# 2.4 非臨床試験の概括評価

# 目　次

目　次 ..... 2
表 一 覧 ..... 3
図 一 覧 ..... 3
略号一覧 ..... 4
1 緒言 ..... 6
1.1 作用機序 ..... 7
2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性 ..... 9
3 薬理試験 ..... 9
3.1 効力を裏付ける試験 ..... 10
3.2 副次的薬理試験 ..... 11
3.3 安全性薬理試験 ..... 11
3.3.1 各種受容体等に対する作用 ..... 12
3.4 心血管系に及ぼす影響 ..... 12
3.5 中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響 ..... 13
3.6 薬力学的薬物相互作用試験 ..... 13
4 薬物動態試験 ..... 13
4.1 分析法 ..... 14
4.2 吸収及びバイオアベイラビリティ ..... 14
4.3 分布 ..... 15
4.4 妊娠及び授乳動物 ..... 16
4.5 代謝 ..... 16
4.6 排泄 ..... 19
4.7 薬物動態学的薬物相互作用 ..... 20
4.8 トキシコキネティクス ..... 20
5 毒性試験 ..... 21
5.1 単回投与毒性試験 ..... 21
5.2 反復投与毒性試験 ..... 21
5.3 遺伝毒性試験 ..... 23
5.4 がん原性試験 ..... 24
5.5 生殖発生毒性試験 ..... 24
5.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 ..... 24
5.5.2 胚・胎児発生に関する試験 ..... 25
5.5.3 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 ..... 26
5.5.4 幼若動物を用いた試験 ..... 26
5.5.5 生殖発生毒性試験全体の評価 ..... 26
5.6 曝露量の比較 ..... 27

5.7 局所刺激性試験 ..... 29
5.8 その他の毒性試験 ..... 29
5.8.1 光安全性評価 ..... 29
5.8.2 毒性の発現機序に関する試験 ..... 30
6 不純物 ..... 30
7 安全性の総合評価 ..... 31
8 結論 ..... 32
9 参考文献 ..... 34

## 表 一 覧

Table 3-1 安全性薬理試験の概要 ..... 11
Table 5-1 反復投与毒性試験 ..... 21
Table 5-2 遺伝毒性試験 ..... 24
Table 5-3 受胎能及び初期胚発生に関する試験 ..... 25
Table 5-4 胚・胎児発生に関する試験 ..... 26
Table 5-5 反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量比 ..... 27
Table 5-6 反復投与毒性試験の毒性用量における曝露量比 ..... 28
Table 5-7 胚・胎児発生に関する試験の無毒性量における曝露量比 ..... 29

## 図 一 覧

Figure 1-1 アシミニブの構造式 ..... 6
Figure 1-2 *ABL*，*BCR*，及び *BCR–ABL* 遺伝子 ..... 7
Figure 1-3 アシミニブとニロチニブの ABL1 チロシンキナーゼへの結合部位 ..... 8
Figure 4-1 *In vitro* 及び *in vivo* でのアシミニブの推定代謝経路 ..... 17
Figure 4-2 ラット，サル，及びヒトにおける *in vivo* でのアシミニブ（ABL001）の消失経路 ..... 20

# 略号一覧

| 略号 | 省略していない表現（英） | 省略していない表現（日） |
|---|---|---|
| *ABL1*/ABL1 | *italicized*: Abelson oncogene 1<br>non-italicized: Abelson protein 1 | Abelson 遺伝子 1<br>Abelson タンパク質 1 |
| *ABL2*/ABL2 | *italicized*: Abelson oncogene 2<br>non-italicized: Abelson protein 2 | Abelson 遺伝子 2<br>Abelson タンパク質 2 |
| ADME | absorption, distribution, metabolism and excretion | 吸収・分布・代謝・排泄 |
| ATP | adenosine triphosphate | アデノシン三リン酸 |
| AUC | area under the drug plasma (blood) concentration-time curve | 血漿（血液）中薬物濃度-時間曲線下面積 |
| AUClast | area under the drug plasma (blood) concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration | 0 時間から最終濃度測定可能時点までの血漿（血液）中薬物濃度-時間曲線下面積 |
| BCR | breakpoint cluster region gene | breakpoint cluster region 遺伝子 |
| BCR-ABL1 | breakpoint cluster region Abelson 1 proto-oncogene | breakpoint cluster region-Abelson1 融合遺伝子 |
| BID | twice a day | 1 日 2 回 |
| Cb/Cp | blood-to-plasma concentration ratio | 血液／血漿中濃度比 |
| CHO | chinese hamster ovary | チャイニーズハムスター卵巣 |
| $CL_H$ | hepatic clearance | 肝クリアランス |
| Cmax | maximal drug plasma (blood) concentration | 最高血漿（血液）中薬物濃度 |
| CML | chronic myelogenous leukemia | 慢性骨髄性白血病 |
| DNA | deoxyribonucleic acid | デオキシリボ核酸 |
| DPH | 5-(1,3-diaryl-1H-pyrazol-4-yl) hydantoin | - |
| F | absolute bioavailability | 絶対的バイオアベイラビリティ |
| Fa | fraction absorbed | 吸収率 |
| $f_{BC}$ | fraction in red blood cells | 赤血球に分布した比率 |
| Fg | fraction escaping intestinal first-pass metabolism | 消化管の初回通過代謝を受けなかった比率 |
| Fh | fraction escaping hepatic first-pass metabolism | 肝臓の初回通過代謝を受けなかった比率 |
| FOB | functional observational battery | 機能観察総合評価法 |
| fu | fraction unbound | 非結合形分率 |
| 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 |
| HEK | human embryonic kidney | ヒト胎児由来腎臓 |
| hERG | human ether-à-go-go-related gene | ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子 |
| HPLC | high performance liquid chromatography | 高速液体クロマトグラフィー |
| ICH | International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use | 医薬品規制調和国際会議 |
| IC50 | half-maximal inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| LC-MS | liquid chromatography-mass spectrometry | 液体クロマトグラフィー質量分析 |
| LC-MS/MS | liquid chromatography-tandem mass spectrometry | 液体クロマトグラフィータンデム質量分析 |

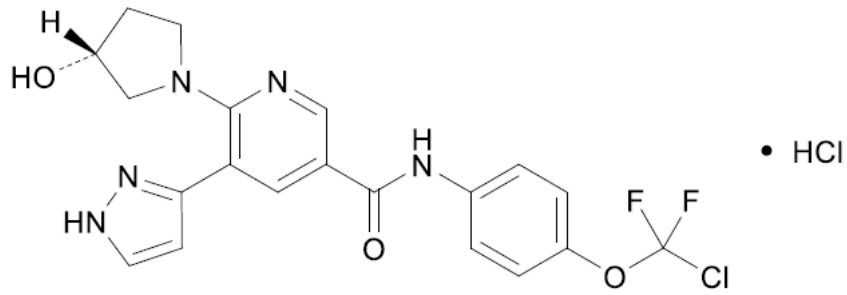
| 略号 | 省略していない表現（英） | 省略していない表現（日） |
|---|---|---|
| LLNA | local lymph node assay | 局所リンパ節試験 |
| LLOQ | lower limit of quantification | 定量下限 |
| LSC | liquid scintillation counter | 液体シンチレーションカウンター |
| Luc-Ba/F3 | luciferase-BaF3 | ルシフェラーゼ-BaF3 |
| miRNA | micro ribonucleic acid | マイクロリボ核酸 |
| Ncap | N-terminalcap | N 末端 |
| NOAEL | no observed adverse effect level | 無毒性量 |
| NRU | neutral red uptake | ニュートラルレッド取込み法 |
| PBPK | physiologically based pharmacokinetics | 生理学的薬物速度論 |
| Ph | philadelphia chromosome | フィラデルフィア染色体 |
| PIF | Photo-Irritation-Factor | 光毒性係数 |
| $Q_H$ | hepatic blood flow | 肝血流量 |
| (Q)SAR | (Quantitative) Structure-Activity Relationship | （定量的）構造活性相関 |
| QTcV | QT interval corrected according to the Van de Water formula | Van de Water 式を用いて心拍数で補正した QT 間隔 |
| QWBA | quantitative whole body autoradiography | 定量的全身オートラジオグラフィー |
| SDD | spray-dried dispersion or solid dispersion | - |
| SH | SRC homology structurally conserved protein domain | - |
| STAMP | specifically targeting the ABL myristoyl pocket | - |
| STAT-5 | signal transducer and activator of transcription-5 | シグナル伝達兼転写活性化因子 5 |
| T1/2 | elimination half life | 消失半減期 |
| TK | toxicokinetics | トキシコキネティクス |
| Tmax | time to reach the maximum drug plasma (blood) concentration following drug administration | 最高血漿（血液）中薬物濃度到達時間 |

# 1 緒言

アシミニブ（ABL001，以下，本薬）は強力かつ経口投与可能な BCR-ABL1 タンパク質（BCR-ABL1）チロシンキナーゼ阻害薬であり，ABL1 タンパク質を構成する SH1 ドメイン上のアロステリック部位に対して特異的に結合する。このアロステリック部位（アシミニブのミリストリル化 N 末端）は，本来，ABL キナーゼ活性を制御しているが，*BCR-ABL1* 遺伝子融合によってその機能を失うことで，ABL チロシンキナーゼが恒常的に活性化し，白血病細胞の増殖を促進するシグナル伝達経路の調節機能に異常を示す。アシミニブは，アロステリック部位に結合し，ABL キナーゼ活性の制御を正常化することで，BCR-ABL を発現する CML 細胞の増殖を強力かつ選択的に阻害することが期待される。また，STAMP（specifically targeting the ABL myristoyl pocket）阻害薬とも称されている。

本薬の構造式を以下に示す（Figure 1-1）。アシミニブの化学構造を，メタノール，エタノール，及び塩酸の混合により得られた結晶の X 線解析から，立体配置を含め確認した。その結果，アシミニブは，単位胞面積 a = 14.422(3)，b = 9.368(2)，c = 14.989(4) Å，β = 98.853(12)を有する C2 空間群の単斜晶として結晶化され，C14-R の Flack 係数：0.02(2)の絶対構造を示した[Table 2.6.3.2-RD-2013-00510]。アシミニブの構造は赤外線，高性能ラマン分光法，及び核磁気共鳴分光法により確認された[Table 2.6.3.2-RD-2013-00008]，[Table 2.6.3.2-RD-2020-00071]。

**Figure 1-1 アシミニブの構造式**




一般的名称：アシミニブ塩酸塩（Asciminib Hydrochloride）

分子式：$C_{20}H_{18}ClF_2N_5O_3$・HCl

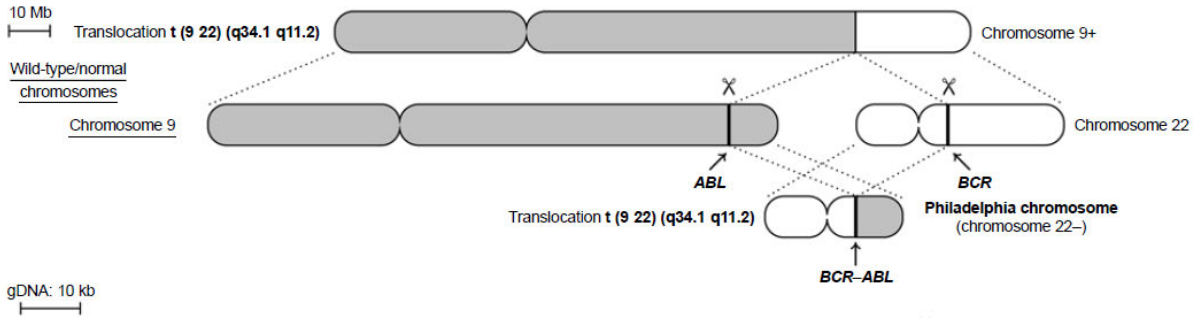
分子量：フリー体としての分子量 449.8（塩酸塩としての分子量は 486.3）

化学名：*N*-[4-(Chlorodifluoromethoxy)phenyl]-6-[(3*R*)-3-hydroxypyrrolidin-1-yl]-5-(1*H*-pyrazol-3-yl)pyridine-3-carboxamide monohydrochloride

慢性骨髄性白血病（CML）は，骨髄，末梢血又は脾臓において造血前駆細胞の不完全な分化により生じる蓄積した未成熟な血液細胞で構成される骨髄増殖性腫瘍である。CML は，多能性造血幹細胞における不完全な DNA 修復による 9 番染色体と 22 番染色体間での染色体相互転座の結果として生じる（Flis and Chojnacki 2019, Manley et al. 2020）（Figure 1-2）。9 番染色体の損傷部位は一般に *Abelson* 遺伝子 1（*ABL1*）のエクソン 2 の上流に存在し，この部位が 22 番染色体上にある *breakpoint cluster region* 遺伝子（*BCR*）の 3 領域のうちの一つに融合している。さまざまな *BCR-ABL1* 融合遺伝子は 3 種類の腫瘍性タンパク質をコードしており，そのうち 210 kDa（p210）の BCR-ABL1 は CML 患者の 95%に発現している（Hantschel and Superti-Furga 2004, Hantschel 2012）。

