TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 5

本項で使用する用語・略語 6

1. まとめ 7

供試動物 7

被験物質の投与 7

2. 単回投与毒性試験 10

2.1. 雄ラットを用いた単回経口投与トキシコキネティクス試験（[redacted]MA012 試験，概要表 2.6.7.5） 10

2.2. 雄ラットを用いた単回経口投与トキシコキネティクス試験（[redacted]MA133 試験，概要表 2.6.7.5） 10

2.3. イヌを用いた単回経口投与トキシコキネティクス試験（[redacted]LJ078 試験，概要表 2.6.7.5） 11

2.4. イヌを用いた放出制御カプセルによる単回経口投与トキシコキネティクス試験（[redacted]GR208 試験，概要表 2.6.7.5） 11

3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 11

3.1. ラットを用いた試験 11

3.1.1. 雄ラットを用いた 14 日間経口投与毒性試験（[redacted]MA039 試験，概要表 2.6.7.6） 11

3.1.2. ラットを用いた 8 週間経口投与毒性試験（[redacted]GR132 試験，概要表 2.6.7.7A） 13

3.1.3. ラットを用いた 6 ヵ月間経口投与および 3 ヵ月間回復性試験［20070067 試験（[redacted]MA142），概要表 2.6.7.7B］ 16

3.2. イヌを用いた試験 19

3.2.1. イヌを用いた 15 日間経口投与毒性試験（[redacted]LJ111 試験，概要表 2.6.7.6） 20

3.2.2. イヌを用いた 8 週間経口投与毒性試験（[redacted]GR135 試験，概要表 2.6.7.7C） 21

3.2.3. イヌを用いた 9 ヵ月間経口投与および 3 ヵ月間回復性試験［20070068 試験（[redacted]MA143），概要表 2.6.7.7D］ 22

3.2.4. イヌを用いた 9 ヵ月間経口投与および 6 ヵ月間回復性試験［20099163 試験（[redacted]MA106），概要表 2.6.7.7E］ 26

4. 遺伝毒性試験 30

4.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験［WIL-655100 試験（[redacted]GR129），概要表 2.6.7.8A］ 30
4.2. TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験［WIL-655099 試験（[redacted]GR130），概要表 2.6.7.8B］ 31
4.3. 小核誘発の機序に関する検討（[redacted]GTX10 試験，概要表 2.6.7.8C） 32
4.4. In vivo ラット小核試験［[redacted]GR132 試験，概要表 2.6.7.9） 33
5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 33
5.1. マウス 33
5.1.1. マウスを用いた 2 週間経口投与忍容性試験［8390402 試験（[redacted]GR117），概要表 2.6.7.10A］ 34
5.1.2. rasH2（wt/wt）マウスを用いた 1 ヵ月間経口投与用量設定試験［8392586 試験（[redacted]GR173），概要表 2.6.7.10B］ 34
5.1.3. rasH2（tg/wt）マウスを用いた 6 ヵ月間経口投与がん原性試験［8400625 試験（[redacted]GR034），概要表 2.6.7.10C］ 35
5.2. ラット 37
5.2.1. ラットを用いた 104 週間経口投与がん原性試験［8384525 試験（[redacted]MA002），概要表 2.6.7.10D］ 37
6. 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 41
6.1. 受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験 41
6.1.1. ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験［00655209 試験（[redacted]GR019），概要表 2.6.7.12］ 41
6.2. 胚・胎児発生に関する試験 42
6.2.1. ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験［20069224 試験（[redacted]GR573），概要表 2.6.7.11］ 42
6.2.2. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験［20075271 試験（[redacted]GR148），概要表 2.6.7.13A］ 43
6.2.3. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験［20069228 試験（[redacted]GR574），概要表 2.6.7.11］ 44
6.2.4. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験［20075272 試験（[redacted]GR149），概要表 2.6.7.13B］ 45
6.3. ラットを用いた出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験［00655232 試験（[redacted]GR230），概要表 2.6.7.14］ 46
7. 局所刺激性試験 47
8. その他の毒性試験 47

8.1. 有色ラットを用いた光毒性試験［20075773 試験（[redacted]MA032），概要表 2.6.7.17］ 47
8.2. 抗原性試験 47
8.3. 免疫毒性試験 47
8.3.1. マウスアレルギーモデル（[redacted]GR446 試験，概要表 2.6.7.17） 48
8.4. 機序に関する試験 49
8.4.1. イヌを用いた 3 日間経口投与試験（[redacted]GR131 試験，概要表 2.6.7.6） 49
8.4.2. イヌの脳幹における各種キナーゼまたは酸化ストレス関連の遺伝子発現プロファイリング（[redacted]GR142 試験，概要表 2.6.7.17） 49
8.4.3. イヌの脳中におけるリトレシチニブのオフターゲットタンパク質の同定（[redacted]GR193 試験，概要表 2.6.7.17） 50
8.4.4. 過剰発現細胞株におけるリトレシチニブによるヒト，イヌおよびラットの MAP2K7 結合親和性の比較（[redacted]GR372 試験，概要表 2.6.7.17） 52
8.4.5. 小脳における DOCK10 発現の種差（[redacted]GR164 試験，概要表 2.6.7.17） 52
8.5. 依存性試験 52
8.6. 代謝物に関する試験 53
8.7. 不純物に関する試験 53
8.7.1. *不純物N の細菌を用いる復帰突然変異試験（1149304 試験，概要表 2.6.7.17） 54
8.7.2. *不純物L の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR556 試験，概要表 2.6.7.17） 55
8.7.3. *不純物I の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR004 試験，概要表 2.6.7.17） 55
8.7.4. *不純物O の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR162 試験，概要表 2.6.7.17） 56
8.7.5. *不純物B の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR139 試験，概要表 2.6.7.17） 56
8.7.6. *不純物W の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR140 試験，概要表 2.6.7.17） 57
8.7.7. *不純物Q の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR189 試験，概要表 2.6.7.17） 57
8.7.8. *不純物R の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR190 試験，概要表 2.6.7.17） 58

＊新薬承認情報提供時に置き換え

8.7.9. *不純物S の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR191 試験，概要表 2.6.7.17） 58
8.7.10. *不純物T の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR192 試験，概要表 2.6.7.17） 59
8.7.11. *不純物U の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR280 試験，概要表 2.6.7.17） 59
8.7.12. *不純物C の細菌を用いる復帰突然変異試験（20232598 試験，概要表 2.6.7.17） 60
8.7.13. *不純物V の細菌を用いる復帰突然変異試験（20232562 試験，概要表 2.6.7.17） 60
8.7.14. *不純物A の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR240 試験，概要表 2.6.7.17） 61
8.7.15. ラットを用いたリトレシチニブの 13 週間経口投与不純物評価試験［8413430 試験（[redacted]GR371），概要表 2.6.7.17］ 62
9. 考察及び結論 63
9.1. 中枢および末梢神経系 64
9.1.1. リトレシチニブの毒性試験で認められた軸索ジストロフィーの特徴 65
9.1.1.1. イヌにおける軸索ジストロフィー 65
9.1.1.2. 病理学的特徴および背景発生率 65
9.1.1.3. 発現部位，用量依存性および回復性 66
9.1.1.4. 種特異性 66
9.1.1.5. 典型的な神経毒性物質で認められる所見との差異 66
9.1.2. モニター可能性/機能評価 67
9.1.2.1. 脳幹聴覚誘発電位（BAEP） 67
9.1.2.2. イヌにおける聴覚刺激と閾値 67
9.1.2.3. 毒性試験における BAEP 検査評価の有用性 68
9.1.3. 軸索ジストロフィーの機序に関する検討 69
9.1.3.1. 脳の各部位におけるリトレシチニブおよび代謝物濃度 70
9.1.3.2. 聴覚経路における酸化ストレス関連遺伝子 70
9.1.3.3. イヌの聴覚経路における JAK3 発現 70
9.1.3.4. オフターゲットタンパク質の同定 70
9.1.3.5. 神経系における DOCK10 および MAP2K7 の役割 71
9.1.3.6. DOCK10 遺伝子発現および MAP2K7 に対する親和性の種差 71

＊新薬承認情報提供時に置き換え

9.1.4. 軸索腫大の青年期集団に対する外挿性 71
9.2. 免疫・リンパ造血系 72
9.3. 胸腺および甲状腺 73
9.4. 受胎能および生殖発生 75
9.5. その他の所見 75
9.5.1. 腎臓 75
9.5.2. 肝臓 76
9.5.3. 副腎 76
9.5.4. 心血管系 76
9.5.5. 嘔吐および糞便異常 77
10. 図表 77

LIST OF TABLES

Table 1. 毒性試験の概要 8
Table 2. 400 mg/kg/日における血液学的検査（試験 32 日，対照群との比較） 14
Table 3. 腎臓でみられた所見の発生頻度と程度 17
Table 4. イヌを用いた 8 週間および 9 ヵ月間反復投与毒性試験の試験デザインと神経系関連の検査項目 19
Table 5. Tg マウスを用いた 6 ヵ月間投与がん原性試験における非腫瘍性変化の発現頻度および程度 36
Table 6. ラットを用いた 104 週間投与がん原性試験における胸腺の良性および悪性胸腺腫ならびに過形成の発生率 38
Table 7. ラットを用いた 104 週間投与がん原性試験における甲状腺濾胞細胞の腺腫，癌腫および過形成の発生率 39
Table 8. リトレシチニブと結合するイヌの海馬におけるオフターゲットタンパク質 50
Table 9. リトレシチニブと結合するイヌの小脳虫部におけるオフターゲットタンパク質 51
Table 10. リトレシチニブのラット，イヌおよびヒトの MAP2K7 に対する OC_{50} 値 52
Table 11. 不純物に関する試験の概要 54
Table 12. 2 回目の 9 ヵ月間試験における主要な神経系所見の要約 66
Table 13. イヌで軸索ジストロフィーが認められた神経系組織のヒトにおける発達 72

本項で使用する用語・略語

用語・略号	省略していない表現または定義
A/G	アルブミン/グロブリン
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	濃度-時間曲線下面積
AUC_{24}	0 時間から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
BAEP	脳幹聴覚誘発電位
BID	1 日 2 回
CHO	チャイニーズハムスター由来卵巣
C_{max}	最高血漿中濃度
DMSO	ジメチルスルホキシド
DOCK10	dedicator of cytokinesis 10
F1	第 1 世代
FDA	米国食品医薬品局
FISH	蛍光 in situ ハイブリダイゼーション
FPKM	fragments per kilobase of exon per million reads mapped
GALT	腸管関連リンパ組織
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HEK	ヒト胎児腎臓
hERG	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
IC_{50}	50%阻害濃度
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IL	インターロイキン
JAK	ヤヌスキナーゼ
MCV	平均赤血球容積
MNU	N-メチル-N-ニトロソウレア
8-MOP	8-メトキシソラレン
MTD	最大耐量
NA	該当せず
NK	ナチュラルキラー
NOAEL	無毒性量
OECD	経済協力開発機構
PAS	過ヨウ素酸シッフ
QD	1 日 1 回
QTc	心拍数で補正した QT 間隔
S9	ポストミトコンドリア上清
STAT	シグナル伝達兼転写活性化因子
TEC	tyrosine kinase expressed in hepatocellular carcinoma：肝細胞癌内で発現するチロシンキナーゼ
TEM	透過型電子顕微鏡
Tg	トランスジェニック
TK	トキシコキネティクス
TK6	ヒトリンパ芽球細胞株
T_{max}	最高濃度到達時間
UV	紫外線

1. まとめ

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

すべての GLP 適用試験は，GLP 規則（FDA 21 CFR Part 58）に従って実施した。米国は経済協力開発機構（OECD）データ相互受け入れ制度の加盟国である。GLP 非適用試験については試験実施施設の標準操作手順書に準拠して実施した。試験デザインの概略，試験実施における試験デザインからの逸脱ならびに試験実施日を，関連する試験報告書または毒性試験の概要表に示した。

供試動物

ガイダンス（ICH M3[R2], 2009; EMEA/CHMP/SWP/28367/07 Rev 1, 2017）に従い，リトレシチニブの強制経口投与による薬理作用および全身曝露が認められたラットおよびイヌを一般毒性試験に用いる動物種として選択した。ラット，イヌおよびヒトにおけるリトレシチニブの代謝は質的に類似しており，ヒト特有の代謝物は認められていない。また，ヒトとラットおよびイヌにおける JAK3/TEC ファミリーキナーゼの触媒ドメインのアミノ酸配列には高い相同性がみられ，これらの標的キナーゼに対するリトレシチニブの阻害能には大きな種差はないと考えられる。さらに，リトレシチニブによる JAK3 を介したラット，イヌおよびヒト全血での IL-15 に対する阻害活性にも差異は認められなかった。Tg マウスおよびウサギはそれぞれがん原性および胚・胎児発生の評価において標準的に用いられる。

ラットおよびイヌを用いた反復投与毒性試験における投与開始時期はそれぞれ約 7 週齢および 9～12 ヵ月齢であり，ヒトでは対象年齢である 12 歳以上に相当する年齢であった。

