レットヴィモカプセル 40mg
レットヴィモカプセル 80mg

2.4　非臨床試験の概括評価

日本イーライリリー株式会社

目次

2.4　非臨床試験の概括評価 2
2.4.1　非臨床試験計画概略 2
2.4.2　薬理試験の要約 3
2.4.3　薬物動態試験の要約 3
2.4.4　毒性試験の要約 3
2.4.5　総括及び結論 4
2.4.5.1　心血管系への影響 4
2.4.5.2　瀕死状態及び死亡発現について 4
2.4.5.3　造血系（ラット及びミニブタ） 4
2.4.5.4　リンパ系組織（ラット及びミニブタ） 5
2.4.5.5　消化管（ラット及びミニブタ） 5
2.4.5.6　膵臓（ラット及びミニブタ） 6
2.4.5.7　生殖系（ラット及びミニブタ） 6
2.4.5.8　骨端成長板（ラット及びミニブタ） 8
2.4.5.9　肝臓（ラットのみ） 9
2.4.5.10　組織鉱質沈着（ラットのみ） 9
2.4.5.11　切歯（ラットのみ） 9
2.4.5.12　ブルンナー腺（ラットのみ） 10
2.4.5.13　肺（ラットのみ） 10
2.4.5.14　遺伝毒性 10
2.4.5.15　胚・胎児発生 11
2.4.5.16　幼若動物における毒性 11
2.4.5.17　結論 12
2.4.6　参考文献 15

略語一覧

略語	内容又は日本語名称
ALP	アルカリホスファターゼ（alkaline phosphatase）
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase）
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（aspartate aminotransferase）
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve）
AUC_{0-24}	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours）
BID	1 日 2 回（*bis in die*; twice a day）
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum plasma concentration）
FDA	米国食品医薬品局（United States Food and Drug Administration）
FGF	線維芽細胞増殖因子（fibroblast growth factor）
FGFR	線維芽細胞増殖因子受容体（fibroblast growth factor receptors）
FLT4	Fms 様チロシンキナーゼ 4（fms-like tyrosine kinase 4）; VEGFR3（血管内皮増殖因子受容体 3、vascular endothelial growth factor receptor 3）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
hERG	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（human ether-à-go-go related gene）
HNSTD	重篤な毒性が発現しない最大投与量（highest non-severely toxic dose）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation）
ILC3	3 型自然リンパ球（Group 3 innate lymphoid cells）
JAK-STAT	ヤヌスキナーゼ-STAT
LOXO-292	セルペルカチニブ（LY3527723 とも記載）
MAPK	MAP キナーゼ
NOAEL	無毒性量（no-observed-adverse-effect level）
OECD	経済協力開発機構（Organisation for Economic Co-operation and Development）
PI3K	ホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ
PK	薬物動態（pharmacokinetic）
PKC	プロテインキナーゼ C
PTC	甲状腺乳頭癌（papillary thyroid cancer）
QTc	心拍数で補正した QT（heart rate corrected QT）
RET	rearranged during transfection；トランスフェクション中の再構成（癌原遺伝子）、受容体チロシンキナーゼの一種
RTK	受容体チロシンキナーゼ（receptor tyrosine kinase）
STD 10	10%の動物に重篤な毒性が発現する投与量（severely toxic dose in 10% of animals）
TK	トキシコキネティクス（toxicokinetic）
VEGF	血管内皮増殖因子（vascular endothelial growth factor）

2.4　非臨床試験の概括評価

RET（rearranged during transfection）は腎臓及び腸管神経系の正常な発達、並びに成人の神経組織、神経内分泌組織、造血組織及び雄性生殖組織などの複数種の組織の維持に重要な役割を果たす受容体チロシンキナーゼ（receptor tyrosine kinase：RTK）であり（Mulligan 2014）、セルペルカチニブ（LY3527723、LOXO-292 とも記載）は、RET RTK を選択的かつ強力に阻害する低分子薬である。RET をコードする RET 遺伝子の変化はヒトにおける一部のがんの発症に関与している、すなわち、腫瘍形成のドライバー遺伝子として機能していることが明らかになっている。RET の発がん性は主に以下の 2 つのメカニズムにより RET が活性化されることによる：（1）染色体再構成により、RET キナーゼドメインとパートナータンパク質の二量体化ドメイン［CCDC6（PTC1）、KIF5B、NCOA4（PTC3）など］とが融合して発がん性ハイブリッドタンパク質が産生され、その結果、リガンドに依存せず恒常的に RET が活性化した状態になる（RET 遺伝子融合）、（2）点突然変異により RET が直接的又は間接的に活性化される（RET 遺伝子変異）。RET が恒常的に活性化することにより下流のシグナル伝達経路（MAPK、PI3K、JAK-STAT、PKC 等）も恒常的に活性化し、RET 遺伝子異常（融合又は変異）を有する癌細胞の過剰増殖等が起こる。セルペルカチニブは活性化された RET（融合及び変異の双方）に対し阻害活性を示すことで癌細胞の増殖を阻害する。

セルペルカチニブの非臨床試験は、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに準拠し、薬理試験、薬物動態試験並びに毒性試験プログラムにより本薬の非臨床での有効性、体内動態及び安全性を評価した。なお、幼若動物を用いた毒性試験を除き、本申請にあたり新たな試験は実施しておらず、初回申請（レットヴィモカプセル非小細胞肺癌 CTD 参照）時に評価済みである。

2.4.1　非臨床試験計画概略

非臨床試験で使用したセルペルカチニブは遊離塩基であり、臨床試験においても使用されている。

セルペルカチニブの作用機序及びその抗腫瘍効果を明らかにするために、in vitro 及び in vivo 試験を実施した。In vitro 試験では野生型 RET 並びに変異型 RET に対する阻害作用、RET 融合タンパク質を発現する細胞における RET 阻害作用について評価した。また、RET 遺伝子変異あるいは融合遺伝子を有する癌細胞株への選択性について評価した。In vivo 試験では、RET 融合遺伝子を導入した細胞を移植したマウスモデルにおいて腫瘍内 RET リン酸化の阻害作用を評価したほか、RET 遺伝子異常（融合又は変異）を有するヒト腫瘍の担癌モデルマウスを用いて腫瘍細胞の阻害作用を評価した。また、RET 融合遺伝子陽性の患者由来腫瘍をマウスの脳内に直接移植した脳腫瘍モデルにおいて抗腫瘍効果を評価した。

安全性薬理試験及び毒性試験に用いる動物種は、吸収及び in vitro での代謝プロファイルを考慮し、ラット及びミニブタを選択した。投与頻度は 1 日 1 回とした。ラットでは雌雄に同じ用量を投与時の雄の曝露量が雌より高かったことから、ラットの毒性試験では雌に雄より高い用量を投与した。