ABL1 キナーゼは非受容体型チロシンキナーゼで，生理的条件下でその相同体である ABL2 キナーゼとともに，細胞の分化，分裂，接着，形態形成，運動能，DNA 損傷や酸化ストレスに対する応答のプロセスに関与している（Khatri et al. 2016, Blakes et al. 2021）。ABL1 キナーゼ及び ABL2 キナーゼの活性は正常な状態では強固に制御されているが，融合タンパクである BCR-ABL1 では自己制御機構の消失によりその活性は恒常的に活性化している（Manley et al. 2020）。

**Figure 1-2　　*ABL*，*BCR*，及び *BCR–ABL* 遺伝子**




9 番染色体と 22 番染色体の *ABL* 及び *BCR* 遺伝子の位置，フィラデルフィア（Ph）染色体の *BCR-ABL* 融合遺伝子（9 番染色体と 22 番染色体間の染色体相互転座）

Source: Flis and Chojnacki 2019

## 1.1　　作用機序

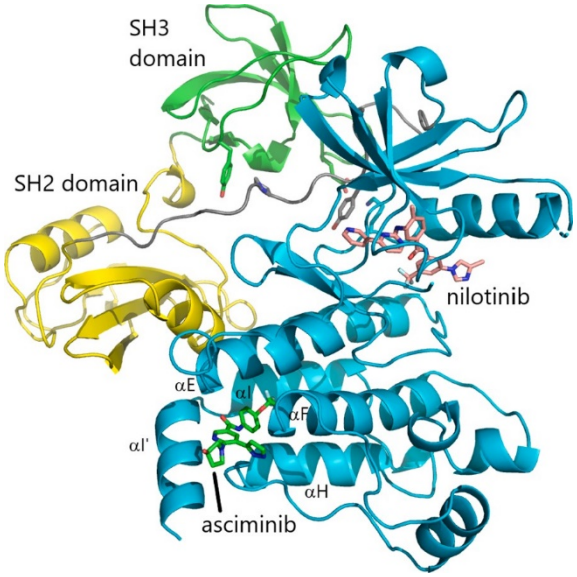
本薬は，新規作用機序を有する強力かつ経口投与可能な BCR-ABL1 阻害薬である（Wylie et al. 2017, Schoepfer et al. 2018, Manley et al. 2020）。アシミニブはアロステリック部位に結合するため，BCR-ABL タンパクのキナーゼ SH1 ドメインのアデノシン三リン酸（ATP）結合部位に結合するイマチニブ（グリベック®），ボスチニブ（ボシュリフ®），ダサチニブ（スプリセル®），ニロチニブ（タシグナ®），及びポナチニブ（アイクルシグ®）等の BCR-ABL チロシンキナーゼ阻害薬とは結合部位が異なる。そのため，既存の BCR-ABL チロシンキナーゼ阻害薬では ATP 結合部位に生じた点突然変異により抵抗性が生じることが知られているが，結合部位の違いから，アシ

ミニブは既存の BCR-ABL チロシンキナーゼ阻害薬に抵抗性を示す患者に対しても有効性が期待される。

Thr315Ile と Asp382Asn の両変異を有する ABL1（46-534）とアシミニブ及びニロチニブによる複合体の X 線結晶構造解析により，アシミニブの ABL1 への結合部位は ATP 競合的阻害薬であるニロチニブとは異なり，キナーゼドメイン C-lobe 深部に位置するミリストイルポケットであることが示された（Figure 1-3）（Wylie et al. 2017, Manley et al. 2020）。野生型 ABL1 では，ミリストイル基の結合による分子内 N-ミリストイル化が自己制御機構において重要な役割を果たしている。N-ミリストイル化により αI ヘリックスに変化が生じ，ABL1 の SH3 ドメインと SH2 ドメインが SH1 のキナーゼドメインに結合して安定で非活性な立体構造が保持される（Nagar et al. 2003）。

一方，BCR-ABL1 では，ABL1 の SH3 ドメインに位置するミリストイル化すべき Ncap 領域（N 末端先端）が BCR との融合タンパク質のフラグメントに置き換えられるため，N-ミリストイル化が生じずに自己制御機構が消失して ABL1 は恒常的に活性化している。アシミニブは ABL1 の N-ミリストイル化に必要なミリストイルポケットに結合し，安定で非活性な立体構造を誘導する（Zhang et al. 2010, Wylie et al. 2017）。一方，DPH（5-(1,3-diaryl-1H-pyrazol-4-yl)hydantoin）のような化合物はミリストイルポケットに結合することにより，αI ヘリックスの屈曲化を構造的に妨げて ABL1 を活性化することが知られている（Yang et al. 2011）。

**Figure 1-3　　アシミニブとニロチニブの ABL1 チロシンキナーゼへの結合部位**




Thr315Ile 及び Asp382Asn 変異を有する ABL1（46-534）とアシミニブ及びニロチニブによる複合体の立体構造。ABL1 の SH3 ドメインを緑，SH2 ドメインを黄色，キナーゼドメイン又は SH1 ドメインを青リボンで示す。ニロチニブ（ピンクの炭素環）及びアシミニブ（緑の炭素環）は，各々，ATP 結合部位及び 5 つのヘリックス（αI，αF，αH，αI'，及び αE）に覆われたミリストイルポケットに結合している。アシミニブはアロステリック部位に結合するため，BCR-ABL タンパクのキナーゼ SH1 ドメインの ATP 結合部位に結合するイマチニブ，ボスチニブ，ダサチニブ，ニロチニブ，及びポナチニブ等の BCR-ABL チロシンキナーゼ阻害薬とは結合部位が異なる。

Source: Manley et al. 2020

## 2 非臨床試験計画の概要及び GLP 適合性

アシミニブの非臨床試験（薬理試験，薬物動態試験，及び毒性試験）は，ノバルティス社又は受託研究機関の試験施設で実施した。

アシミニブの効力を裏付ける試験として，ヒトがん細胞株の増殖に及ぼす影響，野生型 BCR-ABL1 発現 Ba/F3 細胞の増殖に及ぼす影響，BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬への耐性変異を導入した Ba/F3 細胞の増殖に及ぼす影響を *in vitro* により評価した。また，KCL-22 細胞異種移植モデルに対するアシミニブ 1 日 1 回投与及び 1 日 2 回投与の影響，薬効薬理試験における忍容性の検討，急性リンパ芽球性白血病モデルに対するアシミニブの効果，薬物動態学（PK）/薬力学（PD）試験について *in vivo* で評価した。安全性薬理試験は，医薬品規制調和国際会議（ICH）S7 ガイドライン（安全性薬理試験ガイドライン）に従って心血管系，呼吸系及び中枢神経系に関する試験を，主要な試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。

アシミニブの薬物動態特性を明らかにするために，マウス，ラット，ウサギ，イヌ，及びサルにおける吸収・分布・代謝・排泄（ADME）を *in vivo* 及び *in vitro* 試験で検討した。また，毒性試験におけるトキシコキネティクス（TK）を評価した。

アシミニブの毒性試験として，単回及び反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験，局所刺激性試験（皮膚感作性試験），並びにその他の毒性試験（光毒性試験，毒性の発現機序に関する試験，及び不純物の毒性試験）を実施した。主要な毒性試験は，ICH S9 ガイドライン（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて）に従い， GLP に準拠して実施した。

## 3 薬理試験

アシミニブは，新規作用機序を有する強力かつ経口投与可能な BCR-ABL1 阻害薬である（Wylie et al. 2017, Schoepfer et al. 2018, Manley et al. 2020）。その作用機序はイマチニブ（グリベック®），ボスチニブ（ボシュリフ®），ダサチニブ（スプリセル®），ニロチニブ（タシグナ®），及びポナチニブ（アイクルシグ®）等のアデノシン三リン酸（ATP）結合（isosteric 化合物による ATP 競合）部位を標的とする既存の BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬（Manley and Stiefl 2018）とは対照的に，アシミニブは BCR-ABL1 のアロステリック部位であるミリストイルポケットに特異的に結合することにより BCR-ABL1 の ABL1 キナーゼ活性を阻害する。この作用機序の違いから特に STAMP（specifically targeting the ABL myristoyl pocket）阻害薬とも称されている（Manley et al. 2020）。

アシミニブは，アロステリックな作用機序を有するため，ATP 競合的阻害薬への耐性を付与する Thr315Ile 等の点突然変異株に対しても活性を維持している（Eadie et al. 2018）。さらに，アシミニブの結合部位は，ATP 競合的阻害薬の結合部位とは明確に異なるため，アシミニブと ATP

競合的阻害薬を併用投与すれば，いずれかの薬物の結合に影響を及ぼす点突然変異による耐性発現を予防できる可能性がある。

## 3.1 効力を裏付ける試験

アシミニブの ABL1 に対する結合親和性について ABL1（46-534）タンパク質を用いた等温滴定カロリメトリー法により検討した結果，アシミニブの ABL1 に対する $K_D$ 値は 0.5 nM を示した（Manley et al. 2020, Schoepfer et al. 2018）[Table2.6.3.2-RD-2020-00196]。また，Thr315Ile 点突然変異を有する ABL1 タンパク質に対する $K_D$ 値（0.5～0.8 nM）も ABL1 に対するものとほぼ同等であった（Wylie et al. 2017）。放射標識キナーゼアッセイ及び蛍光共鳴エネルギー移動法を用いたリン酸化酵素アッセイにおいて，アシミニブは ABL1（64-515）と基質の結合による自己リン酸化を阻害し，各方法での IC50 値（50%阻害濃度）は 2.6 ± 0.8 nM 及び 0.5 ± 0.1 nM であった（Manley et al. 2020）[Table2.6.3.2-RD-2013-50447]。野生型 BCR-ABL1 のヒト CML 細胞では，BCR-ABL1 依存の増殖に対するアシミニブの 50%阻害濃度（IC50）は 1.7～24 nM であった[2.6.2-2.2.1 項]。

既存の BCR-ABL チロシンキナーゼ阻害薬では ATP 結合部位に生じた点突然変異により抵抗性が生じることが知られているが，結合部位の違いから，アシミニブは既存の BCR-ABL チロシンキナーゼ阻害薬に抵抗性を示す「患者」に対しても有効性が期待される。さらに，ATP 結合部位を標的とする BCR-ABL チロシンキナーゼ阻害薬及びアシミニブを併用することで，点突然変異による治療抵抗性の発現を抑える可能性がある。アシミニブは，BCR-ABL1 の ATP 結合部位には結合しないことから，ATP 競合型阻害薬に耐性の変異株に対しても活性を示す。野生型 BCR-ABL1 に加えて，臨床的に観察されるキナーゼドメインの突然変異である G250H（Gly250His），Q252H（Gln252His），Y253H（Tyl253His），E255K/V（Gly255Lys/Val），T315I（Thr315Ile），F359V（Gly359Val）及び E459K（Glu459Lys）を導入した Luc-BaF3 細胞にアシミニブを作用させた。その結果，アシミニブは，野生型 BCR-ABL1 を導入した Luc-Ba/F3 細胞株の増殖を強力かつ選択的に阻害した（IC50 値 = 0.61 nM）。また，アシミニブは ATP 結合部位と相互作用を示さないため，ATP 部位に結合する BCR-ABL1 チロシンキナーゼの耐性変異を導入した Luc-Ba/F3 細胞に対しても増殖抑制作用を示した（IC50 値：0.7 ～ 10.9 nM）（Schoepfer et al. 2018, Manley et al. 2020）。野生型 BCR-ABL1 を発現した Luc-Ba/F3 細胞に対して，ダサチニブ及びポナチニブの IC50 が 0.30 及び 0.37 nM であり，アシミニブと同等の阻害効果を示した。一方で，ニロチニブ（IC50 値 = 3.52 nM），イマチニブ（IC50 値 = 90.5 nM）及びボスチニブ（IC50 値 = 204 nM）の阻害効果はアシミニブに比べて低かった[2.6.2-2.2.3 項]。

*In vivo* 試験では，BCR-ABL を発現した CML 急性転化期細胞株 KCL-22 の異種移植マウスモデルにアシミニブを 1 日 2 回で 7 日間経口投与した結果，7.5 mg/kg 以上の用量で腫瘍退縮が用量依存的に認められた[Table2.6.3.2-RD-2013-50145]。この有効性は，BCR-ABL 下流の薬力学（PD）マーカーであるシグナル伝達兼転写活性化因子 5（STAT5）のリン酸化（Tyr694）の阻害作用と