ラットを用いた毒性試験では，[redacted] 社から供給された Wistar Han IGS［[redacted]］または Sprague-Dawley ラット［[redacted]］を用いた。[redacted] 社の所在地はノースカロライナ州の[redacted]，ニューヨーク州の[redacted]である。動物供給業者の所在地が試験報告書や試験計画書に明記されていない場合は，保管されたデータファイルで調べることができる。ラットを用いた光毒性試験では，[redacted] 社（ノースカロライナ州，[redacted]）から供給された Long-Evans 有色（[redacted]）ラットを用いた。マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験では C57BL/6NTac マウスまたは CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic モデル 1178-野生型［rasH2（wt/wt）］マウスを用いた。マウスを用いた 6 ヵ月間投与がん原性試験では CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic モデル 1178-トランスジェニック［rasH2（tg/wt）］ヘミ接合体マウスを用い，TK 評価には CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic モデル 1178-野生型［rasH2（wt/wt）］を用いた。マウスアレルギーモデルを用いた試験では C57BL/6 マウスを用いた。いずれも [redacted] 社（ニューヨーク州，[redacted]）から供給された。ウサギを用いた生殖発生毒性試験では，[redacted] 社（カナダ，ケベック州，[redacted]）から供給されたニュージーランド白色種ウサギ［[redacted]］を使用した。一般毒性試験で使用したイヌは，[redacted] 社（ニューヨーク州，[redacted]）から供給された。

被験物質の投与

臨床適用経路は経口投与を予定していることから，in vivo の毒性試験では投与経路には経口投与を選択し，0.5%メチルセルロース懸濁液として投与した。

毒性試験および安全性薬理試験における投与量（評価濃度）はいずれも遊離塩基換算の値で表記した。GLP 適用試験はリトレシチニブのマロン酸塩（PF-06651600-25）またはトシル酸塩（PF-06651600-15）を用いて実施した。すなわち，ラットまたはイヌを用いた 8 週間反復経口投与毒性試験，遺伝毒性試験，ラットを用いた神経機能および肺機能の評価，イヌを用いた心血管系の評価にはリトレシチニブのマロン酸塩（PF-06651600-25）を，hERG カリウム電流に対する影響の評価，ラットまたはイヌを用いた 6 ヵ月間または 9 ヵ月間反復経口投与毒性試験，光毒性試験，生殖発生毒性試験，がん原性試験にはリトレシチニブのトシル酸塩（PF-06651600-15）を用いた。ほとんどの重要な試験以外の毒性試験および安全性薬理試験，フォローアップとして実施した毒性発現の機序に関する試験ならびにマウスのアレルギーモデルを用いた試験ではリトレシチニブの遊離塩基を用いた。

リトレシチニブの遊離塩基，マロン酸塩およびトシル酸塩をラットに経口投与したときのリトレシチニブの血漿中濃度推移には差異はみられなかったが，大部分の非臨床試験では臨床試験で用いられるトシル酸塩を選択した。

Table 1.　毒性試験の概要

試験	試験番号 (参照番号)	濃度または用量	GLP 適合/非適合	概要表
単回投与毒性試験				
雄ラットを用いた経口投与 TK 試験	[redacted]MA012	0，250，500，1000 mg/kg	非適合	2.6.7.5
雄ラットを用いた経口投与 TK 試験	[redacted]MA133	25，75，200 mg/kg	非適合	2.6.7.5
イヌを用いた経口投与 TK 試験	[redacted]LJ078	20，90，300 mg/kg	非適合	2.6.7.5
イヌを用いた放出制御カプセル経口投与 TK 試験	[redacted]GR208	65 mg/投与	非適合	2.6.7.5
反復投与毒性試験				
雄ラットを用いた14日間経口投与試験	[redacted]MA039	0，125，300，500 mg/kg/日	非適合	2.6.7.6
ラットを用いた8週間経口投与試験	[redacted]GR132	0，75，175，400 mg/kg/日	適合	2.6.7.7A
ラットを用いた6ヵ月間経口投与および3ヵ月間回復性試験	20070067 ([redacted]MA142)	0，50，100，200 mg/kg/日	適合	2.6.7.7B
イヌを用いた15日間経口投与試験	[redacted]LJ111	0，15，45，75 mg/kg/日	非適合	2.6.7.6
イヌを用いた8週間経口投与試験	[redacted]GR135	0，5，15，45 mg/kg/日	適合	2.6.7.7C
イヌを用いた9ヵ月間経口投与および3ヵ月間回復性試験	20070068 ([redacted]MA143)	0，5，20，40 mg/kg/日	適合	2.6.7.7D
イヌを用いた9ヵ月間経口投与および6ヵ月間回復性試験	20099163 ([redacted]MA106)	0，10，20 (QD)，20 (10BID)，40 mg/kg/日	適合	2.6.7.7E
遺伝毒性試験				
In vitro 試験				
細菌を用いる復帰突然変異試験	WIL-655100 ([redacted]GR129)	25～5000 μg/プレート	適合	2.6.7.8A

Table 1.　毒性試験の概要

試験	試験番号 (参照番号)	濃度または用量	GLP 適合/非適合	概要表
TK6細胞（ヒトリンパ芽球細胞株）を用いた小核試験	WIL-655099 (GR130)	169～1000 μM	適合	2.6.7.8B
4時間処理-代謝活性化系非存在下		205～285 μg/mL		
4時間処理-代謝活性化系存在下		205～285 μg/mL		
27時間処理-代謝活性化系非存在下		48.3～125 μg/mL		
Mechanistic Follow-Up Testing For In Vitro Micronucleus Test Results	GTX10	90.8～736 μM	非適合	2.6.7.8C
In vivo 試験				
ラットを用いた骨髄小核試験	GR132	0，75，175，400 mg/kg/日	適合	2.6.7.9
がん原性試験				
マウスを用いた2週間経口投与忍容性および TK 試験	8390402 (GR117)	0，30，100，300，1000 mg/kg/日	非適合	2.6.7.10A
マウスを用いた1ヵ月間経口投与用量設定試験	8392586 (GR173)	0，75，225，450 mg/kg/日	適合	2.6.7.10B
Tg.rasH2（tg/wt）マウスを用いた6ヵ月間経口投与がん原性試験	8400625 (GR034)	0，30，100，300 mg/kg/日	適合	2.6.7.10C
ラットを用いた104週間経口投与がん原性試験	8384525 (MA002)	0，10，30，100 mg/kg/日	適合	2.6.7.10D
生殖発生毒性試験				
受胎能および初期胚発生に関する試験				
ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験	00655209 (GR019)	0，20，60，200 mg/kg/日	適合	2.6.7.12
胚・胎児発生に関する試験				
雌ラットを用いた経口投与用量設定試験	20069224 (GR573)	0，75，175，325 mg/kg/日	非適合	2.6.7.11
雌ラットを用いた経口投与試験	20075271 (GR148)	0，75，175，325 mg/kg/日	適合	2.6.7.13A
雌ウサギを用いた経口投与用量設定試験	20069228 (GR574)	0，10，75，175，325 mg/kg/日	非適合	2.6.7.11
雌ウサギを用いた経口投与試験	20075272 (GR149)	0，5，25，75 mg/kg/日	適合	2.6.7.13B
ラットを用いた出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験				
ラットを用いた出生前および出生後の発生に関する経口投与試験	00655232 (GR230)	0，25，75，175 mg/kg/日	適合	2.6.7.14
局所刺激性試験				
実施していない				
その他の毒性試験				
光毒性試験				
雌有色ラットを用いた3日間経口投与光毒性試験	20075773 (MA032)	0，50，100，200 mg/kg/日	適合	2.6.7.17
免疫毒性試験				
マウスアレルギーモデル	GR446	0，1，10，100 mg/kg/日	非適合	2.6.7.17

Table 1.　毒性試験の概要

試験	試験番号（参照番号）	濃度または用量	GLP 適合/非適合	概要表
機序に関する試験				
イヌを用いた3日間経口投与試験	[redacted]GR131	0，40 mg/kg/日	非適合	2.6.7.17
イヌの脳幹における各種キナーゼまたは酸化ストレス関連の遺伝子発現プロファイリング	[redacted]GR142	NA	非適合	2.6.7.17
イヌの脳中におけるリトレシチニブのオフターゲットタンパク質の同定	[redacted]GR193	10 µM	非適合	2.6.7.17
過剰発現細胞株におけるリトレシチニブによるヒト，イヌおよびラットの MAP2K7結合親和性の比較	[redacted]GR372	0.12～30 µM	非適合	2.6.7.17
小脳における DOCK10発現の種差	[redacted]GR164	NA	非適合	2.6.7.17

特定された標的臓器および重要な所見は，死亡（ラットおよびウサギ），中枢神経系および末梢神経系（イヌ），免疫系およびリンパ造血系（ラットおよびイヌ），胸腺および甲状腺（ラット），精子形成への影響を伴わない雄授胎能への影響（ラット），胚・胎児発生への影響（ラットおよびウサギ），ならびに出生前および出生後の発生への影響（ラット）であった。その他の所見として，軽微かつ一貫性のない心血管系への影響（ラットおよびイヌ），腎臓および肝臓への影響（ラット），副腎への影響（ラットおよびイヌ），ならびに嘔吐および糞便異常（イヌ）が認められた。

2. 単回投与毒性試験

2.1. 雄ラットを用いた単回経口投与トキシコキネティクス試験（[redacted]MA012 試験，概要表 2.6.7.5）

雄 Wistar Han ラット（3 例/群，6～8 週齢）にリトレシチニブを 0（1 N 塩酸で pH3 に調整した 0.5%メチルセルロース），250，500 または 1000 mg/kg の用量で経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。すべての動物の一般状態を，投与開始前，投与後 7 時間まで約 1 時間ごとおよび投与後 24 時間に観察した。投与後約 1，3，7 および 24 時間に採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。曝露量は C_{max} および AUC_{24} により評価した。

いずれの用量でも忍容性が認められ，リトレシチニブの投与に関連した影響は認められなかった。曝露量は用量の増加に伴って増加し，1000 mg/kg における C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 37500 ng/mL および 336000 ng•h/mL であった。

2.2. 雄ラットを用いた単回経口投与トキシコキネティクス試験（[redacted]MA133 試験，概要表 2.6.7.5）

雄 Wistar Han ラット（3 例/群，6～8 週齢）にリトレシチニブのトシル酸塩を 25，75 または 200 mg/kg の用量（投与液：1 N 塩酸で pH3 に調整した 0.5%メチルセルロース）で経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。すべての動物の一般状態を，投与前，投与後約 1，3，7 および 24 時間に観察した。投与後約 1，3，7 および 24 時間に採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。曝露量は C_{max} および AUC_{24} により評価した。

いずれの用量でも忍容性が認められ，リトレシチニブの投与に関連した影響は認められなかった。曝露量は用量の増加に伴って増加し，200 mg/kg における C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 29700 ng/mL および 122000 ng•h/mL であった。

2.3. イヌを用いた単回経口投与トキシコキネティクス試験（[redacted]LJ078 試験，概要表 2.6.7.5）

雌雄ビーグル犬（1 例/性/群，約 9 ヵ月齢）にリトレシチニブを 20，90 または 300 mg/kg の用量（投与液：1 N 塩酸で pH3 に調整した 0.5%メチルセルロース）で経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。すべての動物の一般状態および体重を投与後 24 時間まで評価した。投与後約 0.5，1，3，7 および 24 時間に採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。曝露量は C_{max} および AUC_{24} により評価した。

いずれの用量でも忍容性が認められ，リトレシチニブの投与に関連した影響は嘔吐および部分閉眼のみであった。嘔吐は雄ではいずれの用量でも認められ，300 mg/kg では軽度であったのに対し，雌では 300 mg/kg でのみ認められた（軽度～中等度）。部分閉眼は雌雄の 300 mg/kg でのみ認められた（軽微）。曝露量は用量の増加を上回って増加し，明確な性差はみられなかった。300 mg/kg における C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 46800 ng/mL および 462000 ng•h/mL であった。

2.4. イヌを用いた放出制御カプセルによる単回経口投与トキシコキネティクス試験（[redacted]GR208 試験，概要表 2.6.7.5）

雌雄ビーグル犬（3 例/性/群，約 1～4 歳齢）にリトレシチニブのトシル酸塩を 65 mg の用量で放出制御カプセルを用いて経口投与した。すべての動物の一般状態を投与後 1，2，4，8，12 および 18 時間に評価した。投与後 1，2，4，8，12，18 および 24 時間に採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。曝露量は C_{max} および AUC_{24} により評価した。

いずれの動物でも忍容性が認められ，リトレシチニブの投与に関連した影響は雄の 1 例でみられた軟便のみであった。糞便中へのカプセルの回収状況から消化管での移動速度が速かったと推測された雄の 1 例を除くと雌雄の曝露量はほぼ同等であった。C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ雄で 460 ng/mL および 3790 ng•h/mL，雌では 685 ng/mL および 6120 ng•h/mL であった。

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. ラットを用いた試験

3.1.1. 雄ラットを用いた 14 日間経口投与毒性試験（[redacted]MA039 試験，概要表 2.6.7.6）

雄 Wistar Han ラット（5 例/群，6～8 週齢）にリトレシチニブを 0（1 N 塩酸で pH3 に調整した 0.5%メチルセルロース），125，300 または 500 mg/kg の用量で 14 日間 QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，血液学的検査および血液生化学的検査を行った。試験 1 日および 14 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に全動物から採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。投与期間終了時に全動物を安楽殺し，器官重量測定，剖検および病理組織学的検査に供した。

一般状態への影響は，試験 7～13 日に 500 mg/kg/日の 1 例でみられた削痩のみであり，試験 1～7 日に体重が約 6%減少したが，その後の 7 日間には約 7%増加し，試験 14 日には正常値となった。

