 180 mg, N = 6; Cohort 2: 360 mg, N = 24; Cohort 3: 720 mg, N = 11; Part 2A: 960 mg, N = 53.

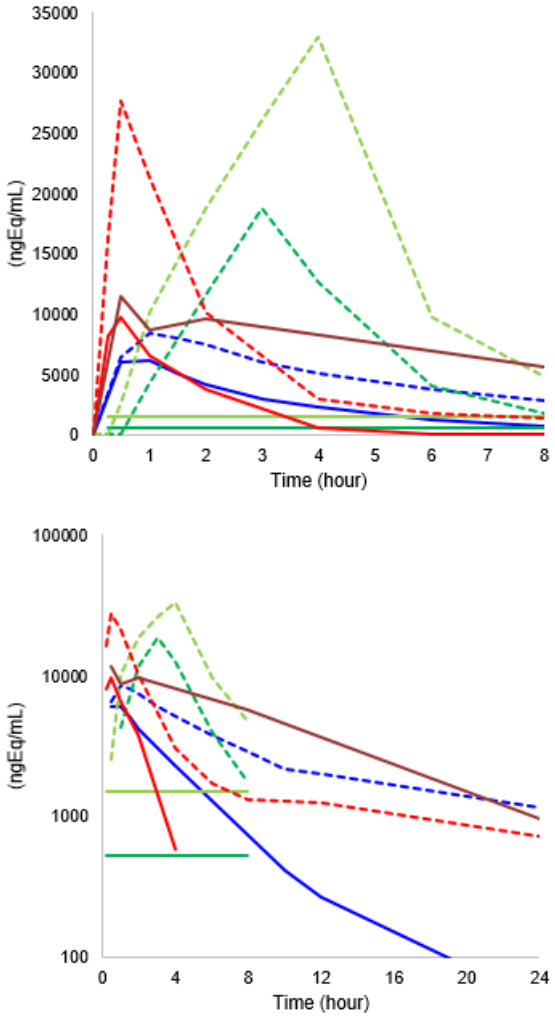
[b] Exposure multiples for AUC and C_{max} based on mean AUC_{last} (up to 24 hours) and C_{max} of 63.7 µg·h/mL and 10.1 µg/mL, respectively, after day 91 dosing of 180 mg/kg (STD_{10}) in rats (Study 150432).

c Exposure multiples based on mean AUC_{last} (up to 24 hours) and C_{max} of 14.1 µg·h/mL and 4.63 µg/mL, respectively, after day 90 dosing at 1000 mg/kg/day (500 mg/kg BID, HNSTD) in male and female dogs (Study 150433).

Source: Studies 20170543, 150432, and 150433

血漿中におけるsotorasibの未変化体濃度に基づく曝露量比は低い傾向にあり、特にイヌにおける曝露量に対する曝露量比は1を下回っていた（表 23）。曝露量比が低いことは、該当する動物種において代謝速度が速いことが一因と考えられる。ラット（152495試験）、イヌ（153304試験）及びヒト（20190321試験）を用いたマスバランス試験から、sotorasibに関連する物質すべての曝露を反映する総放射能濃度は、sotorasibの未変化体及び代謝物の両方を含め、ヒトの曝露量と比較してラット及びイヌで高いと考えられる（図 1）。ラットを用いたマスバランス試験で用いた用量である60 mg/kgは、3カ月間反復投与試験で用いた最低用量であった。イヌのマスバランス試験では、500 mg/kgを用いた。イヌを用いた3カ月間反復投与試験では、sotorasibを500 mg/kgまでBID投与した（1000 mg/kg/day）。後述するように、ラット（ラット腎組織で生成された代謝物に起因すると推定される腎毒性）及びイヌ（肝臓、下垂体、甲状腺の適応性変化）で認められた主な変化は、sotorasibの代謝物に起因するものであった。したがって、血漿中におけるsotorasibの未変化体濃度に基づく曝露量比が低いことは、安全域が低い又は不足していることを示すものではなかった。それに代わり、ラット及びイヌにおけるsotorasib及びその代謝物の総曝露量は、臨床で認められた曝露量と比較して高いことから、非臨床毒性試験における毒性は十分に評価されたと判断した。

図 1　ラット、イヌ及びヒトを用いたマスバランス試験におけるsotorasibの平均血漿中曝露量及び総放射活性量の比較



Upper graph represents linear scale and lower graph represents log-linear scale. Time-course of mean plasma concentration of sotorasib and total radioactivity in the rat (red lines, 60 mg/kg [^{14}C]- sotorasib PO), dog (green lines, 500 mg/kg [^{14}C]- sotorasib PO) and human (blue bold lines, 720 mg/human [^{14}C]- sotorasib PO).

Solid lines: sotorasib concentration. Dotted lines: total radioactivity concentration. Dark green line: male dog; light green line: female dog. In the dog mass balance study, no time-course of sotorasib concentration was measured, but mean sotorasib concentration was determined in the pooled plasma samples collected from 0.25 to 8 hours postdose. Solid brown line: sotorasib concentration in the plasma from rat that received a single dose of sotorasib at 750 mg/kg in the GLP 3-month study.

Quantitation limits: rat: 50.4 ng/mL (mass balance for 60 mg/kg) and 1 ng/mL (3-month study), dog: 2140 ng/mL, and human: 10 ng/mL

Source: Studies 152495, 150432, 153304, and 20190321

ラットにおける腎毒性

ラットを用いた反復投与毒性試験において、毒性の標的器官は腎臓であった。ラットにおける腎毒性は、sotorasibのメルカプツール酸経路による代謝後に推定される毒性反応性代謝物の生成に起因していた。イヌでは腎毒性が認められなかったことに加え、これまでのヒトを対象とした臨床試験で同様の腎毒性の兆候は認められていないこと（モジュール2.7.4）から、sotorasibに関連した腎毒性はラット特異的であると考えられる。この仮説をさらに裏付け、ラットで認められた腎毒性の機序を検討する目的で、一連の探索的毒性試験を実施した（8.1項）。

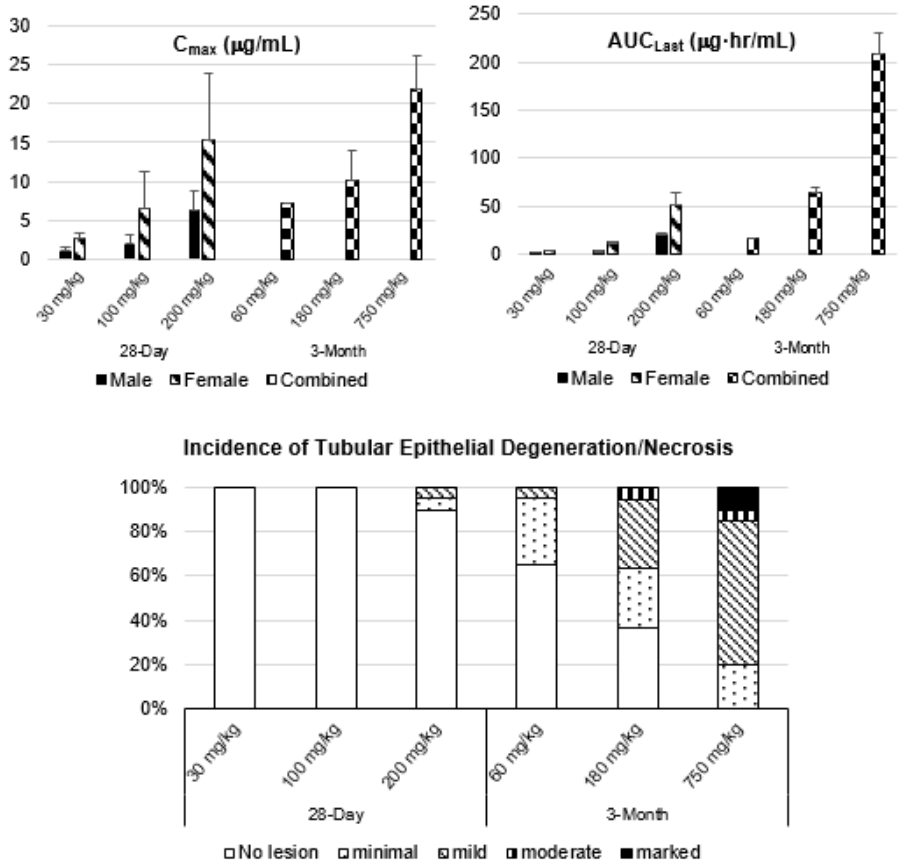
a.　ネフロンの標的部位

ラットの腎毒性の特徴は、OSOMにおける主に近位尿細管に限局した尿細管上皮の変性／壊死であった（8.1項）。ネフロンのこの部分はS3領域又は直部とも呼ばれ、代謝酵素に富んでいる（Cooper and Hanigan, 2018）。ヘンレ係蹄の太い上行脚及びOSOMを通過する集合管は、影響を受けなかった。これらのことから、sotorasibに関連した腎毒性の病理組織学的特徴は、ネフロンの非常に特異的な領域が影響を受けることであった。

b.　曝露量及び投与期間依存性毒性

尿細管変性／壊死の発現率及び重症度は、曝露量及び投与期間に依存していた（図 2）。ラットを用いた28日間反復投与毒性試験では、200 mg/kg投与群の20例中2例（検討した最高用量）において腎尿細管の変性／壊死が認められたが、この変化は軽微から軽度であった。ラットを用いた3カ月間反復投与毒性試験では、同じ腎臓の変化がより慢性的に進行し、より多くの尿細管への影響が認められた。この変化は、より高い曝露量及びより試験期間が長いことに起因していた。

図 2　ラットを用いた28日間及び3カ月間反復投与毒性試験におけるsotorasibの曝露量及び尿細管上皮変性／壊死の発現率／重症度の比較



AUC = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum observed drug concentration during a dosing interval.　Top graphs: systemic exposures to sotorasib (C_{max} and AUC) after the last dose.　Bottom graph: % incidence/severity of renal tubular epithelial degeneration/necrosis.

Source: Studies 150428 and 150432

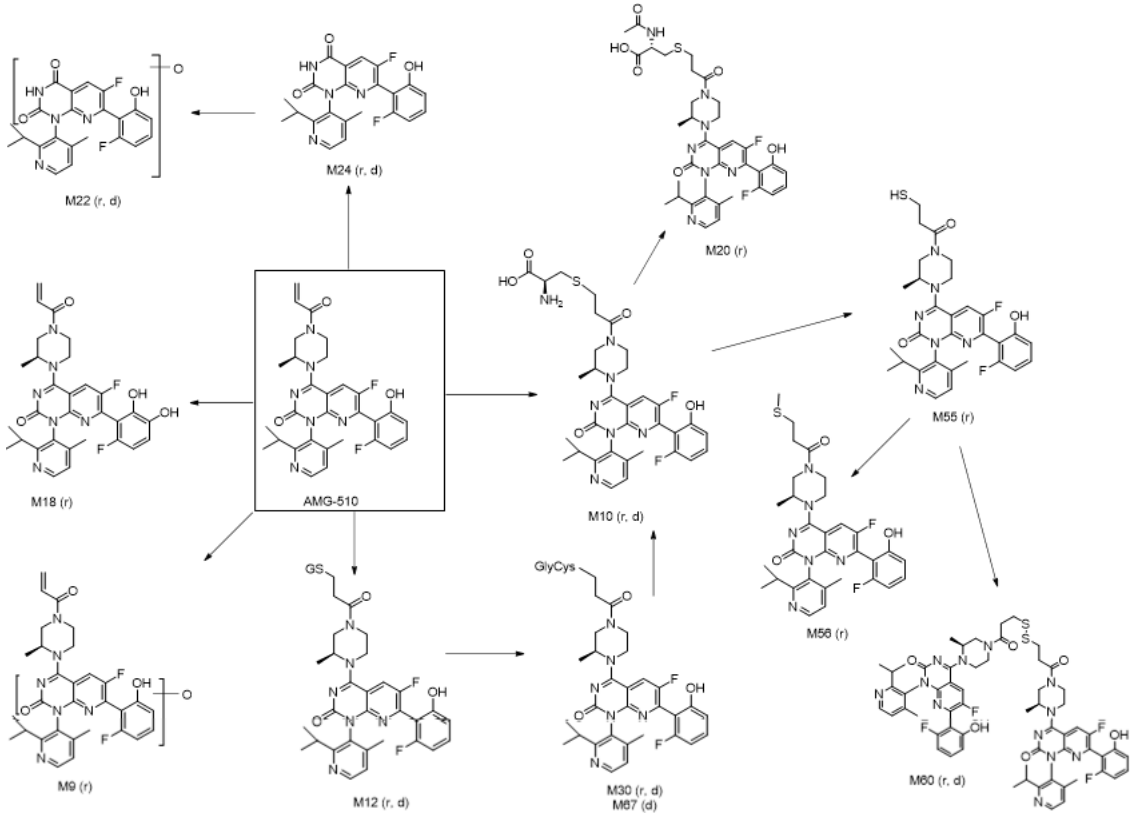
c. sotorasib誘発腎障害の経時変化

ラットを用いた探索的な7日間投与作用機序試験を実施し、sotorasib誘発腎障害の経時変化、腎障害のバイオマーカー、並びに局所及び全身性の代謝物について検討した。ラットを用い、sotorasibを60又は750 mg/kgで経口投与した（3カ月間反復投与毒性試験における低用量及び高用量を使用）。病理組織学的変化を、sotorasibの750 mg/kg単回投与後2、4及び8時間、並びに60及び750 mg/kgの1、3又は7日間反復投与の24時間後に測定した。腎尿細管の変性／壊死は、sotorasibの750 mg/kg投与群でのみ認められた。投与2、4及び8時間後に、OSOMに限局した近位尿細管上皮の限局性（軽微）からびまん性（軽度）の空胞化がみられ、尿細管変性／壊死の重症度はDay 2で顕著に増加し、その後Day 4においてしばしば異栄養性石灰化を伴う広範な壊死としてピークに達した。Day 8では、一部のラットの腎臓において異栄養性石灰化の大きな層が認められたが、他のラットの腎臓では石灰化及び尿細管再生の所見の発現は極めて少なかった。これらの病理組織学的所見は、OSOMにおけるネフロンのS3領域での尿細管壊死と一致しており、初回投与後24時間以内に発現し、その後の投与期間中に感受性の低い尿細管上皮細胞の修復及び適応性変化が認められた。

d. sotorasibの代謝経路

ラット、イヌ及びヒトから得られた、プールした血漿サンプルを用いて血中代謝物を評価した結果、sotorasibは主に酸化的N-脱アルキル化（M24及びその下流代謝物まで）、グルタチオン抱合（M12及びその下流代謝物まで）及び酸化（M18まで）を受けることが確認された（図 3）。BDC未処置及びBDC処置ラットを用い、[^{14}C]-sotorasibを60 mg/kgで単回経口投与したときの代謝及び排泄を評価した結果、アクロレイン部位でのグルタチオン抱合（Michael付加）により、胆汁中の主要代謝物であるが血中の主代謝物ではないグルタチオン抱合体、M12が生成した（152495試験）。次いで、グリシンアミノ酸のアミド加水分解により、胆汁中における主代謝物ではないシステイニルグリシン抱合体であるM30が得られた。M30の逐次加水分解により、血漿中の主要な代謝物であるが胆汁中の主代謝物ではないシステイン抱合体であるM10が得られた。M30は、ヒドロキシシステイニルグリシン抱合体であるM61にも代謝された。M10のNアセチル化は、主要な胆汁中、マイナーな糞中、微量な尿中及び血漿中で代謝物であるメルカプツール酸、M20を生成した。これは、システインS共役β-リアーゼ及び／又は腸ミクロフローラによって媒介されるシステイン部分の開裂により、糞便の微量代謝物としてジヒドロメルカプト代謝物であるM55が生成されたものと考えられる。M55の二次メチル化により、血漿中及び糞中で主要ではなく、尿中で微量な代謝物であるメチルチオ代謝物であるM56が認められた。

図 3　ラット及びイヌにおけるsotorasibの代謝経路



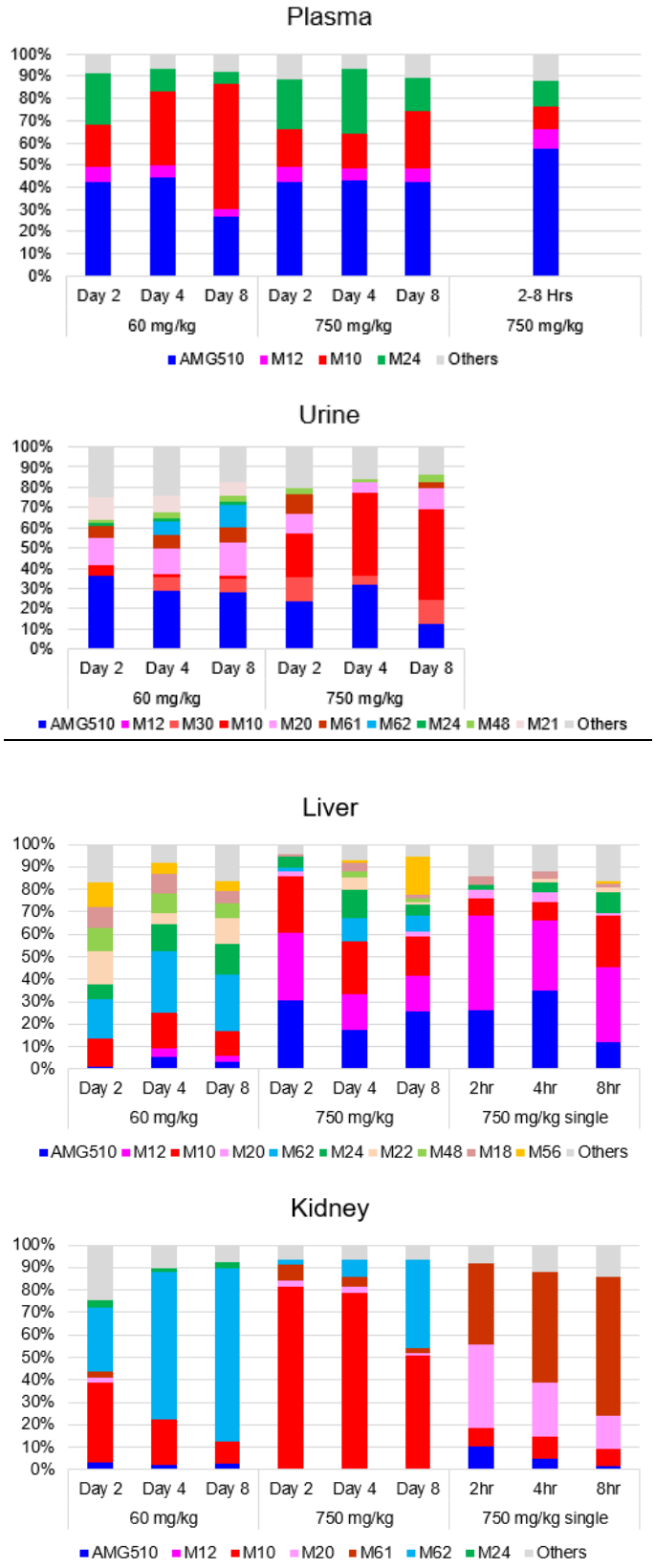
AMG 510 = sotorasib; d = dog; r = rat
Source: Studies 152495, 153303, and 153304

e.　腎臓におけるメルカプツール酸経路を介した代謝物の分析：腎毒性を発現する用量と発現しない用量との比較

代謝物について質量分析を実施した結果、腎障害と腎組織におけるグルタチオン抱合体であるM12（メルカプツール経路の代謝物）の下流代謝物の増加に相関がみられた（図 4）。sotorasibの60と750 mg/kg投与との間では、血漿中における代謝物プロファイルに明らかな差は認められなかったが、尿、肝臓及び腎臓中におけるグルタチオン抱合体であるM12の下流代謝物は、750 mg/kgでは60 mg/kgと比較して過度に増加した。腎臓では、システイン抱合体であるM10及び総メルカプツール酸経路における代謝物（M10、M20及びM61）が、750 mg/kgの投与Day 2にそれぞれ81.3及び91.4%のDRMがみられた（単回投与24時間後）。これとは異なり、投与Day 2において、sotorasibの750 mg/kgの投与で腎臓中に検出可能な未変化はほとんどみられなかったが（1.0%未満のDRM）、60 mg/kg投与群では3.3%存在した。もう1種類の抱合代謝物であるリジン抱合体M62は、sotorasibの750 mg/kgの投与でDRMの1.9%のみであったのに対し、60 mg/kgの投与ではDay 2において28.4%であった。尿細管における変性／壊死に対する尿細管再生の所見と一致して、システイン抱合体であるM10及び総メルカプツール酸経路代謝物の量は経時的に減少し、750 mg/kgの投与ではDay 8において、それぞれDRMとして50.6及び54%が確認された。一方、リジン抱合体であるM62は、60及び750 mg/kgの投与により経時的に増加した。本試験における急性期（sotorasibの750 mg/kg単回投与の2～8時間後）では、メルカプツール酸経路による代謝物も主な代謝物として認められた。無毒性量と比較して、腎毒性発現量で腎組織中に過度に増加したメルカプツール酸経路による代謝物が確認