の関連性が示唆された。また，T315I 変異型 BCR-ABL1 を発現した異種移植マウスモデルにおいても腫瘍退縮がみられ，Ba/F3 細胞を用いた *in vitro* 活性試験との相関性が認められた。アシミニブのマウスでの半減期は比較的短かった（4 時間未満）ことから，15 mg/kg のアシミニブの 1 日 2 回投与は，30 mg/kg の 1 日 1 回投与よりも高い抗腫瘍効果を示した[Table2.6.3.2-RD-2013-50145]。これらの結果より，ATP 結合部位を標的とする BCR-ABL チロシンキナーゼ阻害薬及びアシミニブを併用することで，点突然変異による治療抵抗性の発現を抑える可能性がある。

## 3.2 副次的薬理試験

ABL1 及び ABL2 キナーゼはヒト組織に偏在的に発現し，広範な生理機構に関与している（Khatri et al. 2016）が，ABL キナーゼ阻害薬であるアシミニブは *BCR-ABL1* や *ABL1* 変異等の発がん変異を来した細胞以外には作用を示さなかった[2.6.2-2.2.1 項]。

アシミニブのオフターゲット作用について検討する目的で，野生型プロテインキナーゼによる ATP から基質へのリン酸基転移に対する影響について，放射性リン酸化アッセイ（$^{33}$PanQinase® Activity Assay）で検討した。すなわち，335 種の野生型プロテインキナーゼを各々の基質存在下で[γ-$^{33}$P]ATP 試薬に反応させ，生じるリン酸基転移（$^{33}$P の基質ペプチドへの取り込み）に対するアシミニブの阻害作用について検討した。その結果，10 µM 濃度まで，プロテインキナーゼ活性に 34%を超える低下（残存活性 ≥ 66%）はみられず，アシミニブは明らかな阻害作用を示さなかった[Table2.6.3.3-RD-2020-00068], [Table2.6.3.3-RD-2020-00069]。これは，アシミニブがアロステリックな作用機序を有するために ATP 結合部位との相互作用を示さず，プロテインキナーゼの触媒活性を阻害しないためと考えられる。なお，14 種の脂質キナーゼに対してもアシミニブは阻害活性を示さなかった。

## 3.3 安全性薬理試験

**Table 3-1 安全性薬理試験の概要**

| 試験の種類 | 試験系 | 投与経路・投与期間 | 用量／濃度 | 特記事項 |
|---|---|---|---|---|
| 安全性薬理 | | | | |
| 心血管系 | HEK293 細胞 | *in vitro* | 0, 1, 3, 10, 30 µM | hERG 阻害作用<br>IC50 = 11.4 µM |
| | CHO 細胞 | *in vitro* | 0.37, 1.1, 3.3, 10, 15, 30 µM | hERG 阻害作用<br>IC50 = 26.2 µM |
| | イヌ | 経口・単回 | 0, 3, 15, 60 mg/kg | 心血管系機能に対する影響は認められなかった。 |
| 中枢神経系<br>呼吸系 | ラット | 経口・4 週間 | 0, 50, 200, 600 mg/kg | 中枢神経系に対する影響は認められなかった。<br>呼吸系に対する影響は認められなかった。 |

Source: [Table 2.6.3.4-RD-2013-50448], [Table 2.6.3.4-1370037], [Table 2.6.3.4-1270621], [Table 2.6.7.7A-1270619]

### 3.3.1 各種受容体等に対する作用

G タンパク質共役型受容体，細胞トランスポーター，イオンチャネル，核内受容体，酵素を含めた 144 種のタンパク質に対するアシミニブ（固体分散体）の阻害活性について検討した。

その結果，10 μM では 5-リポキシゲナーゼ，小胞モノアミントランスポーター2，及びセロトニン 2B 受容体（IC50 値：5.1 μM），10～30 μM では，アデノシン A3 受容体，セロトニン 2A 受容体（IC50：18 μM），ノルエピネフリン・トランスポーター，及びナトリウムチャネル Nav1.5 に対して 50%を超える阻害活性が認められ，その IC50 値は 3.3～29.7 μM であった[Table 2.6.3.4-RD-2013-50448]。

患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したとき（第 I 相試験，CABL001X2101 試験，カットオフ：2020 年 4 月 2 日）の定常状態における最高血漿中薬物濃度（Cmax）は 793 ng/mL，分子量 449.8 であることから Cmax = 1.8 μM と算出される。ヒトの血漿中非結合形分率は 0.027 [Table 2.6.5.6A-DMPK R1300135]であることを踏まえて，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの非結合形 Cmax は 0.048 μM と推定された。IC50 が確認された各種受容体等に対する作用（IC50 値：3.3～29.7 μM）は，患者に臨床用量を投与したときの非結合形 Cmax に比べて 60 倍以上高い濃度であること，アシミニブの脳移行性は低いことを踏まえて，各種受容体等への結合によるオフターゲット作用がヒトに及ぼす影響は低いと考えられた。

## 3.4 心血管系に及ぼす影響

オートパッチクランプシステムにおいて，アシミニブは Nav1.5 チャネル電流を阻害し，IC50 値は 29.7 μM であった[Table 2.6.3.4-RD-2013-50448]。一方，Cav1.2 及び IKs チャネル電流に対しては 30 μM で各々11%及び 5.2%の阻害率を示し，IC50 値は求められなかった[Table 2.6.3.4-RD-2012-50350]。

hERG（human ether-à-go-go-related gene）チャネルを発現させたヒト胎児由来腎臓（HEK293）細胞を用いて検討した結果，アシミニブは 1～30 μM で濃度依存的な阻害が認められ，IC50 値は 11.4 μM（5128 ng/mL）であった（ヒル係数：0.9）[Table 2.6.3.4-1370037]。また，CHO 細胞を用いたオートパッチクランプにおいてアシミニブは hERG チャネル電流を 30 μM で 54.9%阻害した（IC50 値 = 26.2 μM）[Table 2.6.3.4-RD-2013-50448]。

HEK293 細胞における hERG 阻害作用（IC50 値 = 11.4 μM），CHO 細胞における hERG 阻害作用（IC50 値 = 26.2 μM）は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの非結合形 Cmax（0.048 μM）と比較した場合，238 倍又は 546 倍高い濃度であった。

テレメトリー装置を装着したイヌに 0（溶媒），3，15 及び 60 mg/kg のアシミニブを単回経口投与した結果，アシミニブ投与に関連した死亡，一般状態，体重，及び体温の変化はみられなかった[Table 2.6.3.4-1270621]。60 mg/kg 群では拡張期血圧に影響はみられなかったが，収縮期血圧，平均血圧，及び脈圧の低下が認められ，心拍数の増加もみられた。心拍数と平均血圧は投与 17 時間後までに回復したが，収縮期血圧と脈圧は投与 24 時間後においても回復しなかった。心電

図では，心拍数の増加により QT 間隔の短縮がみられたが，心電図波形，QRS 間隔，PR 間隔，心拍数で補正した QT 間隔に影響はみられなかった。なお，3 及び 15 mg/kg ではいずれのパラメータにも影響はみられなかった。

ジャケット式テレメトリー装置を装着したイヌに 30～600 mg/kg のアシミニブを単回経口投与した結果，600 mg/kg 投与の 3 例中 1 例で心血管系への影響（心拍数の増加）が認められた[Table 2.6.7.5-1270174]。600 mg/kg の Cmax は 84.7 µM と換算でき，イヌの血漿中非結合形分率が 0.02 であることを踏まえて非結合形 Cmax は 1.69 µM と算出された[Table 2.6.7.5-1270174]。患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの非結合形 Cmax（0.048 µM）と比較した場合，35 倍高い濃度であった。

なお，それ以外の試験（イヌに最大 4 週間，サルに最大 39 週間投与）では，心電図検査に QT 延長は認められず，心血管系への影響はみられなかった[Table 2.6.7.6-1270561]，[Table 2.6.7.7C-1270620]，[Table 2.6.7.7D-1470095]，[Table 2.6.7.7E-1470799]。

## 3.5 中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響

雌雄ラットにアシミニブを 0（溶媒），50，200，及び 600 mg/kg の用量で 1 日 1 回 29 日間経口投与し，中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響を評価した[Table 2.6.7.7A-1270619]。FOB 観察において 200 mg/kg 以上の雄で過剰な流涎がみられたが，その後の状態観察で回復性が認められたことから有害な変化とは評価されなかった。プレチスモグラフィーを用いた呼吸器パラメータにはいずれの用量においても影響は認められなかった。以上，アシミニブを 600 mg/kg/日まで投与しても，ラットの中枢神経系及び呼吸系に有害な影響は認められなかった。

## 3.6 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし。

# 4 薬物動態試験

本項では，アシミニブの動物における ADME 及び TK 試験の概要を記載する。該当の報告書では，アシミニブの化合物名として，ABL001，CME911 又は NVP-CME911 を使用した。結果の詳細は「2.6.4 薬物動態試験の概要文」に記載した。

マウス，ラット，イヌ，及びサルを用いて薬物動態試験を実施した。毒性試験はマウス，ラット，ウサギ，イヌ，及びサルを用いて実施した。ラット，サル，及びヒトの ADME 試験は $^{14}C$ で標識したアシミニブを用いて実施した。毒性試験では，非標識のアシミニブを用いて TK を評価した。アシミニブの血漿蛋白結合，血球移行性，膜透過性，及び代謝を検討する目的で *in vitro* 試験を実施した。

試験動物で得られた結果をヒトのデータと比較し，毒性試験に用いる動物種の選択，並びに安全性のヒトへの外挿についても評価した。

## 4.1 分析法

*In vitro* 及び *in vivo* 試験で用いるため $^{14}C$ 標識アシミニブを合成した。$^{14}C$ 標識アシミニブはアミド基で標識した。M+5 の安定同位体は生体試料定量分析のための内部標準物質として合成し，3-ヒドロキシピロリジン部位に重水素を導入した[2.6.4-2 項]。

マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サル，及びヒトの血漿試料を用い，液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）によりアシミニブを定量した[2.6.4-2.2 項]。血漿中のアシミニブの定量法は，ラット（Table 2.6.5.2A-DMPK R1300134a-01，Table 2.6.5.2F-DMPK R1800401），イヌ（Table 2.6.5.2B-DMPK R1300134b-01），マウス（Table 2.6.5.2C-DMPK R1300134c-01），サル（Table 2.6.5.2D-DMPK R1400910），及びウサギ（Table 2.6.5.2E-DMPK R1701368）で確立された。ラット，マウス，イヌ，サル，及びウサギでの定量下限（LLOQ）は，いずれも 10.0 ng/mL であった。

放射能濃度を液体シンチレーションカウンター（LSC）により測定した[2.6.4-2.1 項]。臓器及び組織中の放射能濃度を定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）により分析した。$^{14}C$ 標識アシミニブを用いた ADME 試験での代謝物濃度及び代謝物パターンを，オフライン放射能測定器を接続した高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて分析した[2.6.4-2.3 項]。代謝物の構造解析は，液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）又は LC-MS/MS を用いて実施した。

## 4.2 吸収及びバイオアベイラビリティ

マウス，ラット，イヌ，及びサルにおける薬物動態を検討した。

ADME 試験では，ラットに $^{14}C$ 標識アシミニブの遊離塩基の懸濁液を，サルに塩酸塩の懸濁液を経口投与した。血漿中の総放射能 AUC に基づき，吸収率（Fa）はラットで 50.2%，サルで 51.5%であった。ヒトでは，尿中に回収された放射能と糞中に排泄された放射性標識代謝物の合計から Fa は 33%と推定された[2.6.4-3.1 項]。腸内でのグルクロン酸抱合体の脱抱合は，吸収が完了したと考えられる後期の糞便採取時点における代謝物に対するアシミニブの比を用いて説明することができる（Tran et al. 2020）。この補正を適用し，グルクロン酸抱合体がアシミニブに完全に脱抱合されると仮定すると，ヒト ADME 試験における Fa は 57%と推定された [2.6.4-Table 3-1]。しかしながら，本試験から得られたヒトの Fa は過小評価されている可能性がある。胃及び腸の状態を反映するようにデザインされた *in vitro* 試験で観察されたアシミニブ臨床試験用錠剤の過飽和効果は，高い Fa に寄与する主要因子であると考えられている。臨床試験用錠剤の過飽和効果を考慮に入れた生理学的薬物速度論（PBPK）モデルにより，ヒトにおけるアシミニブの PK は精度よく予測され，アシミニブの吸収はほぼ完全であると考えられた（5.3.1.3-1-General Report-ARD000059）。イヌ及びサルに spray-dried dispersion 又は solid dispersion（SDD）製剤を投与した PK 試験において，3 及び 60 mg/kg の用量で投与したときの Fa は，それぞれ 89%及び 82%以上と推定された（$Fa=F/Fg/Fh=F/(Fg*(1-CL_H/Q_H))$ に基づき算出）。サル ADME 試験で塩酸塩懸濁液製剤を用いて測定した Fa（51.5%）と比較して，SDD 製剤を用いたとき Fa は増加した