500 mg/kg/日で 2 例の体重減少（-13.2 g および-9.9 g）による平均体重の減少が試験 1～7 日に認められ，試験 7 日および 14 日の平均体重はそれぞれ 0.92 倍（以下，対照群との比較）および 0.91 倍となった。この群における試験 1～14 日の体重増加量は対照群の 0.43 倍であった。500mg/kg/日の摂餌量は，試験 7 日までは低く（0.88 倍），その後の 7 日間では対照群と同等であった。500 mg/kg/日で認められた体重，体重増加量および摂餌量の減少は軽微であった。

125 mg/kg/日以上で用量依存性のない白血球数（0.65～0.82 倍），リンパ球数（0.51～0.56 倍）および好酸球数（0.13～0.32 倍）の減少ならびに好中球数（1.49～2.62 倍）の増加が認められた。白血球数およびリンパ球数の減少は，JAK3/TEC 阻害に関連する薬理作用から想定されるものである。300 mg/kg/日以上でグロブリンの減少（0.89～0.90 倍）が認められ，300 および 500 mg/kg/日における A/G 比はそれぞれ 1.08 および 1.13 であった。

125 mg/kg/日以上で胸腺（0.33～0.09 倍）および脾臓（0.86～0.57 倍）の実重量の用量依存的な減少が認められ，体重比重量および脳比重量にも同様の減少がみられた。胸腺および脾臓の重量減少に伴い細胞充実性の低下が病理組織学的検査で認められた。500 mg/kg/日では脾臓の赤脾髄の萎縮も脾臓重量の減少に寄与した可能性が考えられる。胸腺および脾臓の重量減少は JAK3/TEC 阻害から予想されるものである。

リトレシチニブの薬理作用に起因する剖検所見として，125 mg/kg/日以上で胸腺の小型化が，300 mg/kg/日以上で脾臓の小型化が認められた。これらの所見に伴い，病理組織学的検査で細胞充実性の低下が認められ，胸腺および脾臓重量の減少がみられた。

病理組織学的所見として，薬理作用から予想される胸腺，脾臓，腸間膜リンパ節および GALT の細胞充実性の低下が認められた。また，300 mg/kg/日以上では骨髄の細胞充実性の低下が，500 mg/kg/日では肝細胞の空胞化と脾臓の赤脾髄の萎縮が認められた。

125 mg/kg/日以上のすべての動物で胸腺の細胞充実性の低下が認められた。程度は 125 mg/kg/日で軽度～重度，300 mg/kg/日では中等度～極めて重度，500 mg/kg/日では極めて重度であり，リンパ球がほぼすべて枯渇し，胸腺皮質の明確な構造喪失を伴った。これらの所見は，125 mg/kg/日以上でみられた胸腺の小型化および胸腺重量の減少の主な原因と考えられる。

500 mg/kg/日では脾臓で白脾髄に細胞充実性の軽度～中等度の低下および赤脾髄の萎縮が認められた。125 mg/kg/日の 1 例で白脾髄に軽度の細胞充実性の低下が認められたが，300 mg/kg/日ではみられなかった。125 mg/kg/日の他の動物または 300 mg/kg/日では脾臓に病理組織学的所見は認められなかったことから，125 mg/kg/日の脾臓の細胞充実性の低下は偶発的なものと考えられた。

500 mg/kg/日のすべてのラットで腸間膜リンパ節におけるリンパ球数の軽度～中等度の減少（皮質のリンパ球減少）がみられた。125 mg/kg/日の 1 例で腸間膜リンパ節におけるリンパ球数の減少が認められたが，300 mg/kg/日ではみられなかった。125 mg/kg/日の腸間膜リンパ節におけるリンパ球数の減少は個体差またはサンプリングの違いに関連する偶発的なものと考えられた。

GALT のサンプリングの変動は細胞充実性への影響の解釈を複雑にすることから，細胞充実性の低下は有または無（正常）として記録した。500 mg/kg/日の 3 例における GALT の細胞充実性の低下はリトレシチニブによる影響と考えられたが，125 mg/kg/日および 300 mg/kg/日の各 1 例でみられた細胞充実性の低下はサンプリングの変動に起因するものと判断した。

300 mg/kg/日の 3 例および 500 mg/kg/日の 4 例で骨髄の軽微な細胞充実性（すべての細胞系譜）の低下が認められた。骨髄の細胞充実性の低下は拡張した血管腔の増加を特徴とし，造血組織の軽度な減少がみられたが，すべての造血細胞が存在しており成熟は正常と考えられた。これらの所見の程度は軽微であり，好中球数の増加および赤血球パラメータへの影響はみられなかったという血液学的所見と符合していた。

500 mg/kg/日の 3 例でグリコーゲンの増加と考えられる肝細胞の細胞質における軽微～軽度のびまん性の空胞化が認められた。対照群の肝臓で軽微な PAS 染色像がみられたが，空胞化したラットの肝細胞の細胞質での PAS 染色は顕著であった。また，ジアスターゼ処理により消失したことから，肝細胞の空胞化がグリコーゲンの増加によることが確認された。病理組織学的検査では肝細胞の変性，壊死または炎症は認められなかった。

高用量である 500 mg/kg/日においても膝関節（大腿骨/脛骨を含む）に剖検または病理組織学的所見は認められなかった。

曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加とともに増加した。高用量である 500 mg/kg/日における C_{max} と AUC_{24} はそれぞれ 45,700 ng/mL および 308,000 ng•h/mL であった。

リトレシチニブを 14 日間 QD 経口投与したとき，すべての用量で忍容性がみられた。JAK3/TEC 阻害剤の予想される薬理作用[1,2]に関連する変化として，125 mg/kg/日以上で循環血中の白血球数およびリンパ球数の減少，グロブリンの低下，脾臓および胸腺の重量減少，胸腺の細胞充実性の低下ならびに脾臓の白脾髄，腸間膜リンパ節の皮質および GALT における細胞充実性の低下が認められた。JAK3/TEC 阻害と明確に関連しない所見として，125 mg/kg/日以上で好酸球数の減少および好中球数の増加，300 mg/kg/日以上で骨髄の細胞充実性の軽微な低下，肝細胞の細胞質空胞化（グリコーゲンの増加）が認められた。500 mg/kg/日で脾臓の赤脾髄の萎縮がみられた。

3.1.2. ラットを用いた 8 週間経口投与毒性試験（[redacted]GR132 試験，概要表 2.6.7.7A）

雌雄 Wistar Han ラット（10 例/性/群，投与開始時に約 9 週齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），75，175 または 400 mg/kg/日の用量で 8 週間（400 mg/kg/日は 31 日間）QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科検査，臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査）を行った。試験 1，32 および 53 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の動物（3 例/性/群）から採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。試験 4 日に主試験動物（5 例/性/群）から採血し，小核誘発の評価を行った。投与期間終了時に剖検を行い，器官重量測定，病理組織学的検査を実施した。

高用量である 400 mg/kg/日は忍容性が認められなかった。衰弱［体重減少ならびに被毛粗剛，円背位，皮膚の張りの低下，活動性の低下および被毛の汚れ（赤色）などの一般状態の悪化］がみられた 3 例を試験 10，14 または 28 日に安楽死させた。この群の生存動物は試験 32 日に採血して剖検を行った。

赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値は雄で対照群よりやや低値を示したが，いずれの個々値も背景データの範囲内であった。平均血小板容積，赤血球分布幅および網状赤血球数は対照群よりも高値を示し，血液塗抹標本での顕著な変形赤血球増加（赤血球のサイズおよび

形状の変化），eccentrocyte および pyknocyte といった形態学的な変化と関連していた。好中球数および単球数の増加ならびにリンパ球数および好酸球数の減少も認められた（Table 2）。

Table 2.　400 mg/kg/日における血液学的検査（試験 32 日，対照群との比較）

パラメータ	雄		雌	
用量 (mg/kg/日)	0	400	0	400
赤血球数 (10^6/μL)	8.6	0.92	8.0	-
ヘモグロビン濃度 (g/dL)	16	0.94	15	-
ヘマトクリット値 (%)	48	0.96	46	-
赤血球分布幅 (%)	12	1.34	10	1.41
網状赤血球数 (10^3/μL)	218	1.21	209	1.38
平均血小板容積 (fL)	8.2	1.32	8.9	-
好中球数 (10^3/μL)	0.92	2.5	0.49	3.7
リンパ球数 (10^3/μL)	3.9	0.68	2.8	-
単球数 (10^3/μL)	0.14	1.56	0.081	1.81
好酸球数 (10^3/μL)	0.073	0.18	0.046	0.35

- = 投与による影響なし
a. 対照群の値は試験 57 日の平均値，リトレシチニブ投与群の値は試験 32 日の対照群（試験 57 日）との比を示す。
背景データ：赤血球数 6.62～9.32 10^6/μL，ヘモグロビン濃度 12.8～17.0 g/dL；ヘマトクリット値 37.6%～50.3%。

リンパ球数および好酸球数の減少を伴う好中球数および単球数の増加は，二次的なストレス反応を示唆するが，低用量におけるリンパ球数および好酸球数の減少はこの用量で認められた薬理作用によるものであり，リトレシチニブの薬理作用（JAK3/TEC 阻害）[1,2] がリンパ球数および好酸球数の変化に寄与した可能性が考えられる。

400 mg/kg/日では病理組織学的所見として，胸腺，脾臓，腸間膜リンパ節および鼠径大腿リンパ節の細胞充実性の低下が認められ，薬理作用 [1,3] と符合していた。400 mg/kg/day のすべての個体で，胸腺の病理切片は小さく，リンパ球の消失，皮質と髄質の境界の不明確化を特徴とした極めて重度のリンパ球細胞充実性の低下が認められ，剖検で雌の 2 例に認められた胸腺小型化と関連していた。400 mg/kg/日で脾臓の白脾髄（特に辺縁帯）に軽度～重度の細胞充実性低下および腸間膜リンパ節にリンパ濾胞の萎縮，傍皮質領域または髄質における濾胞またはリンパ球数の減少を特徴とした軽度～重度の細胞充実性低下が一貫して認められた。

また，その他の病理組織学的所見として，衰弱を伴う骨髄の軽微～重度の細胞充実性低下が認められ，細胞充実性の著しい低下，消化管粘膜の軽微な炎症，肺における好酸球浸潤の発現頻度の低下，雌の肝細胞の小葉中心性肥大，雄の肝細胞空胞化，雄の 1 例で認められた副腎皮質空胞化に寄与したと考えられた。

400 mg/kg/日の試験 32 日までに安楽死させた雌 3 例と雄 1 例で重度または極めて重度の骨髄の細胞充実性低下（すべての細胞系譜）が認められたが，400 mg/kg/日の他の個体では細胞充実性の低下がみられた個体でも軽微または軽度であった。骨髄の細胞充実性の低下は赤血球数パラメータ，リンパ球数および好酸球の低下に寄与した可能性が考えられた。

400 mg/kg/日の雌の数例と雄の 1 例で消化管（胃，十二指腸，空腸，回腸および盲腸）の軽微な限局性または多発性炎症が認められ，粘膜層には好中球がみられた。消化管の炎症がみられた雌の 2 例は試験 32 日までに，雄の 1 例と雌の 2 例は試験 32 日に安楽死させた。この炎症の原因は不明である。

対照群のほとんどの動物の肺で好酸球の浸潤が認められたが, 400 mg/kg/day では認められなかった。肺における好酸球の浸潤は対照ラットでよくみられる偶発的所見である[4]。好酸球浸潤がみられなかったことはリトレシチニブに関連した所見であった。

400 mg/kg/日の雄の 1 例で副腎皮質（束状帯および網状帯）に軽微な空胞化が認められた。
75 mg/kg/日および 175 mg/kg/日の雄にも同様の所見がみられたことから，リトレシチニブに関連した所見と考えられる。

400 mg/kg/日の雌の 4 例で腸間膜リンパ節周辺の脂肪細胞に脂質の減少が認められ，試験 32 日までに安楽殺した 3 例では顕著な体重減少と一般状態の悪化を伴い最も重篤であった。脂肪の減少は体重増加量の減少および脂質動員の二次的変化であり，JAK3/TEC 阻害に直接関連するものではないと考えられる。

400 mg/kg/日の雄の 10 例中 2 例で門脈周囲の肝細胞に細胞質の軽微な空胞化が認められた。
400 mg/kg/日の雌の 10 例中 6 例で小葉中心性肝細胞に軽微な肥大が認められた。

400 mg/kg/日でみられた体重増加量の減少および一般状態悪化の原因は，血液学検査，剖検および病理組織学的所見から特定することはできなかった。

75 または 175 mg/kg/日ではリトレシチニブに関連する毒性所見は認められなかった。

JAK3/TEC 阻害に符合する所見として，75 mg/kg/日および 175 mg/kg/日で循環血中の白血球数（0.44～0.59 倍），リンパ球数（0.25～0.50 倍），単球数（0.65～0.89 倍），好酸球数（0.26～0.48 倍）および好塩基球数（0.0～0.11 倍）の減少，胸腺（0.31～0.47 倍）および脾臓重量の減少（0.73～0.81 倍），ならびに胸腺，脾臓および腸間膜リンパ節の細胞充実性の低下が認められた。また，75 mg/kg/日の雌および 175 mg/kg/日の雌雄で胸腺の小型化がみられた。75 mg/kg/日または 175 mg/kg/日で認められたこれらの所見は，一般状態への影響，感染の増加または臨床的に意味のある免疫抑制を示唆する病理組織学的所見がみられなかったことから，いずれも毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