されたことは、メルカプツール酸経路で生成された代謝物が、sotorasibの投与に起因した尿細管障害と関連することが示された。

図 4　sotorasibを60 mg/kg又は750 mg/kgでラットに投与したときの質量分析による血漿、尿、肝臓及び腎臓中の薬物関連物質の割合（%DRM）



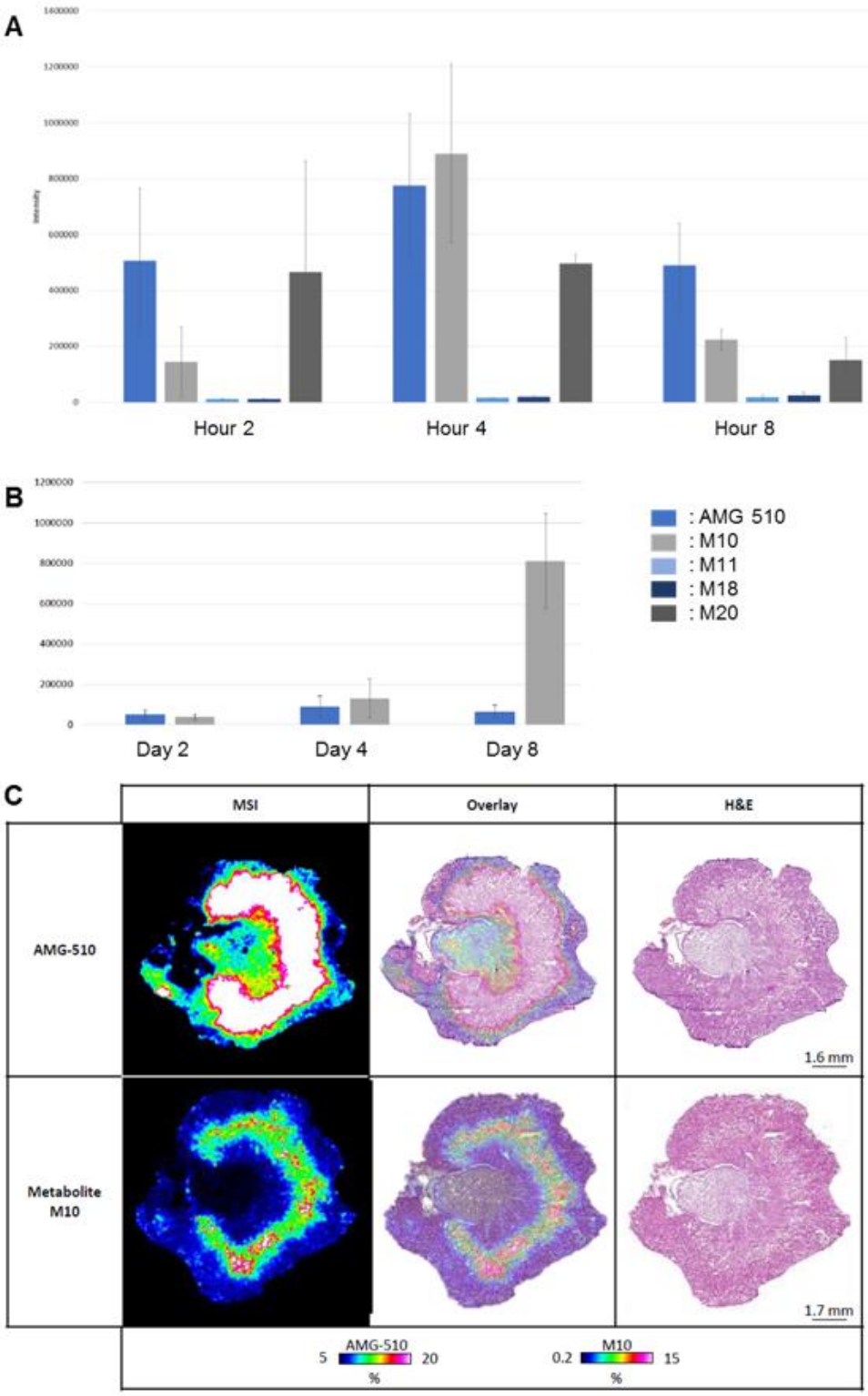
AMG 510 = sotorasib; Percent drug related material (%DRM) was quantitated by mass spectrometry signal response. Mercapturate pathway metabolites include M12: glutathione conjugate, M30: cysteinylglycine conjugate, M10 cysteine conjugate, M20 N-acetylcysteine conjugate (mercapturic acid), M61: hydroxy-cysteinylglycine conjugate.

Source: Study 153127

f. 腎臓のMALDI解析を用いたOSOMにおける腎障害とシステイン抱合体であるM10及びアセチルシステイン抱合体であるM20の共存

探索的な7日間投与による作用機序検討試験において、腎臓のMALDI解析を実施した結果、OSOMにおいて限局性の腎障害とグルタチオン抱合体であるM12の下流代謝物（メルカプツール経路による代謝物）の増加との間に強い相関が認められた。MALDI解析では、主にsotorasibの未変化体と及びグルタチオン抱合体であるM12の下流代謝物（システイン抱合体であるM10及びアセチルシステイン抱合体であるM20）が、750 mg/kgの投与でのみ検出された（図 5A、図 5B）。sotorasibは、すべての時点で腎臓全体に検出され、特定の部位に限局しなかった。一方、投与2及び4時間後におけるMALDI解析でのM10及びM20のシグナルは、尿細管上皮の変性／壊死領域であるOSOMに限定されていた（図 5C）。質量分析（図 4）及びMALDI解析の結果、腎毒性を示す用量では腎組織中のメルカプツール酸経路による代謝物が非毒性用量と比べて過度に増加したことから、腎臓のMALDI解析において、メルカプツール酸経路を介した代謝物とOSOMにおける尿細管障害が共存したことは、メルカプツール酸経路を介した代産物（M10及びM20）がsotorasibの投与に起因した尿細管障害と関連することを示している。

図 5　ラットにsotorasibの750 mg/kgを投与したときのsotorasib及びその代謝物の平均シグナル強度並びに腎分布：MALDI解析の結果



AMG 510 = sotorasib; H&E = hematoxylin and eosin; MSI = mass spectrometry imaging.

Average intensity data of AMG 510 (AMG 510) and metabolites in the kidney from rats administered 750 mg/kg at 2, 4 and 8 hours postdose (A), and on days 2, 4 and 8 (24 hours after the last dose) (B). Bars represent standard deviation of the mean. Typical distribution pattern of AMG 510 and cysteine conjugate M10 (animal 5006, 750 mg/kg, sample collected at 4 hours postdose) (C).

Source: Study 153127

g. sotorasib誘発腎毒性とシステインS抱合体β-リアーゼ介在性生体内活性化との関連

7日間投与作用機序試験における、無毒性量と比較して腎毒性量での腎組織中のメルカプツール酸経路による代謝物の不均衡な増加、並びに本項に記載した様々な腎毒性物質に関する公表情報から、sotorasib誘発腎毒性は、メルカプツール酸経路及びシステイン共有β-リアーゼ経路を介した、推定される腎内の硫黄含有代謝物の局所での形成に起因すると考えられた。アクロレインを含む多くの腎毒性物質が存在しており、その作用機序は腎特異的な代謝に依存している（Barnett and Cummings, 2018、Perazella, 2018、Horvath et al, 1992）。腎における代謝生成物の活性化による腎毒性の典型的なパターンの1つは、メルカプツール経路を介した反応性を有するβ-リアーゼが仲介する腎毒性代謝物の生成であり、これはアクロレイン部位を有する低分子の抗癌作用を有する共有結合性阻害剤、イブルチニブ（Baillie, 2020、Rood et al, 2021）を含む各種の生体異物により報告されている（Rood et al, 2021、Cooper and Hanigan, 2018、Testa and Clement, 2015、Cooper et al, 2011、Miller et al, 2010、Zhang and Hanigan, 2003、Townsend and Hanigan, 2002、Tsuchida, 2002）。この過程は、血中及び組織中におけるグルタチオンS抱合体の形成から始まる。体内でのグルタチオンS抱合体の形成は、一般に肝臓で生じるが、近位尿細管のS3領域でもみられる（Lock and Antoine, 2018）。グルタチオンS抱合体は腎臓を通過する際、近位尿細管細胞の管腔表面に発現するγ-グルタミルトランスペプチダーゼによってシステイニルグリシンS抱合体に切断される。シスチニルグリシンS抱合体は、近位尿細管上皮細胞の管腔表面にも発現するアミノジペプチダーゼによってさらに代謝される。ラットでは、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ及びアミノジペプチダーゼはいずれも近位尿細管刷子縁膜に高濃度で局在している（Cooper and Hanigan, 2018、Lock and Antoine, 2018）。通常、システインS抱合体は対応するNアセチルLシステインS抱合体（メルカプツール酸）によりNアセチル化される。メルカプツール酸は、一般的に親化合物よりも水溶性が高く、解毒段階として尿中に排泄されやすい（Cooper and Hanigan, 2018）。しかし、用量が増加した場合、腎臓中のシステインS抱合体の濃度が高くなるため、メルカプツール酸の解毒段階が飽和する可能性がある。その後、過剰のシステインS抱合体はシステインS抱合体β-リアーゼによる代謝に利用され、反応性の高い硫黄含有チオールを形成する。ラットでは、近位尿細管のS3領域はハロゲン化アルケン由来のシステインS抱合体に対して特に脆弱である（Cooper and Hanigan, 2018、Lock and Antoine, 2018）。

sotorasibの推定代謝経路は、メルカプツール酸及びβ-リアーゼ経路の代謝変換と一致していた（図3）。ラットを用いた7日間反復投与毒性試験において、メルカプツール酸経路による代謝物（すなわちM12、M30、M10、M20及びM61）は、無毒性量と比較して腎毒性量を発現する用量において腎臓並びに肝臓及び尿中で不均衡に増加した。M12、M10及びM20が腎毒性を発現する用量で肝臓中に多く生成されたことは、これらの代謝物の腎臓への輸送が増加したことに寄与していると考えられ、その結果、M10（81.3% DRM）及び総メルカプツール酸経路を介した代謝物（91.4% DRM）の腎臓への移行が増加した（図 4）。また、MALDI解析の結果、代謝物であるM10及びM20は尿細管における変性／壊死の部位であるOSOMに特異的に分布することが示された（図 5）。腎組織中のシステインS抱合体であるM10の分布が大きいことが、システインS抱合体であるβ-リアーゼによって媒介された、不安定な硫黄含有代謝物（チオール、M55又は推定される更なる開裂硫黄含有代謝物）への生物活性化に寄与していると考えられた。この代謝物は共有結合により細胞高分子と結合し、細胞プロセスの破壊及び細胞死を引き起こす可能性がある。sotorasib誘発性の腎障害と、

sotorasib及びその代謝物の腎排泄との相関、並びに腎毒性を示さない用量と腎毒性を示す用量との間の腎代謝物の排泄の差については、表 24に要約する。

表 24　腎障害とsotorasib／代謝物の動態との関連

Phase	Renal injury observed at 750 mg/kg	Renal disposition of AMG 510 and metabolites	
		Non-nephrotoxic dose (60 mg/kg)	Nephrotoxic dose (750 mg/kg)
2, 4, and 8 hours postdose	Tubular epithelial vacuolation, focal (minimal) to diffuse (mild), mostly restricted to the proximal tubules in the OSOM	No data available	MALDI: M10 and M20 colocalized in the OSOM Mass spectrometry: M10, M20 and M61 predominant in the kidney
Day 2	Tubular degeneration/necrosis, marked BUN/creatinine increase, moderate	AMG 510: 3.3%DRM M10: 35.7%DRM M10+M61+M20: 40.5% M62: 28.4% DRM	M10 disproportionally increased AMG 510: Not detected M10: 81.3% DRM M10+M61+M20: 91.4% M62: 1.9% DRM
Day 4	Tubular degeneration/necrosis, marked, with dystrophic mineralization BUN/creatinine increase, marked	AMG 510: 2.1%DRM M10: 20.2%DRM M10+M61+M20: 20.2% M62: 65.5% DRM	M10 disproportionally increased AMG 510: Not detected M10: 78.7% DRM M10+M61+M20: 85.7% M62: 7.9% DRM
Day 8	Tubular degeneration/necrosis, mostly moderate, with regenerating tubular epithelium (BUN/creatinine decreased compared to days 2 and 4)	M10 decreased, M62 increased compared to days 2 and 4 AMG 510: 2.7%DRM M10: 9.8%DRM M10+M61+M20: 9.8% M62: 77.4% DRM	M10 decreased, M62 increased compared to days 2 and 4 AMG 510: Not detected M10: 50.6% DRM M10+M61+M20: 54.0% M62: 39.7% DRM

AMG 510 = sotorasib; BUN = blood urea nitrogen; DRM = drug related material; M10 (cysteine conjugate), M61 (hydroxy-cysteinylglycine conjugate), M20 (mercapturic acid, or N-acetylcysteine conjugate). M10, M61 and M20 are all mercapturate pathway metabolites.　M62: lysine conjugate; OSOM = outer stripe of the outer medulla.

Source: Study 153127

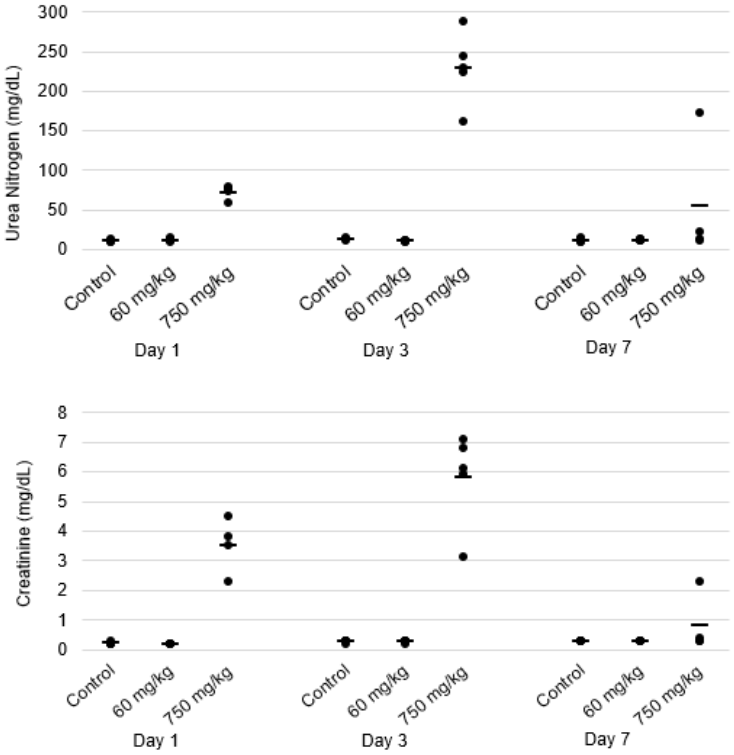
h.　ラット特異的なsotorasib誘発腎毒性

ラットはsotorasib誘発腎毒性に感受性を示すものの、同様の腎毒性はイヌを用いた毒性試験では観察されず、現在までのsotorasibを用いた臨床試験において、急性腎毒性等同様のシグナルは認められていない。イヌでは、最長3カ月間の反復投与期間及び検討した最高用量（500 mg/kg BID又は1000 mg/kg/day）まで腎毒性は認められなかった。探索的な7日間投与作用機序検討試験（153127試験）では、750 mg/kgでの腎尿細管変性／壊死は、初期にみられるBUN、クレアチニン、KIM-1及びクラステリンなどの血清又は尿中バイオマーカーと相関していた（Day 2及び4、図 6、図 7、図 8）。このことから、毒性学的に有意な腎毒性は、腎傷害を反映するこれらバイオマーカーによりモニター可能と考えられた。sotorasibを用いた臨床試験では、顕微鏡による尿沈渣検査とともに、定期的な血清クレアチニン及び／又は推定クレアチニンクリアランスの測定により腎機能のモニタリングが行われている。これまでの臨床試験において、ラットを用いた毒性試験と同様の腎毒性を示唆する所見は認められていない（モジュール2.7.4）。

ラット腎組織におけるシステインS抱合体であるM10の体内動態は、システインS抱合体であるβ-リアーゼを介した、腎毒性を示す不安定な硫黄含有代謝物の活性化に寄与すると考えられた。ラットを用いたマスバランス試験（152495試験）では、M10（[^{14}C]-sotorasib/gあたり6590 ng）の血漿中でのC_{max}は、sotorasibの60 mg/kg単回経口投与後0.5時間で認められた。絶対的曝露量は測定していないが、ラットに腎毒性を誘発する用量である750 mg/kgを投与したときのM10の曝露量は、ラットを用いたマスバランス試験で60 mg/kg投与時に認められたM10の曝露量を大きく上回ると予測される。ヒトにおけるM10の血漿中C_{max}は投与5.9～24時間後に認められ、投与Day 1で1200 ng/mL、投与Day 8で2610 ng/mLであった（モジュール2.7.2 表3）。したがって、投与直後のM10の濃度が高いほど、ラットの腎毒性に対する感受性が高くなる可能性がある。