が，これはアモルファスのアシミニブの溶解性が高いためと考えられる。この結果から，結晶性のアシミニブを用いた動物試験で高用量を投与したときの吸収は溶解度律速であることが示された。

結論として，アシミニブの吸収が膜透過性によって制限される可能性は低い。いずれの動物種においても，経口投与後の Tmax は 0.8～5.3 時間であった[2.6.4-Table 3-3]。

絶対的バイオアベイラビリティ（F）はマウスで 21%，雄性ラットで 9%～49%，イヌで 66%，サルで 37%～76%であった。ヒトにおける F は検討しなかったが，PBPK モデル解析から約 73%であることが示唆されている（5.3.1.3-2-DMPK R2000208）。ラット ADME 試験では，Fa（50.2%）は F（49.3%）と同程度であり，初回通過効果はわずかであることが示唆された。サルにおける Fa（51.5%）は F（36.7%）の 1.4 倍であり，初回通過効果は中程度であることが示唆された。

静脈内投与したときの血液クリアランスは，雄性マウスで 11.5 mL/min/kg，雄性ラットで 14.5～17.3 mL/min/kg，雄性イヌで 6.45 mL/min/kg，雄性サルで 1.81～7.34 mL/min/kg であった[2.6.4-Table 3-2]。算出された血液クリアランスは，マウス，ラット，イヌ，及びサルの肝血流量の 4.15%～31.3%であった。血漿中消失半減期（T1/2）はマウスで 1.1 時間，ラットで 2.7 時間，イヌで 3.7 時間，及びサルで 2.4 時間であった。分布容積は検討したすべての動物種で 0.5～2.2 L/kg であった[2.6.4-3.2 項]。

## 4.3 分布

血漿蛋白結合率はマウス，ラット，イヌ，サル，及びヒトで高かった。血漿中非結合形分率（fu）に種差が認められ，その範囲は 0.020（イヌ）～0.055（ラット）であり，ヒトでは 0.027 であった[2.6.4-4.1 項]。検討した血漿中濃度範囲（20～50000 ng/mL）において，fu に明らかな濃度依存性は認められなかった（マウス，ラット，イヌ，サル，及びヒト）。また，赤血球に分布した比率（$f_{BC}$）は 28.0%（ヒト）～36.8%（マウス）の範囲，血液／血漿中濃度比（Cb/Cp）は 0.80（ヒト）～1.02（マウス）の範囲であり，アシミニブは赤血球よりも血漿中に分布することが示された[2.6.4-4.1 項]。

雄性及び雌性の有色ラットに経口投与したとき，アシミニブ関連物質は脳を除くすべての血管外コンパートメントに分布し，ほとんどの組織から速やかに消失した。経口投与後の曝露量が最も高かった組織は，消化管，腎臓，肝臓，副腎皮質，及び膵臓であった。検討したほとんどの組織で 48 時間以内に放射能は定量下限未満となったが，結腸内容物，肝臓，皮膚，及びブドウ膜では 168 時間後（最終測定時点）においても測定可能な放射能濃度が認められた。雄性アルビノラットでは 168 時間のみ測定したが，肝臓を除き組織中放射能は検出されなかった。肝臓中放射能濃度は有色ラットと同程度であった[2.6.4-4.2 項]。

ラットでの QWBA での検討より，アシミニブの脳への移行はほとんど認められなかった[2.6.4-4.3 項]。生殖組織，すなわち卵巣，子宮，精巣上体，及び精巣への放射能の分布は，組織／血液比で 0.51～1.47 であった[2.6.4-4.2 項]。

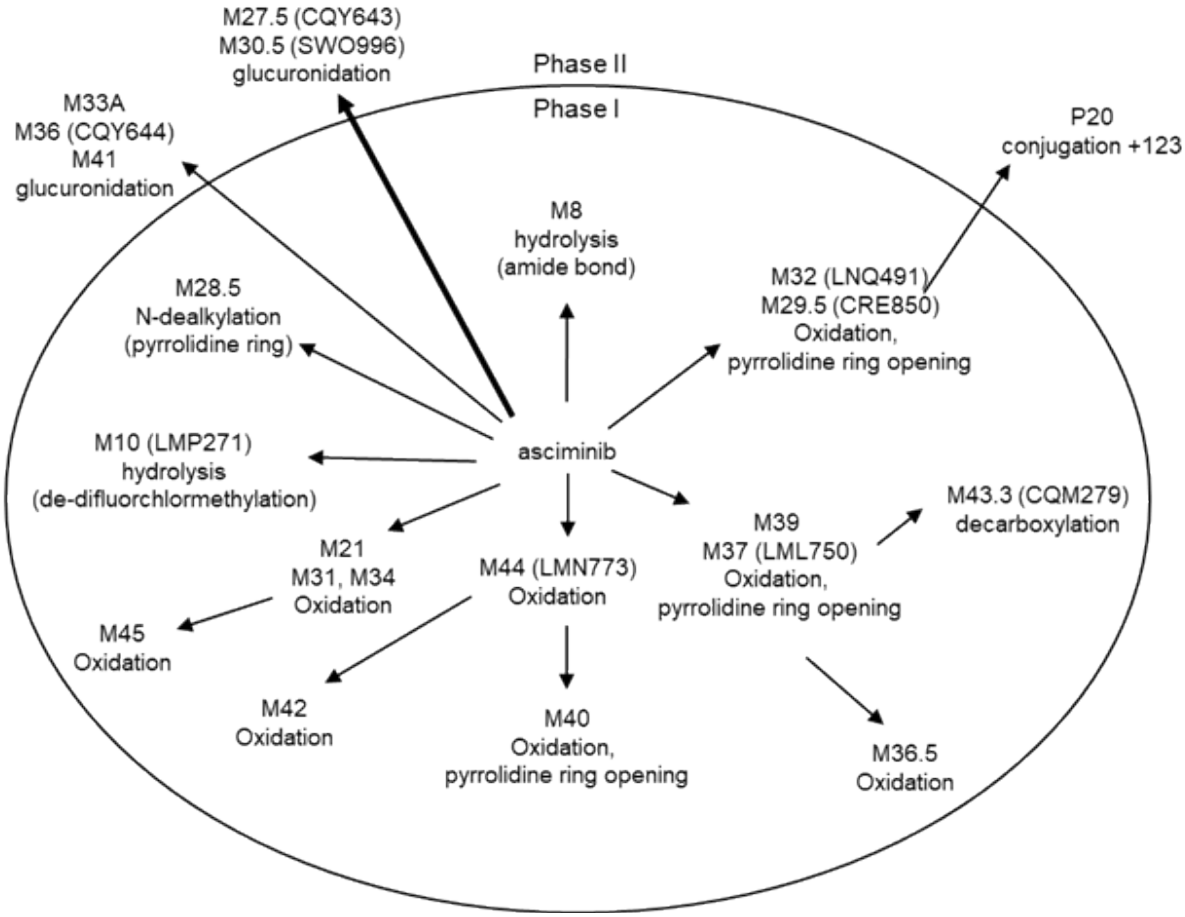
## 4.4 妊娠及び授乳動物

胎盤通過性及び乳汁移行性試験は実施されていない[2.6.4-4.4 項]。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験でアシミニブが胎児血漿中に認められたが，母動物の血漿中に比べて低濃度であったことから，胎盤通過性は低いと考えられた。

## 4.5 代謝

マウス，ラット，ウサギ，サル，及びヒトにおける *in vitro* 及び *in vivo* 代謝を検討した。推定された代謝経路を Figure 4-1 に示した。

**Figure 4-1 *In vitro* 及び *in vivo* でのアシミニブの推定代謝経路**




マウス，ラット，ウサギ，イヌ，サル，及びヒト肝細胞とのインキュベーション，並びにラット，サル，及びヒトにおける *in vivo* ADME 試験の結果に基づく推定代謝経路を示した。アシミニブ及び代謝物の構造式は[2.6.4-Table 11-3]に示す。第 I 相反応は円の内側，第 II 相反応は外側に示した。ヒトにおける主要代謝経路を太字の矢印で示す。

ラットでの主な代謝経路は，投与経路（静脈内及び経口投与）に依存せず，M44 を生成する酸化，ピロリジン環の酸化及び開環により生じる M29.5，M32，M37，及び M39，又は M43.3 への脱炭酸であった[2.6.4-5.2 項]。雄性ラットの血漿中では，アシミニブが主成分であった（静脈内及び経口投与後にそれぞれ総放射能 AUC0-8h の 91%及び 86%）。血漿中で最も多く認められた代謝物は，M44（静脈内：2.7%，経口：4.1%）であった。

サルでの主な代謝経路は，酸化反応及びアシミニブの直接グルクロン酸抱合であった。直接グルクロン酸抱合により M27.5 及び M30.5 に代謝され，M31，M34，M44，及び M45 を生成する酸化経路が認められた。また，ピロリジン環の酸化とそれに続く開環により M37 及び M39 が，それに続く脱炭酸により M43.3 が生成された[2.6.4-5.2 項]。血漿中の主要成分はアシミニブ（静脈

内及び経口投与後にそれぞれ総放射能 AUClast の 91.1%及び 88.4%）であり，次いで代謝物 M31（静脈内及び経口投与後にそれぞれ総放射能 AUClast の 3.15%及び 3.66%）であった。

ヒトでの主な代謝経路は，酸化反応及びアシミニブの直接グルクロン酸抱合であった。直接グルクロン酸抱合により M27.5 及び M30.5 に代謝され，M44 及び M45 を生成する酸化経路が認められた。また，ピロリジン環が酸化された後，M29.5，M37，及び M39 に開環し，その後脱炭酸により M43.3 が生成した[2.6.4-5.2 項]。血漿中の主要成分はアシミニブ（総放射能 AUClast の 92.7%）であり，次いで代謝物 M30.5（総放射能 AUClast の 4.93%）であった。

ラット及びサルに静脈内及び経口投与，ヒトに経口投与したとき，糞中の主な成分はアシミニブであった（経口投与後の投与量%として，ラット：70.8%，サル：37.1%，ヒト：56.7%）。糞中の主要代謝物は，ラットでは M43.3，サルでは M31，M37，及び M39 であった。ヒトに 80 mg の $^{14}C$ 標識アシミニブを経口投与したとき，糞中の主な代謝物は M39 及び M43.3，尿中の主な代謝物は M30.5 であった（5.3.3.1-1-A2102 試験）。グルクロン酸抱合体代謝物 M30.5 は糞中に検出されず，M30.5 をヒト糞とインキュベーションしたときにアシミニブに脱抱合された（Table 2.6.5.10C-DMPK R2000268）ことから，胆汁排泄後に糞中で脱抱合を受けアシミニブに戻ったと考えられた[2.6.4-6.2 項]。検出されたその他の代謝物はいずれも 3 つの動物種で微量であった。

*In vitro* では，毒性試験に用いた動物種であるラット又はサルの肝細胞を用いてインキュベーションしたとき，代謝物 M33A 及び M36 を除き，すべてのヒト代謝物が認められた。これらの代謝物はヒト，イヌ，及びウサギの肝細胞をインキュベーションしたときのみ *in vitro* で認められたが，ラット，サル，又はヒトの血漿又は排泄物中には検出されなかった（Table 2.6.5.10A-DMPK R1300172-01，Table 2.6.5.10B-DMPK R2000114）。ラット及びイヌの肝細胞インキュベーションでは，代謝物 M42（酸化とそれに続くピロリジン開環）が検出された。しかし，この代謝物は *in vivo* のラット，サル，及びヒトでは認められなかった。

検討したいずれの動物種においても，すべての代謝物の血漿中曝露量は，アシミニブと比較して概してわずかであった。アシミニブは，ラットでは総放射能 AUC の約 86%～91%（Table 2.6.5.9A-DMPK R1300136-02），サルでは約 88%～91%（Table 2.6.5.9B-DMPK R1500815），ヒトでは約 93%（5.3.3.1-1-A2102 試験）であった。AUC に基づくと，ヒト血漿中代謝物は総アシミニブ関連物質の 10%未満であった。さらに，臨床試験（80 mg 経口投与，体重 70 kg で 1.14 mg/kg に相当）及び非臨床 ADME 試験（ラット及びサルともに経口投与の NOAEL 30 mg/kg）で得られた血漿試料を比較したところ，いずれの動物種においても定量可能なヒト血漿中代謝物の曝露量比は 1.5 倍以上であった。以上より，「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス（ICH M3(R2)）」に関して代謝物の動物／ヒト曝露量比は十分であることが示された[2.6.4-5.2 項]。