JAK3/TEC 阻害に関連しないと考えられる毒性学的意義に乏しい臨床病理所見として, 175 mg/kg/日の雌雄で赤血球膜への酸化的損傷を示唆する赤血球の形態異常（変形赤血球増加，eccentrocyte および pyknocyte）[5]，175 mg/kg/日の雌雄で赤血球損傷に対する軽度の赤血球再生反応と符合する赤血球分布幅および網状赤血球数の増加（1.20～1.22 倍），75 mg/kg/日および 175 mg/kg/日の雄で平均血小板容積の増加（1.11～1.28 倍），75 mg/kg/日および 175 mg/kg/日の雌雄で血清カリウムの低下（0.87～0.91 倍）, 75 mg/kg/日および 175 mg/kg/日の雄で血清コレステロールの低下（0.78 倍および 0.79 倍）ならびに 75 mg/kg/日および 175 mg/kg/日の雌雄で尿量の増加（1.4～2.5 倍）が認められた。また，75 mg/kg/日および 175 mg/kg/日の雄（0.72～0.95 倍）ならびに 175 mg/kg/日の雌（0.84～0.89 倍）で副腎の実および比重量の減少が認められた。

その他の毒性学的意義に乏しい病理組織学的所見として，75 mg/kg/日および 175 mg/kg/日の雄で軽微な骨髄（すべての細胞系譜）の細胞充実性の低下，軽微な副腎皮質空胞化が認められた。いずれの用量でも膝関節（大腿骨/脛骨を含む）に剖検または病理組織学的所見は認められなかった。

リトレシチニブ投与に関連した所見の程度は軽微であり，赤血球，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値（変形赤血球増加，eccentrocyte，pyknocyte，赤血球分布幅および網状赤血球に関連）に変化がなかったこと，病理組織学的検査で変性，壊死または炎症は認められなかったこと，毒性を示唆する一般状態への影響はみられなかったことから，毒性学的意義に乏しい所見と判断した。

75 mg/kg/日および 175 mg/kg/日の雄で一過性の体重の減少が認められたが，摂餌量の減少を伴う一時的なものであったことから，毒性学的意義に乏しい所見と考えた。

リトレシチニブを 75，175 または 400 mg/kg/日の用量で 4 日間投与しても，雌雄いずれにおいても末梢血の網状赤血球に小核を誘発しなかった。

試験 1 日および 53 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，75～175 mg/kg/日で C_{max} は用量にほぼ比例して増加し，AUC_{24} は用量比をやや上回って増加した。試験 53 日（400 mg/kg/日は試験 32 日）と試験 1 日の曝露量はいずれの用量でも類似しており，性差はみられなかった。T_{max} はいずれの試験日においてもすべての用量で投与後 1 時間であった。

400 mg/kg/日で認められた一般状態の悪化および体重減少に基づき本試験における NOAEL は 175 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 53 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 24,200ng/mL および 79,300ng•h/mL であった。

3.1.3. ラットを用いた 6 ヵ月間経口投与および 3 ヵ月間回復性試験［20070067 試験（[redacted]MA142），概要表 2.6.7.7B］

雌雄 Wistar Han ラット（15 または 20 例/性/群，投与開始時に約 7 週齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），50, 100 または 200 mg/kg/日の用量で 182～183 日間 QD 経口投与し，その後対照群および 200 mg/kg/日（5 例/性/群）について 3 ヵ月間の回復性試験を実施した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科検査および臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査，グルタチオンおよび尿検査）を行った。試験 91 日および 176 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の動物から採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。投与期間および休薬期間の終了時に剖検を行い，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

循環血中のリンパ球数の減少に関連する所見が主にリンパ系組織（胸腺，脾臓，腸間膜および鼠径リンパ節）で認められたが，いずれも毒性学的意義は乏しく，リトレシチニブに関連した毒性所見とは考えられなかった。

リンパ系組織における所見として，50 mg/kg/日以上で胸腺重量の減少（0.61～0.16 倍）が認められ，50 mg/kg/日以上の雄および 100 mg/kg/日以上の雌でみられた胸腺の小型化ならびに 50 mg/kg/日以上で軽微～重度の細胞充実性の低下と関連していた。また，50 mg/kg/日以上の雄および 100 mg/kg/日以上の雌で脾臓重量の減少（0.89～0.78 倍）が認められ，50 mg/kg/日以上でみられた細胞充実性の低下と関連していた。200 mg/kg/日で腸間膜リンパ節に細胞充実性の軽微～中等

度の低下および200 mg/kg/日の雌では鼠径リンパ節における細胞充実性の軽微～軽度の低下が認められた。リンパ系組織の変化は，JAK3/TEC 阻害剤であるリトレシチニブの薬理作用[2,3]と符合し，3 ヵ月間の休薬期間終了時に完全に回復した。

病理組織学的検査で認められたリンパ球の変化は，休薬期間終了時に完全に回復した血液中のリンパ球数の減少（0.86～0.37 倍）と関連していた。感染の増加または臨床的に意味のある免疫抑制を示唆する剖検または病理組織学的所見が認められなかったことから，リンパ系組織に認められた所見の毒性学的意義は乏しいと考えた。

200 mg/kg/日で骨髄（胸骨）の軽微な細胞充実性の低下が認められたが，この所見の程度が軽微であったこと，骨髄毒性を示唆する病理組織学的所見は認められなかったことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。この所見は休薬期間の終了時に完全に回復した。

50 mg/kg/日以上の雄および100 mg/kg/日以上の雌で投与期間の終了時に尿細管上皮細胞における硝子滴の蓄積が用量依存的に認められたが，3 ヵ月間の回復期間の終了時に完全に回復した。硝子滴は種々のサイズの小滴であり，雌では好酸性から茶色がかっていたのに対し，雄ではより好酸性であった。液滴の形態的特徴および発生部位は雌雄でやや異なっており，雄では硝子滴の蓄積は主に皮質の近位尿細管上皮細胞の細胞質に認められ，髄質外層の外帯にある近位尿細管細胞の細胞質にはわずかしかみられなかったのに対し，雌ではほとんどが髄質外層の外帯にある近位尿細管上皮細胞の細胞質でみられた。

対照群の雄 2 例と雌 1 例および 200 mg/kg/日の雌雄各 2 例で硝子滴の染色特性および形態を調べるための組織化学染色を実施したところ，髄質外層の外帯内の硝子滴（雌雄）はリポフスチンと，皮質内の硝子滴（雄のみ）は alpha2μ-グロブリンと一致していた。一般に，対照群のラットにみられたように正常ラットの近位尿細管上皮にはリポフスチンのわずかな蓄積がみられ，その量は加齢とともに増加し，さまざまな生体異物によって増加する[6]。リトレシチニブの投与により，腎臓におけるこの背景所見の発現頻度と程度が増加した（Table 3）。

Table 3.　腎臓でみられた所見の発生頻度と程度

	雄 (mg/kg/日)				**雌 (mg/kg/日)**			
	0	**50**	**100**	**200**	**0**	**50**	**100**	**200**
例数	15	15	15	14	15	15	15	14
腎臓，硝子滴蓄積；尿細管上皮細胞								
軽微	4	12	13	5	1	1	7	10
軽度	0	2	1	9	0	0	0	2

近位尿細管上皮の細胞質内におけるリポフスチンの蓄積は，腎機能への影響または臨床的な意味がほとんどないと考えられている[7]。尿細管腔内に円柱，壊死または炎症反応はみられなかった。対照群およびリトレシチニブ投与群の雄で皮質の近位尿細管上皮内に認められた細胞質の硝子滴は alpha2μ-グロブリンと一致した。所見の程度が軽く，尿細管または糸球体に病理組織学的変化がみられなかったこと，臨床病理検査または一般状態観察で関連する所見が認められなかったことから，尿細管の硝子滴蓄積の毒性学的意義は乏しいと考えた。

白血球に対する影響として，すべての用量の雌雄で白血球数（0.55～0.82 倍），単球数（0.76～0.89 倍），好酸球数（0.41～0.92 倍）および好塩基球数（0.43～0.71 倍）の減少ならびに好中球数の増加（1.02～1.78 倍）が投与期間中のいずれの時点でも認められた。これらの所見は休薬期間の終了時に完全に回復した。一般状態への影響ならびに剖検または病理組織学的所見で臨床的に意味のある免疫抑制を示唆する所見は認められなかったことから，白血球の変化の毒性学的意義は乏しいと考えた。

200 mg/kg/日の雌雄（試験183/184日には100 mg/kg/日の雌でも）で赤血球パラメータの減少（0.90～0.96倍），200 mg/kg/日の雌雄で赤血球容積および赤血球分布幅の増加（1.13～1.27倍），100 mg/kg/日以上の雄および200 mg/kg/日の雌で試験90/91日に網状赤血球数の軽微な増加（1.12～1.21倍），200 mg/kg/日で試験90/91日に雄の3例で1+から2+の変形赤血球増加およびヘモグロビン濃度の減少ならびに雌の3例で1+の変形赤血球増加が認められた。試験183/184日および試験273日の血液塗抹標本では変形赤血球増加，ヘモグロビン濃度の減少はいずれも認められなかった。変形赤血球増加は主に eccentrocyte と pyknocyte の形態であった。これらの所見は休薬期間の終了時に完全に回復した。
100 mg/kg/日以上の雄および 200 mg/kg/日の雌で試験 90/91 日に，試験 183/184 日には 200 mg/kg/日の雄で平均血小板容積の増加（1.11～1.31 倍）が認められたが，血小板数には対応する変化はみられず，休薬期間終了時に完全に回復した。平均血小板容積の増加は，その程度が軽く，血小板数の減少はみられなかったこと，一般状態観察ならびに剖検または病理組織学的検査で血小板機能不全を示唆する所見がみられなかったことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。軽微な血小板容積の増加は，変形赤血球および網状赤血球数の増加が試験 183/184 日ではなく試験 90/91 日でみられたことを踏まえると，適切な赤血球再生反応を伴う酸化的損傷とエリスロポエチンの生理的な増加に関連する血小板産生の増加[8]によって引き起こされる赤血球数の軽微な増加と符合した。

50 mg/kg/日以上の雌雄で試験 90/91 日および試験 183/184 日に AST（0.72～0.92 倍）およびカリウム（0.82～0.93 倍）の低下が認められた。これらの所見は休薬期間の終了時に完全に回復した。変化の程度が小さく，方向が病理組織学的所見と関連していなかったことから，AST の低下は毒性学的意義に乏しい変化と考えた。変化の程度が小さく，血液生化学的検査ならびに剖検または病理組織学的検査で毒性所見がみられなかったことから，カリウムの低下の毒性学的意義は乏しいと考えた。

100 mg/kg/日以上でトリグリセリドの低下（0.54～0.89 倍）が，50 mg/kg/日以上の雌および 200 mg/kg/日の雄でグルコースの低下（0.83～0.92 倍）が認められたが，一般状態観察，臨床病理検査，剖検または病理組織学的検査で毒性所見はみられず，健康状態への影響も認められなかったことから，トリグリセリドおよびグルコースへの影響の毒性学的意義は乏しいと考えた。

尿検査では 50 mg/kg/日以上の雄で試験 90/91 日に尿タンパクの増加（2+）が認められたが，試験 183/184 日には発現頻度が低下した。200 mg/kg/日では 3 ヵ月間の休薬期間終了時にも 2+の尿タンパクの増加がみられた。2+の尿タンパク増加の発現頻度は試験 90/91 日から試験 183/184 日まで低下したこと，所見の程度は上昇せず一部の動物では低下したこと，臨床病理検査，一般状態観察または腎臓の病理組織学的検査で毒性所見は認められなかったことから，この所見の毒性学的意義は乏しいと考えた。

200 mg/kg/日の雌雄で体重増加量の減少が認められ，体重は投与期間終了時に対照群の 0.9 倍となった。休薬期間終了時に 200 mg/kg/日の雄の体重は対照群と同等であったが，雌の体重は対照群の 0.9 倍のままであった。体重への影響は程度が軽いことから，毒性学的意義は乏しい所見と考えた。

高用量の 200 mg/kg/日でも大腿骨/脛骨に剖検または病理組織学的所見は認められなかった。

試験 91 日および 176 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量にほぼ比例して増加し，試験 91 日と 176 日でほぼ一定であった。いずれの用量においても一貫した性差はみられなかった。

リトレシチニブをラットに 50, 100 または 200 mg/kg/日の用量で 182 日間 QD 経口投与したとき，主にリンパ系組織（胸腺，脾臓，腸間膜および鼠径リンパ節）に毒性学的意義の乏しい所見が認められ，循環血中のリンパ球数の減少に関連していた。これらの所見は，薬理作用である JAK3/TEC 阻害と符合するものであり，3 ヵ月間の休薬期間終了時に完全に回復した。その他の毒性学的意義の乏しい変化として，骨髄（胸骨）および腎臓の病理組織学的変化ならびに変形赤血球および網状赤血球数の増加が認められたが，いずれも休薬期間終了時に回復した。

認められた所見はいずれも毒性学的意義の乏しいものであったことから，本試験における NOAEL は高用量の 200 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 176 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 25,100 ng/mL および 80,100 ng•h/mL であった。