セルペルカチニブの安全性薬理評価として、in vitro における心血管系に関する試験（GLP 適用の hERG アッセイを含む）、ミニブタを用いた心血管系試験及びラットを用いた呼吸系試験並び

に反復投与毒性試験の中での中枢神経系（ラット 28 日間試験）及び心血管系（ミニブタ 28 日間及び 91 日間試験）の評価を行った。

主要な毒性試験は、米国食品医薬品局（US Food and Drug Administration：FDA）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice：GLP）に従って実施され、経済協力開発機構（Organization for Economic Co-operation and Development：OECD）及び日本の基準にも合致していた。試験デザインは、医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation：ICH）ガイドラインの原則に基づくものである。

セルペルカチニブの主要な反復投与毒性試験として、ラット及びミニブタの 28 日間及び 91 日間試験を実施した。遺伝毒性試験（細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験、ラットを用いる小核試験）、雄ラット受胎能に関する試験、雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット胚・胎児発生に関する試験（用量設定試験、GLP 非適用）並びに光毒性試験も実施した。ラットを用いる小核用量設定試験を除くすべての毒性試験において、トキシコキネティクス（toxicokinetic：TK）を評価した。本申請で予定される適応症は難治性の進行がんであることから、ICH S9 を考慮し、がん原性試験は不要と判断した。ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験において顕著な胚・胎児毒性が見られたことから、更なる胚・胎児発生に関する試験、及び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不要と判断した。反復投与毒性試験はいずれも若齢動物を用いており、ラット及びミニブタの 28 日間試験は、それぞれ 6～7 週齢及び 3～4 ヵ月齢（ヒトのおおよそ 12～16 歳に相当）、91 日間試験は、ラットは 10～11 週齢、ミニブタは 5～7 ヵ月齢で投与開始しており、これらの試験から、12 歳以上の小児～青年期の患者への適用を想定した場合においてもサポートする非臨床安全性情報は得られているものと考える（Kim et al. 2017）。さらに、幼若動物を用いた毒性試験を実施した。この試験はラットに 21 日齢から最長で 70 日齢までセルペルカチニブを投与した試験であり、このラットにおける投与期間はヒトのおおよそ 2～12 歳に相当する期間を含むことから、12 歳未満の小児へのセルペルカチニブの使用をサポートするものと考える。

なお、[redacted]への投与を考慮し、[redacted]及び[redacted]を用いた[redacted]試験の実施が計画されており（20[redacted] 年開始予定）、これまでに[redacted]試験（[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び [redacted] のみの評価）及びマウス 1 ヵ月間投与毒性試験が実施された。これらの試験は本申請資料中には含めなかった。

すべての経口投与毒性試験において、セルペルカチニブ投与液の媒体には 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム及び 0.02%ドデシル硫酸ナトリウムの水溶液を用いた。

2.4.2　薬理試験の要約

薬理試験の概要文のまとめ（第 2.6.2.1 項）参照。

2.4.3　薬物動態試験の要約

本申請にあたり新たに実施していない。

2.4.4　毒性試験の要約

毒性試験の概要文のまとめ（第 2.6.6.1 項）参照。

2.4.5　総括及び結論

セルペルカチニブ投与により生じた安全性薬理及び毒性に関する考察を以下の項に示す。

2.4.5.1　心血管系への影響

安全性薬理試験において、セルペルカチニブはヒトの血漿中濃度の 4 倍の濃度で hERG 電流を 50%阻害した。臨床では QTc 延長及び高血圧が報告されているが（CTD 第 2.7.4 項）、同様の心血管系に対する影響はミニブタの単回投与あるいは 28 日間投与試験では見られなかった。この理由としてミニブタではセルペルカチニブに対する感受性が特に高かったため、低い曝露量でしか試験を実施できなかったためと考えられる。なお、心血管系への影響は、RET 阻害活性を示すマルチキナーゼ阻害剤［スニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）、レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）］の非臨床試験及び臨床試験で報告されている。

2.4.5.2　瀕死状態及び死亡発現について

ラット及びミニブタのいずれにおいても、瀕死状態及び死亡については急峻な用量反応曲線が認められた。また、ミニブタでは、ラットで瀕死状態が生じた曝露量と比べ約 1/6[1]の曝露量で瀕死状態が生じており、ミニブタはセルペルカチニブに対する感受性がより高いと考えられた。ミニブタに 15 mg/kg の用量（91 日間投与試験）を反復投与することにより瀕死状態となり、この時の曝露量は瀕死状態誘発の閾値を上回ったものと考えられた。一方、12 mg/kg の用量（28 日間投与試験）では瀕死状態は生じなかった。

2.4.5.3　造血系（ラット及びミニブタ）

骨髄細胞数減少は両動物種の病理組織学的検査で観察され、おおむね血液学的検査での変化を伴っていた。骨髄細胞数減少の変化は、ラットでは血液学的検査及び病理組織学的検査を実施したすべての反復投与毒性試験で、また、ミニブタでは 14 日間投与試験で認められた。さらに、ラット小核用量設定試験（2000 mg/kg までの用量の単回投与）における病理組織学的検査及び細胞学的検査において骨髄毒性（造血細胞減少あるいは壊死）が見られた。反復投与毒性試験における造血系（赤血球系及び骨髄球系細胞）の変化は、高用量でのみ毒性と判断した。骨髄の変化の重症度は用量の減量により明らかに低下した。また、休薬により回復することがラットで確認された。ラット及びミニブタともに、投与期間の延長（最長 13 週間）に伴う変化の進行は示されなかった。

RET は骨髄球系細胞にも発現する（Nakayama et al. 1999）。しかし、小核試験（300 mg/kg 以上）及びラット 14 日間投与毒性試験（高用量は雄：100 mg/kg、雌：180 mg/kg）における C_{max} はそれぞれ 34 μg/mL（65 μM）以上及び 18 μg/mL（35 μM）であり、これらの用量における骨髄毒性は、FLT4（VEGFR3）及び Aurora B に対するセルペルカチニブの活性［セルペルカチニブの

[1] ラット 28 日間投与試験における高用量群（Day 8 に 2 例、Day 17 に 1 例を瀕死屠殺）の $AUC_{0\text{-}24}$（Day 1）は 213000（雄）～289000（雌）ng h/mL。ミニブタ 14 日間投与試験における 65 mg/kg 群（Day 7 に全例を瀕死屠殺）の $AUC_{0\text{-}24}$（Day 1）は 45200 ng·h/mL。