M29.5 及び M44 は薬理活性を有する可能性がある代謝物として同定された。しかしながら，ヒト血漿中曝露量が低いことから，両代謝物の総薬理活性に対する寄与はわずかであると考えられた[2.6.4-5.2 項]。

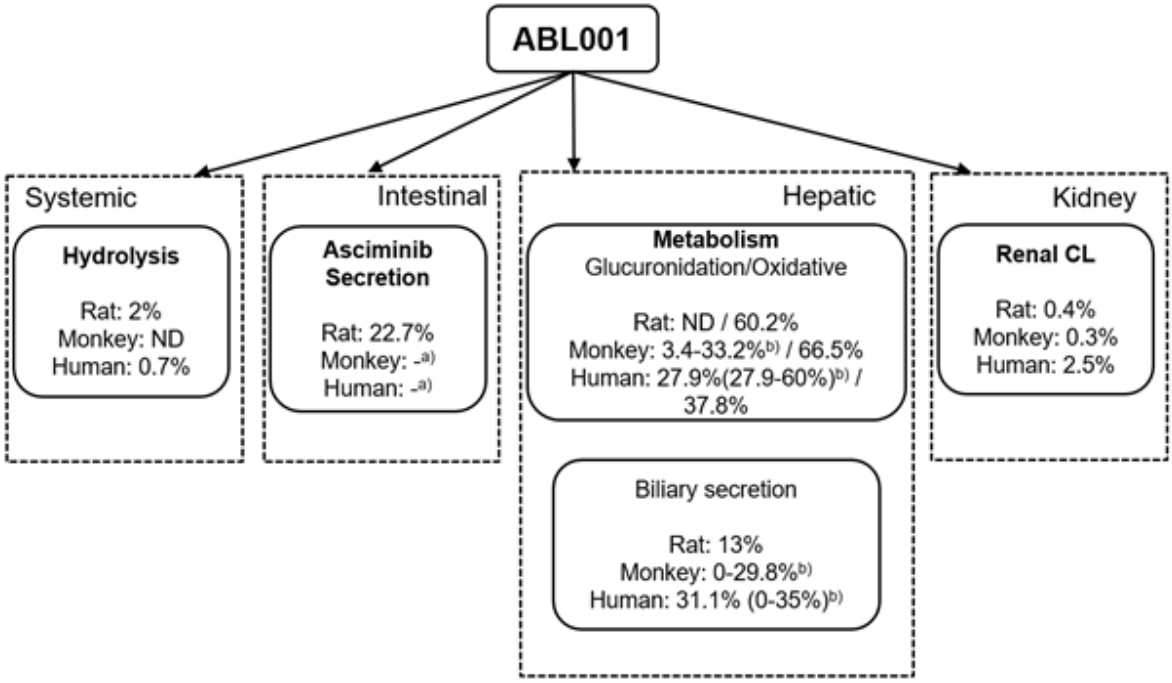
## 4.6 排泄

ヒトの尿及び糞で認められたすべての代謝物は，ラット又はサルのいずれの排泄物中にもヒトの排泄物中の曝露量と同程度又はそれ以上のレベルで存在した[2.6.4-Table 11-4]。ラット，サル，及びヒトにおけるアシミニブの消失経路を Figure 4-2 に示す。

$^{14}$C 標識アシミニブを用いたラット，サル，及びヒトの ADME 試験（Table 2.6.5.9A-DMPK R1300136-02，Table 2.6.5.9B-DMPK R1500815，5.3.3.1-1-A2102 試験）において，消失及び排泄を検討した[2.6.4-6.1 項]。いずれの動物種においても，投与経路にかかわらず，主な排泄経路は糞中であり，尿中排泄の寄与はわずかであった。ラット，サル，及びヒトに経口投与したとき，糞中には 79.5%～94.9%のアシミニブ関連物質が回収され（ヒトで 79.6%），尿中には 1.92%～10.7%が排泄された（ヒトで 10.7%）。ラットに経口投与したとき，アシミニブ関連物質の 76.0%が 24 時間以内に排泄された。一方，サル及びヒトでは排泄が遅く，十分な回収率を得るには概して 168 時間の試料採取が必要であった。総放射能の回収率はラット（投与後 168 時間で 97.0%），サル（投与後 168 時間で 85.7%），及びヒト（投与後 168 時間で 90.6%）のいずれも良好であった。

アシミニブは主に肝代謝及びその後の胆汁を介した糞中排泄により消失した。経口投与後，尿中には投与量の 0.16%～2.5%（ヒトで 2.5%）が，糞中には 37.1%～70.8%（ヒトで 56.7%）が認められた。胆管カニューレを施したラットに静脈内投与したとき，投与量の 22.7%が糞中で未変化体として認められ，胆汁中に投与量の 13.1%が未変化体として回収されたことから，ラットではアシミニブの胆汁中への直接排泄が消失に寄与していることが示唆された[2.6.4-6.2 項]。ヒト糞中の未変化体は投与量の 56.7%であった。しかしながら，アシミニブの吸収はほぼ完全であると考えられている（4.2 項）ことから，ヒトの胆汁中に分泌されたグルクロン酸抱合体は，腸内細菌により糞便中でアシミニブに脱抱合されたと考えられる。M30.5 グルクロン酸抱合体を，ヒト，ラット，及びイヌの糞とインキュベートしたとき，ほぼ完全にアシミニブに戻ることが示された（Table 2.6.5.10C-DMPK R2000268）。また，胆汁への直接分泌もクリアランスに寄与していると考えられている（2.7.2-3.1.7 項）。

**Figure 4-2　　ラット，サル，及びヒトにおける *in vivo* でのアシミニブ（ABL001）の消失経路**




ラット（Table 2.6.5.9A-DMPK R1300136-02）及びサル（Table 2.6.5.9B-DMPK R1500815）における静脈内投与及びヒトにおける経口投与後（5.3.3.1-1-A2102 試験）の排泄データ並びに *in vitro* 表現型の結果に基づく投与量%の推定値。サル及びヒトの胆汁分泌の寄与は小さいと考えられた。

a) 小腸分泌と胆汁分泌の合計を単純化し胆汁分泌の推定値（範囲）として報告した

b) 推定値（範囲）

ND: 未検出

## 4.7　　薬物動態学的薬物相互作用

ヒト *in vitro* 及び *in vivo* 薬物動態学的薬物相互作用試験については，「2.7.2 臨床薬理試験，3.4 項」に示す。

## 4.8　　トキシコキネティクス

マウス，ラット，イヌ，ウサギ，及びサルを用いた毒性試験において TK を評価した[2.6.4-3.3 項]。NOAEL である 30 mg/kg（サル）又は毒性が認められた最低用量（ラット）での動物のアシミニブの曝露量は，概ねヒトにおける推奨用量である 80 mg/day（40 mg BID）での曝露量と同程度又はそれ以上であった。

マウス，ラット，ウサギ，及びイヌでは，血漿中曝露量は概ね用量に比例して増加した。反復投与による累積は認められず，検討したすべての毒性試験の動物種で曝露量に性差は認められなかった。サルの試験では，性別及び試験日にかかわらず，30～100 mg/kg の範囲で血漿中アシミニブの曝露量が用量に比例して増加した。3～30 mg/kg の用量範囲では，アシミニブの曝露量は用量比を上回って増加した。

# 5 毒性試験

アシミニブの毒性試験として，単回及び反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験，局所刺激性試験（皮膚感作性試験），並びにその他の毒性試験（光毒性試験，毒性の発現機序に関する試験，及び不純物の毒性試験）を実施した。毒性試験の供試動物には，一般に使用されているマウス，ラット，ウサギ，イヌ，及びサルを選択した。イヌを用いた反復投与毒性試験では，2～4 週間の反復投与により膵毒性がみられ，他の毒性変化の評価が困難となることが予測されたため，長期反復投与毒性試験にはカニクイザルを選択した。ラット及びサルにおいて，ヒトで認められた代謝経路がすべて認められ，毒性プロファイルを評価するのに十分な曝露量が得られたことから，これらの動物種の選択は妥当と考える。なお，毒性試験の被験物質にはアシミニブ塩酸塩又はアシミニブ固体分散体製剤を供試し，本概要における用量は遊離塩基で表記した。遊離塩基から塩酸塩への分子量換算には，換算係数：1.081 を使用する。

## 5.1 単回投与毒性試験

アシミニブの単回投与毒性については，ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験及びイヌを用いた用量漸増投与毒性試験の成績を用いて評価した。ラットを用いた試験では，600 mg/kg までの用量で死亡及び明らかな毒性徴候は認められず，概略の致死量は 600 mg/kg 超と考えられた[Table 2.6.7.6-1270173]。イヌを用いた試験では，150 mg/kg 及び 600 mg/kg の単回漸増投与では嘔吐がみられたが，死亡は認められず，概略の致死量は 600 mg/kg 超と考えられた[Table 2.6.7.5-1270174]。

## 5.2 反復投与毒性試験

ラット，イヌ，及びカニクイザルを用いて，それぞれ最長で 26 週間，4 週間，及び 39 週間の反復投与毒性試験を実施した。反復投与毒性試験の概要を Table 5-1 に示す。

**Table 5-1 反復投与毒性試験**

| 動物種 | 投与期間 | 投与経路 | 動物数／群 | 用量（mg/kg/日） | 試験番号 |
|---|---|---|---|---|---|
| ラット（Wistar） | 2 週間 | 経口 | 雄 5 | 0, 50, 200, 600 | 1270173 |
| | 4 週間 ＋4 週間休薬 | 経口 | 雄 10，雌 10 ＋雄 6，雌 6 | 0, 50, 200, 600 | 1270619 |
| | 13 週間 ＋4 週間休薬 | 経口 | 雄 10，雌 10 ＋雄 6，雌 6 | 0, 200 | 1470225 |
| | 26 週間 | 経口 | 雄 20，雌 20 | 0, 15, 50, 200 | 1470225 |
| イヌ（ビーグル） | 2 週間 | 経口 | 雄 2，雌 1（0, 15, 60 mg/kg/日群） 雄 2，雌 2（200 mg/kg/日群） | 0, 15, 60, 200 | 1270561 |
| | 4 週間 ＋4 週間休薬 | 経口 | 雄 3，雌 3 ＋雄 2，雌 2 | 0, 3, 15, 60 | 1270620 |

| 動物種 | 投与期間 | 投与経路 | 動物数／群 | 用量（mg/kg/日） | 試験番号 |
|---|---|---|---|---|---|
| サル（カニクイザル） | 1 週間 | 経口 | 雄 3 | 15, 60 | 1470175 |
| | 2 週間 | 経口 | 雄 3 | 150 | 1470175 |
| | 13 週間 + 4 週間休薬 | 経口 | 雄 3，雌 3 + 雄 2，雌 2 | 0, 10, 30, 100 | 1470095 |
| | 39 週間 | 経口 | 雄 4，雌 4 | 0, 3, 15. 50 | 1470799 |

Sources: [Table 2.6.7.6-1270173], [Table 2.6.7.7A-1270619], [Table 2.6.7.7B-1470225], [Table 2.6.7.6-1270561], [Table 2.6.7.7C-1270620], [Table 2.6.7.6-1470175], [Table 2.6.7.7D-1470095], [Table 2.6.7.7E-1470799]

TK の結果から，毒性試験に用いた動物では，概ね用量比例的又は用量比を上回る曝露量の増加が認められた。

反復投与毒性試験では，膵臓，肝臓，造血系，消化管，及び副腎がアシミニブの毒性標的器官である可能性が考えられた。毒性標的器官ごとの結果について，以下に要約を示す。

## 膵臓への影響

膵臓は，イヌのみで毒性標的器官であることが確認され，毒性がみられた曝露量（AUC）は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量よりも低い曝露量で認められた（Table 5-6）。血液生化学的検査用試料採取のタイミングは異なるが，血清のアミラーゼ及びリパーゼ活性の上昇と，剖検時にみられた膵腺房細胞の傷害に相関が認められた。イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験におけるアミラーゼ及びリパーゼ活性の上昇は，試験の中間時点が最も顕著であり，それ以降は軽度となり，膵腺房細胞の傷害が急性（細胞変性壊死）から慢性（線維化及び萎縮）に進行したことと一致した（線維化及び萎縮）。回復性試験動物では，病理組織学的検査において膵臓の線維化及び腺房細胞の再生性変化のみが認められ，休薬による回復性が確認された。しかしながら，高用量群のイヌでは，4 週間の休薬期間後に完全な回復はみられなかった。膵臓毒性の発現機序を検討するために追加試験を実施した（5.8.2 項）。