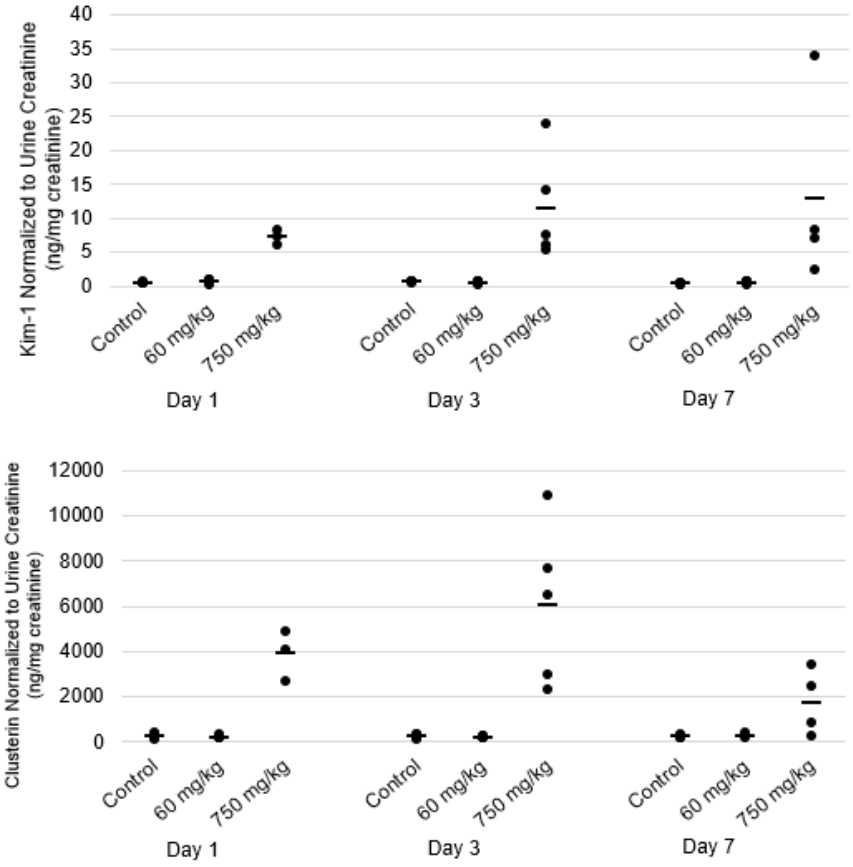
腎毒性の発現過程に関与する、様々な第I相及び第II相代謝酵素がネフロンに沿って発現し、これらの酵素の発現は種に依存している（Barnett&Cummings, 2018、Cooper and Hanigan, 2018）。ラット腎組織は、ラット腎組織におけるシステインS結合体β-リアーゼの特異的活性が高く（Anders, 2004b、Gul Altuntas and Kharasch, 2002、Iyer and Anders, 1996、Mccarthy et al, 1994、Green et al, 1990、Lash et al, 1990）、アロメトリックスケーリングにより（Anders, 2004a）、β-リアーゼ介在性の生物活性化に起因する腎毒性に対してヒトよりも感受性が高いことが報告されている。また、ラットでは、抗レトロウイルス薬であるエファビレンツを投与した場合、β-リアーゼが仲介する腎毒性に対して感受性が高くなることが報告されている（Mutlib et al, 2000）。sotorasibの臨床試験及び非臨床安全性データ、並びにメルカプツール経路に関連する腎毒性の報告から得られた科学的根拠の重要性から、ヒトにおけるsotorasib投与に関連した腎毒性のリスクは低いと考えられた。

図 6　ラットにおけるsotorasibの投与に関連した血中尿素窒素及び血清クレアチニンの変化



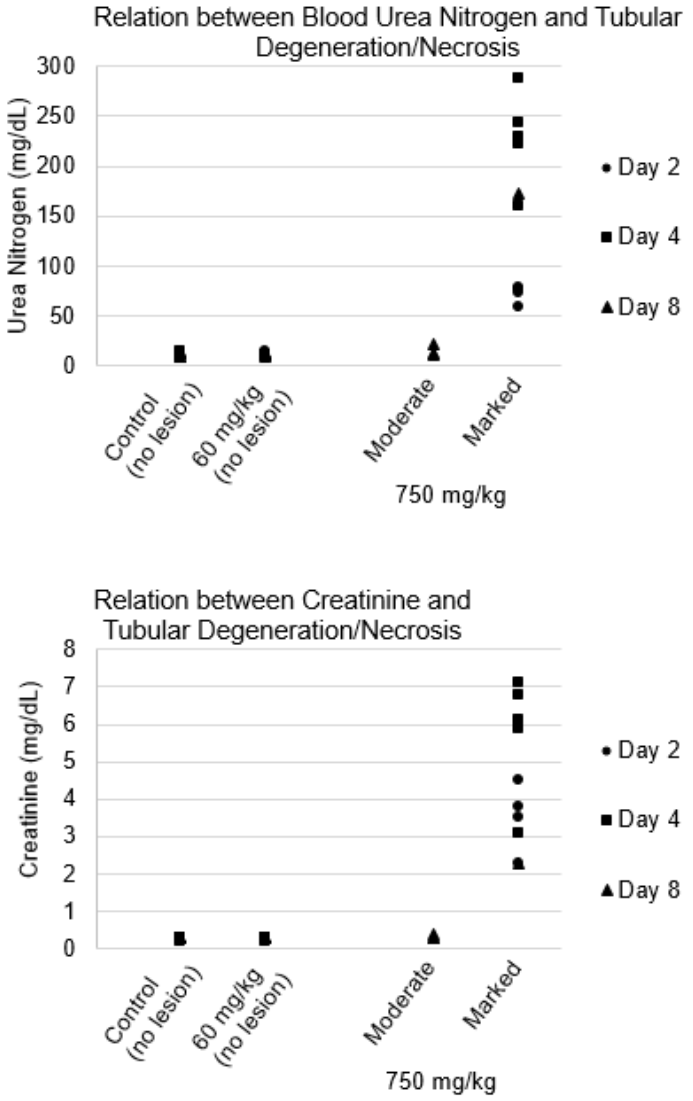
Each dot represents each an individual value and the dash is the group mean.
Source: Study 153127

図 7　ラットにおけるsotorasibの投与に関連した尿中バイオマーカーの変化



Kim-1 = kidney injury molecule-1.
Each dot represents each an individual value and the dash is the group mean.
Source: Study 153127

図 8　ラットにおける尿中バイオマーカーの変化と腎尿細管障害との関連



Each dot represents each an individual value and the dash is the group mean.
Source: Study 153127

i.　イヌにおける肝臓、下垂体及び甲状腺の変化

イヌを用いた3カ月間反復投与毒性試験（150433試験）では、sotorasibの投与に関連する変化が認められ、UGTに関連する肝酵素誘導及び二次性の甲状腺機能低下と一致していた（Houle st al, 2014、Zabka et al, 2011）。主な変化として、肝臓重量の増加を伴う小葉中心性肝細胞肥大、甲状腺濾胞上皮肥大、甲状腺重量の減少を伴う甲状腺濾胞のコロイド減少、下垂体重量の増加を伴う下垂体前葉における下垂体好塩基球の肥大であった。高用量投与群（1000 mg/kg/day）の2例において甲状腺萎縮の形態学的特徴が認められたが、これは加齢に伴う自然発生的な変化（Benjamin et al, 1996、Laurberg, 1989）が増悪したことによるものと考えられた。肝臓、下垂体及び甲状腺におけるこれらの病理組織学的変化は、臨床病理学的パラメータの変化（コレステロール、トリグリセリド及びBUNの増加）及び肉眼観察で認められた胆嚢における胆泥を伴っていた（Mesich et al, 2009）。肝細胞肥大は、アラニンアミノトランスフェラーゼ又はアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの変化又は退行性の変化を伴わなかった。

肝ミクロソーム酵素は、甲状腺ホルモン恒常性の維持に重要である。チロキシン（T4）及びトリヨードチロニン（T3）の排泄における主要代謝経路の一つは、UGTによるグルクロン酸抱合である（Richardson and Klaassen, 2010）。グルクロン酸抱合の増加は甲状腺ホルモンの排泄を増加し、視床下部下垂体-甲状腺軸に影響する。甲状腺ホルモンの産生は、T3及びT4、視床下部及び下垂体が関与するフィードバック機構により厳密に調節されている。T3及びT4が減少すると、視床下部神経分泌細胞による甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンが増加し、下垂体からの甲状腺刺激ホルモンの産生が増加する。甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンによる下垂体の長期刺激は、下垂体重量の増加と相関する下垂体好塩基球（甲状腺刺激細胞）肥大として形態学的変化として観察される。甲状腺における甲状腺刺激ホルモン刺激の増加は、濾胞上皮の肥大を誘発し、同時に甲状腺ホルモン産生時に甲状腺上皮によって消費されるコロイドの減少を伴う。In vitroでのビーグル犬由来培養肝細胞を用いた酵素誘導試験では、sotorasibによりUGT（UGT1A6及びUGT2B31）及び一部のCYPアイソザイムのmRNA発現量の増加が認められた（153409試験）。[^{14}C]-sotorasibを用いたイヌのマスバランス試験（153304試験）から、一次代謝ではグルタチオン抱合、酸化的N-脱アルキル化及びグルクロン酸抱合の介在が認められた。したがって、イヌを用いた3カ月間反復投与毒性試験（150433試験）で認められた肝臓、下垂体及び甲状腺の変化は、肝臓でのUGTの誘導による甲状腺ホルモン濃度の低下に対する適応反応と考えられた。一般的に、げっ歯類と比較してイヌは視床下部下垂体-甲状腺軸への影響に対しより抵抗性を持つ（Houle et al, 2014、Mcclain, 1995）。しかしながら、ラットにおけるsotorasib投与に関連した肝臓、下垂体又は甲状腺における病理組織学的変化は、検討した最高用量である750 mg/kg及び3カ月間の反復投与でも認められなかった。従って、sotorasibの代謝における種依存的な差（例えば、sotorasib代謝におけるグルクロン酸抱合の依存度の差など）が、甲状腺における種特異的な反応に対する主な原因である可能性が示された。一般的に、げっ歯類及びイヌと比較して、ヒトは視床下部－下垂体－甲状腺系に対する作用に対し抵抗性を有するが、これは主にサイロキシン結合グロブリンによって運搬されるT4の半減期が長く、T4を安定して貯蔵することが可能であることに起因する。さらに、lersivirine等いくつかの薬物を用いた動物における毒性試験で認められた甲状腺の適応性変化は、ヒトの健康リスクを示すものではないと考えられている（Houle et al, 2014、Vernazza et al, 2013、Daminet and Ferguson, 2003、Mcclain, 1995）。臨床において甲状腺機能障害が発現した場合、甲状腺機能検査のほか、血清コレステロール及びトリグリセリド濃度によりモニタリングが可能であることから（Jannin et al, 2019）、sotorasibを用いた臨床試験において甲状腺機能障害に関連する臨床徴候又は症状観察に加え、定期的な血清中T3、遊離T4及び甲状腺刺激ホルモンを測定することで、甲状腺機能のモニタリングを実施している。これまでの臨床試験において、sotorasibが甲状腺機能低下症又は甲状腺機能障害を示唆する所見は確認されていない（モジュール2.7.4）。

結論

sotorasibの非臨床安全性プロファイルを明らかにする目的で、GLP条件下での毒性試験を含む包括的な安全性評価を実施した。腫瘍特異的な標的分布と一致して、主要な反復投与毒性試験では、薬理作用に関連した主要な標的に対する影響は認められなかった。ラットを用いた反復投与毒性試験でみられた腎毒性は、腎臓において毒性反応を有する代謝物の生成に起因するものと考えられた。

ラットにおける腎毒性は種特異的であり、臨床でのリスクが低いことは、sotorasibの代謝物及び安全性評価データ、並びに公表されている情報により裏付けられている。イヌを用いた3カ月間反復投与毒性試験では、肝細胞酵素誘導に続く適応性の変化が肝臓、下垂体及び甲状腺で認められた。甲状腺に影響がある場合、臨床的にモニタリングが可能であり、これまでの臨床試験において甲状腺への影響を示唆する所見は認められていない。sotorasibは遺伝毒性を示さなかった。sotorasibは催奇形性を示さず、ラット又はウサギを用いた胚・胎児発生に直接的な影響を及ぼさなかった。sotorasibは、in vitroで光毒性を示さなかった。ヒト血中代謝物であるM24、M10及びM18について、効力を裏付ける薬理試験、副次的薬理試験、in vitro hERG試験及び遺伝毒性試験の結果から、臨床的に問題となる安全性上の懸念は認められなかった。非臨床において安全性評価が必要な不純物が9種類存在し、これらの不純物について、ICHガイダンス（ICH Q3A(R2), 2006、ICH Q3B(R2), 2006）に従い細菌を用いたAmes試験及びラット又はイヌを用いた一般的な28日間反復投与毒性試験を実施した。非臨床安全性プログラムの結果は、KRAS G12C変異を有する腫瘍の治療においてsotorasibの使用を支持するものであった。

11. 参考文献

AACR Project GENIE Consortium. AACR project GENIE: powering precision medicine through an international consortium. *Cancer Discovery*. 2017;7:818-831.

Anders MW. Glutathione-dependent bioactivation of haloalkanes and haloalkenes. *Drug metabolism reviews*. 2004a;36:583-594.

Anders MW. Formation and toxicity of anesthetic degradation products. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2004b;45:147-176.

Baillie TA. Approaches to Mitigate the Risk of Serious Adverse Reactions in Covalent Drug Design. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2020;1-44.

Barnett LMA, Cummings BS. Nephrotoxicity and Renal Pathophysiology: A Contemporary Perspective. *Toxicological Sciences*. 2018;164:379-390.

Barrow P, Schmitt G. Regulatory Approaches to Nonclinical Reproductive Toxicity Testing of Anti-Cancer Drugs. *Anti-cancer agents in medicinal chemistry*. 2017;17:1171-1183.

Benjamin SA, Stephens LC, Hamilton BF, Saunders WJ, Lee AC, Saunders GM, et al. Associations between lymphocytic thyroiditis, hypothyroidism, and thyroid neoplasia in beagles. *Veterinary pathology*. 1996;33:486-494.

Cooper AJ, Krasnikov BF, Niatsetskaya ZV, Pinto JT, Callery PS, Villar MT, et al. Cysteine S-conjugate beta-lyases: important roles in the metabolism of naturally occurring sulfur and selenium-containing compounds, xenobiotics and anticancer agents. *Amino acids*. 2011;41:7-27.

Cooper AJL, Hanigan MH. Metabolism of Glutathione S-Conjugates: Multiple Pathways. *Comprehensive Toxicology*. 2018;363-406.

Daminet S, Ferguson DC. Influence of drugs on thyroid function in dogs. *Journal of veterinary internal medicine*. 2003;17:463-472.

Green T, Odum J, Nash JA, Foster JR. Perchloroethylene-induced rat kidney tumors: an investigation of the mechanisms involved and their relevance to humans. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1990;103:77-89.

Gul Altuntas T, Kharasch ED. Biotransformation of L-cysteine S-conjugates and N-acetyl-L-cysteine S-conjugates of the sevoflurane degradation product fluoromethyl-2,2-difluoro-1-(trifluoromethyl)vinyl ether (compound A) in human kidney in vitro: interindividual variability in N-acetylation, N-deacetylation, and beta-lyase-catalyzed metabolism. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2002;30:148-154.

Horvath JJ, Witmer CM, Witz G. Nephrotoxicity of the 1:1 acrolein-glutathione adduct in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1992;117:200-207.

Houle CD, Finch GL, Mauthe RJ, Potter MD, Walisser JA, Gardner IB, et al. Effects of lersivirine on canine and rodent thyroid function. *Toxicologic pathology*. 2014;42:897-912.

ICH Harmonized Tripartite Guideline Q3A(R2): Impurities in new drug substances. 2006.

ICH Harmonized Tripartite Guideline Q3B(R2): Impurities in new drug products. 2006.

ICH Harmonized Tripartite Guideline S2(R1): Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. 2011.

ICH Harmonized Tripartite Guideline S5(R3): Detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals. 2020.

ICH Harmonized Tripartite Guideline S9: Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals. 2009.

ICH Harmonized Tripartite Guideline S9: Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals: Questions and Answers 2018.

Iyer RA, Anders MW. Cysteine conjugate beta-lyase-dependent biotransformation of the cysteine S-conjugates of the sevoflurane degradation product compound A in human, nonhuman primate, and rat kidney cytosol and mitochondria. *Anesthesiology*. 1996;85:1454-1461.

Jannin A, Penel N, Ladsous M, Vantyghem MC, Do Cao C. Tyrosine kinase inhibitors and immune checkpoint inhibitors-induced thyroid disorders. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2019;141:23-35.

Karnoub AE, Weinberg RA. Ras oncogenes: split personalities. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2008; 9:517–531.

Keller D, Brennan R, Leach K. Clinical and Nonclinical Adverse Effects of Kinase Inhibitors. In: L Urbán, Patel VF, Vaz RJ, eds. Antitargets and Drug Safety. Wiley‐VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2015:365-400.

Lash LH, Nelson RM, Van Dyke RA, Anders MW. Purification and characterization of human kidney cytosolic cysteine conjugate beta-lyase activity. *Drug metabolism and disposition*. 1990;18:50-54.

Laurberg P. Paradoxically subnormal serum T4 and T3 in dogs after prolonged excessive TSH stimulation of the thyroid caused by post-cAMP refractoriness of thyroid hormone secretion. *Metabolism*. 1989;38:265-270.

Liu M. Relative Response Factor of Impurities in AMG 510. Amgen Memorandum MEMO-407042. 2020.

Lock EA and Antoine DJ. 14.03 - Renal Xenobiotic Metabolism. In: CA McQueen, ed. Comprehensive Toxicology (Third Edition). Oxford: Elsevier; 2018:30-55.

Maziasz T, Kadambi VJ, Silverman L, Fedyk E, Alden CL. Predictive toxicology approaches for small molecule oncology drugs. *Toxicologic pathology*. 2010;38:148-164.

Mccarthy RI, Lock EA, Hawksworth GM. Cytosolic C-S lyase activity in human kidney samples-relevance for the nephrotoxicity of halogenated alkenes in man. *Toxicology and industrial health*. 1994;10:103-112.

Mcclain RM. Mechanistic considerations for the relevance of animal data on thyroid neoplasia to human risk assessment. *Mutation research*. 1995;333:131-142.

Mesich ML, Mayhew PD, Paek M, Holt DE, Brown DC. Gall bladder mucoceles and their association with endocrinopathies in dogs: a retrospective case-control study. *The Journal of small animal practice*. 2009;50:630-635.

Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, Reeves WB. Mechanisms of Cisplatin nephrotoxicity. *Toxins*. 2010;2:2490-2518.

Mutlib AE, Gerson RJ, Meunier PC, Haley PJ, Chen H, Gan LS, et al. The species-dependent metabolism of efavirenz produces a nephrotoxic glutathione conjugate in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2000;169:102-113.

Nitzsche D. Effect of maternal feed restriction on prenatal development in rats and rabbits – A review of published data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2017;90:95-103.

Perazella MA. Pharmacology behind Common Drug Nephrotoxicities. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2018;13:1897-1908.

Richardson TA, Klaassen CD. Disruption of thyroid hormone homeostasis in Ugt1a-deficient Gunn rats by microsomal enzyme inducers is not due to enhanced thyroxine glucuronidation. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010;248:38-44.

Rood JJM, Jamalpoor A, Van Hoppe S, Van Harenet MJ, Wasmann RE, Janssen MJ, et al. *Extrahepatic metabolism of ibrutinib. Investigational New Drugs*. 2021;39:1-14.

Testa B, Clement B. Chapter 24 - Biotransformation Reactions and their Enzymes. The Practice of Medicinal Chemistry (Fourth Edition). Academic Press; 2015:561-584.

Townsend DM, Hanigan MH. Inhibition of gamma-glutamyl transpeptidase or cysteine S-conjugate beta-lyase activity blocks the nephrotoxicity of cisplatin in mice. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2002;300:142-148.