3.2. イヌを用いた試験

GLP 適用下で実施した 8 週間および 2 回の 9 ヵ月間の毒性試験の主要な試験デザインと神経関連の検査項目を Table 4 に要約する。

Table 4. イヌを用いた 8 週間および 9 ヵ月間反復投与毒性試験の試験デザインと神経系関連の検査項目

パラメータ	8 週間試験（試験番号 [redacted]GR135）	9 ヵ月間試験（1 回目）（試験番号 20070068）	9 ヵ月間試験（2 回目）（試験番号 20099163）
用量（mg/kg/日）	0，5，15，45	0，5，20，40	0，10，20（QD），20（10 BID），40
投与開始時の月齢	約 9 ヵ月齢	11～12 ヵ月齢	9 ヵ月齢
休薬期間	なし	3 ヵ月間	6 ヵ月間
例数	投与期間：3/性/群	投与期間：4/性/群 休薬期間：2/性/群 0，40 mg/kg/日	投与期間：4/性/群 休薬期間：3/性/群 0，20（QD），40 mg/kg/日
脳組織のトリミング/サンプリング（染色）	標準（H&E）/脳組織の切片作製含む [a]	標準（H&E）/脳組織の切片作製含む [a]	拡張的（H&E）脳組織のサンプリングおよび切片作製
透過型電子顕微鏡（TEM）検査	実施せず	投与期間終了時，休薬期間終了時（脳組織；0，40 mg/kg/日）	実施せず
脳幹聴覚誘発電位（BAEP）検査	実施せず	休薬期間：3 ヵ月	投与前：2 回 投与期間：2，4，7，9 ヵ月 休薬期間：3，6 ヵ月

Table 4.　イヌを用いた 8 週間および 9 ヵ月間反復投与毒性試験の試験デザインと神経系関連の検査項目

パラメータ	8 週間試験 （試験番号 [redacted]GR135）	9 ヵ月間試験（1 回目） （試験番号 20070068）	9 ヵ月間試験（2 回目） （試験番号 20099163）
心血管系検査	投与前， 投与期間終了時	投与前，13 週，投与期間終了時，休薬期間終了時	実施せず

a. Society of Toxicologic Pathology の推奨する非げっ歯類試験における脳組織のトリミング，サンプリングおよび切片作製方法[9,10]に準拠した。

3.2.1. イヌを用いた 15 日間経口投与毒性試験（[redacted]LJ111 試験，概要表 2.6.7.6）

雌雄ビーグル犬（1～2 例/性/群，約 9 ヵ月齢）にリトレシチニブを 0（1 N 塩酸で pH3 に調整した 0.5%メチルセルロース），15，45 または 75 mg/kg/日の用量で 15 日間 QD 経口投与した。投与容量は 5 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査）を行った。対照群および 45 mg/kg/日群で試験 2，8 および 12 日の投与約 2 時間前～投与後 22 時間まで体外ジャケット式テレメトリー（JET）を実施した。試験 1 日および 14 日の投与前，投与後 1，3，7 および 24 時間ならびに JET 実施日の投与後 6 時間に採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。試験 15 日に動物を安楽殺し，各群 1 例で剖検および病理組織学的検査を実施した。

一般状態観察で認められた所見は，45 mg/kg/日以上でみられた消化管に関連した軟便/水様便（軽微～軽度）のみであった。嘔吐（軽微な）は 0，15 および 75 mg/kg/日で認められたが，対照群の雌で試験 4 日に嘔吐がみられており，リトレシチニブとは関連しない可能性が考えられた。

すべての用量で試験 15 日に循環血中のリンパ球数の用量に依存しない減少（15，45 および 75 mg/kg/日でそれぞれ 0.75 倍，0.89～0.96 倍および 0.64～0.75 倍；以下，投与前値との比較）が認められた。循環血中のリンパ球数の減少は，脾臓および胸腺の細胞充実性の低下と関連していた。

45 mg/kg/日以上で胸腺および脾臓に病理組織学的所見が認められた。胸腺で認められた皮質の細胞充実性の低下（45 mg/kg/日で軽度～中等度，75 mg/kg/日で中等度）は胸腺の小型化と関連していた。45 mg/kg/日以上で脾臓の白脾髄で細胞充実性の軽微な低下が認められた。高用量の 75 mg/kg/日においても脛骨に剖検または病理組織学的所見は認められなかった。

リンパ系組織および循環血中のリンパ球への影響は，リトレシチニブによる JAK3 シグナル伝達の阻害と符合していた。

45 mg/kg/日で平均，収縮期および拡張期血圧の低下（-6～-25 mmHg），心拍数の低下（-10～-18 bpm）ならびに二次的な PR 間隔の増加（+5～+7 ms）が認められた。QRS，QT および QTc 間隔または活動性への影響はみられなかった。

試験 2，8 および 12 日の投与後 6 時間の血漿中濃度は，それぞれ 1040，1150，1300 ng/ml であった。曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量にほぼ比例して増加し，性差はみられなかった。試験 1 日と 14 日の曝露量は類似しており，試験 14 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 21,400 ng/mL および 64,000 ng•h/mL であった。

ビーグル犬にリトレシチニブを 15 日間 QD 経口投与したとき，高用量の 75 mg/kg/日まで忍容性が認められた。45 mg/kg/日以上で血圧および心拍数の低下，脾臓および胸腺の細胞充実性の低下が，すべての用量で循環血中のリンパ球数の減少が認められた。リンパ系組織および循環血中のリンパ球への影響は，リトレシチニブによる JAK3 シグナル伝達の薬理作用的阻害と符合していた。

3.2.2. イヌを用いた 8 週間経口投与毒性試験（[redacted]GR135 試験，概要表 2.6.7.7C）

雌雄ビーグル犬（3 例/性/群，9 ヵ月齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），5，15 または 45 mg/kg/日の用量で 8 週間 QD 経口投与した。投与容量は 5 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，定性的摂餌量測定，眼科検査，心電図および臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査）を行った。試験前および試験 57 日に採血し，免疫表現型検査を行った。試験 1 日および 54 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。投与期間終了時に剖検を行い，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

毒性学的意義の乏しいと考えられる所見が，血液学検査，免疫表現型検査，病理組織学的検査，心臓血管および一般状態観察で認められた。

5 mg/kg/日以上で循環血中のリンパ球数（0.50～0.87 倍），総 T 細胞数（0.20～0.73 倍），ヘルパー T 細胞数（0.18～0.63 倍），細胞傷害性 T 細胞数（0.23～0.65 倍）および NK 細胞数（0.07～0.69 倍）の概ね用量依存的な減少が，45 mg/kg/日で B 細胞の減少（0.47～0.61 倍）が認められた。

15 mg/kg/日以上で細胞充実性の低下が胸腺（軽度から重度）および腸間膜リンパ節（軽微～中等度）で認められ，循環血中のリンパ球数，T 細胞数，NK 細胞数および B 細胞数への影響と関連した。これらの所見は意図した JAK3/TEC の阻害と符合し，感染などの免疫調節による潜在的な二次的作用を伴わない場合は毒性学的意義の乏しい変化と考えた。

45 mg/kg/日の雌の 1 例で骨髄中のすべての細胞系譜の細胞充実性の低下が認められた。骨髄の細胞充実性の低下は，循環血中の赤血球，好中球数，単球数または血小板の低下を伴わなかったことから毒性学的意義は乏しいと考えた。

5 mg/kg/日以上で副腎皮質球状帯の空胞化の発現頻度または程度の上昇（対照群との比較）が認められた。球状帯の空胞化は，萎縮，変性，壊死または炎症を伴わず，電解質の異常や尿検査パラメータの変化とは関連がなかったこと，ビーグル犬でみられる一般的な背景所見である[11]ことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。

45 mg/kg/日で試験 53 日に心拍数の増加ならびにそれに伴う PR および QT 間隔の二次的な減少が認められたが，心臓および血管系に関連する病理組織学的変化がないことから，これらの変化の毒性学的意義は乏しいと考えた。

5 mg/kg/日以上で嘔吐の発現頻度と頻度（日数）の上昇/増加（対照群との比較）ならびに 45 mg/kg/日の雄で粘液便および赤色便が認められた。体重，摂餌量，臨床病理検査または消化管の病理組織学的検査で関連する所見が認められなかったことから，糞便の変化および嘔吐の毒性学的意義は乏しいと考えた。

いずれの用量でも脛骨に剖検または病理組織学的所見は認められなかった。

この試験の各用量群のすべての動物から採取したオリーブ核を含む脳幹（髄質）切片を病理組織学的検査で調べたところ，9 ヵ月間試験でみられた軸索ジストロフィーは認められなかった。

試験 1 日および試験 54 日において，C_{max} は用量にほぼ比例して増加し，AUC_{24} は用量比をわずかに上回って増加し，性差は認められなかった。試験 1 日および試験 54 日の T_{max} は投与後 1～1.3 時間であった。試験 1 日と試験 54 日の曝露量は同程度であった。

認められた所見はいずれも毒性学的意義の乏しいものであったことから，本試験における NOAEL は高用量の 45 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 54 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 14,600 ng/mL および 53,800 ng•h/mL であった。

3.2.3. イヌを用いた 9 ヵ月間経口投与および 3 ヵ月間回復性試験［20070068 試験（[redacted]MA143），概要表 2.6.7.7D］

雌雄ビーグル犬（4 または 6 例/性/群，約 11～12 ヵ月齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），5，20 または 40 mg/kg/日の用量で 273 日間 QD 経口投与し，対照群および 40 mg/kg/日（雌雄各 2 例）については 3 ヵ月間の回復性試験を実施した。この試験の用量は，45 mg/kg/日が NOAEL であった 8 週間試験の結果に基づき，投与期間の長期化により影響が増悪する可能性を考慮して設定した。投与容量は 1 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科検査，心電図および臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査）を行った。試験 87 日および予定剖検時（試験 274 日）に採血し，免疫表現型検査を行った。また，試験 94 日および試験 273 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。投与期間（試験 274/275 日）および休薬期間終了時（試験 365 日）に剖検を行い，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。投与期間の病理組織学的検査で認められた軸索ジストロフィーに関連する可能性のある機能的影響について検討するために休薬 85 日に聴覚検査（BAEP 検査）を実施した。投与期間および休薬期間の終了時にみられた上オリーブ核の所見についてさらに検討するために一部の個体の残存した脳幹から採取した上オリーブ核および蝸牛神経核について透過型電子顕微鏡（TEM）検査を実施した。

毒性所見として，20 mg/kg/日以上で脳幹における両側性の軸索ジストロフィーが，40 mg/kg/日で休薬期間中に治療を要する全身性の皮膚感染症を伴う過度の免疫抑制が認められた。光学顕微鏡下で認められた軸索ジストロフィーは，40 mg/kg/日を投与後の休薬中の雄 2 例の BAEP 検査で認められた軽度～重度の聴覚障害および異常な波形変化と関連していた。

20 mg/kg/日以上で雌雄の脳幹のオリーブ核で軸索ジストロフィー（スフェロイド）の発現頻度または程度（軽微～中等度）の用量依存的な増加が認められた。軸索ジストロフィーは，中心部が顆粒状ないしガラス状を呈する円形または卵円形の好酸性構造（スフェロイド）の存在を特徴としていた。軸索ジストロフィーは，所見がみられたほとんどのイヌで両側性に認められたが，対照群の 1 例ではわずかな数のスフェロイドが一側性にみられた。このことは，軸索スフェロイドがイヌにおいて加齢に伴う変化としてオリーブ核を含む中枢神経系に観察されるという報告[12,13,14,15]と符合した。

オリーブ核には運動と聴覚の投射があるが，この部位の病変に関連する機能障害を示唆する一般状態の変化はこの試験では認められておらず，聴覚検査は試験前または投与期間中には実施しなかった。3 ヵ月間の休薬期間終了時に 40 mg/kg/日では雌雄各 2 例中の雄 1 例を除き上オリーブ核に限局性の軽微な一側性の軸索ジストロフィーがみられ，BAEP 検査では 40 mg/kg/日を投与した雄の 2 例で軽度～重度の聴覚障害と異常な波形変化が認められ，回復傾向が示唆された。これらのことから，軸索ジストロフィーは，リトレシチニブの投与に関連した背景所見の悪化であり，用量の増加に伴う頻度または程度の上昇がみられたこと，主に両側性であり，休薬動物で実施した機能検査から聴覚系の障害が示唆されたことから，毒性所見と判断した。

投与期間および休薬期間の終了時に一部の動物から採取した上オリーブ核および蝸牛神経核を用いて実施した TEM 検査において，40mg/kg/日群から選択した 2 例中 2 例で投与期間終了時に上オリーブ核で軸索終末の腫大が高い発生頻度で認められたが，対照群から選択した 1 例の上オリーブ核では認められなかった。これらの腫大部では，ミトコンドリアが広い間隔で存在しており，ゆるく絡んだニューロフィラメントと考えられる直径約 10 nm の線形フィラメントと単一または互いに融合した中等度の電子密度で境界が不鮮明な非膜結合性の内部構造体を有さない均一な楕円形から球形の構造体がみられた。これらの腫大部と隣接する神経細胞体との間のシナプスは形態学的に正常であった。軸索終末の腫大は 40 mg/kg/日を投与後の 3 ヵ月間休薬期間終了時に選択した 3 例中 3 例では認められなかった。投与期間または休薬期間の終了時に蝸牛神経核の超微細構造に異常所見は認められず，神経細胞体との間のシナプスは形態学的に正常であった。

40 mg/kg/日で雄 2 例と雌 1 例に毛包周辺を中心としたマクロファージ，単核細胞および顆粒球からなる限局性の軽度～重度の慢性活動性炎症，ならびに上層の上皮における表皮肥厚および角質増殖を特徴とする皮膚の赤色化および限局性の皮膚の痂疲/丘疹が認められた。雄の 2 例でみられた限局性の炎症は中等度～重度であり，変化のみられた毛包内に好塩基性の寄生構造（ニキビダニと推定される）が認められた。雌でも類似した毛包への影響がみられたが，炎症の程度はより軽く，ダニは認められなかった。この雌で試験 274 日に認められた好中球数の増加（2.62 倍）と主としてそれによる白血球数のわずかな増加（1.95 倍）およびフィブリノーゲンの増加（2.48 倍）は限局性の炎症に関連すると考えられた。これらの皮膚所見はリンパ球数減少の二次的な免疫抑制に関連すると考えられた。