## 肝臓への影響

肝酵素及びビリルビン値の上昇が，ラット，イヌ，及びサルで認められた。病理組織学的検査でみられた肝臓の変化は，ラットにおける小葉中心性肝細胞肥大，胆管過形成，及び肝細胞壊死，並びにサルにおける可逆的な肝細胞肥大であった。これらの肝臓の変化は，ラットでは，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量と同程度の曝露量で認められた。また，イヌ及びサルにおける変化は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量と比較して，それぞれ約 12 倍及び約 18 倍の曝露量で認められた（Table 5-6）。これらの変化はいずれも休薬による回復性が認められた。

### 造血系に及ぼす影響

軽微から軽度かつ再生性の赤血球系パラメータの低下が，ラット，イヌ，及びサルで認められた。脾臓及び骨髄の色素の増加並びに網状赤血球数の増加もみられており，これらの変化は再生性血管外溶血性貧血と一致するものである。赤血球の変化に伴い，血清コレステロールの増加及びトリグリセリド濃度の変化がみられた。このことから，脂質と赤血球膜とが相互交換し，細胞膜組成の変化を伴う脂質負荷が生じ，赤血球膜の脂質組成が変化することにより循環血中から赤血球が除去されるため，赤血球寿命が短縮する可能性が考えられた。これらの変化は，イヌ及びサルでは，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量（AUC）の約 12 倍及び約 14 倍の曝露量で認められ，ラットでは，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量（AUC）と同程度の曝露量で認められた（Table 5-6）。これらの変化はいずれも休薬による回復性が認められた。

### 十二指腸に対する作用

ラットでは，十二指腸の粘膜肥大／過形成が，アシミニブ高用量群（600 mg/kg/日）でみられた。この用量は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量（AUC）の約 32 倍の曝露量であった（Table 5-6）。本変化は休薬による回復性が認められた。イヌ及びサルでは同様の変化は認められなかった。

### ハーダー腺に対する作用

ラットを用いた毒性試験において，ハーダー腺の空胞化及び単細胞壊死が，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量（AUC）と同程度の曝露量で認められた（Table 5-6）。本変化は休薬による回復傾向が認められた。ヒトにはハーダー腺が存在しないため，ヒトへの外挿性は不明である。

### 副腎への影響について

ラット及びサルにおいて，副腎の肥大及び空胞化減少が認められた。これらの変化がみられた曝露量（AUC）は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量（AUC）の約 19 倍（ラット）及び同程度（サル）であった（Table 5-6）。副腎の変化は，ストレス及びコルチコステロイド産生増加を示唆する変化である可能性が考えられるが，副腎に対する直接的作用の可能性を否定することはできなかった。本変化は休薬による回復性が認められた。

## 5.3 遺伝毒性試験

アシミニブの遺伝毒性試験として，ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験，TK6 細胞及びヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験，並びにラットを用いた小核試験を実施した（Table 5-2）。*In vitro* 遺伝毒性試験において，遺伝子突然変異誘発性及び小核誘発性を示唆する

反応は認められなかった。また，ラットを用いた小核試験においても小核誘発性を示唆する反応は認められなかった。したがって，アシミニブに遺伝毒性はないものと考えられた。

**Table 5-2 遺伝毒性試験**

| 評価項目 | 試験系 | 濃度／用量 | 結果 | 試験番号 |
|---|---|---|---|---|
| ***In vitro*** | | | | |
| 復帰突然変異 | ネズミチフス菌 | ± S9: 5 – 500 µg/well | 陰性 | 1213038 |
| | ネズミチフス菌 | ± S9: 5 – 5000 µg/plate | 陰性 | 1270618 |
| *In vitro* 小核 | TK6 細胞 | 実験 1<br>+ S9: 23.2 – 107.7 µg/mL<br>(3 時間処理 + 24 時間回復)<br>- S9: 8.3 – 38.7 µg/mL<br>(20 時間処理 + 48 時間回復)<br>実験 2<br>- S9: 49.0 – 95.9 µg/mL<br>(3 時間処理 + 24 時間回復)<br>- S9: 20.0 – 31.3 µg/mL<br>(20 時間処理 + 48 時間回復)<br>実験 3<br>- S9: 82.9 – 98.2 µg/mL<br>(3 時間処理 + 24 時間回復) | 陰性 | 1214013 |
| | ヒト末梢血リンパ球 | - S9: 10 − 75 µg/mL<br>(3 時間処理 + 21 時間回復)<br>+ S9: 10 − 70 µg/mL<br>(3 時間処理 + 21 時間回復)<br>- S9: 5 − 50 µg/mL<br>(24 時間処理 + 24 時間回復) | 陰性 | 1670377 |
| ***In vivo*** | | | | |
| 小核 | ラット | 50, 200, 600 mg/kg/日 | 陰性 | 1270619 |

Sources: [Table 2.6.7.8A-1213038], [Table 2.6.7.8B-1270618], [Table 2.6.7.8C-1214013], [Table 2.6.7.8D-1670377] , [Table 2.6.7.9-1270619]

## 5.4 がん原性試験

該当資料なし。

## 5.5 生殖発生毒性試験

アシミニブの生殖発生毒性試験として，ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（Table 5-3），並びにラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（Table 5-4）を実施した。

### 5.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では，雌雄生殖能への影響はみられなかったが，子宮内検査において，200 mg/kg/日群で早期吸収胚数，着床前胚死亡率，及び着床後胚死亡率の高値，並びに着床数及び生存胎児数の低値が認められた。これらの結果に基づ

き，雌雄親動物の一般毒性に対する無毒性量は 200 mg/kg/日，生殖能及び初期胚発生に対する無作用量は 50 mg/kg/日と判断された。

**Table 5-3 受胎能及び初期胚発生に関する試験**

| 試験の種類 | 試験系 | 投与経路 | 動物数／群 | 用量（mg/kg/日） | 投与期間 | 試験番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 受胎能 | ラット | 経口 | 雌雄各 24 | 0, 10, 50, 200 | 雄：交配前 4 週間，交配期間中及び剖検前日まで<br>雌：交配前 2 週間，交配期間中及び妊娠 6 日まで | 1570166 |

Sources: [Table 2.6.7.12-1570166]

### 5.5.2 胚・胎児発生に関する試験

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，胚・胎児致死作用及び催奇形性が認められた。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，アシミニブの 600 mg/kg/日群では母動物において忍容性がみられなかったため，この群は途中安楽死させた。主に 150 mg/kg/日群の胎児で泌尿器及び骨格（頭蓋骨，脊柱，及び肋骨）に変異がみられたことから，発生への影響が示唆された。150 mg/kg/日群で奇形（心臓奇形）及び一部の内臓変異の発現頻度の軽度増加が認められたことから，胚・胎児発生に対する影響が示唆された。低用量の 25 mg/kg/日群では胎児奇形はみられなかったが，胎児体重増加が認められた。25 mg/kg/日群でみられた胎児体重の高値の毒性学的意義は不明であり，胎児の一過性の発達亢進を反映した変化である可能性が考えられるが，本試験の成績のみでは正確に判断できなかった。150 mg/kg/日群の曝露量（AUC）は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量（AUC）の約 15 倍であった（Table 5-7）。胎児に対する無毒性量である 25 mg/kg/日群の曝露量（AUC）は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量と同等であった（Table 5-7）。

ウサギを用いた用量設定試験では，500 mg/kg/日の用量で忍容性は認められなかった。200 mg/kg/日以上の群で吸収胚の増加並びに心臓及び大血管の異常の発現頻度が増加した。これらの変化は胚・胎児致死作用及び異常形態発生（催奇形性）を示唆するものであった。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では，300 mg/kg/日群で母動物 6 例を妊娠 13～14 日に安楽死処分し，同群を妊娠 15～18 日に早期試験終了した。50 mg/kg/日群では，胚・胎児死亡を示す吸収胚の発現頻度増加及び異常形態発生を示す低頻度の心臓奇形が認められた。胎児発達への影響は認められなかった。15 mg/kg/日群では，母動物及び胎児への影響はみられなかった。50 mg/kg/日群の曝露量（AUC）は，患者に 40 mg を 1 日 2 回投与したときの曝露量の約 4 倍であ

った（Table 5-7）。胎児に対する無毒性量である 15 mg/kg/日群の曝露量（AUC）は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量と同等であった（Table 5-7）。

**Table 5-4　　胚・胎児発生に関する試験**

| 試験の種類 | 試験系 | 投与経路 | 動物数／群 | 用量（mg/kg/日） | 投与期間 | 試験番号 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 胚・胎児発生 | ラット | 経口 | 雌 24 | 0, 25, 150, 600 | 妊娠 6～17 日 | 1470272 |
| 胚・胎児発生<br>用量設定 | ウサギ | 経口 | 雌 6<br>雌 3 | 0, 50, 200, 300<br>500 | 妊娠 7～20 日 | 1470226 |
| 胚・胎児発生 | ウサギ | 経口 | 雌 20 | 0, 15, 50, 300 | 妊娠 7～20 日 | 1470271 |

Sources: [Table 2.6.7.13A-1470272], [Table 2.6.7.11-1470226], [Table 2.6.7.13B-1470271]

### 5.5.3　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

該当資料なし。

### 5.5.4　幼若動物を用いた試験

該当資料なし。

### 5.5.5　生殖発生毒性試験全体の評価

ラット，イヌ，及びサルを用いた反復投与毒性試験では，病理組織学的検査において雌雄生殖器に変化は認められなかった。ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では，雌雄の生殖能への影響は認められなかったが，子宮内検査において，200 mg/kg/日群で早期吸収胚数，着床前胚死亡率，及び着床後胚死亡率の高値，並びに着床数及び生存胎児数の低値が認められた。ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では TK は評価されなかったが，ラットを用いた 26 週間投与毒性試験で得られた曝露量に基づくと，200 mg/kg/日を投与したときの雄の AUC は 203000 ng.h/mL 以上であった[Table 2.6.7.7B-1470225]。これらの曝露量は，患者に 40 mg を 1 日 2 回投与したときの曝露量の 19 倍以上であった。ラット及びウサギにおいて，それぞれ 150 mg/kg/日及び 50 mg/kg/日で胚・胎児致死作用及び催奇形性が認められた。これらの用量での母動物の曝露量（AUC）は，患者に 40 mg を 1 日 2 回投与したときの曝露量の約 15 倍及び約 4 倍高かった（Table 5-7）。

これらのデータに基づき，妊娠可能な女性は，投与期間中及び最終投与後少なくとも 3 日間（半減期の 5 倍に相当）は有効な避妊法を用いる必要がある。妊娠した場合は，本剤投与による胎児へのリスクについて患者に十分説明する必要がある。ヒト乳汁中への移行は不明であり，投与期間中及び最終投与後少なくとも 3 日間は授乳を避けるように注意喚起する予定である。

ヒト精液中の濃度は測定されていないが，アシミニブの投与を受けた男性患者の曝露量（Cmax）からヒト精液中の濃度を推定算出した。最も保守的なシナリオとして，200 mg BID の用量で投与した男性患者の Cmax を考慮すると，精液中のアシミニブの量は，$285 \times 10^3$ ng と推定

された［精液中のアシミニブ量 = 5704 ng/mL（Study ABL001X2101 より，定常状態における Cmax，血漿の幾何平均値の最高値）× 10（精液／血漿比の最大値）× 5 mL（精液量）］。その結果，精液を介した女性パートナーの曝露量は 3.2 ng/mL と算出された［Cplasma，female = 285 × $10^3$ ng（精液中のアシミニブの量）／89 L 以上（Vd，見かけの分布容積），女性パートナーにおけるバイオアベイラビリティを 100%と仮定］。胎児への影響に関する無毒性量はラット及びウサギでそれぞれ 25 mg/kg/日及び 15 mg/kg/日，Cmax はそれぞれ 1890 ng/mL 及び 2200 ng/mL であり，ヒト曝露量比に対する安全域はラットで 590 倍，ウサギで 687 倍であった（安全域 = 胚・胎児発生に関する試験の無毒性量における Cmax／精液を介した女性パートナーの曝露量）。また，40 mg BID の用量で投与した男性患者の Cmax（798 ng/mL，定常状態における血漿中濃度）を考慮すると，精液中のアシミニブ量が 39.9 × $10^3$ ng，精液を介した女性パートナーの曝露量が 0.45 ng/mL と推定され，安全域はラット及びウサギでそれぞれ 4200 倍及び 4889 倍であった。精液中濃度及び発生中の胚・胎児への曝露の可能性に基づき，40 mg BID 以上の用量でアシミニブを投与した男性患者の曝露量を用いてヒト曝露量比に対する安全域を推定した結果，発育中の胚／胎児に対する有害作用のリスクは無視できる程度であり，男性の避妊は必要ないと考えられる。なお，本見解は，Clinical Trial Facilitation Group 2014 ガイダンス及び FDA Guidance for Industry 2011 の曝露量比における安全域の考え方より支持されるものである。