Tsuchida S. Glutathione Transferases. Encyclopedia of Cancer (Second Edition). Academic Press; 2002;297-307.

Vernazza P, Wang C, Pozniak A, Weil E, Pulik P, Cooper DA, et al. Efficacy and safety of lersivirine (UK-453,061) versus efavirenz in antiretroviral treatment-naive HIV-1-infected patients: week 48 primary analysis results from an ongoing, multicenter, randomized, double-blind, phase IIb trial. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2013;62:171-179.

Zabka TS, Fielden MR, Garrido R, Tao J, Fretland AJ, Fretland JL, et al. Characterization of xenobiotic-induced hepatocellular enzyme induction in rats: anticipated thyroid effects and unique pituitary gland findings. *Toxicologic pathology*. 2011;39:664-677.

Zhang L, Hanigan MH. Role of cysteine S-conjugate beta-lyase in the metabolism of cisplatin. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2003;306:988-994.

表 1　毒性試験一覧表

被験物質：sotorasib

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Single-dose Toxicity	No single-dose toxicity studies were conducted						
Repeat-dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	QD, 7 days	0, 30, 100, 300	No	[redacted]	124431 ([redacted])
Repeat-dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	QD, 28 days	0, 30, 100, 200	Yes		150428 ([redacted])
Repeat-dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	QD, 3 months	0, 60, 180, 750	Yes		150432 ([redacted])
Repeat-dose Toxicity	Dog/Beagle	Oral Gavage	QD, 7 days	30, 300	No		124273 ([redacted])
Repeat-dose Toxicity	Dog/Beagle	Oral Gavage	BID, 7 days	0, 500 (0, 1000/day)	No		151550 ([redacted])
Repeat-dose Toxicity	Dog/Beagle	Oral Gavage	QD, 28 days	0, 30, 100, 300	Yes		150429 ([redacted])
Repeat-dose Toxicity	Dog/Beagle	Oral Gavage	BID, 3 months	0, 100, 500 (0, 200, 1000/day)	Yes		150433 ([redacted])

Footnotes are on the last page of the table.

表 1　毒性試験一覧表（続き）

被験物質：sotorasib

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Genotoxicity – (Micro-Ames)	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	In vitro	NA	Up to 250 µg/well	No	[redacted]	124824 ([redacted])
Genotoxicity – (HPBL micronucleus)	HBPL	In vitro	NA	Up to 500 µg/mL	No	[redacted]	124825 ([redacted])
Genotoxicity – (Ames)	*S. typhimurium, E. coli*	In vitro	NA	Up to 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	150436 ([redacted])
Genotoxicity – (erythrocyte micronucleus & comet assay)	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	QD, 4 days	DRF: 500, 1000, 2000 Main/Comet: 200, 600, 2000	Yes	[redacted]	150435 ([redacted])
Embryo-fetal Development	Rat/Sprague Dawley (female)	Oral Gavage	QD, Main: GD7 to GD17 TK: GD7 to GD12	0, 60, 180, 540	Yes	[redacted]	150434 ([redacted])
Embryo-fetal Development (Maternal Tolerability)	Rabbit/NZW (female)	Oral Gavage	QD, GD7 to GD19	300, 1000	No	[redacted]	150808 ([redacted])
Embryo-fetal Development	Rabbit/NZW (female)	Oral Gavage	QD, GD 7 to GD 19	0, 10, 30, 100	Yes	[redacted]	150810 ([redacted])

Footnotes are on the last page of the table.

表 1　毒性試験一覧表（続き）

被験物質：sotorasib

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Other Toxicity Studies - Mechanistic							
Repeat-dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	QD, up to 7 days	0, 60, 750	No	[redacted]	153127 ([redacted])
Other	Dog/Beagle hepatocytes	In vitro	QD, 3 days	AMG 510: 2, 20, 60, 200 µM AMG3368167: 1, 3, 10, 30 µM	No	[redacted]	153409 ([redacted])
Other Toxicity Studies – Metabolites							
Genotoxicity – In silico mutagenicity predictions AMG3413829	NA	NA	NA	NA	No	Amgen Inc. Cambridge, MA	153305
Genotoxicity – In silico mutagenicity predictions AMG3375854	NA	NA	NA	NA	No	Amgen Inc. Cambridge, MA	153306

Footnotes are on the last page of the table.

表 1　毒性試験一覧表（続き）

被験物質：sotorasib

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Other Toxicity Studies – Metabolites							
Genotoxicity – Ames AMG3368167	*S. typhimurium, E. coli*	In vitro	NA	Up to 250 µg/well	No	[redacted]	125020 ([redacted])
Genotoxicity – HPBL micronucleus AMG3368167	HBPL	In vitro	NA	Up to 500 µg/mL	No	[redacted]	125324 ([redacted])
Other Toxicity Studies – Impurities							
Repeat-dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	QD, 28 days	0, 100, 200 AMG 510 with impurities	Yes	[redacted]	152458 ([redacted])
Repeat-dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	QD, 28 days	0, 100, 200 AMG 510 with impurities	Yes	[redacted]	153451 ([redacted])
Genotoxicity – Micro Ames AMG3379613	*S. typhimurium, E. coli*	In vitro	NA	Up to 250 µg/well	No	[redacted]	125621 ([redacted])

Footnotes are on the last page of the table.

表 1　毒性試験一覧表（続き）

被験物質：sotorasib

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Other Toxicity Studies – Impurities							
Genotoxicity – Micro Ames AMG3379613	*S. typhimurium*, *E. coli*	In vitro	NA	Up to 250 µg/well	Yes	[redacted]	153494 ([redacted])
Genotoxicity – Ames AMG3396902	*S. typhimurium*, *E. coli*	In vitro	NA	Up to 5000 µg/plate	Yes		153049 ([redacted])
Genotoxicity – Ames AMG3414168	*S. typhimurium*, *E. coli*	In vitro	NA	Up to 5000 µg/plate	Yes		153050 ([redacted])
Genotoxicity – Ames AMG3412607	*S. typhimurium*, *E. coli*	In vitro	NA	Up to 5000 µg/plate	Yes		153051 ([redacted])
Genotoxicity – Ames AMG3368167	*S. typhimurium*, *E. coli*	In vitro	NA	Up to 5000 µg/plate	Yes		153052 ([redacted])
Genotoxicity – Ames AMG3379613	*S. typhimurium*, *E. coli*	In vitro	NA	Up to 5000 µg/plate	Yes		153053 ([redacted])

Footnotes are on the last page of the table.

表 1　毒性試験一覧表（続き）

被験物質：sotorasib

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Other Toxicity Studies – Impurities							
Genotoxicity – Ames AMG3379620	*S. typhimurium*, *E. coli*	In vitro	NA	Up to 5000 µg/ plate	Yes	[redacted]	153054 ([redacted])
Genotoxicity – Micro Ames AMG3422551	*S. typhimurium*, *E. coli*	In vitro	NA	Up to 250 µg/well	Yes		154030 ([redacted])
Genotoxicity – Micro Ames AMG3422536	*S. typhimurium*, *E. coli*	In vitro	NA	Up to 250 µg/well	Yes		154031 ([redacted])
Genotoxicity – Micro Ames AMG3422547	*S. typhimurium*, *E. coli*	In vitro	NA	Up to 250 µg/well	Yes		154032 ([redacted])
Other Toxicity Studies – Other							
Phototoxicity	Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts	In vitro	NA	0.032 to 100 µg/mL	No	[redacted]	124666 ([redacted])

[a] Unless otherwise specified.

AMG 510 = sotorasib; CRO = contract research organization; DRF = dose range-finding; GD = gestational day; GLP = Good Laboratory Practice; HPBL = human peripheral blood lymphocytes; NA = not applicable; NZW = New Zealand White; QD = once a day; TK = toxicokinetics.

表２　トキシコキネティクス試験一覧表

被験物質：sotorasib

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number
Single-dose Toxicity	No single-dose toxicity studies were conducted				
Repeat-dose Toxicity					
7-day	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	0, 30, 100, 300	No	124431
28-day/28-day recovery	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	0, 30, 100, 200	Yes	150428
3-month/2-month recovery	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	0, 60, 180, 750	Yes	150432
7-day	Dog/Beagle	Oral Gavage	30, 300	No	124273
7-day	Dog/Beagle	Oral Gavage	0, 500 BID	No	151550
28-day	Dog/Beagle	Oral Gavage	0, 30, 100, 300	Yes	150429
3-month	Dog/Beagle	Oral Gavage	0, 100, 500 BID	Yes	150433
Genotoxicity					
Erythrocyte Micronucleus/Comet	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	DRF: 500, 1000, 2000 Main/Comet: 200, 600, 2000	Yes	150435
Embryo-fetal Development					
	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	0, 60, 180, 540	Yes	150434
	Rabbit/New Zealand White	Oral Gavage	0, 10, 30,100	Yes	150810
	Rabbit/New Zealand White	Oral Gavage	300, 1000	No	150808

表２　トキシコキネティクス試験一覧表（続き）

被験物質：sotorasib

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number
Other Toxicity Studies – Mechanistic – Single/repeat-dose	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	Single dose: 0, 750 Repeat dose: 0, 60, 750	No	153127
Other Toxicity Studies – Impurities					
	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	0, 100, 200	Yes	152458
	Rat/Sprague Dawley	Oral Gavage	0, 100, 200	Yes	153451

AMG 510 = sotorasib; BID = twice a day; DRF = dose range-finding; GLP = Good Laboratory Practice.

表 3　トキシコキネティクス試験成績一覧表

被験物質：sotorasib

Daily Dose (mg/kg)	Rat		Female Rabbit		Dog		Human	
	AUC [a]	C_{max} [a]	AUC [a]	C_{max} [a]	AUC [a]	C_{max} [a]	AUC [a]	C_{max} [a]
3.6							31.7 [b]	6.44 [b]
7.2							38.9 [b]	6.31 [b]
10			3.56 [c]	1.81 [c]				
14.4							42.1 [b]	5.45 [b]
19.2							38.2 [b]	5.78 [b]
30	F: 3.76 [d]	F: 2.62 [d]	16.4 [c]	8.21 [c]	4.75 [d]	1.35 [d]		
30	M: 1.72 [d]	M: 1.05 [d]						
60	15.9 [e]	7.23 [e]						
60	F: 14.5 [c]	F: 6.08 [c]						
100	F: 12.9 [d]	F: 6.56 [d]	84.4 [c]	24.4 [c]	12.3 [d]	3.90 [d]		
100	M: 3.99 [d]	M: 1.92 [d]						
180	63.7 [e]	10.1 [e]						
180	F: 105 [c]	F: 12.7 [c]						
200	F: 50.8 [d]	F: 15.3 [d]			12.7 [e]	4.11 [e]		
200	M: 19.9 [d]	M: 6.33 [d]						
300	F: 90.3 [f]	F: 15.4 [f]	264 [c]	64.7 [c]	15.8 [d]	3.68 [d]		
300	M: 8.05 [f]	M: 3.84 [f]						
500	M: 94.6 [g]	M: 11.3 [g]						

Footnotes are on the last page of the table.

表 3　トキシコキネティクス試験成績一覧表（続き）

被験物質：sotorasib

Daily Dose (mg/kg)	Rat		Female Rabbit		Dog		Human	
	AUC [a]	C_{max} [a]	AUC [a]	C_{max} [a]	AUC [a]	C_{max} [a]	AUC [a]	C_{max} [a]
500	F: 201 [g]	F: 22.9 [g]						
540	F: 149 [c]	F: 17.1 [c]						
750	208 [e]	21.9 [e]						
1000	M: 89.4 [g]	M: 12.1 [g]	110 [c]	80.7 [c]	14.1 [e]	4.63 [e]		
1000	F: 374 [g]	F: 24.4 [g]						
2000	M: 209 [g]	M: 18.0 [g]						
2000	F: 416 [g]	F: 31.3 [g]						

AMG 510 = sotorasib; AUC = area under the concentration-time curve during the dosing interval; BID = twice a day; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; M = male; QD = once a day.

[a] Mean AUC values are at steady-state, reported as μg·hr/mL. Mean C_{max} values are reported as μg/mL. Values for repeat-dose studies are reported for the study of the longest duration at the specified dose level. Sexes are combined unless specified otherwise.

[b] Human phase 1 study 20170543. Human doses were converted from mg to mg/kg assuming a 50 kg subject.

[c] Embryo-fetal development study 150434 for the rat; oral administration gestation days 7 to 12, with TK on gestation day 12. Maternal tolerability study 150808 for the rabbit; oral administration at 300 or 1000 mg/kg gestation days 7 to 19, with TK on gestation day 11. Bioanalytical sampling at 1000 mg/kg was only to 2 hours, instead of to 24 hours because of early euthanasia of all animals. Embryo-fetal development study 150810 for the rabbit; oral administration at 10, 30, or 100 mg/kg gestation days 7 to 19, with TK on gestation day 11.

[d] 28-day studies 150428 for the rat, 150429 for the dog. Dose administration was oral QD.

[e] 3-month studies 150432 for the rat, 150433 for the dog. Dose administration was oral QD for the rat and oral BID for the dog.

[f] 7-day exploratory toxicology study 124431.

[g] Micronucleus dose range-finding phase of study 150435 for the rat. Dose administration was QD for 4 days.

表 4　毒性試験：原薬／製剤

被験物質：sotorasib

Lot #	Purity (%)	Specified Impurities [a]					Study Number	Type of Study
		A	B	C	D	E		
Proposed Specification:		< 2.0	< 1.5	< 1.0	< 0.5	< 1.0		
[redacted]	94.94	[b]	[b]	[b]	[b]	[b]	124431	7-day repeat-dose in rats
[redacted] [c]	98.2	0.88	0.75	0.37	[d]	0.48	150428	28-day repeat-dose in rats
							150429	28-day repeat-dose in dogs
							153127	Mechanistic study in rats
[redacted] [c]	100.5	0.09	0.49	[d]	[d]	[d]	151550	7-day repeat-dose in dogs
							150432	3-month repeat-dose in rats
							150434	Embryo-fetal development in rats
							150808	Maternal tolerability in rabbits
							150810	Embryo-fetal development in rabbits
							150435	alkaline comet assay
[redacted]	> 98	[b]	[b]	[b]	[b]	[b]	124273	7-day repeat-dose in dogs
[redacted] [c]	99.4	0.12	0.55	[d]	[d]	[d]	150433	3-month repeat-dose in dogs
[redacted]	99.7	0.12	0.55	[d]	[d]	[d]	153409	Hepatocyte study - cultured dog cells
							150810	Embryo-fetal development in rabbits
[redacted] [c]	99.9	0.91	0.49	[d]	[d]	[d]	150435	Erythrocyte micronucleus: DRF
[redacted]	Not listed	[b]	[b]	[b]	[b]	[b]	124824	Micro Ames
							124825	Micronucleus assay
[redacted] [c]	98.0	0.77	0.79	[d]	0.21	[d]	150436	Ames
							150435	Erythrocyte micronucleus: main study
[redacted]	97.16	[b]	[b]	[b]	[b]	[b]	124666	Phototoxicity
[redacted]	93.7	0.12	0.53	< 0.05	0.41	< 0.05	152458	28-day repeat-dose in rats for impurity qualification
[redacted]	98.1	0.12	0.17	< 0.05	< 0.05	< 0.05	153451	28-day repeat-dose in rats for impurity qualification

Footnotes are on the last page of the table.

表 4　毒性試験：原薬／製剤（続き）

被験物質：sotorasib

Lot #	Purity (%)	Specified Impurities [a]				Study Number	Type of Study
		F	G	H	I		
Proposed Specification:		< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5		
[redacted]	93.7	0.48	[d]	[d]	[d]	152458	28-day repeat-dose in rats for impurity qualification
[redacted]	98.1	[d]	0.46	0.51	0.37	153451	28-day repeat-dose in rats for impurity qualification

AMG 510 = sotorasb, AMG 510 was previously known as AMG3365648 and 3365648; CV = cardiovascular; DRF = dose range finding; RRF = relative response factor.

[a] Specified impurities are identified from the commercial drug product.
These are identified from the commercial drug product as follows: A = 3379613 (beta-chloride); B = 3379620 (m/z 1067); C = 3368167 (ds dione); D = 3396902 (m/z 913); E = 3412607 (m/z 579); F = 3414168 (m/z 453, ethanolysis); G = 3422551 (m/z 955); H = 3422536 (m/z 603); I = 3422547 (m/z 715).

[b] Impurities not specified

[c] Impurity levels are recalculated by dividing % area by RRF to AMG 510, ie w/w% = area%/RRF (Liu, 2020)

[d] Impurity was not detected (lower than the reporting threshold of 0.05%).

Liu M. Relative Response Factor of Impurities in AMG 510. Amgen Memorandum. MEMO-407042. 2020.

表 5　単回投与毒性試験

被験物質：sotorasib

Single dose studies to assess the toxicity of sotorasib were not conducted. Potential acute toxicity was assessed in the repeat-dose studies.

表 6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：sotorasib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (2% HPMC, 1% Tween 80 in RODI water)	Once daily for 7 days	0, 30, 100, 300 [a]	5M, 5F	none reported	AMG 510 early compound name was AMG3365648 ≥ 100 mg/kg: pale kidneys; degeneration/necrosis of renal tubular epithelium (males). 300 mg/kg: increased kidney weights; degeneration/necrosis of renal tubular epithelium (females); eosinophilic granular casts within tubule lumens. TK: dose proportional, except > dose proportional between 100 and 300 mg/kg, day 1 and < dose proportional between 100 and 300 mg/kg, males day 7. Metabolite AMG3368167 decreased with increasing dose (51% at 30 mg/kg) to 23% at 300 mg/kg). Metabolite AMG3368447, a GSH conjugate, was 23% to 26% of AMG 510.	124431 (non-GLP)
Dog/Beagle	Oral gavage (2% HPMC, 1% Tween 80 in RODI water)	Once daily for 7 days	30, 300	3F	none reported	300 mg/kg: soft feces, salivation, vomitus	124273 (non-GLP)

Footnotes are on the last page of the table.

表 6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

被験物質：sotorasib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Dog/Beagle	Oral gavage (2% HPMC, 1% Tween 80 in RODI water)	BID for 7 days	0, 1000 BID doses: 0 and 500 mg/kg	3M, 3F	none reported	Transient decresed food consumption, soft feces. Moderately decreased reticulocytes, day 8. Decreased red blood cell mass, day 8 and decreased reticulocytes, days 2 and 8 in one animal.	151550 (non-GLP)

AMG 510 = sotorasb, AMG 510 was previously known as AMG3365648; BID = twice a day; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; GSH = glutathione; HPMC = hydroxypropylmethylcellulose; M = male; NOAEL = no observed adverse effect level; RODI = reverse osmosis deionized.

[a] All pre dose formulation concentrations were within ± 10% of target. After the dosing period, the 3.0 and 10.0 mg/mL formulation concentrations (30 and 100 mg/kg, respectively) were within ± 10% of target, but the 30 mg/mL formulation concentration (300 mg/kg) was 185% of target (confirmed by analysis of backup samples).