40 mg/kg/日で投与期間終了時に皮膚の病理組織学的所見が認められたが，その時点では程度が軽く局所的であったことから毒性所見とは判断しなかった。その後，休薬期間中の回復約 15 日から皮膚の一般状態所見の程度が進行し，全身性の皮膚の赤色化，被毛の菲薄化，剥離または脂性皮膚，趾間嚢胞および耳の感染症がみられ，駆虫薬と広域スペクトラム抗菌薬による治療を要した。休薬期間に全身の皮膚で認められた所見は過度の免疫抑制を示すものであることから，過度の免疫抑制および関連する皮膚所見は毒性所見と考えた。皮膚所見は，休薬期間終了時の剖検または病理組織学的検査で感染を示す所見はみられなかったことから，休薬により回復することが示された。

毒性学的意義の乏しい病理組織学的所見として，5 mg/kg/日以上で胸腺，脾臓，GALT，腸間膜および膝窩リンパ節における細胞充実性の低下，20 mg/kg/日以上で骨髄（胸骨）の細胞充実性の低下ならびに 40 mg/kg/日で肺における限局性の慢性混合性炎症の小さな病巣が認められた。

5 mg/kg/日以上の雌雄で胸腺皮質ならびに腸間膜および膝窩リンパ節の皮質領域に細胞充実性の軽微～中等度の低下が認められた。胸腺皮質のサイズと細胞充実性が低下したが，髄質への影響は軽微であった。リンパ節では，皮質の濾胞は対照群よりも小さく，傍皮質領域は菲薄化していた。すべての用量の雄および 20 mg/kg/日以上の雌で白脾髄の濾胞および GALT で細胞充実性の軽微～軽度の減少が認められた。これらの所見は，40 mg/kg/日の雌雄でみられた脾臓の実重量および比重量（体重または脳重量）の減少ならびに循環血中のリンパ球数の減少と関連していた。リンパ系組織における細胞充実性の低下は，リトレシチニブの薬理作用に関連しており，全身組織の損傷または感染を示唆する毒性所見が臨床病理検査ならびに剖検または病理組織学的検査で認められなかったことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。

20 mg/kg/日および 40 mg/kg/日の雄の各 2 例で骨髄（胸骨）に毒性学的意義の乏しい，軽微な細胞充実性（すべての細胞系譜）の低下が認められた。すべての骨髄の構成要素は存在し，壊死または出血は認められなかった。この所見は，変化の程度が軽微であり，骨髄毒性（例えば，出血または全身性の感染/炎症）を示唆する毒性所見が臨床病理検査ならびに剖検または病理組織学的検査で認められなかったことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。

40 mg/kg/日の雌雄各 1 例で肺に毒性学的意義の乏しい，軽微～軽度の慢性混合細胞性炎症の病巣が認められた。この所見はマクロファージ，単核細胞および好中球による肺胞腔および壁内への混合性炎症細胞浸潤領域と肥厚した肺胞壁の多発領域との混在を特徴としていた。これらの病変は，所見がみられたイヌの剖検で認められた肺の異常な病巣と対応していた。肺でみられたこの所見は，リトレシチニブに関連していたが，影響を受けた組織の領域が小さく，程度は軽微～軽度であり，関連する一般状態の変化が認められなかったことから，それ自体の毒性学的意義は乏しいと考えた。

休薬期間終了時には毒性の標的組織で病理組織学的所見は認められなかったことから，投与期間中に認められたその他の影響は完全に回復することが示された。脾臓の実重量および比重量（体重または脳重量）は，雄でのみ休薬期間終了時でも低値を示したが，これは主に 1 例の値が低かったことによるものであり，3 ヵ月間の休薬期間終了時に回復傾向が認められた。

投与期間中に，毒性学的意義の乏しいリンパ球数，好塩基球数および好酸球数の用量依存的な減少が認められた。すべての用量で試験 87 日と試験 274 日に認められた循環血中のリンパ球数の減少（雄で 0.41～0.65 倍，雌で 0.33～0.62 倍）は，複数の群のリンパ系組織で認められた細胞充実性の低下および脾臓重量の減少と関連していた。好塩基球数の減少は，20 mg/kg/日以上の雄（0.54～0.75 倍）および 5 mg/kg/日以上の雌（0.42～0.85 倍）で認められた。すべての用量の雄で試験 87 日と試験 274 日に好酸球数の減少（0.47～0.6 倍）が認められた。リンパ球数の減少は，リトレシチニブの薬理作用に関連していた。リンパ球，好塩基球および好酸球の変化は，程度が軽く，全身性の感染を示す病理組織学的または剖検所見が認められなかったことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。

白血球数，好中球数および単球数の用量依存性のない増加が認められた。白血球数の増加（雄で 1.11～1.15 倍，雌で 1.33～1.49 倍）は主に 40 mg/kg/日の雄および 20 mg/kg/日以上の雌で試験 87 日または試験 274 日に認められた好中球数の増加（雄で 1.46～1.47 倍，雌で 1.46～2.0 倍）によるものであった。白血球数および好中球数は雌雄いずれにおいても試験 87 日と試験 274 日で概ね類似していた。20 mg/kg/日以上で試験 87 日または試験 274 日に単球数の増加（雄で 1.21～1.26

倍，雌で 1.42～1.73 倍）が認められた。白血球，好中球数および単球数の増加は，程度が軽く，全身性の感染を示唆する所見が病理組織学的検査または剖検で認められなかったことから，毒性学的意義に乏しい変化と考えた。

20 mg/kg/日以上の雌雄で赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の，5 mg/kg/日以上の雌雄で網状赤血球数の毒性学的意義の乏しい用量依存的な減少が試験 87 日または試験 274 日に認められた。変化の程度は，赤血球数は雄で 0.78～0.92 倍，雌で 0.83～0.91 倍，ヘモグロビン濃度は雄で 0.72～0.89 倍，雌で 0.78～0.84 倍，ヘマトクリット値は雄で 0.77～0.91 倍，雌で 0.84～0.89 倍および網状赤血球数は雄で 0.36～0.76 倍，雌で 0.68～0.80 倍といずれも軽かった。赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値および網状赤血球数はいずれも試験 87 日と試験 274 日で概ね類似していた。

20 mg/kg/日以上の雌雄で試験 87 日と試験 274 日に血小板数の用量依存的な増加（雄で 1.18～1.34 倍，雌で 1.15～1.42 倍）が，40 mg/kg/日の雌雄でフィブリノーゲンの増加（雄で 1.43～1.78 倍，雌で 1.51～1.76 倍）が認められた。赤血球パラメータ，網状赤血球，血小板およびフィブリノーゲンの変化は，程度が軽く，血液の機能障害または全身性の感染に関連する剖検または病理組織学的所見が認められなかったことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。

投与期間終了時に認められたリンパ球数，好塩基球数，赤血球数，ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の減少ならびに単球数，血小板数およびフィブリノーゲンの増加は試験 309 日（回復 35 日）でもみられたが，変化の程度と方向からは回復傾向が示された。

白血球数は試験 309 日に雄で減少（0.75 倍）し，試験 309 日にもみられたリンパ球数の減少に関連していた。休薬期間終了時（試験 365 日）でもリンパ球数の減少（雄で 0.79 倍，雌で 0.67 倍）はみられたが，試験 87，274 および 309 日と比較して増加傾向であり，回復傾向が認められた。投与期間に認められたその他の血液学的所見は，いずれも休薬期間終了時に回復した。

40 mg/kg/日でアルブミンの減少（雄で 0.76～0.91 倍，雌で 0.82～0.91 倍）およびグロブリンの増加（雄で 1.43 倍，雌で 1.29 倍）が認められ，A/G 比は減少（雄で 0.53～0.87 倍，雌で 0.63～0.88 倍）した。5 mg/kg/日以上の雄で試験 87 日と試験 274 日に用量依存的ではないリンの減少（0.70～0.86 倍）が認められ，20 mg/kg/日以上の雌でも試験 274 日にみられた（0.59～0.66 倍）。5 mg/kg/日以上の雄で総コレステロールの用量依存性のない減少（0.64～0.80 倍）が認められ，40 mg/kg/日の雌でも試験 87 日と試験 274 日にみられた（0.62～0.63 倍）。40 mg/kg/日で試験 274 日にクレアチニンの減少（雄で 0.71 倍，雌で 0.83 倍）が認められた。これらの変化は，程度が軽く，全身性の感染症など関連する毒性所見が剖検または病理組織学的検査で認められなかったことから，毒性学的意義に乏しい所見と考えた。

休薬期間終了時（試験 365 日）でもグロブリンの増加がみられ，A/G 比は投与前値と比較して雄で減少したが，グロブリンの変化の程度は試験 309 日よりも小さく，回復傾向が認められた。アルブミンは休薬期間終了時に投与前値の範囲に戻っていた。休薬期間でもみられたグロブリンおよび A/G 比の変化は，これらのイヌで休薬期間中に発現して休薬期間の剖検までに回復した皮膚炎症に関連していると考えられるが，いずれも休薬期間終了時までに雌イヌの投与前値の範囲まで戻り，これらの変化の回復傾向が認められた。投与期間に認められたその他の血液生化学的パラメータへの影響は，いずれも休薬期間終了時に回復した。

試験 87 日および試験 274 日にすべての用量で毒性学的意義の乏しい総 T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞傷害性 T 細胞数および NK 細胞数の減少が認められたが，B 細胞数の減少は試験 274 日のみに認められた。NK 細胞数の減少は休薬期間の試験 309 日または試験 365 日にほとんどの個体で完全に回復したが，総 T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞傷害性 T 細胞数および B 細胞数では回復傾向しか認められなかった。

リンパ系組織，リンパ球およびリンパ球サブセットでみられたこれらの所見は，リトレシチニブの薬理作用から予測されるものであり，投与期間に関連する全身性の感染が認められなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。

20 mg/kg/日および 40 mg/kg/日の雌雄で 9 ヵ月間の投与期間を通して体重減少または体重増加量の減少が認められたが，試験 1～273 日での程度が軽かった（対照群の 0.95 倍）ことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。体重増加量の減少は休薬期間に回復した。40 mg/kg/日を投与後の休薬 1 週目に雄で認められた毒性学的意義の乏しい摂餌量の減少（対照群の 0.5 倍）は，休薬期間終了時には対照群の 0.9 倍に戻った。

40 mg/kg/日で投与期間中に毒性学的意義の乏しい軟便の発現頻度の上昇（対照群との比較）が認められ，リトレシチニブ投与によりこの所見は悪化した。

いずれの用量でも，脛骨に剖検または病理組織学的所見は認められず，大腿脛骨関節（大腿骨遠位端および脛骨近位端を含む）にも剖検所見は認められなかった。心電図への影響は認められなかった。

試験 94 日および試験 273 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量にほぼ比例して増加した。曝露量は試験 94 試験と試験 273 日の間で差はなく，いずれの用量でも一貫した性差はみられなかった。

ビーグル犬へのリトレシチニブの経口投与により，20 mg/kg/日で雌雄の脳幹に毒性と考えられる軸索ジストロフィーが，40 mg/kg/日で投与後の休薬期間に全身性の感染を伴う過度の免疫抑制が認められた。脳幹でみられた所見は，40 mg/kg/日の休薬期間の雄で実施した BAEP 検査における聴覚障害および異常な波形変化に関連していた。脳幹の軸索ジストロフィーは超微細構造的には軸索終末の腫大として認められ，この腫大は休薬期間終了時には認められなかった。休薬期間終了時に皮膚の炎症は完全に回復し，軸索ジストロフィーの回復傾向が認められた。これらの所見に基づき本試験における NOAEL は低用量の 5 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 273 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 1360 ng/mL および 4900 ng•h/mL であった。

3.2.4. イヌを用いた 9 ヵ月間経口投与および 6 ヵ月間回復性試験［20099163 試験（[redacted]MA106），概要表 2.6.7.7E］

1 回目のイヌを用いた 9 ヵ月間試験（20070068 試験）で軸索ジストロフィーが認められたことから，その再現性，より詳細な特徴，時間経過，聴覚機能への影響のモニタリング可能性と C_{max} および AUC_{24} に対する感受性ならびに 6 ヵ月間の休薬による回復性について検討するため，また，より適切な NOAEL を求めるために 2 回目の 9 ヵ月間試験を実施した。C_{max} および AUC_{24} に対する感受性は，中間用量の 20 mg/kg/日を 20 mg/kg として 1 日 1 回（QD）投与または 10 mg/kg として 1 日 2 回（BID）投与することにより評価した。

雌雄ビーグル犬（4 または 7 例/性/群，約 9 ヵ月齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），10，20 または 40 mg/kg/日の用量で 273 日間 QD 経口投与もしくは 10 mg/kg の用量を 6 時間間隔で BID 投与（20 mg/kg/日）した。対照群，20 mg/kg/日（QD）および 40 mg/kg/日（雌雄各 3 例）については 6 ヵ月間の回復性試験を実施した。投与容量は 1 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定および臨床病理検査（血液学的/血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査）を行った。試験 14 日および 80 日ならびに予定剖検時（試験 274 日）に採血し，免疫表現型検査を行った。また，試験 1 日，91 日および 273 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に採血［ただし，20（10 BID）mg/kg/日群は投与後 1，3，6，7，10 および 24 時間に採血］し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。投与期間（試験 274/275 日）および休薬期間終了時（試験 469/470 日）に剖検を行い，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