FLT4（VEGFR3）及び Aurora B に対する IC_{50} はそれぞれ 11.9 及び 78.8 nM：第 2.6.2.3.1.1 項］に起因した可能性もある。これらの非 RET キナーゼの阻害と骨髄毒性との関連性が報告されている（Wilkinson et al. 2007; Lee and Kim 2014; Fabbro 2015）。なお、マルチキナーゼ阻害剤であるレンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）及びスニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）において骨髄は標的組織であることが報告されている。

2.4.5.4　リンパ系組織（ラット及びミニブタ）

ラットではリンパ系組織の軽度の変化が胸腺のみに認められた。14 日間及び 28 日間投与試験では胸腺重量が減少し、14 日間試験の高用量の雄にのみ病理組織学的変化（胸腺萎縮）も観察された。RET は成熟ラットの胸腺に発現するとされるが（Tahira et al. 1988; Tsuzuki et al. 1995）、セルペルカチニブ投与によりラットで見られた胸腺の変化がセルペルカチニブの直接的な作用であるか又はストレスによる二次的変化であるかは不明である。ラット 28 日間投与試験における胸腺重量の減少は、回復期間終了時には認められず、回復性が示された。ラット 91 日間投与試験において、リンパ系組織の変化は認められなかった。

ミニブタの 14 日間投与試験において、リンパ球の低細胞性が 25 mg/kg 以上の群の瀕死屠殺例で複数のリンパ系組織に観察された。これらの動物は衰弱し瀕死状態にあったことから、これが少なくとも部分的にはリンパ系組織の変化に寄与したと考えられる。28 日間投与試験では 5 mg/kg 以上の用量でリンパ節のリンパ球低細胞性が軽度に見られたが、血液学的検査では関連するリンパ球数の変化は認められなかった。回復期間終了時にはリンパ球低細胞性は見られず、回復性が示唆された。ラットと同様に、91 日間投与試験ではリンパ系組織の変化は認められなかった。

RET シグナル伝達は、リンパ系器官であるパイエル板の形成に関与することが示されているが（Veiga-Fernandes et al. 2007）、成人のリンパ系組織における RET の機能的役割は十分には検討されていない。血液及びリンパ系組織におけるヒト T 及び B リンパ球に RET の発現は認められなかったとの報告がある（Gattei et al. 1997）。なお、リンパ系器官は、レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、スニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）及びカボザンチニブ（FDA, NDA 208692 cabozantinib 2015）の標的として特定されている。

2.4.5.5　消化管（ラット及びミニブタ）

ラット及びミニブタともに、舌に扁平上皮細胞の萎縮を主徴とする軽度かつ可逆的な変化が認められた。この所見は、ラットでは 28 日間投与試験のみで、ミニブタでは 28 日間及び 91 日間投与試験において認められた（14 日間試験では舌の病理組織学的検査は実施せず）。

ミニブタでは、舌に加え、食道から大腸までのすべての消化管に所見が見られた。前胃の変化はミニブタのすべての反復投与毒性試験で見られた。消化管における所見は舌と同様、上皮又は粘膜の萎縮を主徴とし、より重症度が高い場合には壊死、びらん、潰瘍及び好中球性炎症が観察され、91 日間試験の 15 mg/kg 群で生じた瀕死状態の主な要因であったと考えられた。14 日間試験の瀕死屠殺例では、潰瘍形成部位の細菌及び修復性変化（びらん／潰瘍周囲の上皮における分裂像の増加）も認められた。28 日間試験の高用量（12 mg/kg）における胃の所見は軽度であった

ことから毒性変化ではないと考えられ、休薬により回復した。91 日間試験における食道及び胃における変化は毒性と考えられたが、休薬により回復傾向が見られた。

抗RET活性を有するマルチキナーゼ阻害剤を投与したイヌ及びサルにおいて、消化管病変（びらん、萎縮、炎症等）が報告されている［レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、カボザンチニブ（FDA, NDA 203756 cabozantinib 2012）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）及びスニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）］。最近のマウスを用いた研究では、成熟げっ歯類の消化管粘膜の様々な細胞で RET が発現し（Ibiza et al. 2016; Perea et al. 2017）、特に消化管の自然免疫細胞に高レベルで発現することが示されており（Ibiza et al. 2016）、これらの粘膜固有層リンパ系細胞又は 3 型自然リンパ球（Group 3 innate lymphoid cells：ILC3）が、腸のホメオスタシス及び宿主防御を調節している可能性が考察されている。したがって、ILC3 における RET シグナル伝達を阻害することにより、消化管の感染及び炎症が誘発される可能性がある。

2.4.5.6　膵臓（ラット及びミニブタ）

膵臓における腺房細胞の所見として、チモーゲン顆粒減少（ミニブタ 14 日間試験、ラット 14 日間及び 28 日間試験）及び変性／壊死（ラット 14 日間及び 28 日間試験）が認められた。ラットの膵腺房細胞におけるチモーゲン顆粒の減少及び単細胞壊死の増加は、食欲不振、栄養失調又はストレスといった種々の要因により生じることが知られる（Nolte et al. 2016; Wallig and Sullivan 2013）。セルペルカチニブによる膵臓の毒性変化は、ラットで見られた体重減少（28 日間試験の高用量の雄：ヒトAUCの約2倍）及びミニブタで見られた瀕死状態（14日間試験の65 mg/kg群）に関連している可能性が高い。91 日間試験ではラット及びミニブタともに膵臓に変化は認められなかった。なお、チモーゲン顆粒減少はレンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）及びスニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）を投与したサルにおいても報告されている。

2.4.5.7　生殖系（ラット及びミニブタ）

ラット及びミニブタともに、雌雄生殖器は、セルペルカチニブ投与による標的器官であった。

［雄生殖系］

反復投与試験において、雄では 91 日間投与試験のみで精巣及び精巣上体に変化が認められた。ラットでは、7.5 mg/kg以上の群で肉眼的な精巣の小型化又は軟化及び精巣重量減少が見られ、病理組織学的検査では精細管変性並びに精巣上体の管腔内細胞残屑又は管腔内精子減少が観察された。7.5 mg/kg 群の病理組織学的変化はいずれも軽微な変化が 1 例に見られたのみであり、20 mg/kg 群（ヒト AUC と同程度）で精巣所見の発現頻度及び重症度が高く、精巣上体の変化も伴っていたことを踏まえ、20 mg/kg 群において毒性であったと判断した。雄ラット受胎能試験においても、精巣に用量依存的な胚細胞枯渇及び精子細胞の残存が最低用量から認められた。ミニブタでは、全用量（2 mg/kg 以上、ヒト AUC より低い）で精巣の毒性変化が見られ、15 mg/kg 群で Day 27 に瀕死屠殺した動物に比べ 2 mg/kg を 13 週間投与した動物の精巣所見の重症度は高かった。ラット及びミニブタともに、回復試験例（休薬 28 日間）における精巣病変は、投与終了時剖検例よりおおむね重度であった。精子形成周期はラットで 56 日（Creasy 1997）、ミニブタ