## 5.6 曝露量の比較

アシミニブのラット，イヌ，及びカニクイザルを用いた毒性試験の無毒性量における曝露量とヒト最高臨床用量（40 mg を 1 日 2 回）における曝露量との比較を Table 5-5 に示す。サルにおける無毒性量での曝露量は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの AUC の 14 倍以上であった。ラット及びイヌにおける最低投与量での曝露量は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの曝露量と同等又はそれ未満であった。反復投与毒性試験の毒性発現用量における曝露量と臨床用量におけるヒト曝露量との曝露量比を Table 5-6 に示す。また胚・胎児発生に関する試験の無毒性量における母動物の曝露量と臨床用量におけるヒト曝露量との曝露量比を Table 5-7 に示す。

**Table 5-5 反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量比**

| 試験の種類（試験番号） | 無毒性量（mg/kg/日） | 性 | AUC0-24h（ng h/mL）[a] | Cmax（ng/mL）[a] | 曝露量比 [b] | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | AUC 比 | Cmax 比 |
| 4-week, rat | 50 [c] | 雄 | 50200 | 5450 | 4.77 | 6.87 |
| （1270619） | 50 [c] | 雌 | 59600 | 5200 | 5.66 | 6.56 |
| 26-week, rat | 15 [c] | 雄 | 15600 | 2140 | 1.48 | 2.70 |
| （1470225） | 15 [c] | 雌 | 14500 | 1490 | 1.38 | 1.88 |
| 4-week, dog | 3 [c] | 雄 | 6050 | 871 | 0.57 | 1.10 |
| （1270620） | 3 [c] | 雌 | 7070 | 1070 | 0.67 | 1.35 |
| 13-week, monkey | 30 | 雄 | 155000 | 12600 | 14.73 | 15.89 |

| 試験の種類（試験番号） | 無毒性量（mg/kg/日） | 性 | AUC0-24h（ng h/mL）[a] | Cmax（ng/mL）[a] | 曝露量比 [b] | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | AUC 比 | Cmax 比 |
| （1470095） | 30 | 雌 | 181000 | 13300 | 17.20 | 16.77 |
| 39-week, monkey | 50 | 雄 | 190000 | 13400 | 18.05 | 16.90 |
| （1470799） | 50 | 雌 | 222000 | 14400 | 21.09 | 18.16 |

Source: [Table 2.6.7.7A-1270619], [Table 2.6.7.7B-1470225], [Table 2.6.7.7C-1270620], [Table 2.6.7.7D-1470095], [Table 2.6.7.7E-1470799]

a：投与期間終了時の測定値

b：臨床用量 40 mg BID（第 I 相試験，Study CABL001X2101，カットオフ：2020 年 4 月 2 日）の定常状態における測定値（Cmax: 793 ng/mL，AUC0-24h: 10525 ng h/mL）から算出

c：無毒性量が設定できなかったため最低用量を用いて算出

## Table 5-6 反復投与毒性試験の毒性用量における曝露量比

| 試験の種類（試験番号） | 毒性用量（mg/kg/日） | 性 | AUC0-24h（ng h/mL）[a] | Cmax（ng/mL）[a] | 曝露量比 [b] | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | AUC 比 | Cmax 比 |
| 膵臓 | | | | | | |
| 4-week, dog | 3 | 雄 | 6050 | 871 | 0.57 | 1.10 |
| （1270620） | | 雌 | 7070 | 1070 | 0.67 | 1.35 |
| 肝臓 | | | | | | |
| 26-week, rat | 15 | 雄 | 15600 | 2140 | 1.48 | 2.70 |
| （1470225） | | 雌 | 14500 | 1490 | 1.38 | 1.88 |
| 2-week, dog | 60 | 雄 | 197000 | 14100 | 18.72 | 17.78 |
| （1270561） | | 雌 | 127000 | 15800 | 12.07 | 19.92 |
| 39-week, monkey | 50 | 雄 | 190000 | 13400 | 18.05 | 16.90 |
| （1470799） | | 雌 | 222000 | 14400 | 21.09 | 18.16 |
| 造血系 | | | | | | |
| 26-week, rat | 15 | 雄 | 15600 | 2140 | 1.48 | 2.70 |
| （1470225） | | 雌 | 14500 | 1490 | 1.38 | 1.88 |
| 2-week, dog | 60 | 雄 | 197000 | 14100 | 18.72 | 17.78 |
| （1270561） | | 雌 | 127000 | 15800 | 12.07 | 19.92 |
| 13-week, monkey | 30 | 雄 | 155000 | 12600 | 14.73 | 15.89 |
| （1470095） | | 雌 | 181000 | 13300 | 17.20 | 16.77 |
| 十二指腸 | | | | | | |
| 4-week, rat | 600 | 雄 | 337000 | 21900 | 32.02 | 27.62 |
| （1270619） | | 雌 | 457000 | 31100 | 43.42 | 39.22 |
| ハーダー腺 | | | | | | |
| 26-week, rat | 15 | 雄 | 15600 | 2140 | 1.48 | 2.70 |
| （1470225） | | 雌 | 14500 | 1490 | 1.38 | 1.88 |
| 副腎 | | | | | | |
| 13-week, rat | 200 | 雄 | 203000 | 15900 | 19.29 | 20.05 |
| （1470225） | | 雌 | 293000 | 21500 | 27.84 | 27.11 |

| 試験の種類（試験番号） | 毒性用量（mg/kg/日） | 性 | AUC0-24h（ng h/mL）[a] | Cmax（ng/mL）[a] | 曝露量比 [b] | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | AUC 比 | Cmax 比 |
| 39-week, monkey（1470799） | 15 | 雄 | 15600 | 1960 | 1.48 | 2.47 |
| | | 雌 | 45200 | 4480 | 4.29 | 5.65 |

Source: [Table 2.6.7.7A-1270619], [Table 2.6.7.7B-1470225], [Table 2.6.7.7C-1270620], [Table 2.6.7.7D-1470095], [Table 2.6.7.7E-1470799], [Table 2.6.7.6-1270561]

a：投与期間終了時の測定値

b：臨床用量 40 mg BID（第 I 相試験，Study CABL001X2101，カットオフ：2020 年 4 月 2 日）の定常状態における測定値（Cmax: 793 ng/mL，AUC0-24h: 10525 ng h/mL）から算出

**Table 5-7　胚・胎児発生に関する試験の無毒性量における曝露量比**

| 試験の種類（試験番号） | 無毒性量（mg/kg/日） | AUC0-24h（ng h/mL）[a] | Cmax（ng/mL）[a] | 曝露量比 [b] | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | AUC 比 | Cmax 比 |
| ラット（1470272） | 25: 胚・胎児 | 14500 | 1890 | 1.38 | 2.38 |
| | 150: 母動物 | 161000 | 13200 | 15.30 | 16.65 |
| ウサギ（1470271） | 15: 胚・胎児 | 11300 | 2200 | 1.07 | 2.77 |
| | 50: 母動物 | 45900 | 6330 | 4.36 | 7.98 |

Source: [Table 2.6.7.13A-1470272], [Table 2.6.7.13B-1470271]

a：投与期間終了時の測定値

b：臨床用量 40 mg BID（第 I 相試験，Study CABL001X2101，カットオフ：2020 年 4 月 2 日）の定常状態における測定値（Cmax: 793 ng/mL，AUC0-24h: 10525 ng h/mL）から算出

## 5.7　局所刺激性試験

アシミニブの皮膚感作性について，マウスを用いた局所リンパ節試験（LLNA）により評価した[Table 2.6.7.16-514323]。0.25%以上の濃度のアシミニブを両耳介背面皮膚に 3 日間反復塗布した結果，強い感作性物質の閾値（< 1%）を上回るリンパ節細胞数の増加が認められたことから，アシミニブは皮膚感作性物質と考えられた。

## 5.8　その他の毒性試験

### 5.8.1　光安全性評価

光毒性試験として，*in vitro* 3T3 ニュートラルレッド取り込み法（3T3 NRU）による光毒性試験[Table 2.6.7.17B-1115610]及びマウスを用いた皮膚光感作性試験（UV-LLNA）[Table 2.6.7.17B-1270766]を実施した。*In vitro* 3T3 NRU 光毒性試験において，Photo-Irritation-Factor（PIF，光毒性係数）が 42 であったことから，アシミニブは光毒性物質と考えられた。マウスを用いた皮膚光感作性試験では，200 mg/kg/日以上の群で用量依存的な光感作性を示唆する反応が認められた。無毒性量は 60 mg/kg/日（Cmax: 12000 ng/mL）と考えられ，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの Cmax の約 15 倍であった。

### 5.8.2 毒性の発現機序に関する試験

イヌを用いた反復投与毒性試験では，膵臓への影響を示唆する病理組織学的変化が認められたことから，膵毒性の発現機序に関する試験を実施した。

#### 5.8.2.1 膵毒性の発現機序に関する試験

イヌにおける膵毒性の発現機序を検討する目的で，膵毒性発現についての探索的試験を実施した。

イヌに 60 mg/kg/日の用量でアシミニブを単回及び 2 週間投与した試験[Table 2.6.7.17C-1370559]では，アシミニブの単回投与では忍容性がみられた一方で，アシミニブの 2 週間反復投与では忍容性はみられず，全例に膵腺房細胞の線維増殖を伴う変性又は萎縮がみられた。重篤な膵臓の病理組織学的変化がみられた 1 例において，アミラーゼ及びリパーゼの高値，並びに膵臓関連マイクロリボ核酸（miRNA）シグネチャーの増加との関連性が認められた[Table 2.6.7.17C-DIS R2020079]。

イヌに 60 mg/kg/日の用量でアシミニブを 3 日間又は 7 日間投与した試験[Table 2.6.7.17C-1770677]では，膵臓の病理組織学的変化は 7 日間投与したイヌのみで認められ，初期の病理組織学的変化に関連してアミラーゼ及びリパーゼの高値が認められた。遺伝子発現解析では，膵腺房細胞の変性につながる直接の細胞毒性作用を示唆する変化は認められなかった。

蛋白質配列の相同性及び立体構造モデルを用いた評価に基づき，アシミニブはラット，ウサギ，イヌ，カニクイザル，及びヒトの ABL1 / ABL2 に対して同様の結合親和性を有すると考えられる[Table 2.6.7.17C-DIS R2020080]。ラット，イヌ，及びサルにおける代謝及び血漿蛋白結合に大きな差は認められなかった（4.3 項，4.5 項）。また，アシミニブ投与時のラット[Table 2.6.5.5A-DMPK R1500105]及びイヌ[Table 2.6.7.17C-1770677]の膵臓／血液の曝露量比（Cmax）について，明らかな差はみられなかった。非臨床試験の TK 結果に基づき，ラット及びサルにおけるアシミニブの曝露量はイヌにおけるアシミニブの曝露量よりも高かったが，ラット及びサルにおいて膵臓への影響は認められなかった。

以上より，イヌを用いた毒性の発現機序に関する試験では膵毒性の発現機序は明らかにならなかったが，アミラーゼ及びリパーゼの高値と病理組織学的変化との関連性が認められた。また，遺伝子発現解析では，膵腺房細胞の変性につながる遺伝子発現の変化は認められなかった。

## 6 不純物

ICH Q3 ガイドラインに準じて，本剤に含まれる不純物の安全性を確認した。原薬又は製剤中の安全性確認の必要な閾値を上回る不純物として特定された不純物 類縁物質A*は，代謝物 類縁物質A*と同一であることから安全性は既に確認されているものと判断した。さらに，不純物添加バッチを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験において，不純物によるアシミニブの毒性プロファイルに対する影響はないことを確認した[Table 2.6.7.17A-1870206]。また，（定量的）構造活性相関

＊ 新薬承認情報提供時に置き換えた

［(Q)SAR］手法により警告構造が予測された潜在的な変異原性不純物については，細菌を用いた復帰突然変異試験の実施又はクラス 3 不純物として管理することにより対応した。復帰突然変異試験により変異原性が認められた 6 種類の不純物については，クラス 2 不純物として管理する予定である。