表 7A　反復投与毒性試験：重要な試験

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity Species/Strain: Rat/Sprague Dawley Initial Age: 8 to 9 weeks Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] Special Features: None STD_{10}: > 200 mg/kg	Report Title: AMG 510: 28-Day Oral Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat With a 28-Day Recovery Period Duration of Dosing: 28 days, once daily Duration of Postdose: 1 month (28 days) Method of Administration: Oral gavage Vehicle/Formulation: 2% (w/v) HPMC, 1% (w/v) Tween 80 in reverse osmosis deionized water				Test Article: AMG 510 Amgen Study No. 150428 [redacted] Study No. [redacted] GLP Compliance: Yes			
Daily Dose (mg/kg)	0		30		100		200	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15	F: 15
Toxicokinetics (Mean): [b]								
AUC_{last} (μg·hr/mL)								
Day 1	BQL		2.23	4.40	4.89	9.88	18.6	14.8
Day 27	BQL		1.72	3.76	3.99	12.9	19.9	50.8
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	BQL		1.43	3.05	2.16	4.91	6.67	3.89
Day 27	BQL		1.05	2.62	1.92	6.56	6.33	15.3
Noteworthy findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 150428
Daily Dose (mg/kg)	0		30		100		200	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15	F: 15
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology, Day 29 [c]								
Hemoglobin (g/dL)	15.40	15.04	15.20	14.39	14.83	14.02**	14.21**	13.48**
Red Blood Cell Count (10^6/μL)	8.311	8.032	8.103	7.605*	7.856	7.527**	7.360**	7.243**
Hematocrit (%)	46.23	43.59	45.89	42.29	45.17	41.79	43.90	40.59**
Reticulocytes (10^9/L)	199.11	195.85	198.36	172.57	201.63	157.33	229.91	201.60
Mean Corpuscular Volume (fL)	55.68	54.28	56.63	55.65*	57.52	55.54	59.64**	56.04**
Mean Corposcular Hemoglobin (pg)	18.55	18.71	18.75	18.94	18.89	18.63	19.29**	18.60
Mean Corposcular Hemoglobin Concentration (g/dL)	33.33	34.50	33.14	34.06	32.82	33.54**	32.38**	33.20**
White Blood Cell Count (10^3/μL)	5.581	3.841	7.248	3.466	7.300	4.622	7.975**	4.339
Lymphocytes (10^3/μL)	4.539	2.869	6.115	2.986	5.958	3.900	6.533*	3.607
Monocytes (10^3/μL)	0.124	0.118	0.158	0.078	0.196	0.116	0.216**	0.110
Platelets (10^3/μL)	1079.6	1153.2	1128.8	1150.2	1125.3	1275.0	1191.6	1396.6**

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 150428
Daily Dose (mg/kg)	0		30		100		200	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15	F: 15
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis, Day 29	One female at 200 mg/kg had a minimal to moderate increase in urine glucose, ketones, blood, and protein that was consistent with renal tubular dysfunction and correlated with mild AMG 510-related degeneration and necrosis of the proximal convoluted tubule of the kidney.							
Terminal Procedures, Day 29	10	10	10	10	10	10	10	10
Number Evaluated								
Organ Weights [d]								
Spleen, absolute weight (g, %)	0.6028	0.4436	13.5866	7.5744	20.9854*	11.1587	20.6038	12.3309
Relative (% body weight)	0.15407	0.19524	11.17910	-1.60640	17.43072	5.07808	10.03488	2.30805
Relative (% brain weight)	29.24379	23.60493	12.92197	4.24513	19.80113	8.05171	20.90906	11.17409
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology [e]								
Bone marrow								
Increased cellularity								
minimal	0	0	0	0	0	0	1	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 150428
Daily Dose (mg/kg)	0		30		100		200	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15	F: 15
Histopathology [e], Number Evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10
Kidney								
Degeneration/necrosis, proximal convoluted tubule								
minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Liver								
Increased hematopoiesis								
minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Spleen								
Increased hematopoiesis								
minimal	0	0	0	0	0	0	5	4
Postdose Evaluation (Recovery) Number Evaluated	5	5	0	0	0	0	5	5
Noteworthy findings	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

AMG 510 = sotorasib; - = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours); BQL = below quantification limit; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HPMC = hydroxypropyl methylcellulose; M = male; NA = not applicable; STD_{10} = severely toxic dose in 10% of animals; TK = toxicokinetic; w/v = weight to volume. * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0.01$ using Dunn's/Dunnett's test.

[a] Main study animals (10/sex/group) were euthanized on day 29 and recovery animals (5/sex at 0 and 200 mg/kg) were euthanized on day 57. Toxicokinetic animals (4/sex/group) were euthanized without necropsy on day 28 following the final sample collection.

[b] Plasma AMG 510 concentrations were not quantifiable in samples collected from the control animals or in any day 1 predose samples.

[c] Group means are shown.

[d] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[e] Number of animals with finding is shown.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity	Report Title: AMG 510: A 3-Month Oral Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat With a 2-Month Recovery Period	Test Article: AMG 510	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 91 days, once daily	Amgen Study No. 150432	
Initial Age: 8 weeks	Duration of Postdose: 2 months	[redacted] Study No. [redacted]	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage		
	Vehicle/Formulation: 20% Captisol, pH 2.2 in Reverse Osmosis Deionized Water	GLP Compliance: Yes	
Special Features: Urine chemistry and urine biomarker evaluation.			
STD_{10}: 180 mg/kg			

Daily Dose (mg/kg)	0		60		180		750	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Toxicokinetics: AUC_{last} (µg·hr/mL)								
Day 1		BQL		10.8		32.6		116
Day 91		BQL		15.9		63.7		208
Toxicokinetics: C_{max} (µg/mL)								
Day 1		BQL		4.90		5.63		12.7
Day 91		BQL		7.23		10.1		21.9
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	1	0	2	1
Body Weight (g, % [b, c])	611.53	347.47	2.81	5.41	5.65	1.92	-17.31**	-7.77

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 150432
Daily Dose (mg/kg)	0		60		180		750	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Food Consumption (g/animal/day, % [b, c])	32.40	21.47	2.80	8.20*	2.95	7.30*	-24.56**	-13.07
Clinical Observations [d]								
Dehydration	0	0	0	0	0	0	2	5
Salivation	0	0	0	0	0	1	1	9
Vocalization	0	0	0	0	0	1	0	3
Hunched posture	0	0	1	0	0	0	14	15
Abnormal gait	0	0	0	0	0	0	2	2
Thin	0	0	0	0	0	0	4	4
Prominent backbone	0	0	0	0	0	0	2	6
Closed eyes	0	0	0	0	0	0	7	6
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology, Day 92								
Red blood cells (10^6/μL)	8.009	7.508	7.520	6.949**	7.110**	6.484**	6.024**	4.832**
Reticulocytes (10^9/L)	172.46	160.22	178.25	149.33	190.82	167.24	167.50	253.55
Mean corpuscular volume (fL [μm^3])	54.32	56.44	56.77	58.38	56.94	58.40	60.85**	64.45**

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 150432
Daily Dose (mg/kg)	0		60		180		750	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Hematology, Day 92 continued								
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.60	18.03	18.07	18.39	18.19	18.50	19.64**	20.57**
Platelets (10^3/μL)	1111.50	1098.70	1187.00	1189.78	1291.44*	1416.90**	1595.25**	1829.20**
White blood cells (10^3/μL)	6.257	2.870	6.913	2.744	6.770	5.011*	10.429**	6.644**
Neutrophils (10^3/μL)	1.336	0.418	1.092	0.334	0.914	0.654	2.313	1.860**
Lymphocytes (10^3/μL)	4.511	2.284	5.426	2.281	5.457	4.025*	7.129*	4.131*
Monocytes (10^3/μL)	0.243	0.084	0.209	0.066	0.207	0.146	0.600	0.429**
Eosinophils (10^3/μL)	0.070	0.039	0.074	0.038	0.082	0.099*	0.138**	0.083
Basophils (10^3/μL)	0.008	0.001	0.010	0.001	0.007	0.005	0.014	0.008*
Large unstained cells (10^3/μL)	0.084	0.040	0.099	0.028	0.104	0.083	0.236	0.131**
Coagulation, Day 92								
Fibrinogen (mg/dL)	350.30	245.90	357.30	249.33	335.44	272.80	290.63**	199.60*
Serum Chemistry, Day 92								
Urea nitrogen (mg/dL)	12.00	13.80	12.30	14.00	12.44	15.40	15.75	10.80
Creatinine (mg/dL)	0.34	0.43	0.34	0.42	0.33	0.55	0.46	0.33**

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 150432
Daily Dose (mg/kg)	0		60		180		750	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Serum Chemistry, Day 92 Continued								
Phosphorus (mg/dL)	5.85	6.57	6.28	7.09	6.62	7.68*	8.16**	8.20**
Potassium (mEq/L)	4.95	4.05	5.06	4.25	5.40**	4.54*	5.34	4.90**
Glucose (mg/dL)	187.90	146.90	189.20	142.40	202.44	129.20	109.63**	119.20*
Calcium (mg/dL)	10.12	10.69	10.16	10.83	10.01	10.63	9.56*	9.46**
Sodium (mEq/L)	144.10	141.40	143.80	141.10	143.89	140.20	143.00	134.60**
Chloride (mEq/L)	105.00	101.80	104.70	101.30	104.33	100.00	100.38*	92.30**
Total bilirubin (mg/dL)	0.060	0.064	0.054	0.095	0.052	0.147	0.280*	0.304**
Gamma glutamyltransferase (U/L)	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.20	2.25	2.10
Cholesterol (mg/dL)	67.60	80.80	84.70*	100.90	94.44**	112.20**	88.63**	75.70
Triglycerides (mg/dL)	66.80	49.40	56.20	40.90	59.67	36.30	34.13**	18.30**
Globulin (g/dL)	2.23	1.91	2.11	1.98	2.09	1.93	1.60**	1.40**
Urinalysis								
Volume (mL), Day 92	14.23	19.41	21.41	14.41	31.30**	16.87	22.78*	18.09
Glucose (mg/dL), Day 8	9.53	10.07	7.93	6.07	6.27	7.27	15.60	16.80
Glucose (mg/dL), Day 29	14.00	7.50	10.60	6.60	8.13	6.53	18.00	10.07
Glucose (mg/dL), Day 92	10.47	7.40	9.33	7.07	6.64*	37.80	17.46	15.20*

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 150432
Daily Dose (mg/kg)	0		60		180		750	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Urinalysis, Day 92								
Protein[d]								
Negative	4	13	4	12	8	11	3	8
1+ (trace)	9	2	9	3	6	2	7	1
2+ (0.3 g/L)	2	0	1	0	0	1	1	4
3+ (1.0 g/L)	0	0	1	0	0	0	1	1
4+ (≥ 3.0 g/L)	0	0	0	0	0	1	1	0
White blood cells[d]								
1+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	0
2+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Urine Chemistry, Day 92								
Sodium (mEq/L)	37.40	26.13	40.47	17.73	17.50	14.53	36.31	31.87
Potassium (mEq/L)	68.38	66.31	69.76	65.36	52.92	57.55	51.12	59.85
Urine Biomarkers								
KIM-1 (ng/mL), Day 8	0.3486	0.3582	0.2772	0.4455	0.2111	0.4237	2.6303**	2.6848**
KIM-1 (ng/mL), Day 29	0.3369	0.2709	0.1916	0.2830	0.1909	0.2423	0.8013	0.4543
KIM-1 (ng/mL), Day 92	0.1571	0.1301	0.0939	0.1707	0.1234	0.8072	1.1712	0.3628

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 150432
Daily Dose (mg/kg)	0		60		180		750	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Urine Biomarkers (continued)								
Clusterin (ng/mL), Day 8	118.5517	84.4676	114.9373	104.0708	89.9557	90.7678	608.6995**	508.9273**
Clusterin (ng/mL), Day 29	128.0776	103.5479	128.1771	92.4121	98.5059	77.9543	243.5841	176.7382
Clusterin (ng/mL), Day 92	97.0830	81.1439	81.6543	90.8347	72.1317	142.5031	199.6063	268.0536
Terminal Procedures, Day 92, Number Evaluated	10	10	10	10	9	10	8	10
Organ Weights (g, % [c])								
Kidney	2.8160	1.8863	16.5199	7.8673	27.0907**	15.7769*	36.2704**	23.6707**
Gross Pathology [d]								
Kidney								
Abnormal appearance	0	0	0	0	0	0	1	0
Discoloration, dark	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology [d]								
Kidney								
Degeneration/necrosis, tubular, chronic								
Minimal	0	0	5	1	4	1	0	4
Mild	0	0	1	0	4	2	6	6
Moderate	0	0	0	0	0	1	1	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0

Footnotes are on the last page of the table

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 150432
Daily Dose (mg/kg)	0		60		180		750	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Histopathology [d], Number Evaluated	10	10	10	10	9	10	8	10
Spleen								
Decreased cellularity; white pulp								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	7
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Postdose Evaluation (Recovery)								
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5
Hematology, Day 148								
Red blood cells (10^6/μL)	8.368	7.550	8.186	7.513	8.194	7.356	7.802	7.125
Serum Chemistry, Day 148								
Globulin (g/dL)	2.34	1.92	2.30	1.94	2.20	1.88	2.00**	2.10
Albumin/Globulin Ratio	1.66	2.56	1.64	2.60	1.74	2.80	1.98**	2.50
Triglycerides (mg/dL)	98.80	61.60	91.60	95.80	91.60	59.00	70.20	63.50

Footnotes are on the last page of the table

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity Daily Dose (mg/kg)	0		60		180		Amgen Study No. 150432 750	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Postdose Evaluation (Recovery, continued)								
Terminal Procedures, Day 148, Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	4
Organ Weights (g, % [c])								
Kidney	3.0972	2.0082	4.9787	2.2010	5.0885	7.9375	-0.1808	22.7467**
Histopathology [d]								
Kidney								
Degeneration/regeneration, tubular								
Mild	0	0	1	0	0	0	1	1
Dilation, tubular								
Minimal	0	0	0	0	3	2	5	3

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 150432
Daily Dose (mg/kg)	0		60		180		750	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Unscheduled Deaths [e]								
Number Evaluated	0	0	0	0	1	0	2	1
Histopathology [d]								
Kidney								
Degeneration/necrosis; chronic, tubular								
Mild					0		1	0
Marked					0		1	0
Spleen								
Decreased cellularity; white pulp								
Mild					0		1	0
Moderate					0		1	0

AMG 510 = sotorasib; - = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration; BQL = below quantification limit; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; NA = not applicable; STD_{10} = severely toxic dose in 10% of the animals. * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$ using Dunn's/Dunnett's test.

[a] An additional 5/sex/group were similarly treated with AMG 510 and used for toxicokinetic evaluations. In the toxicity groups, 10/sex/group were euthanized at the end of dosing, and 5/sex/group were euthanized at the end of the recovery period.

[b] At end of dosing period.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d] Incidence is presented.

[e] One male at 180 mg/kg and 2 males at 750 mg/kg had unscheduled necropsies during the dosing phase because of complications resulting from gavage errors. These animals had light microscopic changes that were consistent with gavage error. One female at 750 mg/kg was euthanized during the recovery period because of poor condition; a spontaneous unilateral nephroblastoma was observed by light microscopy.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity	Report Title: AMG 510: 28-Day Oral Toxicology Study in the Beagle Dog	Test Article: AMG 510
Species/Strain: Dog/Beagle	Duration of Dosing: 28 days, once daily	Amgen Study No. 150429
Initial Age: 6 months	Duration of Postdose: Not applicable	[redacted] Study No. [redacted]
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral Gavage	
	Vehicle/Formulation: 2% hydroxypropyl methylcellulose and 1% TWEEN® 80 in reverse osmosis deionized water	GLP Compliance: Yes
Special Features: None		
Highest Non-Severely Toxic Dose: ≥ 300 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg/day)	0		30		100		300	
Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Toxicokinetics: AUC_{last} (μg·hr/mL) Mean								
Day 1	BQL		1.94		5.76		13.1	
Day 27	BQL		4.75		12.3		15.8	
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	BQL		1.09		3.54		3.31	
Day 27	BQL		1.35		3.90		3.68	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeated-dose Toxicity							Amgen Study No. 150429	
Daily Dose (mg/kg)	0		30		100		300	
Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Clinical Observations [a]								
Salivation	0	0	0	0	0	0	0	1
Wet fur	0	0	0	0	0	0	0	1
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology, Day 29								
Red Blood Cell Count (10^6/μL)	5.793	6.227	5.860	6.133	5.667	5.380*	5.167	5.300*
Hemoglobin (g/dL)	12.87	14.00	12.97	13.20	12.80	12.00	11.43	12.10
Hematocrit (%)	40.03	43.40	41.07	42.00	40.83	38.67	36.97	39.17
Reticulocytes (10^9/L)	36.50	22.57	32.33	32.03	21.47	21.10	22.13	17.80
Mean Corpuscular Volume (fL[μm^3])	69.10	69.63	70.03	68.43	72.00*	71.97	71.53*	73.87*
Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (g/dL)	32.13	32.20	31.57	31.50	31.40	30.97	30.87	30.83
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeated-dose Toxicity							Amgen Study No. 150429	
Daily Dose (mg/kg)	0		30		100		300	
Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Serum Chemistry, Day 29								
Urea Nitrogen (mg/dL)	19.00	13.33	16.33*	16.33	16.33*	22.33*	21.00	22.67*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

AMG 510 = sotorasib; - = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration; BQL = below quantification limit; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male. * = $p < 0.05$ using Dunnett's test.