で約 41 日（Kangawa 2016）であり、精巣毒性が生じた場合の回復期間が 6～8 週間未満では精巣胚細胞枯渇が投与終了時よりも重度になる可能性が報告されている（Creasy 1997）。

RET 遺伝子は精子形成において役割を有することが示されている。RET 遺伝子欠損マウスを用いた研究において、Ret 遺伝子が生後の精子形成に必要であり、欠損により雄性不妊が生じる可能性があることが示された（Naughton et al. 2006）。また、RET 変異遺伝子を導入し RET の細胞内シグナル伝達を喪失させた RET Y1062F ノックインマウスにおいて、生殖細胞産生低下による顕著な精巣萎縮が認められた（Jijiwa et al. 2008）。

ラット 91 日間試験で実施した精子検査（総精子数、精子濃度、精子運動能及び精子形態）では、いずれの投与群においても変化は見られなかった。一方、雄ラット受胎能試験では、高用量群の一部の動物で精子形態異常の増加及び運動性低下が認められ、精巣上体の病理組織学的検査において管腔内に細胞残渣が見られた。精子検査における変化が雄ラット受胎能試験でのみ観察された理由としては、用量が高かったこと（雄ラット受胎能試験：30 mg/kg、91 日間投与試験：20 mg/kg）、及び 1 群あたりの動物数が多かったこと（雄ラット受胎能試験：22 例、91 日間投与試験：10 例）が考えられる。なお、ミニブタでは精子検査は実施しなかった。

［雌生殖系］

反復投与試験において、雌ラットでは 91 日間試験の 25 mg/kg 以上の群で膣の変化（膣上皮の粘液分泌増加）の発現頻度増加が見られた。粘液分泌増加及び個別細胞角化（軽度の変化）により発情前期から発情期への進行遅延又は進行不能が示唆され、これらの動物では性周期ステージの判定ができなかった。対照群及び 7.5 mg/kg 群の雌は全例で、また、25 mg/kg 群でも 1 例を除く全例で正常な性周期のいずれかのステージに判定された。一方、75 mg/kg（ヒト AUC の約 2 倍）の変化は発現頻度が高かったことから毒性と判断した。膣の変化は、回復期間終了時剖検例では見られず、可逆的であることが示された。性周期に対する影響は雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験でも確認された。雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験において、75 mg/kg 群で交尾率及び受胎率に対する影響は認められなかったものの、性周期の回数が減少し、交尾成立までの日数が増加した。

ミニブタでは 14 日間試験において用量依存的な卵巣萎縮、黄体の減少又は欠如、卵胞の数及び大きさの減少並びに間質増殖が観察された。黄体の変化は最短で 7 日間投与後（14 日間試験の 65 mg/kg 群）の瀕死屠殺例で観察された。91 日間試験では黄体減少が瀕死屠殺例のみにおいて、15 mg/kg 群の 26 日間投与後に観察された。重症度は 14 日間投与試験で見られたものより低く、28 日間の回復期間後に回復した。また、黄体嚢胞が全セルペルカチニブ群で認められ、回復期間後にも低及び中用量群で 1 例ずつ認められたものの、黄体嚢胞は通常の排卵後に生じる可能性がある所見であり、毒性変化ではないと考えられた。

マルチキナーゼ阻害剤は生殖器官を標的とすることが非臨床試験で示されている。レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、スニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）及びカボザンチニブ（FDA, NDA 208692 cabozantinib 2015）は、膣、卵巣又は精巣に影響を生じることが報告されている。カボザンチニブはラットにおいて雌雄の受胎能も障害した（FDA, NDA 203756 cabozantinib 2012)。バンデタニブでもラットにおいて雌受胎能障害が認められ、それに伴って性周期不規則性の傾向、妊娠率低下及び着床後胚・胎児損失率上昇が見られた。

セルペルカチニブの毒性試験で見られた生殖器官の変化がヒトの受胎能に影響を及ぼすか否かは不明であるが、上述の RET に関する公表情報及びセルペルカチニブの毒性試験結果に基づくと、男性及び女性患者において生殖能に影響が生じるリスクがある。

2.4.5.8　骨端成長板（ラット及びミニブタ）

ラット及びミニブタのいずれにおいても、骨端成長板の異常（骨端軟骨異形成）が誘発された。

ラットでは骨端軟骨異形成（大腿骨及び胸骨の骨端軟骨における軟骨細胞帯の肥大／過形成）が 14 日間試験（雄：30 mg/kg 以上の群、雌：180 mg/kg 群）及び 28 日間試験（雄：20 mg/kg 以上の群、雌：150/120 mg/kg 群）で観察された。骨端軟骨異形成の見られたラットに歩行異常の明らかな徴候は見られなかった。ラット 28 日間試験で毒性と判断した用量（雄 75/45 mg/kg 及び雌 150/120 mg/kg）は、ヒト AUC のそれぞれ約 2 倍及び 4 倍に相当する用量であった。骨端軟骨の変化に関連して血清中 ALP 増加が見られた（骨由来 ALP であるかは確認せず）。骨端軟骨における ALP は肥大軟骨の細胞周囲裂孔内に局在し、軟骨の鉱質沈着に役割を果たす（Väänänen 1980）。骨端軟骨異形成を有する動物に見られた血清 ALP の変化は、軟骨から骨への変換の障害を反映したものと考えられる。高用量群（75/45 mg/kg）の雄では、28 日間の回復期間終了時に骨端軟骨異形成の回復傾向が見られた。91 日間試験では骨端軟骨異形成の所見は認められなかった。91 日間試験で用いた雄の高用量（20 mg/kg）は、28 日間試験で骨端軟骨異形成が生じた用量と同じであったが、骨端軟骨に変化が生じなかった。この差の要因として、投与開始時のラットの週齢が 91 日間試験では 10～11 週齢であったのに対し、14 日間及び 28 日間試験では 6～7 週齢であったためである可能性がある。成獣ラットでは長骨の成長が著しく低下するため（Hansson et al. 1972）、ラットの齢が骨端軟骨異形成の発現に影響を及ぼす可能性がある。