BAEP 検査は，投与前の 2 時点，投与期間の 4 時点（試験 2，4，7 および 9 ヵ月）および休薬期間の 2 時点（試験 3 ヵ月および 6 ヵ月）の計 8 時点で実施した。投与期間後の予定剖検時のイヌ（4 例/性/群）から採取したスライドのサブセット（神経系組織）の社外専門家によるピアレビューを盲検下で実施した。また，毒性試験で通常採取しない組織であり，この試験のすべての用量で軸索ジストロフィーが認められた小脳虫部の吻側部における軸索ジストロフィー発現頻度の背景データに関する広範な評価を，他の試験の対照動物（この試験で用いたイヌとほぼ同じ年齢）を用いて実施した。

毒性所見として，20 mg/kg/日以上で中枢神経系および末梢神経系に，20（20 QD）mg/kg/日では副腎自律神経にも軸索ジストロフィーが認められた。軸索ジストロフィーに関連して 40 mg/kg/日で BAEP 検査での聴覚閾値への影響および異常な波形変化が認められた。また，20 mg/kg/日以上で皮膚感染症（ニキビダニ属種，パピローマウイルスおよび趾間嚢胞）を伴う過度の免疫抑制をもたらすリンパ系組織における細胞充実性の低下が認められた。

20 mg/kg/日以上で脳幹（外側上オリーブ核，外側毛帯線維束/腹側核）および小脳虫部吻側の白質に軸索ジストロフィーが認められた。10 mg/kg/日で小脳（小脳虫部の吻側部）に軽微～中等度の用量依存性のない軸索ジストロフィー（スフェロイド）が認められた。脳のこの部位（小脳虫部の吻側部）と切片は通常の毒性試験で一般的にサンプリングされないため，この所見の背景データは不明であったことから，この試験で用いたイヌと年齢が一致またはより高齢の対照イヌ 95 例について，対応する脳切片の光学顕微鏡検査を実施した。その結果，これらの対照イヌの 25%の小脳虫部の吻側部で，1～5 個のスフェロイドが認められ，年齢とともにスフェロイドの数は増加した。

したがって，10 mg/kg/日で小脳虫部の吻側部に認められた軸索ジストロフィーは，局所的でリトレシチニブ投与に関連した加齢に伴う自然発生所見の悪化であり，軸索変性，軸索貪食，神経細胞壊死，炎症・グリオーシスなどの毒性を示唆する形態学的変化，BAEP 検査での聴覚機能への影響および運動（姿勢，歩行，協調）への影響を伴わないことから，毒性学的意義に乏しい変化と考えた。

20 mg/kg/日以上で坐骨神経および複数の内臓を神経支配する迷走神経の枝，消化管，膣および膀胱の筋層間神経叢ならびに粘膜下神経叢に，20（20 QD）mg/kg/日で副腎を神経支配する自律神経に毒性と考えられる軸索ジストロフィーが認められ，20 mg/kg/日以上で脊髄（白質および灰白質）の軸索ジストロフィーの重症度の上昇がみられた。脳幹における所見は選択されたスライド

の神経病理学者による盲検下でのピアレビューで確認され，40 mg/kg/日の 7 ヵ月間または 9 ヵ月間の投与で雌雄各 1 例に BAEP 検査でみられた聴覚閾値への影響および異常な波形変化［聴覚閾値の軽度の上昇（一側性，58dB），46dB 未満の聴覚刺激に対する軽度の聴覚障害（一側性），顕著な聴覚の非対称性および BAEP のIV波およびV波（上オリーブ核および外側毛帯における聴覚処理の完全性をほぼ反映）に特異的な明瞭さと振幅の喪失］に関連していた。

神経系に認められた軸索ジストロフィーおよび BAEP 検査での所見は，いずれも 40 mg/kg/日の雌の 1 例を除いて，20 mg/kg/日以上のすべてのイヌで完全に回復した。40 mg/kg/日の雌の 1 例では小脳虫部の吻側部に限定された毒性学的意義の乏しい軽微な軸索ジストロフィー（スフェロイド）が認められたものの，投与終了時と比較して発生頻度および重症度は低下しており，ほぼ完全な回復が認められた。

リンパ系組織における所見として，20（10 BID）mg/kg/日以上で胸腺に，10 mg/kg/日以上の雌雄で脾臓，膝窩リンパ節，腸間膜リンパ節および GALT に軽微～中等度の細胞充実性の低下が，20（10 BID）mg/kg/日の雄および 40 mg/kg/日の雌雄で骨髄に細胞充実性の軽微な低下（すべての細胞系譜）が認められた。細胞充実性の低下は，10 mg/kg/日以上のリンパ球数，総 T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞傷害性 T 細胞数および NK 細胞数の毒性学的意義の乏しい減少と関連していた。細胞充実性の低下はリトレシチニブの薬理作用に関連した変化であるが，20 mg/kg/日以上の胸腺，脾臓，膝窩および腸間膜リンパ節ならびに GALT における細胞充実性の低下は，過度の免疫抑制（皮膚感染症）が認められたことから毒性と判断した。

一般状態観察において，全身性の皮膚の赤色化，被毛の菲薄化，皮膚丘疹および趾間嚢胞などの皮膚の炎症が毒性所見として認められた。20（10 BID）mg/kg/日の雌雄各 1 例および 40 mg/kg/日の雄の 1 例でパピローマウイルスを示唆する核内ウイルス封入体を伴う軽度または重度の表皮の過形成（結節または腫瘤と関連）および 20（10 BID）mg/kg/日の雄の 1 例で数種の毛包内寄生虫 (ニキビダニ, 皮膚結節と関連) を含む毛包における中等度の局所性炎症が広範に認められた。20（10 BID）mg/kg/日の雌の 1 例で感染性病原体（趾嚢胞と関連）を伴わない中等度の好中性皮膚炎症が認められた。

リンパ系組織の変化はいずれも完全に回復した。被毛の菲薄化および皮膚の赤色化は減少しており，一般状態観察で認められた皮膚の所見は 20 mg/kg/日では完全に回復し，40 mg/kg/日では部分的に回復した。20 mg/kg/日では休薬期間終了時に趾間嚢胞は認められなかったが，40 mg/kg/日では休薬期間終了時にも認められた。総 T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞傷害性 T 細胞数および NK 細胞数の減少は, 20 mg/kg/日および 40 mg/kg/日のすべての動物で完全な回復を示した。

リンパ球数の減少に関連するその他の所見として，10 mg/kg/日以上の雄および 20 mg/kg/日以上の雌では肺胞腔への混合性細胞浸潤を特徴とし, 剖検で 40 mg/kg/日の雄でみられた淡色巣に対応する軽微～軽度の肺の混合性炎症細胞浸潤が認められた。肺の所見は休薬期間終了時には完全に回復し，程度が軽く，関連する一般状態の変化が認められなかったことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。

その他の毒性学的意義の乏しい所見として，好酸球数，好塩基球数，赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値，網状赤血球数，アルブミン，リン，クレアチニン，カルシウム，コレステロールおよび A/G 比の減少ならびに好中球数, 単球数, 白血球数, 赤血球分布幅, フィブリノー

ゲンおよびグロブリンの増加が認められた。これらの変化は，機能障害または全身性の感染を示す所見が剖検または病理組織学的検査で認められなかったこともしくは変化の程度が小さかったことから毒性学的意義は乏しいと考えた。

好酸球数の減少が 20 mg/kg/日以上の雄で試験 80 日と試験 274 日（0.41～0.90 倍）に，雌では 20 mg/kg/日以上で試験 80 日と試験 274 日（0.32～0.94 倍）および試験 14 日（0.39 倍）に，10 mg/kg/日以上で試験 80 日と試験 274 日（0.36～0.72 倍）に認められた。20（10 BID）mg/kg/日以上の雄で試験 274 日に好塩基球数の減少（0.29～0.40 倍）が認められ，雌では 10 mg/kg/日以上で試験 80 日と試験 274 日（0.29～0.60 倍）に認められた。

20（10 BID）mg/kg/日以上の雄および 20 mg/kg/日以上の雌で試験 80 日と試験 274 日に赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値）の減少が，10 mg/kg/日以上の雌雄で試験 14，80 および 274 日に網状赤血球数の減少が認められた。赤血球パラメータの減少により，20 mg/kg/日以上の雌で試験 274 日に赤血球分布幅の軽微な増加がみられた。

赤血球数（0.79～0.89 倍），ヘモグロビン濃度（0.79～0.89 倍），ヘマトクリット値（0.80～0.86 倍）および網状赤血球数（0.29～0.80 倍）の減少の程度は小さく，雌雄いずれにおいても試験 80 日と試験 274 日でほぼ同程度であった。10 mg/kg/日以上の雌で試験 80 日と試験 274 日にフィブリノーゲンの増加（1.20～1.90 倍）が認められた。

すべての用量で試験 274 日にアルブミンの減少（0.79～0.89 倍）およびグロブリンの増加（1.08～1.43 倍）が認められ，A/G 比が減少（0.55～0.88 倍）した。20 mg/kg/日以上の雌雄で試験 80 日にクレアチニンの減少（0.78～0.88 倍）が認められ，雌では試験 274 日まで継続した。10 mg/kg/日以上の雌雄で試験 14 日にリンの減少（0.63～0.89 倍）が認められ，40 mg/kg/日の雄では試験 80 日まで，20 mg/kg/日以上の雄および 40 mg/kg/日の雌では試験 274 日まで継続した。40 mg/kg/日の雄で試験 80 日に，20 mg/kg/日以上の雄で試験 274 日に，40 mg/kg/日の雌で試験 274 日にカルシウムの減少（0.88～0.93 倍）が認められた。10 mg/kg/日以上の雌雄で試験 14，80 および 274 日にコレステロールの軽微な減少（0.6～0.8 倍）が認められた。これらの変化には用量依存性はみられず，試験全体を通して安定（特に雌）していた。

すべての臨床病理学的変化は，6 ヵ月間の休薬期間終了時に回復した。

10 mg/kg/日以上の雌雄で投与期間に用量依存性がなく毒性学的意義の乏しい体重減少または体重増加量の減少が認められた。体重または体重増加量の減少により体重の平均値は雄で 0.90 倍，雌で 0.89 倍まで低下し，20 mg/kg/日以上の雌でみられた摂餌量の減少と削痩（体調の悪化）の発現頻度上昇と関連していた。

20 mg/kg/日以上の雄（対照群の 0.89～0.91 倍）および 10 mg/kg/日以上の雌で投与期間に用量依存性がなく毒性学的意義の乏しい摂餌量の減少が認められた。雌では投与 1 週目に摂餌量の減少がみられ，主に試験開始後 2 ヵ月まで散発的に認められた。一部の動物では摂餌量の減少もしくはそれに関連する体重減少または体調の悪化により，補助食を給餌した。

体重および摂餌量への影響は，9 ヵ月間の投与期間での体重変化の程度は比較的小さく，補助食を与えて投与を継続したところ体調または体重が回復したことから，毒性学的意義は乏しいと考

えた。体重増加量および摂餌量は，休薬期間に 20（20 QD）mg/kg/日以上の雌雄で完全に回復した。

いずれの用量においても脛骨に剖検または病理組織学的所見は認められなかった。

試験 1 日，91 日および 273 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量にほぼ比例して増加し，性差はみられなかった。20 mg/kg/日の QD 投与と 10 mg/kg の BID 投与での曝露量に明確な差はみられなかった。雌雄合算した AUC_{24} は試験 1 日と 91 日または 273 日はほぼ一定であり，蓄積性はほとんど認められなかった。

ビーグル犬へのリトレシチニブの 10，20（QD），20（10 BID）および 40 mg/kg/日での 273 日間の強制経口投与により，20 mg/kg/日（BID または QD 投与）以上で過度の免疫抑制および軸索ジストロフィーが，40 mg/kg/日で軸索ジストロフィーに関連する BAEP 検査での聴覚閾値への影響および異常な波形変化が認められた。皮膚の一般状態所見は 40 mg/kg/日で回復傾向が認められ，軸索ジストロフィーは 40 mg/kg/日の雌の 1 例で小脳虫部の吻側部のみに軽微ながらみられたが，ほぼ完全な回復が認められた。これらを除いて，20（QD）mg/kg/日以上で認められた所見はいずれも完全に回復した。以上のことから本試験における NOAEL は 10 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 273 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 2330 ng/mL および 9680 ng•h/mL であった。

4. 遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験，ヒトリンパ芽球細胞株 TK6 を用いた in vitro 小核試験およびラットの in vivo 小核試験からなる一連の遺伝毒性試験でリトレシチニブを評価した。In vivo 小核試験はラットの 8 週間投与毒性試験で実施した。In vitro 試験はすべて，細胞毒性が生じるまでまたは溶解性による限界までの濃度で代謝活性化系の存在下および非存在下で実施した。

リトレシチニブは細菌を用いる復帰突然変異試験および in vivo 小核試験で遺伝毒性を示さなかったが，TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験では 27 時間処理の結果が陽性であった。構造的染色体異常を検討した試験で陰性であったこと，異数性の評価で低二倍体，高二倍体および倍数体の増加が認められたことから異数性誘発能が確認された。リトレシチニブをラットに 3 日間投与したとき，小核を有する多染性の網状赤血球の発生は認められなかった。