[a] Incidence is presented.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity	Report Title: AMG 510: A 3-Month BID Oral Toxicology Study in the Beagle Dog			Test Article: AMG 510		
Species/Strain: Dog/Beagle	Duration of Dosing: 91 days, BID			Amgen Study No. 150433		
Initial Age: 14 months	Duration of Postdose: Not applicable			[redacted] Study No. [redacted]		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage					
	Vehicle/Formulation: 2% HPMC 1% Tween 80 pH 2.4			GLP Compliance: Yes		
Special Features: Respiration Rate						
Highest Non-severly Toxic Dose Level: 1000 mg/kg/day						
Daily Dose (mg/kg, divided BID)	0		200		1000	
Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Toxicokinetics: AUC_{last} (μg·hr/mL)						
Day 1	BQL		10.5		18.6	
Day 43	BQL		9.56		10.5	
Day 90	BQL		12.7		14.1	
Toxicokinetics: C_{max} (μg/mL)						
Day 1	BQL		3.07		4.15	
Day 43	BQL		4.31		3.28	
Day 90	BQL		4.11		4.63	
Noteworthy Findings						
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 150433	
Daily Dose (mg/kg, divided BID)	0		200		1000	
Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Body Weight	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-
Respiration Rates	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations [a]						
Salivation	0	0	2	1	1	0
Oily fur	0	0	0	2	0	1
Wet fur	0	0	2	1	0	0
Material, Dry	0	0	0	0	0	1
Material, Liquid	0	0	0	0	0	1
Material, Mucoid	3	1	2	0	2	2
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 150433	
Daily Dose (mg/kg, divided BID)	0		200		1000	
Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Hematology						
Hemoglobin (g/dL)						
Day 59	17.37	15.03	14.37*	13.90	13.33**	12.43
Day 92	16.93	14.57	13.63*	12.43	13.07**	10.93
Red blood cell count ($x10^6$/L)						
Day 59	7.543	6.783	6.430*	5.987	5.817**	5.657
Day 92	7.217	6.443	5.917*	5.180	5.463**	4.640*
Hematocrit (%)						
Day 59	51.37	45.60	45.07	43.33	42.23*	39.67
Day 92	48.50	43.17	40.90	37.13	39.90*	33.53
Reticulocytes ($x10^9$/L)						
Day 59	46.57	22.70	26.53	15.13	17.00*	28.67
Day 92	27.97	22.73	19.77	16.83	14.50	46.37
Mean corpuscular volume (fl)						
Day 59	68.13	67.33	69.07	72.27*	72.67	70.10
Day 92	67.27	67.03	69.17	71.63*	73.03**	72.27*

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 150433	
Daily Dose (mg/kg, divided BID)	0		200		1000	
Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Hematology						
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL)						
Day 59	33.73	32.93	31.97**	32.03	31.50**	31.33*
Day 92	34.87	33.80	33.30*	33.40	32.77**	32.57
Coagulation	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry						
Total bilirubin (mg/dL)						
Day 59	0.083	0.060	0.130	0.240**	0.153	0.210**
Day 92	0.110	0.077	0.103	0.190**	0.137	0.213**
Alkaline phosphatase (U/L)						
Day 59	47.7	45.7	49.7	52.7	96.0	56.7
Day 92	43.3	43.3	50.0	64.0	107.0	144.7
Cholesterol (mg/dL)						
Day 59	142.3	155.7	240.0	233.3	237.7	235.3
Day 92	141.3	141.0	259.7	278.7	339.0*	343.3*

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 150433	
Daily Dose (mg/kg, divided BID)	0		200		1000	
Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Serum Chemistry						
Triglycerides (mg/dL)						
Day 59	36.7	38.0	43.3	50.7	38.3	45.0
Day 92	35.3	34.7	51.3*	60.3	59.7**	61.7*
Urea nitrogen (mg/dL)						
Day 59	16.0	17.0	18.7	21.3	19.3	21.0
Day 92	16.0	19.7	24.3*	31.7	22.0	22.0
Creatinine (mg/dL)						
Day 59	0.70	0.67	0.93*	0.87	0.80	0.80
Day 92	0.70	0.70	0.93	0.87	0.87	0.77
Urinalysis	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (g, % [b])						
Liver	241.3123	192.7490	21.3991	62.4365**	32.3092*	46.7069*
Pituitary gland	0.0570	0.0573	33.3333	51.7442	37.4269	12.2093
Thyroid gland	0.8333	0.6517	-27.7600	-16.8798	-41.4400	-18.9258

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 150433	
Daily Dose (mg/kg, divided BID)	0		200		1000	
Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Gross Pathology [a]						
Gallbladder						
Abnormal content	0	0	1	0	2	0
Thyroid gland						
Discoloration pale	0	0	0	0	0	1
Histopathology [a]						
Liver						
Hypertrophy, hepatocellular, centrilobular						
Minimal	0	0	3	1	2	2
Mild	0	0	0	2	1	1
Pituitary						
Hypertrophy, basophil; pars distalis						
Minimal	0	0	0	2	0	2
Mild	0	0	0	1	1	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D　反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 150433	
Daily Dose (mg/kg, divided BID)	0		200		1000	
Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Histopathology [a]						
Thyroid						
Hypertrophy, follicular cell						
Mild	0	0	2	2	1	1
Moderate	0	0	1	1	1	1
Depletion, colloid						
Moderate	0	0	2	3	1	2
Marked	0	0	1	0	2	1
Atrophy, follicular cell, with mononuclear cell infiltrate						
Marked	0	0	0	0	1	1
Electron Microscopy	By electron microscopy, hepatocytes of animals at 1000 mg/kg had moderate to marked amounts of glycogen, which expanded the cytoplasm and was distinct from other cytoplasmic structures and nuclei. Hepatocytes from control animals had similar morphology, but with less cytoplasmic glycogen.					

AMG 510 = sotorasib; - = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours); BID = twice a day; BQL = below quantification limit; C_{max} = maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice; HPMC = hydroxypropyl methylcellulose.
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ using Dunnett's test.

[a] Incidence is presented.

[b] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

表 8A　遺伝毒性試験：In vitro 試験

被験物質：sotorasib

Genotoxicity: In Vitro	Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay in 24-well Plates (Micro Ames) With AMG3365648#6	Amgen Study No.: 124824
Test for Induction of: Reverse mutations in bacterial cells	No. of Independent Assays: 1	[redacted] Study No.: [redacted]
Strains: TA1535, TA97a, TA98, TA100 and WP2 *uvr*A pKM101	No. of Replicate Cultures: 2 for AMG3365648#6 and positive control, 12 for negative control	
Metabolizing System: Aroclor 1254- induced rat liver S9	No. of Cells Analyzed/Culture: NA	GLP Compliance: No
Vehicle: Test Item: DMSO Positive Controls: Sterile water for NaAz, DMSO for 9AC, 2NF, 2AA, and NQO		
Treatment: Plate incorporation		Date of Treatment: not provided
Cytotoxic Effects: None	Genotoxic Effects: None	

Metabolic Activation	Test or Reference Item	Concentration (μg/well)	Revertant Colony Counts per Well (Mean)				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	WP2 *uvr*A pKM101
Without Activation	DMSO	0	2.4	7.1	1.0	5.9	11.5
	AMG 510	0.075	1.5	7.0	0.5	10.5	10.0
		0.25	0.5	8.0	0.5	10.5	7.5
		0.75	1.5	6.0	0.0	9.0	13.0
		2.5	1.5	9.0	2.0	6.5	13.5
		7.5	1.0	5.0	1.5	5.0	13.0
		25	3.0	4.5	0.5	7.0	11.0
		75	2.5	5.0	1.0	6.5	13.0
		250	1.0	8.5	0.0	6.0	15.0

Footnotes are on the last page of the table.

表 8A　遺伝毒性試験：In vitro 試験（続き）

被験物質：sotorasib

Genotoxicity: In Vitro							Amgen Study No.: 124824
Metabolic Activation	Test or Reference Item	Concentration (μg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean)				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	WP2 *uvr*A pKM101
Without Activation	2NF	0.2	31.5				
	NaAz	0.05		> 50	> 50		
	9AC	2.0				> 50	
	NQO	0.1					> 80
With Activation	DMSO	0	2.8	5.8	1.0	9.6	21.3
	AMG 510	0.075	3.5	7.5	1.0	12.0	17.5
		0.25	1.0	3.5	1.0	10.5	21.0
		0.75	2.0	8.0	2.0	12.0	20.5
		2.5	0.0	6.5	2.5	9.5	23.0
		7.5	2.5	8.5	2.0	8.5	20.5
		25	1.5	4.0	0.5	10.5	16.0
		75	4.5	8.5	1.5	11.0	16.5
		250	4.5	7.5	1.0	10.5	13.5
	2AA	0.1	> 50	> 50	15.5	> 50	
	2AA	2.0					> 80

AMG 510 = sotorasib; 2AA = 2-aminoanthracene; 2NF = 2-nitrofluorene; 9AC = 9-aminoacridine hemihydrate; DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; NaAz = sodium azide; NQO = 4-nitroquinoline N-oxide.

表 8B　遺伝毒性試験：In vitro試験

被験物質：sotorasib

Genotoxicity: In Vitro Test for Induction of micronuclei in human peripheral blood lymphocytes	Report Title: In vitro Micro HPBL Micronucleus Assay with AMG3365648#6	Amgen Study No.: 124825 [redacted] Study No.: [redacted]
Species/Strain: healty male human donor	No. of Assays: 1	
Metabolizing System: Aroclor 1254- induced rat liver S9	Number of Cultures per Timepoint: 1 per AMG 510 concentration and positive control, 2 for DMSO	
Cells Evaluated: HPBL cells	Method of Administration: Incubation	GLP Compliance: No
No. of Cells Analyzed/Concentration: CBPI = ~200; BN = 500	Positive Control: Nocodazole, colcemid, cyclophosphamide, mitomycin C	Negative Control: DMSO
Vehicle: Test Item: DMSO		Date of Dosing: not provided
Cytotoxic Effects (~ 50%): 241 µg/mL at 4 hours ± S9; 80.8 µg/mL at 24 hours - S9		Genotoxic Effects: Positive

Metabolic Activation/Time	Test or Reference Item [a]	Concentration µg/mL	CBPI	Cytotoxicity (%) [b]	MNBN cells/ Total BN Cells	% MNBN Cells/ Total BN Cells
-S9/4 hours	DMSO [c]	0	1.8	0	2.5	0.5
	AMG 510	167	1.5	33	5	1.0
		201	1.5	36	4	0.8
		241	1.3	56	6	1.2
		289	1.1	81	NE	NE
	NOC	0.30	1.6	28	9*	1.8
	COL	0.18	1.7	17	7	1.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 8B　遺伝毒性試験：In vitro試験（続き）

被験物質：sotorasib

Genotoxicity: In Vitro						Amgen Study No.: 124825
Metabolic Activation/Time	Test or Reference Item [a]	Concentration (μg/mL)	CBPI	Cytotoxicity (%) [b]	MnBN cells/ Total BN Cells	% MNBN Cells/ Total BN Cells
+S9/4 hours	DMSO [c]	-	1.75	0	1.5	0.3
	AMG 510	167	1.5	29	10**	2.0
		201	1.5	29	7*	1.4
		241	1.4	50	5	1.0
		289	1.3	65	NE	NE
	CP	15	1.3	60	14**	2.8
-S9/24 hours	DMSO [c]	0	1.8	0	2.5	0.5
	AMG 510	33.6	1.6	21	NE	NE
		67.3	1.5	31	11**	2.2
		80.8	1.4	49	20**	4.0
		96.9	1.4	44	16**	3.2
		116	1.2	71	NE	NE
	MMC	0.30	1.4	46	27**	5.4

AMG 510 = sotorasib; BN = binucleated; CBPI = cytokinesis-block proliferation index; COL = colcemid; CP = cyclophosphamide; DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; HPBL = human peripheral blood lymphocytes; MMC = mitomycin C; MNBN = micronucleated binuclear; NE = not evaluated; NOC = nocodazole.

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, otherwise $p > 0.05$ by Fisher's exact test with one-sided probabilities.

[a] Only concentrations evaluated are provided.

[b] Relative to the solvent control.

[c] Resutls provided are the mean of the values for the two cultures reported.

表 8C　遺伝毒性試験：In vitro 試験

被験物質：sotorasib

Genotoxicity: In Vitro	Report Title: AMG 510 Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	Amgen Study No.: 150436
Test for Induction of: Reverse mutations in bacterial cells	No. of Independent Assays: 1	[redacted] Study No.: [redacted]
Strains: TA1535, TA1537, TA98, TA100 and WP2 uvrA	No. of Replicate Cultures: 3	
Metabolizing System: Aroclor 1254- induced rat liver S9	No. of Cells Analyzed/Culture: NA	GLP Compliance:Yes
Vehicle: Test Item: DMSO Positive Controls: Sterile water for NaAz, DMSO for 9AC, 2NF, BaP, 2AA and NQO		
Treatment: Plate incorporation		Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects: None	Genotoxic Effects: None	

Metabolic Activation	Test or Reference Item	Concentration (μg/plate)	Revertant colony counts Mean ± SD				
			TA1535	TA1537	TA98	TA100	WP2 *uvr*A
Without Activation	DMSO	0	25 ± 4	14 ± 6	21 ± 8	98 ± 6	41 ± 8
	AMG 510	50	60 ± 9	19 ± 5	28 ± 4	125 ± 12	40 ± 5
		158	28 ± 3	20 ± 10	28 ± 7	109 ± 13	28 ± 3
		500	25 ± 5	21 ± 4	27 ± 7	104 ± 2	37 ± 3
		1581	14 ± 3	20 ± 9	31 ± 4	115 ± 9	32 ± 6
		5000[ppt]	30 ± 5	17 ± 3	20 ± 5	113 ± 6	36 ± 1
	NaAz	0.5	455 ± 10			479 ± 10	
	9AC	50		519 ± 132			
	2NF	1			256 ± 5		
	NQO	0.5					130 ± 16

Footnotes are on the last page of the table.

表 8C　遺伝毒性試験：In vitro 試験（続き）

被験物質：sotorasib

Genotoxicity: In Vitro							Amgen Study No.: 150436
Metabolic Activation	Test or Reference Item	Concentration (μg/plate)	Revertant colony counts Mean ± SD				
			TA1535	TA1537	TA98	TA100	WP2 *uvr*A
With Activation	DMSO	0	15 ± 1	12 ± 2	32 ± 7	131 ± 14	53 ± 9
	AMG 510	50	19 ± 5	16 ± 4	30 ± 3	114 ± 14	39 ± 3
		158	17 ± 2	12 ± 3	35 ± 6	144 ± 10	43 ± 4
		500	15 ± 1	18 ± 6	33 ± 11	130 ± 20	43 ± 9
		1581	13 ± 6	16 ± 6	38 ± 8	127 ± 17	37 ± 11
		5000[ppt]	16 ± 5	10 ± 5	28 ± 6	109 ± 3	44 ± 11
	2AA	5	433 ± 16				
	BaP	5		105 ± 6	408 ± 15	1124 ± 21	
	2AA	20					296 ± 16

AMG 510 = sotorasib; 2AA = 2-aminoanthracene; 2NF = 2-nitrofluorene; 9AC = 9-aminoacridine hemihydrates; BaP = Benzo[a]pyrene; DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; NaAz = sodium azide; NQO = 4-nitroquinoline N-oxide; ppt = precipitate; SD = standard deviation.

表 9　遺伝毒性試験：In vivo試験

被験物質：sotorasib

Genotoxicity: In Vivo	Report Title: AMG 510: Combined In Vivo Mammalian	Amgen Study No.: 150435
Test for Induction of: Micronuclei in peripheral blood immature erythrocytes	Erythrocyte Micronucleus Test and Alkaline Comet Assay in Rat	[redacted] Study No.: [redacted]
Species/Strains: Sprague Dawley Crl:CD(SD) female rats	Treatment Schedule: Once daily for 4 days[a].	
Age: 47 days old at dosing initiation	Sampling Time: 3 hours ± 30 minutes after last administration.	GLP Compliance: Yes
Cells Evaluated: Immature erythrocytes	Method of Administration: Oral gavage	
No. of Cells Analyzed/Animal: Target of 20000 RETs (minimum 4000 RETs for positive controls or with high toxicity)	Vehicle for Test Item: 30% (w/v) captisol, in ultra pure water	Negative Control: 30% (w/v) Captisol, pH 2.2 ± 0.1 in ultra pure water
Special Features: None	Vehicle for Positive Control (CP or EMS): ultra pure water	Date of Dosing: [redacted]-[redacted]-20[redacted]
Toxic/Cytotoxic Effects: Dryness and/or stained fur, reduced body weight gain. No cytotoxicity (reticulocytes)		Genotoxic Effects: None
Evidence of Exposure: AMG 510 systemic exposure was confirmed in animals dosed up to 2000 mg/kg through bioanalysis/toxicokinetics evaluations.		

Micronucleus Test

Test or Reference Article	Dose (mg/kg/day)	No. of Animals	% RETs (mean ± SD)	%MN-RETs (mean ± SD)
Negative Control	0	5	1.686 ± 0.451	0.116 ± 0.030
AMG 510	200	5	1.528 ± 0.465	0.114 ± 0.034
AMG 510	600	5	1.136 ± 0.263	0.144 ± 0.062
AMG 510	2000	5	1.342 ± 0.380	0.112 ± 0.035
CP/EMS	10/200	3	0.170 (b) ± 0.035	1.590 (d) ± 0.217

Footnotes are on the last page of the table.

表 9　遺伝毒性試験：In vivo試験（続き）

被験物質：sotorasib

Genotoxicity: In Vivo Test for Induction of: DNA damage in liver	Report Title: AMG 510: Combined In Vivo Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test and Alkaline Comet Assay in Rat	Amgen Study No.: 150435 [redacted] Study No.: [redacted]
Species/Strain: Sprague Dawley female rats	Treatment Schedule: Once daily for 2 days.	
Age: 53 days old at dosing initiation	Sampling Time: 3 hours ± 30 minutes after last administration.	GLP Compliance: Yes
Cells Evaluated: Liver suspension cells	Method of Administration: Oral gavage	
No. of Cells Analyzed/Animal: 150	Vehicle for Test Item: 30% (w/v) captisol in ultra pure water. Vehicle for Positive Control (EMS): ultra pure water	Negative Control: 30% (w/v) captisol, pH 2.2 ± 0.1 in ultra pure water
Special Features: None		Date of Dosing: [redacted]-[redacted]-20[redacted]
Toxic/Cytotoxic Effects: None	Genotoxic Effects: None	
Evidence of Exposure: AMG 510 systemic exposure was confirmed in animals dosed up to 2000 mg/kg through bioanalysis/toxicokinetics evaluations.		

Comet Assay

Test or Reference Item	Dose (mg/kg/day)	No. of Animals	% Tail DNA (mean ± SD)	% NDCN (mean ± SD)
Negative Control	0	5	0.100 ± 0.039	4.8 ± 1.7
AMG 510	200	5	0.128 ± 0.025	4.7 ± 0.3
AMG 510	600	5	0.102 ± 0.045	4.0 ± 1.2
AMG 510	2000[b]	5	0.074 ± 0.011	3.8 ± 1.8
EMS	200	3	13.373 (d) ± 1.709	6.2 ± 2.0

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration; C_{max} = maximum observed concentratioin; CP = cyclophosphamide monohydrate; EMS = ethyl methanesulfonate; GLP = Good Laboratory Practice; MN-RETs = micronucleated reticulocytes; NDCN = non-detectable cell nuclei (Hedgehog or ghost comets); RETs = reticulocytes (immature erythrocytes); SD = standard deviation.

Significantly different from control group value: (b): $P \leq 0.01$ (t-test), (d): $P \leq 0.05$ (Wilcoxon).

[a] For positive controls in the micronucleus test, CP was administered on days 1 and 2, and EMS on days 3 and 4.

[b] AMG 510 systemic exposures (up to AUC_{last} = 416 μg·hr/mL and C_{max} = 31.3 μg/mL at 2000 mg/kg) were confirmed during the dose range finding phase.

表 10　がん原性試験

被験物質：sotorasib

Per ICHS9, studies to assess the carcinogenicity of sotorasib were not conducted.

表 11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：sotorasib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. Time-mated Females per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP Status)
Rabbit/ New Zealand White [Hra:(NZW)SPF]	Oral (gavage) (2% HPMC, 1% Tween 80, pH 2.4 ± 0.1)	GD 7 through 19[a]	300 or 1000 once daily	4	Mortality: 1 at 300 mg/kg and 3 females at 1000 mg/kg because of body weight loss; 1 female at 1000 mg/kg because of an intubation error. ≥ 300 mg/kg: Decreased maternal body weights including body weight losses and decreased food consumption On GD 11, the mean C_{max} and AUC_{last} was 64.7 µg/mL and 264 µg·hr/mL at 300 mg/kg, respectively, and 80.7 µg/mL and 110 µg·hr/mL at 1000 mg/kg, respectively.	150808 (non-GLP)

AMG 510 = sotorasib; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (24 hours for 300 mg/kg, 2 hours for 1000 mg/kg [because of early euthanasia]); C_{max} = maximum observed concentration; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; HPMC = hydroxypropyl methylcellulose.

[a] On GD 11, 1000 mg/kg dose administration was terminated and the dose group was euthanized because of body weight loss.

表 12　生殖発生毒性試験 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：重要な試験

被験物質：sotorasib

Studies to assess the effects of sotorasib on fertility and embryonic development were not conducted.