ミニブタでは、骨端軟骨異形成は 91 日間試験の瀕死屠殺例（15 mg/kg 群：ヒト AUC より低い）のみに認められた。これらの瀕死屠殺例では、跛行、起立不同意、横臥位及び疼痛が認められた。病理組織学的検査において骨端軟骨異形成は大腿骨のみに見られ、その特徴は軽微から顕著な骨端軟骨肥厚であった。骨端軟骨異形成は 15 mg/kg 群の回復試験群には見られなかった。これは、休薬により回復した可能性がある一方で、投与期間中に生存例の一般状態変化もなかったため、回復期間前に骨端軟骨異形成が生じていたかは不明である。中及び低用量群では骨端軟骨異形成は認められなかった。ミニブタの 14 日間試験では骨端軟骨異形成は認められなかった。

VEGF 及び FGF シグナル伝達阻害作用による骨成長への影響については詳細に報告されており（Hall et al. 2006; Brown et al. 2005; Beebe et al. 2003; Wedge et al. 2000; Gerber et al. 1999）、肥厚帯の拡大により骨端成長板の肥厚が誘発される。これらの変化は骨端成長板の血管侵入遅延に起因すると考えられており、その結果として肥大軟骨細胞でのアポトーシスが低下する。また、骨端軟骨異形成は、スニチニブではラット及びサルで（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）、レンバチニブではラットで（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、それぞれ認められている。セルペルカチニブによる骨端軟骨異形成のヒトでの潜在的安全性リスクは不明である。成人は骨端成長板が閉鎖しているためリスクは低いと推測されるが、骨端成長板が閉じていない若齢層の患者では、骨端成長板に影響が生じるリスクがある。

2.4.5.9　肝臓（ラットのみ）

ラットでは、肝臓に関連する臨床検査パラメータ及び肝重量の変化が認められた。ラット 28 日間試験では ALT、AST、ALP 又はγ-グルタミルトランスフェラーゼ活性並びにコレステロール濃度の増加が中～高用量群で認められたが、いずれも変化の程度はわずかであり休薬により回復した。ラット 14 日間及び 28 日間試験では、高用量群の雄で肝重量が減少したが、休薬により完全に回復した。ラット 91 日間試験では同様の変化は見られなかった。さらに、肝臓の病理組織学的所見はいずれのラット反復投与毒性試験にも見られなかった。したがって、セルペルカチニブ投与によりラットで生じた肝臓の変化は意義が低く、毒性ではないと判断した。

2.4.5.10　組織鉱質沈着（ラットのみ）

ラット 14 日間及び 28 日間試験の高用量において、無機リン増加に関連して、複数の組織（腎臓、大動脈、冠状血管系、脳及び胃）に鉱質沈着が軽微～重度に認められ、このうち毒性と考えられたのは大動脈及び胃の所見であった。28 日間試験で休薬により回復傾向が見られた。91 日間試験において組織鉱質沈着は見られなかった。

組織鉱質沈着誘発のメカニズムは完全には解明されていない。しかし、リンの調節機構にはホスファトニン系が関与しており、カルシウム及びリンの代謝において線維芽細胞増殖因子（FGF）23 が役割を果たすこと（Hardcastle and Dittmer 2015）、FGFR シグナル伝達を阻害する薬剤により FGF23 経路が妨害され、動物が高リン血症を発症しやすくなることが示されている（Yanochko et al. 2013）。FGFR チロシンキナーゼ阻害剤の PD176067 は、イヌ及びラットにおいて、高リン酸血症に伴い組織鉱質沈着を誘発した（Brown et al. 2005）。さらに、正常な血中カルシウムの存在下で高リン血症を生じると、組織鉱質沈着が発現することが知られている（Block 2000）。

ラットにおける組織鉱質沈着は、他のキナーゼ阻害剤でも報告されている（Yanochko et al. 2013）。

2.4.5.11　切歯（ラットのみ）

切歯の変化は、ラット 28 日間及び 91 日間試験並びに雄受胎能試験の高用量のみで認められた。28 日間試験では、一般状態変化（白色切歯又は不正咬合）及び病理組織学的変化として歯の異形成が象牙芽細胞上皮に見られ、象牙質及びエナメル質の不規則性を伴っていた。91 日間投与試験では不正咬合、白色切歯及び歯喪失が見られたが、病理組織学的検査で変化は見られなかった。雄受胎能試験でも切歯の一般状態所見（折れた歯、不正咬合並びに 1 例で切歯の欠損及び変色）が見られた（病理組織学的検査は実施せず）。歯の一般状態変化が最初に観察されたのは、28 日間試験では投与期間終了時付近、91 日間試験では Day 55、雄受胎能試験では Day 39 であり、28 及び 91 日間投与試験では回復期間中を通じて、また雄受胎能試験では投与期間中を通して持続した。28 日間試験における歯の病理組織学的変化は、休薬により回復傾向が見られた。歯の一般状態変化に関連して 28 及び 91 日間投与試験ともに摂餌量が低下し、28 日間試験では体重への影響も認められたことから、切歯の変化は毒性と判断した。これらの影響は、ヒト AUC と同程度以上の曝露量で観察された。

ラットは、象牙質組成の変化に対する感受性が特に高いことが知られている。ラットの切歯は生涯を通して成長し続けるため（Addison and Appleton 1915）、象牙芽細胞及びエナメル芽細胞に影響を及ぼす化学物質及び薬剤に対する感受性が高い（Fletcher et al. 2010）。

げっ歯類においては、VEGF 及び FGF は切歯の永続的成長に極めて重要であり、VEGF 及び FGF シグナル伝達阻害により歯に病変が生じることが知られる（Fletcher et al. 2010）。げっ歯類における歯の異常は、レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、スニチニブ（FDA, NDA 021968 sunitinib 2006; Patyna et al. 2008）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）及びカボザンチニブ（FDA, NDA 208692 cabozantinib 2015）においても報告されている。

セルペルカチニブ投与による歯の変化は、特有の生理を有するラットの切歯で生じた所見であり、ミニブタでは同様の歯の異常は生じていないことから、ヒトでラットと同様の影響が歯に生じる可能性は低いと考える。

2.4.5.12 ブルンナー腺（ラットのみ）

ラット 28 日間投与試験において、軽微かつ可逆的なブルンナー腺拡張が、20 mg/kg 群の雄（ヒト AUC と同程度の曝露量）で見られた。この所見は長期投与（91 日間試験）では再現されなかった。ブルンナー腺への影響は、マルチキナーゼ阻害剤レンバチニブで変性性及び壊死性の病変が報告されているが（Inomata et al. 2014）、セルペルカチニブで見られた変化はこれよりもはるかに軽度であり毒性ではないと判断しており、ヒトにおいて問題となる可能性は低いと考える。

2.4.5.13 肺（ラットのみ）

肺胞マクロファージ浸潤が、ラット 28 日間及び 91 日間投与試験のいずれにおいても観察された。この所見は対照群及び低用量群でも認められており、高用量群ではこれより頻度は高いものの軽度かつ可逆的であり、さらに無処置高齢ラットの背景所見として一般に認められる所見である（Renne et al. 2009）。したがって本所見は毒性ではないと判断しており、この所見がヒトにおいて問題となる可能性は低いと考える。