以上のとおり，本剤に含まれる実際の不純物の規格値までの安全性は確認され，潜在的な変異原性不純物については適切に管理されることから，いずれも問題はないものと考えられた。

# 7 安全性の総合評価

アシミニブの非臨床安全性評価を目的として，安全性薬理試験，単回及び反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，生殖発生毒性試験，局所刺激性試験（皮膚感作性試験），光毒性試験，毒性の発現機序に関する試験，並びに不純物の毒性試験を ICH S9 ガイドライン及び安全性に関するその他の ICH ガイドラインに準拠して実施した。

アシミニブの安全性薬理試験では，中枢神経系及び呼吸系に有害な影響は認められなかった。アシミニブは hERG チャネル電流を阻害し，その IC50 値は 11.4 μM であったが，イヌの *in vivo* 試験において 600 mg/kg までの単回経口投与で心血管系に有害な影響（QT 延長及び心電図の変化）は認められなかった。

反復投与毒性試験では，膵臓，肝臓，造血系，消化管，及び副腎が毒性標的器官である可能性が考えられた。いずれの所見も 4 週間の休薬期間後に回復又は回復傾向を示した。肝臓，造血系への影響は，関連する血液学的又は血液生化学的変化（肝臓：肝酵素及びビリルビン高値，造血系：赤血球系パラメータの減少及び網状赤血球の増加）を伴っていた。膵臓はイヌの毒性標的器官として確認され，膵毒性は予定臨床用量（40 mg BID）を投与したヒトにおける曝露量（AUC）よりも低い曝露量で認められた。イヌを用いた毒性の発現機序に関する試験では膵毒性の発現機序は明らかにならなかったが，アミラーゼ及びリパーゼの高値と病理組織学的変化との関連性が認められた。遺伝子発現解析では，膵腺房細胞の変性につながる遺伝子発現の変化は認められなかった。カニクイザルを用いた反復投与毒性試験では，39 週間までの投与により，臨床用量におけるヒト曝露量の約 18 倍の高値においても膵臓の病理組織学的変化は認められなかった。副腎及び消化管（十二指腸）で認められた変化のヒトへの外挿性は，現在得られているデータからは不明であった。

サルにおける無毒性量での曝露量は，患者に 40 mg の用量を 1 日 2 回投与したときの AUC の 14 倍以上である一方で，ラット及びイヌにおける最低投与量での曝露量は，臨床用量のヒト曝露量と同等又はそれ未満であった。

*In vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において，アシミニブの遺伝毒性は認められなかった。

胚・胎児発生に関する試験では，ラット及びウサギにおいて胚・胎児致死作用及び催奇形性が認められた。受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では，早期吸収胚数及び着床後胚死亡数の高値，着床数及び生存胎児数の低値が認められた。妊娠可能な女性には，本剤の投与期間

中及び最終投与後少なくとも 3 日間（半減期の 5 倍に相当）は有効な避妊法を使用するよう指導する必要がある。妊婦又は妊娠している可能性のある女性には，治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与することを添付文書にて注意喚起する予定である。また，動物又はヒトにおいて，アシミニブが乳汁中に移行するかどうかは不明であるため，本剤の投与期間中及び最終投与後少なくとも 3 日間（半減期の 5 倍に相当）は授乳しないことが望ましい旨を添付文書にて注意喚起する予定である。

アシミニブの *in vitro* 及び *in vivo* 光毒性試験では，光毒性の可能性が示唆された。

不純物について ICH Q3 ガイドラインに準じて評価し，実際の不純物については規格値までの安全性を確認した。また，潜在的な変異原性不純物については適切な管理措置を講じることとした。

以上のとおり，アシミニブの非臨床試験では本剤の臨床使用を妨げるような重篤な毒性は認められなかった。すべての毒性変化において休薬による回復又は回復傾向が認められた。したがって，本概要に示した非臨床安全性試験成績は，前治療薬に抵抗性又は不耐容の CML 成人患者の治療を目的として，添付文書に規定される用法・用量に従った本剤の使用を支持するものと考えられた。

# 8 結論

アシミニブは強力かつ経口投与可能な BCR-ABL1 チロシンキナーゼ阻害薬であり，BCR-ABL1 のアロステリック部位であるミリストイルポケットに特異的に結合する。このアロステリック部位は，本来，ABL キナーゼ活性を制御しているが，*BCR-ABL1* 遺伝子融合によってその機能を失うことで，ABL チロシンキナーゼが恒常的に活性化し，白血病細胞の増殖を促進するシグナル伝達経路の調節機能に異常を示す。アシミニブは，このアロステリック部位に結合し，ABL キナーゼ活性の制御を正常化することで，BCR-ABL1 を発現する CML 細胞の増殖を強力かつ選択的に阻害することが期待される。また，STAMP（specifically targeting the ABL myristoyl pocket）阻害薬とも称されている。

*In vitro* 生化学的活性試験では，アシミニブは *BCR-ABL1* 融合タンパク質のキナーゼドメインのアロステリック部位に対して高い親和性で結合し，ABL1 キナーゼ活性を強力に阻害した。*BCR-ABL1* がん遺伝子を発現するヒト由来白血病細胞の増殖に対するアシミニブの特異的阻害能についても評価した結果，BCR-ABL1 依存の増殖に対するアシミニブの阻害能（IC50）は 1.7～24 nM であった。アシミニブは，野生型 BCR-ABL1 を導入した Luc-Ba/F3 細胞株の増殖を強力かつ選択的に阻害した。アシミニブは ATP 結合部位と相互作用を示さないため，ATP 部位に結合する BCR-ABL1 チロシンキナーゼの耐性変異を導入した Luc-Ba/F3 細胞に対しても増殖抑制作用を示した。*In vivo* 薬理試験では，BCR-ABL1 を発現した急性転化期のヒト CML 由来の KCL-22 細胞株を異種移植したマウスモデルにアシミニブを 1 日 1 回 11 日間又は 1 日 2 回で 7 日間経口投

与した結果，7.5 mg/kg 以上の用量で腫瘍退縮が認められた。この有効性には，BCR-ABL1 下流の PD マーカーである STAT-5 の阻害作用との関連性が示唆された。

アシミニブは検討したすべての動物種で吸収は良好（ラットで 50.2%，サルで 51.5%）であり，バイオアベイラビリティは中程度（マウスで 21%，ラットで 9%～49%，イヌで 66%，サルで 37%～76%），蛋白結合率は高かった（非結合形分率として 0.020～0.055）。アシミニブ又は代謝物は大部分の組織に分布し，全体的な分布のプロファイルは雄性及び雌性ラットで同様であった。雄性及び雌性ラットで脳への移行はほとんど認められなかった。ヒトで観察されたすべての代謝経路は動物でも確認された。また，ヒトで同定されたすべての代謝物は 1 種以上の動物種でも確認された。ラット及びサルの血漿中代謝物の曝露量はヒトに 80 mg 投与時の曝露量の 1.5 倍以上であった。すべての動物種で，主な排泄経路は糞中（ヒトで投与量の 79.6%）であり，腎排泄はわずかであった（ヒトで投与量の 10.7%）。肝機能及び代謝に関与する酵素活性の変動（薬物相互作用等）はアシミニブの消失に影響を及ぼす可能性がある。

副次的薬理試験において，アシミニブは ATP 競合型阻害薬とは異なり ABL 又は BCR-ABL1 に優れた選択性を有するため，他のプロテインキナーゼへのオフターゲット作用を示さなかった。

安全性薬理試験では，中枢神経系及び呼吸系に有害な影響は認められなかった。アシミニブは hERG チャネル電流を阻害し，その IC50 値は 11.4 μM であったが，イヌの *in vivo* 試験において 600 mg/kg までの単回経口投与で心血管系に有害な影響（QT 延長及び心電図の変化）は認められなかった。

ラット，イヌ，及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験において，膵臓，肝臓，造血系，副腎，及び消化管が毒性標的器官として特定された。イヌで認められた膵毒性に関する探索的試験では，膵毒性の発現機序は明らかではなかったが，病理組織学的変化に伴うアミラーゼ及びリパーゼの高値が確認された。*In vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において，アシミニブの遺伝毒性を示唆する変化は認められなかった。ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では，雌雄の生殖能に対する影響はみられなかったが，子宮内検査では，早期吸収胚数及び着床後胚死亡数の高値，着床数及び生存胎児数の低値が認められた。胚・胎児発生に関する試験では，ラットで胎児の外表及び内臓異常，並びに内臓及び骨格変異の発現頻度の高値，ウサギで吸収胚数の高値，生存胎児数の低値，及び低頻度の内臓異常が認められ，本薬の胚・胎児致死作用及び催奇形性が示唆された。*In vitro* 及び *in vivo* 光毒性試験において，アシミニブの光毒性を示唆する変化が認められた。ICH Q3 ガイドラインに準じた不純物の安全性評価を行い，実際の不純物については規格値までの安全性を確認し，潜在的な変異原性不純物については適切な管理措置を講じることとした。本概要に示す毒性試験では本剤の臨床使用を妨げる毒性変化は認められなかった。

以上の薬理試験，薬物動態試験，及び毒性試験成績は，前治療薬に抵抗性又は不耐容の CML 患者の治療において，添付文書案に規定した用法及び用量で本薬を使用することを支持するものであると判断した。

# 9 参考文献

[Blakes AJM, Gaul E, Lam W, et al. (2021)] Pathogenic variants causing ABL1 malformation syndrome cluster in a myristoyl-binding pocket and increase tyrosine kinase activity. Eur Human Genetics; 29:593-603.

Clinical Trial Facilitation Group (CTFG) (2014) Recommendations related to contraception and pregnancy testing in clinical trials. Available from: <https://www.hma.eu/fileadmin/dateien/Human_Medicines/01-About_HMA/Working_Groups/CTFG/2014_09_HMA_CTFG_Contraception.pdf?fbclid=IwAR3AY5Ha0ESDyqIBeUaYI9VTFWmx9bbt8NZ-80N-5ME6pkBb1UHvFsTwqlQ> (Accessed 17 July 2021). (Available upon request)

[Eadie LN, Saunders VA, Branford S, et al. (2018)] The new allosteric inhibitor asciminib is susceptible to resistance mediated by ABCB1 and ABCG2 overexpression *in vitro*. Oncotarget; 9:13423-37.

FDA Guidance for Industry (2011) Reproductive and Developmental Toxicities – Integrating Study Results to Assess Concerns. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). (Available upon request)

[Flis S and Chojnacki T (2019)] Chronic myelogenous leukemia, a still unsolved problem: pitfalls and new therapeutic possibilities. Drug Des Dev Ther; 13:825-43.

[Hantschel O (2012)] Structure, regulation, signaling, and targeting of Abl kinases in cancer. Genes Cancer; 3:436-46.

[Hantschel O and Superti-Furga G (2004)] Regulation of the c-Abl and Bcr-Abl tyrosine kinases. Nat Rev Mol Cell Biol; 5(1):33-44.

[Khatri A, Wang J, Pendergast AM (2016)] Multifunctional Abl kinases in health and disease. J Cell Sci; 129:9-16.

[Manley PW, Stiefl NJ (2018)] Progress in the discovery of BCR-ABL kinase inhibitors for the treatment of leukemia. Top Med Chem; 28:1-37.

[Manley PW and Barys L (2020)] The specificity of asciminib, a potential treatment for chronic myeloid leukemia, as a myristate-pocket binding ABL inhibitor and analysis of its interactions with mutant forms of BCR-ABL1 kinase. Leukemia Res; 98:106458.

[Nagar B, Hantschel O, Young MA (2003)] Structural basis for the autoinhibition of c-Abl tyrosine kinase. Cell; 112:859-71.

[Schoepfer J, Jahnke W, Berellini G, et al. (2018)] Discovery of asciminib (ABL001), an allosteric inhibitor of the tyrosine kinase activity of BCR-ABL1. J Med Chem; 61:8120-35.

[Tran P, Hanna I, Eggimann FK, et al. (2020)] Disposition of asciminib, a potent BCR-ABL1 tyrosine kinase inhibitor, in healthy male subjects. Xenobiotica; 50(2):160-79.

[Wylie AA, Schoepfer J, Jahnke W, et al. (2017)] The allosteric inhibitor ABL001 enables dual targeting of BCR-ABL1. Nature; 543:733-7.

[Yang J, Campobasso N, Biju MP, et al. (2011)] Discovery and characterization of a cell-permeable, small-molecule c-Abl kinase activator that binds to the myristoyl binding site. Chem Biol; 18:177-86.

[Zhang J, Adrián FJ, Jahnke W, et al. (2010)] Targeting Bcr-Abl by combining allosteric with ATP-binding-site inhibitors. Nature; 463:501-6.