表 13A　生殖発生毒性試験 胚・胎児発生に関する試験：重要な試験

被験物質：sotorasib

Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-fetal Development Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) Sprague Dawley Initial Age: 73 to 91 days on arrival Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] Special Features: None No Observed Effect Level: F_0 Females: 540 mg/kg F_1 Litters: 540 mg/kg	Report Title: AMG 510: Embryo-fetal Development Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat Duration of Dosing: GD 7 through GD 17, once daily Day of Mating: GD 0 Day of C-Section: GD 21 Method of Administration: Gavage Vehicle/Formulation: 20% Captisol, pH 2.15 to 2.24, in reverse osmosis deionized water		Test Article: AMG 510 Amgen Study No. 150434 [redacted] Study No. [redacted] GLP Compliance: Yes	
Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	60	180	540
Dams:	Toxicokinetics [a] GD 12				
	AUC_{last} (µg·hr/mL)	BQL	14.5	105	149
	C_{max} (µg/mL)	BQL	6.08	12.7	17.1
	No. Tested	20	20	20	20
	No. Pregnant	20	20	20	20
	No. Died or Euthanized	0	0	0	0
	No. Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 13A　生殖発生毒性試験 胚・胎児発生に関する試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 150434
Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	60	180	540
Dams:	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight GD 18 (g, % [b])	322.3	4.2	4.2	-3.3
	Food Consumption GD 7 to 18 (g/animal/day, % [b])	24.0	-2.6	5.5	-14.9**
	Mean No. Corpora Lutea	14.2	14.5	13.9	14.4
	Mean No. Implantations	12.1	13.2	12.2	13.5
	Mean % Preimplantation Loss	15.13	7.77	11.52	6.12

Footnotes are on the last page of the table.

表 13A　生殖発生毒性試験 胚・胎児発生に関する試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 150434
Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	60	180	540
Litters:	No. Evaluated	20	20	20	20
	Mean No. Live Fetuses	10.9	12.8	11.1	12.0
	Mean No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean No. Early Resorptions	1.1	0.5×	1.1	1.5
	Mean No. Late Resorptions	0.1	0.0	0.0	0.0
	Mean % Postimplantation Loss	10.96	3.20××	9.13	10.49
	Mean Male Fetal Body Weights (g)	6.082	6.064	6.273	6.099
	Mean Female Fetal Body Weights (g)	5.711	5.803	5.904	5.754
	Fetal Sex Ratios (% Live Male Fetuses/Litter)	47.39	46.41	52.76	50.06
	Fetal Abnormalities[c]				
	External	0	0	0	0
	Visceral	0	0	0	0
	Skeletal	0	0	0	0

AMG 510 = sotorasib; - = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration; BQL = below quantification limit (1.00 ng/mL); C_{max} = maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ using Anova & Dunnett; × $p \leq 0.05$, ×× $p \leq 0.01$ using Kruskal-Wallis & Dunn

[a] Satellite groups of 3 rats/group were used for toxicokinetic analysis

[b] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c] Reported as number of fetuses affected/number of litters affected (percentage of fetuses affected of total fetuses examined)

表 13B　生殖発生毒性試験 胚・胎児発生に関する試験：重要な試験

被験物質：sotorasib

Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-fetal Development Species/Strain: Rabbit/New Zealand White Initial Age: 5 to 7 Months Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] Special Features: None No Observed Adverse Effect Level: F_0 Females: Not Evaluated F_1 Litters: Not Evaluated		Report Title: AMG 510: Embryo-fetal Development Study in the New Zealand White Rabbit Duration of Dosing: Gestation days 7 through 19 Day of Mating: Gestation day 0 Day of C-Section: Gestation day 29 Method of Administration: Oral Gavage Vehicle/Formulation: 2% HPMC, 1% Tween 80, pH 2.4 ± 0.1		Amgen Study No. 150810 [redacted] Study No. [redacted] GLP Compliance: Yes	
Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	10	30	100
Does:	Toxicokinetics:				
	Gestation day 11 (Number of animals)	4	4	4	4
	AUC_{last} (µg·hr/mL)	BQL	3.56	16.4	84.4
	C_{max} (µg/mL)	BQL	1.81	8.21	24.4
	No. Mated	20	20	20	20
	No. Pregnant	20	19	19	19
	No. Died or Euthanized	0	0	0	1
	No. With Total Resorption of Litter	1	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Body Weight (g, % [a]) (gestation day 20)	3456.3	1.3	-1.5	-2.0
	Food Consumption (g/animal/day, % [a]) (gestation days 7 to 20)	112.37	1.77	2.56	-12.81

Footnotes are on the last page of the table.

表 13B　生殖発生毒性試験 胚・胎児発生に関する試験：重要な試験（続き）

被験物質：sotorasib

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 150810
Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)	10	30	100
Does:	Mean No. Corpora Lutea	11.1	10.2	10.0	10.5
(Continued)	Mean No. Implantations	10.6	9.3	9.4	10.2
	Mean % Preimplantation Loss	4.74	8.64	6.18	3.25
Litters:	No. Litters Evaluated	19	19	19	18
	Mean No. Live Fetuses	9.6	9.3	8.8	9.6
	Mean No. Early Resorptions	0.3	0.0	0.3	0.4
	Mean No. Late Resorptions	0.8	0.1	0.2	0.1
	Mean No. of Dead Fetuses	0.0	0.0	0.1	0.0
	Mean % Postimplantation Loss	9.33	0.38	5.65	5.94
	Mean Fetal Body Weight (g)				
	Male and Female	38.607	39.584	40.627	36.049
	Male	38.924	40.145	40.401	37.201
	Female	38.038	38.881	41.279	35.375
	Fetal Sex Ratios (% live males/litter)	48.96	46.62	55.80	48.53
	Fetal Anomalies				
	Gross External	-	-	-	-
	Visceral Anomalies	-	-	-	-
	Skeletal Anomalies	-	-	-	-
	Fetal Skeletal Ossification Sites				
	Metacarpals	4.98	4.95	4.94	4.83**

AMG 510 = sotorasib; - = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours); BQL = below quantification limit (1.00 ng/mL); C_{max} = maximum observed concentration; GLP = Good Laboratory Practice; HPMC = hydroxypropylmethylcellulose. ** $p < 0.01$ using Kruskal-Wallis & Dunn's Test.

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

表 14　生殖発生毒性試験 出生前及び出生後の発達並びに母体の機能に関する試験：重要な試験

被験物質：sotorasib

Studies to assess the effects of sotorasib on pre- and postnatal development, including maternal function were not conducted.

表 15　幼若動物を用いた試験

被験物質：sotorasib

Studies to assess the effects of sotorasib on juvenile animals were not conducted.

表 16　局所刺激性試験：In vivo 試験

被験物質：sotorasib

Local tolerance studies using sotorasib were not conducted. Local tolerance was assessed in the repeat-dose studies.

表 17A　その他の試験 作用機序試験

被験物質：sotorasib

Mechanistic Study (Single- and Repeat-dose Toxicity) Species/Strain: Rat/ Sprague Dawley Initial Age: 10 weeks Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Report Title: AMG 510: Exploratory 7-Day Oral Study in the Male Sprague Dawley Rat Duration of Dosing: Single, 3- or 7-daily doses Duration of Observation Period: 1 to 7 days Method of Administration: Oral gavage Vehicle/Formulation: 20% Captisol, pH 2.2 in Reverse Osmosis Deionized Water	Test Article: AMG 510 Amgen Study No. 153127 [redacted] Study No. [redacted] GLP Compliance: No
Special Features: plasma, urine, and liver/kidney tissue metabolite analysis, matrix assisted laser desorption/ionization (MALDI) on kidney tissues, RNA sequencing on kidney tissues (transcriptomics analysis), urine chemistry and urine biomarker evaluation Dose levels slected based on the 3-month study (150432): 60 and 750 mg/kg associated with no to minimal and minimal to marked renal tubular degeneration/necrosis, respectively.		

Phases 1 to 3 (groups 1 to 3): rats (n = 5/group/timepoint) were administered 0, 60, or 750 mg/kg daily for 1, 3, or 7 days and euthanized 24 hours after the last dose.

Dose (mg/kg)	Control			60			750		
Day of dosing	1	3	7	1	3	7	1	3	7
Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Toxicokinetics: AUC_{last} (μg·hr/mL)	BQL	BQL	BQL	13.3	17.2	18.9	217	139	266
Noteworthy Findings [a]									
Died or Euthanized	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (day 3) [b]
Body Weight (g)	323.6	329.8	352.6	321.4	331.3	346.2	328.3	312.6	286.5
(fold of control mean)				0.99	1.01	0.98	1.02	0.95	0.81
Clinical Observations		-			-		Clinical signs considered to be secondary to renal toxicity [c]		

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A　その他の試験 作用機序試験（続き）

被験物質：sotorasib

Mechanistic Study (Single- and Repeat-dose Toxicity)									Amgen Study No. 153127
Dose (mg/kg)		Control			60			750	
Day of dosing	1	3	7	1	3	7	1	3	7
Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Serum Chemistry [a]									
Blood urea nitrogen (mg/dL)	10.2	12.2	11.2	11.4	9.8	11.2	71.5	228.8	54.3
(fold of control mean)				1.12	0.80	1.00	7.01	18.75	4.85
Creatinine (mg/dL)	0.22	0.28	0.30	0.20	0.28	0.30	3.53	5.80	0.83
(fold of control mean)				0.91	1.00	1.00	16.05	20.71	2.77
Potassium (mEq/L)	4.58	4.76	4.78	4.64	4.97	4.72	5.30	7.69	4.17
(fold of control mean)				1.02	1.05	0.98	1.16	1.61	0.86
Chloride (mEq/L)	102.7	100.9	104.5	103.0	101.1	104.4	100.7	91.1	96.7
(fold of control mean)				1.00	1.00	1.00	0.98	0.90	0.93
Urine Chemistry [a]									
Fractional excretion of sodium (%)	0.113	0.218	0.159	0.057	0.125	0.138	3.890	20.207	0.200
(fold of control mean)				0.50	0.58	0.85	34.73	92.70	1.25
Fractional excretion of potassium (%)	8.754	9.766	11.267	7.478	10.673	10.355	217.329	209.601	28.963
(fold of control mean)				0.85	1.09	0.92	24.83	21.47	2.57
Glucose/creatinine ratio	0.1544	0.1682	0.1444	0.1520	0.1604	0.1457	29.3056	4.5113	0.7865
(fold of control mean)				0.98	0.95	1.01	189.07	26.85	5.43

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A　その他の試験 作用機序試験（続き）

被験物質：sotorasib

Mechanistic Study (Single- and Repeat-dose Toxicity)									Amgen Study No. 153127
Dose (mg/kg)		Control			60			750	
Day of dosing	1	3	7	1	3	7	1	3	7
Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Urine biomarkers [a]									
KIM-1/creatinine ratio (ng/mg creatinine)	0.4494	0.5450	0.2976	0.5560	0.4574	0.4536	7.1280	11.3584	12.9038
(fold of control mean)				1.24	0.84	1.52	15.86	20.84	43.36
Clusterin/creatinine ratio (ng/mg creatinine)	218	213	207	195	186	268	3881	6060	1720
(fold of control mean)				0.90	0.87	1.29	17.81	28.41	8.31
Terminal Procedures, No. Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5	4
Organ Weights [a]									
Kidney (g)	1.99	2.07	2.24	2.12	2.17	2.22	2.88	3.85	3.88
(% change from control)				6.34	5.14	-0.79	44.53	86.29	73.44
Relative to body weight	0.66	0.68	0.63	0.71	0.70	0.64	0.94	1.27	1.39
(% change from control)				7.34	2.57	1.02	43.71	87.96	120.05
Liver (g)	7.78	8.16	9.26	7.72	8.06	8.92	9.12	11.93	9.37
(% change from control)				-0.70	-1.25	-3.71	17.26	46.18	1.15
Relative to body weight	2.57	2.68	2.62	2.58	2.58	2.58	2.99	3.94	3.29
(% change from control)				0.23	-3.69	-1.81	16.19	47.17	25.43

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A　その他の試験 作用機序試験（続き）

被験物質：sotorasib

Mechanistic Study (Single- and Repeat-dose Toxicity)									Amgen Study No. 153127
Dose (mg/kg)	Control			60			750		
Day of dosing	1	3	7	1	3	7	1	3	7
Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Terminal Procedures, No.	5	5	5	5	5	5	5	5	4
Evaluated									
Gross Pathology [d]									
Kidney - Discoloration, pale	0	0	0	0	0	0	0	4	2
Stomach									
Focus, dark	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Dilatation	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Histopathology [d]									
Kidney - degeneration/necrosis/ tubular									
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Marked	0	0	0	0	0	0	5	5	1
Liver - Hypertrophy; hepatocellular Minimal									
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	5	0
Stomach - Degeneration/regeneration; mucosal, glandular									
Minimal	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	2 [e]	NE

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A　その他の試験 作用機序試験（続き）

被験物質：sotorasib

Mechanistic Study (Single- and Repeat-dose Toxicity)						Amgen Study No. 153127
Phase 4 (Groups 4 to 5): rats (n = 3/group/timepoint) were administered 0 or 750 mg/kg once and euthanized at 2, 4, or 8 hours postdose.						
Dose (mg/kg)		Control			750	
Hour postdose for necropsy	2	4	8	2	4	8
Number of Animals	3	3	3	3	3	3
Toxicokinetics:		NA		T_{max}: 2 hours C_{max}: 16.9 µg/mL AUC_{0-8}: 72.9 µg·hr/mL		
Noteworthy Findings						
Died or Euthanized	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-
Body Weight (g)	-	-	-	-	-	-
Microscopic Observations – No. evaluated [d]	3	3	3	3	3	3
Kidney - degeneration/necrosis/ tubular						
Minimal	0	0	0	1	0	0
Mild	0	0	0	0	3	3

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A　その他の試験 作用機序試験（続き）

被験物質：sotorasib

Mechanistic Study (Single- and Repeat-dose Toxicity)						Amgen Study No. 153127
Dose (mg/kg)	Control			750		
Hour postdose for necropsy	2	4	8	2	4	8
Number of Animals	3	3	3	3	3	3
Metabolite analysis – Noteworthy findings						
Plasma	Relative % drug related material (DRM) of AMG 510 ranged between 26% and 57%. M10 and M24 were the prominent (> 10% of total DRM) circulating metabolites. Other minor (1% to 10% of DRM) metabolites in plasma were M30 and M12.					
Urine	Relative % of AMG 510 ranged between 12% and 36% of DRM in urine. The prominent metabolites detected were M62, M30, M10, M20, and M21.					
Liver Tissue	Relative % of AMG 510 ranged between 1% and 35% in liver tissues. The prominent metabolites were M62, M10, M48, M12, M22, M24, and M56.					
Kidney Tissue	Relative percent of AMG 510 was ≤ 10% in kidney tissues. The prominent metabolites observed in kidney tissues were M62, M10, M61, and M20. Compared to relative percent of DRM in the kidney at 60 mg/kg, M10 was increased and M62 was decreased at 750 mg/kg.					
MALDI Analysis on Kidney Tissues						
Phases 1 to 3	Masses consistent with AMG 510 and M10 detected at 750 mg/kg, but not at 0 or 60 mg/kg. At 750 mg/kg, AMG 510 signal was present in all kidneys and an M10 signal was present in some kidneys. AMG 510 and M10 signals were patchy with a random pattern unrestricted to a particular region of the kidney. AMG 510 was detected at day 2 and the signal increased on days 4 and 8. M10 signal was greatest on day 8. Statistical evaluation identified several additional m/z values that were increased in the kidneys at 750 mg/kg.					

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A　その他の試験 作用機序試験（続き）

被験物質：sotorasib

Mechanistic Study (Single- and Repeat-dose Toxicity)						Amgen Study No. 153127
Dose (mg/kg)	Control			750		
Hour postdose for necropsy	2	4	8	2	4	8
Number of Animals	3	3	3	3	3	3
MALDI Analysis on Kidney Tissues						
Phase 4	Masses (m/z) consistent with AMG 510 and 4 AMG 510 metabolites (M10, M11, M18, and M20) detected at 750 mg/kg, but not in the kidneys of rats at 0 mg/kg (vehicle control). AMG 510 observed throughout the kidney from all rats at all timepoints with greatest distribution in the cortex and outer medulla. M10 and M20 were observed in kidneys from most rats at all timepoints. M10 and M20 restricted to the outer stripe of the outer medulla at 2 and 4 hours post dose, and distributed in a patchy and regionally unrestricted pattern at 8 hours post dose. M11 and M18 signals scattered in small foci throughout the tissue, with higher concentrations in the medulla in a few animals at 4 and 8 hours. After a single dose, AMG 510, M10, and M20 levels increased from 2 to 4 hours and decreased from 4 to 8 hours. The M10/AMG 510 and M20/AMG 510 ratios were greater than the M11/AMG 510 and M18/AMG 510 ratios and the greatest rations were observed at 4 hours post-dose. Statistical evaluation identified several additional m/z values that were increased in the kidneys from rats administered 750 mg/kg AMG 510. Several of the m/z values detected as increased did match plausible biological transformations of the parent mass.					

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A　その他の試験 作用機序試験（続き）

被験物質：sotorasib

Mechanistic Study (Single- and Repeat-dose Toxicity)						Amgen Study No. 153127
Dose (mg/kg)	Control			750		
Hour postdose for necropsy	2	4	8	2	4	8
Number of Animals	3	3	3	3	3	3
RNA Sequencing on Kidney Tissues	Gene expression was examined in the nine subgroups of rats in phases 1 to 3 (at 24 hours after single dose, 3 daily doses or 7 daily doses; at dose level of 0, 60, or 750 mg/kg). Based on principal component analysis, the transcription spectrum at 750 mg/kg was clearly distinguished from control and 60 mg/kg dose groups while the control and 60 mg/kg dose groups were not distinguishable. More than 3,300 genes were differentially expressed between the 750 mg/kg and control groups while ≤ 6 were differentially expressed between the 60 mg/kg and control groups. The majority (~68%) of the differentially expressed genes (DEGs) between the 750 mg/kg and control groups were shared between at least 2 phases and almost all the shared DEGs showed the same direction of change. The top pathways enriched in the DEGs in the 750 mg/kg group were oxidative phosphorylation, mitochondrial dysfunction, and inflammation-related pathways, which are consistent with degeneration/necrosis of the tubule epithelium at this dose level. The number of DEGs after 3 doses (4865) was the largest followed by after 1 dose (4032) whereas the number was the smallest after 7 doses (3346). No DEGs between the 60 mg/kg and control groups were shared between any 2 phases and no canonical pathways were overrepresented at 60 mg/kg in any phase. Biomarkers of kidney injury (KIM-1, Clusterin, NGAL, TIMP-2) were significantly increased in expression at 750 mg/kg in all phases but not at 60 mg/kg in any phase. The majority of mRNA encoding metabolic enzymes in some common detoxification pathways (mercapturic pathway, β-lyase enzymes and P450 enzymes) were decreased at 750 mg/kg but were unchanged at 60 mg/kg. Decreases in these mRNAs was attributed, in part, to degeneration/necrosis of the tubule epithelium; however, AMG 510-related changes to mRNA levels may have contributed.					

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A　その他の試験 作用機序試験（続き）

被験物質：sotorasib

Mechanistic Study (Single- and Repeat-dose Toxicity)	Amgen Study No. 153127

AMG 510 = sotorasib; - = No noteworthy findings; AUC_{0-8} = area under the concentration-time curve from time zero to 8 hours after dosing; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours); BQL = below quantification limit; Cmax = maximum observed concentration; DEG = differentially expressed genes; DRM = drug-related material; KIM-1 = kidney injury molecule-1; M = male; m/z = mass/charge ratio; MALDI = matrix assisted laser desorption/ionization; mRNA = messenger ribonucleic acid; NA = not applicable; NE = not examined; NGAL = neutrophil-gelatinase-associated lipocalin; TIMP-2 = tissue inhibitor of metalloproteinase-2; TK = toxicokinetic; Tmax = time of maximum observed concentration.