2.4.5.14 遺伝毒性

細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いる in vitro 小核試験において、セルペルカチニブに遺伝毒性は認められなかったが、ラット小核試験では 150 mg/kg（ヒト C_{max} の約 5 倍、表 2.4-1 参照）以上の用量で小核の発現頻度が用量依存的に増加し、300 mg/kg（ヒト C_{max} の約 8 倍）以上の用量で統計学的に有意であった。キナーゼ阻害剤は遺伝毒性を有する可能性があることが報告されている（Fabbro 2015; Olaharski et al. 2009）。いくつかのキナーゼ阻害剤では、in vitro 遺伝毒性試験（in vitro 小核試験を含む）で陰性であるものの、in vivo で骨髄において小核を有する多染性赤血球の発現頻度を増加させるが（Tweats et al. 2007）、これは薬剤により生じた重度の骨髄毒性（Olaharski et al. 2010）に関連する可能性がある。セルペルカチニブのラット小核試験では、骨髄毒性が生じた高用量（300 mg/kg 以上の群）において小核発現頻度が統計学的に有意に増加した。一方、150 mg/kg の用量では骨髄に軽微な変化が見られたが、小核発現頻度の統計学的に有意な増加は認められなかった。小核発現頻度の増加はヒトと比較し十分高い

曝露量で生じたことから、推奨臨床用量を投与されたヒトにおいてセルペルカチニブが遺伝毒性を生じる可能性は低いと考える。

2.4.5.15　胚・胎児発生

セルペルカチニブの胚・胎児発生に対する毒性（胚致死作用を含む）が複数の試験で示された。

ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験において、セルペルカチニブによる母動物毒性（一般状態の変化及び体重減少）が 200 mg/kg 群で認められ、母動物毒性に関する NOAEL は 100 mg/kg であった。100 及び 200 mg/kg 群の全例及び 50 mg/kg 群の 8 例中 6 例で全胚吸収（早期胚吸収率が 100%）が認められ、50 mg/kg 群の残り 2 例もほとんどが早期胚吸収であった。生存胎児は 50 mg/kg 群で得られた 3 例のみであり、胎児体重の減少が見られた。また、50 mg/kg 群の胎児3例中2例（同腹児）で短尾が、他の腹の1例で鼻小型化及び局所的胎児浮腫が観察された。これらの子宮内発育及び生存並びに胎児形態の変化は、セルペルカチニブ投与による毒性と考えられ、最低用量の 50 mg/kg（ヒト AUC と同程度）で見られたことから胚・胎児発生に関する NOAEL は設定できなかった。雌ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験においても、75 mg/kg 群で全胚死亡を呈した母動物数の増加、生存胚を有する母動物数の減少及び死亡胚数の増加が見られ、雌の一般毒性及び受胎能並びに初期胚発生に関する NOAEL はいずれも中間用量の 25 mg/kg（ヒト AUC より低い）であった。

RET キナーゼ阻害作用に関連して、ラット及びウサギにおける胚致死増加、成長遅滞、腎臓及び尿管の無発生を特徴とする泌尿生殖系の異常並びに心血管系異常といった発生毒性が報告されている（Clemens et al. 2009）。また、レンバチニブ（FDA, NDA 206947 lenvatinib 2014）、バンデタニブ（FDA, NDA 22405 vandetanib 2011）及びカボザンチニブ（FDA, NDA 203756 cabozantinib 2012）にも胚毒性／胚致死性が認められている。さらに、*c-ret* 遺伝子は、種々の神経細胞系統の増殖、遊走、分化又は生存並びに腎臓の器官形成時における誘導的相互作用に関与する因子の受容体をコードしている可能性があることが報告されており（Pachnis et al. 1993）、*c-ret* 変異をホモ接合で有するマウスは、妊娠末期まで発生するが腎無形成又は重度の発育不全を示し、出生直後に死亡する（Schuchardt et al. 1994）。

2.4.5.16　幼若動物における毒性

幼若ラットを用いた毒性試験を実施した。投与開始日齢は、臨床曝露量に相当する曝露量で忍容性の見られる最も早い日齢の 21 日齢とし、最長 70 日齢まで（ヒトのおおよそ 2～12 歳に相当する期間を含む）セルペルカチニブを投与した。幼若ラットで見られた毒性所見は、既実施の若齢ラットを用いた反復投与毒性試験で見られた所見と概して同様であった。これに加え、幼若ラットでは、骨端成長板の異常（ヒト AUC と同等あるいは低い曝露量で発現）に回復性は見られず、大腿骨骨幹端及び骨幹のいずれおいても骨ジオメトリーの測定値の減少及び骨量減少が認められた。さらに大腿骨長の減少が見られた。また、大腸において好塩基球増加症を特徴とする腸疾患が見られ、時に腺窩上皮細胞空胞化を伴っていた。雌で膣開口遅延が体重低下の生じた高用量でのみ認められた。無処置雌と交配させた雄では、受胎率及び妊娠率の低下、並びに着床前胚損失率上昇、着床後胚損失率上昇、生存胚数減少及び胚生存率低下が生じた。雌の NOAEL は 50 mg/kg（ヒト AUC の 0.9 倍）であったが、雄について NOAEL は設定できなかった。

2.4.5.17　結論

動物及びヒトにおける全身曝露量（AUC_{0-24}、C_{max}）の比較を表 2.4-1 に示す。セルペルカチニブを患者に 160 mg BID（198 mg/m^2/日）の用量で投与したときの定常状態における血漿中 C_{max} 及び AUC を用いて、曝露倍数を算出した。

ラット及びミニブタにおいて雌雄の生殖器官に変化が見られ、ヒトの受胎能に影響が生じる可能性があることから、市販に際して適切に注意喚起する予定である。セルペルカチニブはラットにおいて胚・胎児毒性を示したことから、患者には潜在的リスクを説明するとともに、適切な避妊の指導をするよう添付文書に記載予定である。ラット及びミニブタともに骨端軟骨異形成が、さらに幼若ラットでは大腿骨長及び骨密度の減少も見られ、骨端成長板が閉じていない若齢層の患者では骨端成長板に影響が生じるリスクがあることから、この毒性所見について添付文書に記載する予定である。

表 2.4-1. セルペルカチニブを成獣ラット、妊娠ラット、幼若ラット、ミニブタ及びヒトに経口投与したときのセルペルカチニブへの全身曝露量の比較

動物種	セルペルカチニブ (mg/kg)	血漿中曝露量			
		C_{max}[a] (ng/mL)	C_{max} 曝露量比 [a, b]	AUC_{0-24}[a] (ng·h/mL)	AUC 曝露量比 [a, c]
ラット 28 日間投与毒性試験（報告書 LOXO-292-TOX-001）					
雄	20（無毒性量）	4450	1	50800	0.7
雌	50（無毒性量）	8380	2	39100	0.5
雄	45（STD 10）	11700	3	151000	2
雌	120（STD 10）	19100	5	260000	4
ラット 91 日間投与毒性試験（報告書 LOXO-292-TOX-011）					
雄	7.5（無毒性量）	1490	0.4	18500	0.2
雌	25（無毒性量）	10700	3	50400	0.7
雄	20（HNSTD）	6780	2	80400	1
雌	75（HNSTD）	15700	4	149000	2
ミニブタ 28 日間投与毒性試験（報告書 LOXO-292-TOX-002）					
雌雄	12（無毒性量）	1120	0.3	23200	0.3
ミニブタ 91 日間投与毒性試験（報告書 LOXO-292-TOX-012）					
雄	5（HNSTD）	712	0.2	13200	0.2
雌	5（無毒性量）	565	0.1	11900	0.2
ラットーIn vivo 小核試験（報告書 LOXO-292-TOX-021）					
雄	37.5（陰性）	9210	2	112000	2
	75（陰性）	15200	4	245000	3
	150（陰性*）	21000	5	481000	6
	300（陽性）	34000	8	1080000	15
	500（陽性）	34300	8	1190000	16
ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験（報告書 LOXO-292-TOX-025、LOXO-292-TOX-023）					
雄ラット	3（雄受胎能に関する最小毒性量）	846	0.2	12100	0.2
雌ラット	25（雌受胎能及び初期胚発生に関する無毒性量）	4060	1	16300	0.2
ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験（報告書 LOXO-292-TOX-009）					
妊娠ラット	50（胚・胎児発生に関する最小毒性量）	9580	2	75800	1
幼若ラットを用いた試験（報告書 LOXO-292-TOX-028）					
雄	30（最小毒性量）	4750	1	60300	0.8
雌	50（無毒性量）	8050	2	65200	0.9
ヒト（報告書 LOXO-RET-17001）					
ヒト	160 mg BID	4060[d]	N/A	74200[d]	N/A

[a] AUC_{0-24} 及び C_{max} は平均総血漿中濃度を示す。

[b] C_{max} 曝露量比は、反復投与後の $C_{max,animal}/C_{max,human}$ として算出した。

[c] AUC 曝露量比は、反復投与後の $AUC_{0-24,animal}/AUC_{0-24,human}$ として算出した。

[d] $C_{max,human}$ 及び $AUC_{0-24,human}$ は、日本人患者（58 例）に 160 mg BID の用量で投与した臨床試験 LOXO-RET-17001 からの定常状態値（8 日目）であった（来院カットオフ：2020 年 3 月 30 日）。

N/A = 該当せず、STD 10 = 10%の動物に重篤な毒性が発現する投与量、HNSTD = 重篤な毒性が発現しない最大投与量

* 報告書では陰性としていたが、[redacted]、用量依存的な小核発現頻度の増加を考慮し最終的に陽性と判断した。

以上、セルペルカチニブについて実施された一連の薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験プログラムにより、進行がんを有する患者の治療を目的とした本薬の承認申請をサポートするための

非臨床有効性、体内動態及び安全性が評価された。これらの結果を踏まえ、予定される適応症の患者へのセルペルカチニブの臨床推奨用量での投与は可能と考える。

2.4.6 参考文献

Addison WHF, Appleton JL. The Structure and Growth of the Incisor Teeth of the Albino Rat. *J. Morphol*. 1915;26(1):43-96.

Beebe JS, Jani JP, Kanuth E, Goodwin P, Higdon C, Rossi AM, et al. Pharmacological Characterization of CP-547,632, a Novel Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Tyrosine Kinase Inhibitor for Cancer Therapy. *Cancer Research*. 2003;63:7301-9.

Block GA. Prevalence and Clinical Consequences of Elevated Ca X P Product in Hemodialysis Patients. *Clin Nephrol*. 2000;54:318-24.

Brown AP, Courtney CL, King LM, Groom SC, Graziano MJ. Cartilage Dysplasia and Tissue Mineralization in the Rat Following Administration of a FGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitory. *Toxicol Pathol.* 2005;33:449-455.

Clemens GR, Schroeder RE, Magness SH, Weaver EV, Lech JW, Taylor VC, et al. Developmental Toxicity Associated with Receptor Tyrosine Kinase Ret Inhibition in Reproductive Toxicity Testing. *Birth Defects Research (Part A)*. 2009;85:130-6.

Creasy D. Evaluation of testicular toxicity in safety evaluation studies: the appropriate use of spermatogenic staging. *Toxicol Pathol.* 1997;25(2):119-31.

Fabbro D. 25 Years of Small Molecular Weight Kinase Inhibitors: Potentials and Limitations. *Mol. Pharm*. 2015;87:766-75.

Fletcher AM, Bregman CL, Woicke J, Salcedo TW, Zidell RH, Janke HE, et al. Incisor Degeneration in Rats Induced by Vascular Endothelial Growth Factor/Fibroblast Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibition. *Toxicol Pathol*. 2010:38;267-79.

Gattei V, Celetti A, Cerrato A, Degan M, De luliis A, Rossi FM, et al. Expression of the *RET* Receptor Tyrosine Kinase and GDNFR- α in Normal and Leukemic Human Hematopoietic Cells and Stromal Cells of the Bone Marrow Microenvironment. *Blood*. 1997;89(8):2925-37.

Gerber H-P, Vu TH, Ryan AM, Kowalki J, Web Z, Ferrara N. VEGF Couples Hypertrophic Cartilage Remodeling, Ossification and Angiogenesis during Endochondral Bone Formation. *Nature Medicine*. 1999;5(6):623-8.

Hall AP, Westwood FR, Wadsworth PF. Review of the effects of anti-angiogenic compounds on the epiphyseal growth plate. *Toxicol Pathol*. 2006;34:131-47.

Hansson LI, Menander-Sellman K, Stenstrom A, Throngren K-G. Rate of Normal Longitudinal Bone Growth in the Rat. *Calc. Tiss. Res.* 1972;10:238-51.

Hardcastle MR, Dittmer KE. Review. Fibroblast Growth Factor 23: A New Dimension to Diseases of Calcium-Phosphorus Metabolism. *Vet Pathol*. 2015;52:770-84.

Ibiza S, Garcia-Cassani B, Ribeiro H, Carvalho T, Almeida L, Marques R, et al. Glial-Cell-Derived Neuroregulators Control Type 3 Innate Lymphoid Cells and Gut Defence. *Nature*. 2016;535(7612):440-3.