[a] Changes considered to be AMG 510-related are underlined.

[b] One animal at 750 mg/kg (animal No. 3015 assigned to phase 3) was euthanized on day 3 because of clinical signs of poor condition, including decreased activity and labored breathing. The poor clinical condition was attributed to AMG 510-related kidney toxicity. Changes in clinical chemistry parameters were similar to surviving animals and included markedly increased BUN, creatinine, and potassium, moderately increased glucose, and mildly decreased chloride. At necropsy, there was bilateral pale discoloration of the kidneys, which correlated microscopically with AMG 510-related marked tubular degeneration/necrosis primarily affecting the outer stripe of the outer medulla and was considered the cause of moribundity.

[c] Clinical observations included hunched posture, piloerection, soft feces, fur staining, irregular respiration rate, suspected dehydration, and cold to touch.

[d] Incidence is presented

[e] The stomach from 2 animals at 750 mg/kg on day 4 were examined because of gross observations.

表 17B　その他の試験：作用機序試験

被験物質：sotorasib

Study Type	Test Article	Method of Administration (Vehicle)/ concentration	Noteworthy Findings	Study Number (GLP Status)
In vitro enzyme induction in cultured beagle dog hepatocytes	AMG 510 M24 (AMG3368167)	In vitro dog hepatocytes cultured in a collagen-sandwich configuration Treated with supplemented MCM (once daily for 3 consecutive days) containing 0.1% v/v DMSO (solvent control) AMG 510: 2, 20, 60, or 200 μM M24: 1, 3, 10 or 30 μM Positive control enzyme inducers[a]	AMG 510 Cytotoxic effects: ≥ 20 μM, Complete hepatocyte loss at 200 μM. mRNA expression: up to 60 μM, concentration-dependent increases in CYP1A1: 4.42-, CYP2B11: 10.7-, CYP3A12: 3.79-, UGT1A6: 2.37-, UGT2B31: 5.65-fold from DMSO control value Little or no induction of CYP1A2 (< 2-fold change) Activity: Decreases in CYP1A1/2, CYP2B11, CYP3A12, UGT1A and UGT2B activity (< 2-fold change): up to 20 or 60 μM AMG 510, consistent with cytotoxicity M24 (AMG3368167) Cytotoxic effects: None mRNA expression: up to 30 μM, concentration-dependent increases in CYP1A1: 2.26-, CYP3A12: 2.91-fold from DMSO control value Little or no induction of CYP1A2, CYP2B11, UGT1A6 or UGT2B31 (< 2-fold change) Activity: Little or no induction of CYP1A1/2, CYP2B11, CYP3A12, UGT1A and UGT2B activity (< 2-fold change): up to 30 μM M24	153409 (non-GLP)

AMG 510 = sotorasib; DMSO = dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MCM = modified Eagle's medium, Dr. Chee's modification.

[a] Positive control enzyme inducers: 3-methylchloranthrene (1 μM), β-naphthoflavone (50 μM), phenobarbital (1000 μM), dexamethasone (50 μM), prenenolone 16α-carbonitrile (100 μM) and rifampin (20 μM).

表 17C　その他の試験：代謝物試験

被験物質：sotorasib代謝物

Species/Strain or Test Model	Method	Noteworthy Findings (Year of Study)	Study Number (GLP Status)
In Silico Mutagenicity Predictions of AMG3413829 (M18)	CASE Ultra, model GT1_BMUT – database-driven structure-activity relationship for toxicity prediction CASE Ultra GT_EXPERT - knowledge- and rules-based system for mutagenicity prediction	CASE Ultra, model GT1_BMUT statistical-based: Negative CASE Ultra, GT_EXPERT rules-based: Negative (20[redacted])	153305 (non-GLP)
In Silico Mutagenicity Predictions of AMG3375854 (M10)	CASE Ultra, model GT1_BMUT – database-driven structure-activity relationship for toxicity prediction CASE Ultra GT_EXPERT - knowledge- and rules-based system for mutagenicity prediction	CASE Ultra, model GT1_BMUT statistical-based: Negative CASE Ultra, GT_EXPERT rules-based: Negative (20[redacted])	153306 (non-GLP)

AMG 510 = sotorasib; GLP = Good Laboratory Practice.

表 17D　その他の試験：代謝物試験

被験物質：sotorasib代謝物

Study Type	Test Article	Method of Administration (Vehicle)/ concentration	Noteworthy Findings[c]	Study Number (GLP Status)
Bacterial Reverse Mutation (micro Ames) [a]	AMG3368167#2	In vitro (DMSO) up to 250 μg/well (24-well plates)	Genotoxic effects: None Cytotoxic effects: 250 μg/well ± S9 for TA100, TA1535, TA97a, and WP2 *uvrA* pKM101. Precipitate: None. Cnoc: None.	125020 (non-GLP)
Micro HPBL Micronucleus a	AMG3368167#4	In vitro (DMSO) up to 500 μg/mL	Genotoxic effects (induction of micronuclei): Positive at 289 μg/mL -S9 and at ≥ 201 μg/mL +S9 at 4 hours. Positive at ≥ 96.9 μg/mL -S9 at 24 hours. Cytotoxic effects: 201, 242, and 289 μg/mL at 4 hours; 80.8, 96.9, 116, and 140 μg/mL at 24 hours. Precipitate: at the beginning of treatment: ≥ 201 μg/mL -S9 at 4 and 24 hours and ≥ 347μg/mL +S9 at 4 hours. At the end of treatment: none.	125324 (non-GLP)

AMG 510 = sotorasib; DMSO = dimethylsulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; HPBL = human peripheral blood lymphocytes.

[a] Bacterial reverse mutation in 24 well plates (micro Ames) tests in *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA97a, TA98, TA100) and *Escherichia coli* (WP2 *uvr*A pKM101).

表 17E　その他の試験：不純物試験

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) Sprague Dawley Initial Age: 8 weeks Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] Special Features: None STD_{10}: > 200 mg/kg/day			Report Title: Mixture of AMG 510 and Impurities: A 28-Day Oral Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat Duration of Dosing: 28 days, once daily Duration of Postdose: None Method of Administration: Oral gavage Vehicle/Formulation: 2% Hydroxypropylmethylcellulose, 1% Tween 80, reverse osmosis deionized water		Test Article: AMG 510 Amgen Study No. 152458 [redacted] Study No. [redacted] GLP Compliance: Yes	
Daily Dose (mg/kg)	0		100		200	
Number of Animals [a]	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Toxicokinetics: AUC_{last} (µg·hr/mL)						
Day 1	BQL	BQL	7.05	9.22	21.3	21.6
Day 27	BQL	BQL	4.72	14.8	13.5	39.0
Toxicokinetics: C_{max} (µg/mL)						
Day 1	BQL	BQL	1.54	2.82	4.18	3.88
Day 27	BQL	BQL	1.08	2.51	2.53	6.93
Noteworthy Findings						
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g, % [b, c]), Day 28	422.7	279.4	-9.1	0.2	2.6	9.2*
Food Consumption	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 17E　その他の試験：不純物試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 152458	
Daily Dose (mg/kg)	0		100		200	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Noteworthy Findings						
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-
Hematology – Day 29						
Hemoglobin (g/dL)	13.90	14.30	13.48	13.73**	12.86**	13.50**
Red blood cell count ($x10^6/\mu L$)	7.121	7.425	6.971	7.171	6.725*	6.932**
Hematocrit (%)	42.77	41.91	41.61	41.24	40.78**	41.22
Reticulocytes ($x10^9/L$)	221.39	156.45	170.15	150.74	220.90	177.91
Mean corpuscular volume (fL)	60.10	56.46	59.70	57.57	60.76	59.45**
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL)	32.50	34.09	32.43	33.30**	31.52**	32.76**
Coagulation	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry – Day 29						
Glucose (mg/dL)	144.4	127.0	120.2*	138.3	118.9*	130.8
Urinalysis	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 17E　その他の試験：不純物試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity					Amgen Study No. 152458	
Daily Dose (mg/kg)	0		100		200	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Terminal Procedures, Day 29	10	10	10	10	10	10
Number Evaluated						
Organ Weights	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-

AMG 510 = sotorasib; - = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the time-concentration curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours); BQL = below quantification limit; C_{max} = maximum observed concentration; F = females; GLP = Good Laboratory Practice; M = males; STD_{10} = severely toxic dose in 10% of animals.
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ using Dunnett's test.

[a] An additional 4 animals/sex/group were similarly treated and used for toxicokinetic evaluations.

[b] At end of dosing period.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

表 17F　その他の試験：不純物試験

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity	Report Title: Mixture of AMG 510 and Impurities: A 28-Day Oral Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat			Test Article: AMG 510		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: 28 days			Amgen Study No. 153451		
Initial Age: 8 weeks	Duration of Postdose: None			CRO Study No. [redacted]		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage					
	Vehicle/Formulation: 2% HPMC, 1% Tween 80			GLP Compliance: Yes		
Special Features: None						
Severely Toxic Dose in 10% of the animals (STD_{10}): > 200 mg/kg						
Daily Dose (mg/kg)	0		100		200	
Number of Animals [a]	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Toxicokinetics: AUC_{last} (µg·h/mL)						
Day 1	BQL	BQL	5.32	4.36	12.8	9.60
Day 27	BQL	BQL	2.70	3.69	24.8	17.3
Toxicokinetics: C_{max} (µg/mL)						
Day 1	BQL	BQL	1.74	1.87	3.45	3.42
Day 27	BQL	BQL	0.592	1.89	2.92	5.98
Noteworthy Findings						
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0
Body Weight (% [b,c])	401.5 g	265.5 g	1.7	2.0	7.9	5.0
Food Consumption (% [b,c])	27.65 g	20.98 g	1.08	0.00	9.52**	22.48**
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 17F　その他の試験：不純物試験（続き）

被験物質：sotorasib

Repeat-dose Toxicity						Amgen Study No. 153451
Daily Dose (mg/kg)	0		100		200	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Hematology						
Red blood cells (10^6/μL)	7.536	7.457	7.423	7.114	7.183**	7.070*
Hemoglobin (g/dL)	15.04	14.82	14.89	14.38	14.60	14.25
Hematocrit (%)	43.54	42.23	43.74	40.81	43.29	41.44
Mean corpuscular volume (fL)	57.80	56.69	58.92	57.39	60.28**	58.63
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL)	34.59	35.04	34.06	35.26	33.76**	34.39*
Red cell distribution width (%)	14.30	14.10	13.67	13.47	13.37*	13.44
Coagulation	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-
Terminal Procedures, Number Evaluated	10	10	10	10	10	10
Organ Weights	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-

AMG 510 = sotorasib; - = no noteworthy findings; AUClast = area under the concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration (up to 24 hours); BQL = below quantification limit of; Cmax = maximum observed drug concentration;. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ using Dunn/Dunnett's test.

[a] An additional 4/sex/group were similarly treated with AMG 510 and used for toxicokinetic evaluations.

[b] At end of dosing period.

[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

表 17G　その他の試験：不純物試験

被験物質：sotorasib含有不純物

Study Type	Test Article	Method of Administration (Vehicle)/concentration	Noteworthy Findings[a]	Study Number (GLP Status)
Bacterial Reverse Mutation [b]	AMG3396902	In vitro (DMSO) up to 5000 μg/plate	Genotoxic effects: None. Cytotoxic effects: None. Precipitate: All strains at ≥ 500 μg/plate -S9 and ≥ 1581μg/plate +S9. Cnoc: 5000μg/plate in 1 out of 3 replicates TA1535 and TA97a -S9 and TA1535 +S9.	153049 (GLP)
Bacterial Reverse Mutation [b]	AMG3414168	In vitro (DMSO) up to 5000 μg/plate	Genotoxic effects: None. Cytotoxic effects: None Precipitate: All strains at ≥1581 μg/plate -S9 and 5000 μg/plate +S9. Cnoc: None.	153050 (GLP)
Bacterial Reverse Mutation [b]	AMG3412607	In vitro (DMSO) up to 5000 μg/plate	Genotoxic effects: None. Cytotoxic effects: None. Precipitate: None. Cnoc: 1 out of 3 replicate of DMSO for TA98 - S9.	153051 (GLP)
Bacterial Reverse Mutation [b]	AMG3368167	In vitro (DMSO) up to 5000 μg/plate	Genotoxic effects: None; Cytotoxic effects: 5000μg/plate in all strains (except WP2 *uvrA*), and ≥1581μg/plate TA97a -S9. All strains(except TA1535 and WP2 *uvrA)* at 5000 μg/plate +S9. Precipitate: 5000 μg/plate TA98 -S9, and in 1 out of 3 replicates TA1535, TA97a, WP2 *uvrA* at 5000μg/plate -S9 and TA98 at 5000 μg/plate +S9. Cnoc: None.	153052 (GLP)

Footnotes are on the last page of the table.

表 17G　その他の試験：不純物試験（続き）

被験物質：sotorasib含有不純物

Study Type	Test Article	Method of Administration (Vehicle)/concentration	Noteworthy Findings[a]	Study Number (GLP Status)
Bacterial Reverse Mutation in 24-Well Plates (Micro Ames) [c]	AMG3379613	In vitro (DMSO) up to 250 µg/well	Genotoxic effects: None Cytotoxic effects: None. Precipitate: All strains at 250µg/well with all strains. Cnoc: None.	125621 (GLP)
Bacterial Reverse Mutation [b]	AMG3379613	In vitro (DMSO) up to 5000 µg/plate	Genotoxic effects [d]: Increases in revertant colony numbers were observed with TA100 at 5000 µg/plate -S9 and TA1535 starting at ≥1581µg/plate ±S9. Cytotoxic effects: 5000 µg/plate TA97a -S9. Precipitate: All strains at 5000 µg/plate ±S9. Cnoc: A single replicate of TA98 (-S9) treated with DMSO.	153053 (GLP)
Bacterial Reverse Mutation in 24-Well Plates (Micro Ames) [c]	AMG3379613	In vitro (DMSO) up to 250 µg/well	Genotoxic effects [e]: None for AMG3379613. The lot with 3-chloropropionic acid was positive, indicating that 3-chloropropionic acid is the mutagen. Cytotoxic effects: None. Precipitate: All strains at 250µg/well ± S9 except for WP2*uvrA* pKM101 + S9. Cnoc: None.	153494 (GLP)
Bacterial Reverse Mutation [b]	AMG3379620	In vitro (DMSO) up to 5000 µg/plate	Genotoxic effects: None. Cytotoxic effects: 1581 µg/plate TA97a -S9. Precipitate: All strains at ≥1581 µg/plate ±S9. Cnoc: 1 out of 3 replicates of DMSO for TA98 -S9.	153054 (GLP)

Footnotes are on the last page of the table.

表 17G　その他の試験：不純物試験（続き）

被験物質：sotorasib含有不純物

Study Type	Test Article	Method of Administration (Vehicle)/concentration	Noteworthy Findings[c]	Study Number (GLP Status)
Bacterial Reverse Mutation in 24-Well Plates (Micro Ames) [c]	AMG3422551	In vitro (DMSO) up to 250 µg/well	Genotoxic effects: None. Cytotoxic effects: None. Precipitate: All strains at 75 and 250 µg/well ±S9. Cnoc: None.	154030 (GLP)
Bacterial Reverse Mutation in 24-Well Plates (Micro Ames) [c]	AMG3422536	In vitro (DMSO) up to 250 µg/well	Genotoxic effects: None. Cytotoxic effects: 250 µg/well WP2 *uvr*A pKM101 -S9 , and TA97a +S9. Precipitate: All strains at 75 and 250 µg/plate ±S9. Cnoc: None.	154031 (GLP)
Bacterial Reverse Mutation in 24-Well Plates (Micro Ames) [c]	AMG3422547	In vitro (DMSO) up to 250 µg/well	Genotoxic effects: None. Cytotoxic effects: None. Precipitate: None. Cnoc: None.	154032 (GLP)

AMG 510 = sotorasib; CAS = Chemical Abstracts Service registry number;), Cnoc= contamination did not obscure count; DMSO = Dimethyl sulfoxide; DMSO/water 90:10 Dimethyl sulfoxide/water (90:10, V/V); GLP = Good Laboratory Practice.

Number of independent assays: 1; Number of replicate cultures: 3; Metabolizing system: Aroclor 1254-induced rat liver S9 fraction. Positive controls for Bacterial reverse mutation tests were: 2-aminoanthracene (1 µg/plate for TA97a +S9, 5 µg/plate for TA1535 +S9, 20 µg/plate for WP2*uvr*A +S9); 2-nitrofluorene (1 µg/plate for TA98 -S9); 9-aminoacridine hemihydrates (50 µg/plate for TA97a -S9); benzo(a)pyrene (5 µg/plate for TA98 and 100 +S9); sodium azide (0.5 µg/plate for TA1535 and TA100 -S9); 4-nitroquinoline N-oxide (0.5 µg/plate for WP2*uvr*A -S9). Positive controls for Micro Ames tests were: 2-aminoanthracene (0.1 µg/well for TA98, TA100, TA1535, TA97a +S9, 0.2 µg/well for TA97a +S9 (for studies 9603041, 9603042 and 9603043), 2.0 µg/well for WP2*uvr*A pKM101 +S9); 2-nitrofluorene (0.2 µg/well for TA98 -S9); 9-aminoacridine hemihydrates (2.0 µg/well for TA97a -S9); sodium azide (0.05 µg/well for TA1535 and TA100 -S9); 4-nitroquinoline N-oxide (0.1 µg/well for WP2*uvr*A pKM101 -S9).

[a] Both positive and negative controls met the acceptance criteria for all of the studies.

[b] Bacterial reverse mutation tests in *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA97a, TA98, TA100) and *Escherichia coli* (WP2*uvr*A).

[c] Bacterial reverse mutation in 24 well plates (Micro Ames) tests in *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA97a, TA98, TA100) and *Escherichia coli* (WP2*uvr*A pKM101).

[d] The initial results met the criteria for a positive response to mutagenicity (using lot [redacted], with 3-chloropropionic acid); however, the follow-up study (Study 153494, using lot [redacted] without 3-chloropropionic acid) determined the positive response was because of a mutagenic contaminant, 3-chloropropionic acid, and AMG3379613 itself did not cause a mutagenic response.

[e] The lot no. [redacted] that did not contain 3-chloropropionic acid (assay detection limit: < 9.8 ppm) did not show positive response to mutagenicity. In contrast, Lot No. [redacted] that contained 3-chloropropionic acid at 3577 ppm and also used in Study 153053 showed positive response; therefore, it was concluded that the positive response was due to a mutagenic contaminant, 3-chloropropionic acid, and AMG3379613 itself did not cause a mutagenic response.

表 17H　その他の試験

被験物質：sotorasib

Species/Strain or Test Model	Method of Administration	Concentration (μg/mL)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Mouse/ BALB/c 3T3 Fibroblasts In vitro phototoxicity	In vitro	0.032, 0.100, 0.316, 1.00, 3.16, 10.0, 31.6, 100 (in DMSO/DPBS)	Not applicable	No phototoxic potential	124666 (non-GLP)

AMG 510 = sotorasib; DMSO = dimethylsulfoxide; DPBS = Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with calcium and magnesium ions; GLP = Good Laboratory Practice.