Inomata A, Nakano-Ito K, Fukikaw Y, Sonoda J, Hayakaw K, Ohta E, et al. Brunner's Gland Lesions in Rats Induced by a Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Inhibitor. *Tox Path*. 2014;42:1267-74.

Jijiwa M, Kawai K, Fukihara J, Nakamura A, Hasegawa M, Suzuki C, et al. GDNF-mediated signalling via RET tyrosine 1062 is essential for maintenance of spermatogonial stem cells. *Genes to Cells*. 2008;13:365-74.

Kangawa A, Otake M, Enya S, Yoshida T, Kangawa Y, Shibata M. Spermatogenesis in the Microminipig. *Toxicol Pathol*. 2016;44(7):974-86.

Kim NN, Parker RM, Weinbauer GF, Remick AK, Steinbach T. Points to consider in designing and conducting juvenile toxicology studies. *Int J Toxicol*. 2017;36(4):325-39.

Lee IY, Kim HJ. (Lymph) angiogenic Influences on Hematopoietic Cells in Acute Myeloid Leukemia. *Experimental & Molecular Medicine*. 2014;46:1-10.

Mulligan LM. RET revisited: expanding the oncogenic portfolio. *Nat Rev Cancer*. 2014;14:173-86.

Nakayama S, Iida K-I, Tsuzuki T, Iwashita T, Murakami H, Asai N. Implication of Expression of GDNF/Ret Signalling Components in Differentiation of Bone Marrow Haemopoietic Cells. *British journal of Haematology.* 1999;105:50-7.

Naughton CK, Jain S, Strickland AM, Gupta A, Milbrandt J. Glial Cell-Line Derived Neurotrophic Factor-Mediated RET Signaling Regulates Spermatogonial Stem Cell Fate. *Biology of Reproduction*. 2006;74:314-20.

NDA 021968 sunitinib (2006)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2006/021938_S000_Sutent_PharmR.pdf

NDA 206947 lenvatinib (2014)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/206947Orig1s000PharmR.pdf

NDA 203756 cabozantinib (2012)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2012/203756Orig1s000PharmR.pdf#search='cobazontinib+FDA+Pharmacology'
NDA 208692 cabozantinib (2015)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2016/208692Orig1s000PharmR.pdf
NDA 22405 vandetanib (2011)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/022405Orig1s000PharmR.pdf
Nolte T, Brander-Weber P, Dangler C, Deschl U, Elwell M, Greaves P, et al. Non-proliferative and Proliferative Lesions of the Gastrointestinal Tract, Pancreas and Salivary Glands of the Rat and Mouse. *Toxicol Pathol*. 2016;29 (1 Suppl):1S-124S.
Olaharski A, Gonzaludo N, Bitter H, Goldstein D, Kirchner S, Uppal H, et al. Identification of a kinase profile that predicts chromosome damage induced by small molecule kinase inhibitors. *Computational Biol.* 2009;5(7):1-10.
Olaharski A, Bitter H, Gonzaludo N, Kondru R, Goldstein M, Zabka T, et al. Modeling bone marrow toxicity using kinase structural motifs and the inhibition profiles of small molecular kinase inhibitors. *Toxicol. Sci*. 2010;118(1):266-75.
Pachnis V, Mankoo BS, Costantini F. Expression of the c-ret proto-oncogene during mouse embryogenesis. *Development.* 1993;119:1005-17.
Patyna S, Arrigoni C, Terron A, Kim T, Heward JK, Vonderfecht SL, et al. Nonclinical Safety Evaluation of Sunitinib: A potent Inhibitor of VEGF, PDGGF, KIT, FLT3 and RET Receptors. *Toxicol Pathol.* 2008;36:905-16.
Perea D, Guiu J, Hudry B, Konstantinidou C, Milona A, Hadjieconomou D, et al. Ret Receptor Tyrosine Kinase Sustains Proliferation and Tissue Maturation in Intestinal Epithelia. *The EMBO Journal*. 2017;36:3029-45.
Renne R, Brix A, Harkema J. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse male reproductive system. *Toxicol Pathol*. 2009;37:5S-73S.
Schuchardt A, D'Agati V, Larsson-Blombert L, Constantini F, Pachnis V. Defects in the kidney and enteric nervous system of mice lacking the tyrosine kinase receptor Ret. *Nature.* 1994;367:380-3.
Tahira T, Ishizaka Y, Sugimura T, Nagao M. Expression of proto-ret mRNA in embryonic and adult rat tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1988;153(3):1290-5.
Tsuzuki T, Takahashi M, Asai N, Iwashita T, Matsuyama M, Asai J. Spatial and temporal expression of the ret proto-oncogene product in embryonic, infant and adult rat tissues. *Oncogene*. 1995;10(1):191-198.
Tweats D, Blakely D, Heflich R, Jacobs A, Jacobsen S, Morita T, et al. Report of the IWGT working group on strategies and interpretation of regulatory *in vivo* tests II. Identification of *in vivo*-only positive compounds in the bone marrow micronucleus test. *Mutat. Res*. 2007;627:92-105.
Väänänen HK. Immunohistochemical Localization of Alkaline Phosphatase in the Chicken Epiphyseal Growth Cartilage. *Histochemistry.* 1980;65:143-8.
Veiga-Fernandes H, Coles MC, Foste KE, Patel A, Williams A, Natarjan D, et al. Tyrosine Kinase Receptor RET is a Key Regulator of Peyer's Patch Organogenesis. *Nature Letters*. 2007;446:547-551.
Wallig MA, Sullivan JM. Exocrine pancreas. In: Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA. *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. 3rd ed. Amsterdam: Academic Press; 2013:p2361-91.
Wedge SF, Ogilvie DJ, Dukes M, Kendre J, Curwen JO, Huin LJ, et al. ZD4190: An Orally Active Inhibitor of Vascular Endothelial Growth Factor Signaling with Broad-Spectrum Antitumor Efficacy. *Cancer Research*. 2000;60:970-5.
Wilkinson RW, Odedra R, Heaton SP, Wedge SR, Keen NJ, Crafter C, et al. AZD1152, a Selective Inhibitor of Aurora B Kinase, Inibits Human Tumor Xenograft Growth by Inducing Apoptosis. *Clin Cancer Res*. 2007;13(12):3682-8.
Yanochko GM, Vitsky A, Heyen JR, Hirakawa B, Lam JL, May F, et al. Pan-FGFR Inhibition Leads to Blockade of FGF23 Signaling, Soft Tissue Mineralization, and Cardiovascular Dysfunction. *Tox. Sci*. 2013;135(2):451-64.