4.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験［WIL-655100 試験（[redacted]GR129），概要表 2.6.7.8A］

Salmonella typhimurium（TA1537, TA98, TA100, TA1535）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 誘導ラット肝 S9）の存在下および非存在下で，リトレシチニブの復帰突然変異誘発性の有無を検討した。リトレシチニブを DMSO に溶解して 50 mg/mL の溶液を調製した。変異原性試験はプレート法を用いて，代謝活性化の有無にかかわらず，各濃度につき 3 枚のプレートを用いて実施した。

プレートあたりの復帰変異コロニー数が濃度依存的かつ溶媒対照の 2 倍（TA98, TA100, WP2uvrA pKM101）または 3 倍（TA1535，TA1537）以上の場合に陽性と判定した。

用量設定試験は 25，50，100，250，500，1000，2500 および 5000 µg/プレートのリトレシチニブ濃度で実施した。この試験では TA1535 の遺伝的標的スクリーニングは許容基準を満たさなかっ

た。また，WP2uvrA pKM101 では代謝活性化系の存在下および非存在下の溶媒対照プレートに背景細菌叢が認められず許容基準を満たさなかった。これらの菌株については，同じ濃度で用量設定試験を再度実施した。代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株でも沈殿物は認められなかった。代謝活性化系存在下の TA1537 株ならびに代謝活性化系の存在下および非存在下の TA1535 において 5000 µg/プレートで細胞毒性（復帰変異コロニー数の減少）が認められた。代謝活性化系非存在下の TA1537 株では 25 µg/プレートで復帰変異コロニー数の 50%を超える減少が認められたが，減少は濃度依存的ではなかったことから，細胞毒性による真の影響を反映したものではないと考えられた。

本試験は 100，250，500，1000，2500 および 5000 µg/プレートのリトレシチニブ濃度で実施した。いずれの試験菌株でも代謝活性化の有無にかかわらず沈殿物は認められなかった。TA100 では代謝活性化の有無にかかわらず 2500 µg/プレート以上で，TA1537，TA98 および TA1535 では代謝活性化の有無にかかわらず 5000 µg/プレートで細胞毒性（復帰変異コロニー数の減少）が認められた。また，代謝活性化系非存在下の TA98 および代謝活性化系存在下の TA1535 では 2500 µg/プレートで背景細菌叢のわずかな減少が認められた。TA1537 では代謝活性化系非存在下の 250，500 および 2500 µg/プレートならびに代謝活性化系存在下の 250 µg/プレートで，TA1535 株では代謝活性化系存在下の 250 µg/プレートで復帰変異コロニー数の 50%を超える減少が認められた。しかし，これらの減少は濃度依存的ではなかったことから，細胞毒性による真の影響を反映したものではないと考えられた。

各試験では，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての試験菌株で陰性の基準に適合した。すべての試験菌株において，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての濃度で復帰変異コロニー数は背景データの範囲と同程度であった。ただし，2 回目の用量設定試験では，代謝活性化系存在下および非存在下の WP2uvrA pKM101 における陽性対照の復帰変異コロニー数は背景データの範囲を上回っていた。しかし，陽性の判定基準には適合していることから，この反応は許容可能と考えられ，試験の質や完全性に影響するものではなかった。溶媒および陽性対照のデータから，代謝活性化系の存在下および非存在下において化学物質の変異原性を検出する本試験系の妥当性が実証された。

以上のように，本試験の条件下においては，代謝活性化の有無にかかわらず，リトレシチニブは *Salmonella* 菌株 TA1537，TA98，TA100 および TA1535 ならびに *E.coli* 菌株 WP2uvrA pKM101 において変異原性を示さなかった。

4.2. TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験［WIL-655099 試験（[redacted]GR130），概要表 2.6.7.8B］

リトレシチニブによる小核誘発能について，ヒトリンパ芽球細胞株 TK6 を用い，代謝活性化系（Aroclor 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で 4 時間および 27 時間処理により評価した。リトレシチニブを DMSO に溶解して 28.5 mg/mL の溶液を調製した。

リトレシチニブの濃度範囲は，代謝活性化系の存在下および非存在下における 4 時間処理では 59.6，73.6，91.0，112，139，171，205，242 および 285 µg/mL，代謝活性化系の非存在下における 27 時間処理では 48.3，53.7，59.6，66.3，73.6，81.8，91.0，101，112，125，139，154 および 171 µg/mL とした。4 時間処理では代謝活性化の有無にかかわらず細胞毒性および沈殿物は認められなかったことから，高濃度側の 3 濃度（205，242 および 285 µg/mL = 1 mmol/L）を用いて小核誘発能を評価した。代謝活性化系非存在下の 27 時間処理では細胞毒性に基づいて小核誘発能

の評価濃度を 48.3，66.3 および 125 µg/mL（細胞毒性率はそれぞれ 17%，22%および 51%）に設定した。これらの濃度のリトレシチニブ，溶媒および陽性対照について細胞 2000 個の小核を評価した。

代謝活性化非存在下の 27 時間処理では，125 µg/mL で小核を有する細胞の割合が統計学的に有意に増加した。溶媒対照またはその他のリトレシチニブ処理では小核を有する細胞の割合の統計学的に有意な増加は認められなかった。溶媒および陽性対照の値はいずれも背景データと同程度であった。ただし，代謝活性化系非存在下の 27 時間処理における陽性対照反応は背景データよりも低かったが，反応は溶媒対照よりも統計学的に有意に高く，陽性反応の基準を満たしていたため，この反応は許容可能と考えた。

以上のように，TK6 細胞を用いたこの試験系の条件下では，代謝活性化系非存在下の 27 時間処理でリトレシチニブの小核誘発能は陽性と判断された。代謝活性化の有無にかかわらず 4 時間処理では小核誘発能は陰性であった。

4.3. 小核誘発の機序に関する検討（[redacted]GTX10 試験，概要表 2.6.7.8C）

リトレシチニブの開発初期における遺伝毒性に関する評価として，簡易型 Ames 試験（Bioluminescent *Salmonella* reverse mutation assay：Biolum Ames），CHO 細胞を用いた in vitro 小核試験および TK6 細胞を用いた探索的 in vitro 小核試験を実施した。リトレシチニブは代謝活性化の有無にかかわらず 5000 µg/プレートまで *Salmonella typhimurium*（TA98Lux および TA100Lux）で突然変異を誘発しなかった。また，CHO 細胞を用いた in vitro 小核試験では 24 時間処理で，TK6 細胞を用いた探索的 in vitro 小核試験では 352～482 µmol/L のリトレシチニブによる 27 時間処理で小核形成が認められた。

TK6 細胞における小核形成が，異数性誘発性または染色体異常誘発性のいずれの機序に起因するものかを明らかにするため，391 µmol/L および 482 µmol/L のリトレシチニブで処理した細胞を用いて，汎セントロメア DNA プローブを用いた FISH 法で評価した。小核形成は異数性誘発および染色体異常誘発のいずれの機序でも認められる結果となったが，アポトーシスした細胞の存在により計数が複雑化したため，この結果から機序についての結論を得ることはできなかった。アポトーシスした細胞は，早期では小核を形成した細胞と類似しており，小核を形成した細胞の正確な計数が困難となることがある[16,17]。FISH 法に用いたリトレシチニブ濃度はいずれもアポトーシスを起こす濃度範囲であり，アポトーシスが FISH 法による評価を妨害した可能性が示唆された。

アポトーシスが FISH 法による評価を妨害した原因であるか確認するために，338～480 µmol/L のリトレシチニブで処理した TK6 細胞を用いて，切断型カスパーゼ 3 および切断型 PARP（24 時間処理）のウェスタンブロッティングを実施した。切断されたカスパーゼ 3 および PARP は 346～480 µmol/L の濃度範囲でいずれも陽性であり，これらの濃度でアポトーシスを誘導することが示された。

小核誘発の機序についてさらに検討するために，TK6 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験（27 時間処理）および異数性誘発性のマーカーであるリン酸化 H3 を指標とした異数性評価（27 時間処理）を実施した。染色体異常試験は 90.8～736 µmol/L のリトレシチニブ濃度で実施し，182，344 および 609 µmol/L で染色体異常を評価した。27 時間処理の条件下で構造的染色体異常の頻度

に統計学的に有意な増加はみられなかったことから，リトレシチニブはこれらの試験条件下では染色体異常を誘発しないことが示された。

H3 異数性評価は 90.8～736 µmol/L のリトレシチニブ濃度で実施した。416 µmol/L 以上で低二倍体および高二倍体の，378 µmol/L 以上で倍数体の濃度依存的な増加が認められた。倍数性の最大の増加は細胞毒性がみられた 553～736 µmol/L で認められた。

構造的染色体異常は認められなかったこと，ならびに低二倍体，高二倍体および倍数体の増加がみられたことは，TK6 細胞を用いた小核試験で認められた小核誘発の機序が異数性誘発性によることを示すものである。

異数性誘発は，リトレシチニブと紡錘体などの細胞分裂の構成要素との間の非反応性の遺伝毒性相互作用に起因する。通常，細胞分裂装置の阻害には複数の段階が必要であることから，遺伝毒性を誘発しないと考えられる閾値を下回る用量では，このような遺伝毒性相互作用が生じる確率は低いと考えられる[18,19]。

以上のように，リトレシチニブの TK6 細胞における in vitro での小核誘発の機序は異数性誘発能であることが示された。この作用機序による影響には閾値があり，閾値以下の濃度では染色体の損傷は誘発しないと考えられる。

4.4. In vivo ラット小核試験［[redacted]GR132 試験，概要表 2.6.7.9）

雌雄 Wistar Han ラット（5 例/性/群，投与開始時に約 9 週齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），75，175 または 400 mg/kg/日の用量で 3 日間連日 QD 経口投与して，末梢血における小核を有する多染性の網状赤血球の誘発性を検討した。投与容量は 10 mL/kg とした。陽性対照としてシクロホスファミドを用いた。網状赤血球および小核を有する網状赤血球の比率をフローサイトメトリーにより評価した。約 20,000 個の総網状赤血球（網状赤血球と小核を有する網状赤血球）が計数されるまで，網状赤血球，正染色性赤血球，小核を有する網状赤血球および小核を有する正染色性赤血球を計数した。

対照群と比較して統計学的に有意（$p \leq 0.05$）で用量依存的な小核を有する網状赤血球比率（総網状赤血球に対する）の上昇がみられる場合に陽性と判定した。

いずれの用量においても，対照群に比して正染性赤血球に対する網状赤血球比率および小核を有する網状赤血球比率に統計学的に有意な差はみられなかった。これらの反応は基準を満たしていることから許容可能と考えた。

以上のように，ラットに 0，75，175 または 400 mg/kg/day のリトレシチニブを 3 日間 QD 経口投与しても，雌雄の末梢血からの網状赤血球における小核の誘発は認められなかった。

5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

5.1. マウス

Tg マウスを用いた 6 ヵ月間投与がん原性試験の用量設定のためにマウスを用いた予備試験を 2 試験実施した。

5.1.1. マウスを用いた 2 週間経口投与忍容性試験［8390402 試験（[redacted]GR117），概要表 2.6.7.10A］

雌雄 C57BL/6NTac マウス（12 例/性/群，投与開始時に約 6～7 週齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース）30，100，300 または 1000 mg/kg/日の用量で 2 週間 QD 経口投与した。これらの用量は MTD を特定し，rasH2（wt/wt）マウスを用いた 1 ヵ月間投与用量設定試験のために選択した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察ならびに体重および定性的摂餌量測定を行った。試験 1 日および 14 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。

1000 mg/kg で試験 1 日に死亡が認められた。24 例中 9 例で投与後 1～3 時間に一般状態の変化として，半眼，活動低下，横臥および冷触感（全身）が認められ，投与後 4 時間までに安楽死させた。この群の残りの動物は TK 用に採血した後に安楽死させた。剖検所見として雄 3 例および雌 2 例で脾臓の暗赤色化が認められた。また，300 mg/kg/日の雌雄各 1 例（試験 7 日または試験 8 日に死亡発見）および 100 mg/kg/日の雌 1 例（試験 1～8 日に 13%の体重減少ならびに一般状態観察で投与後 4 時間に円背位，運動失調，活動低下およびでの左後肢の限定的な使用が認められ試験 8 日に安楽死させた）が死亡した。

これらの動物の死亡は，臨床病理検査または病理組織学的検査を実施していないことから原因を特定できなかったが，1000 mg/kg/日で安楽殺された動物と一致する一般状態の変化がみられたこと，投与過誤などその他の原因は示唆されなかったこと，対照群または 30 mg/kg/日では死亡例はみられなかったことから，リトレシチニブ関連である可能性が考えられた。

300 mg/kg/日以下の雄および 30 mg/kg/日または 300 mg/kg/日の雌では一般状態の変化は認められなかった。300 mg/kg/日以下では体重，体重増加量または摂餌量の変化は認められなかった。

試験 1 日および試験 14 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）はいずれの用量においても雌雄で類似しており，用量比を上回って増加した。AUC_{24} は反復投与により減少し，30，100 および 300 mg/kg/日における蓄積率（AUC_{24} の試験 14 日/1 日比）はそれぞれ 0.79，0.60 および 0.45 であった。

以上のように，300 mg/kg/日以上の雄および 100 mg/kg/日以上の雌で死亡がみられたことから MTD は雄で 100 mg/kg/日，雌で 30 mg/kg/日であった。これらの用量における試験 14 日の C_{max} および AUC_{24} は雄（100 mg/kg/日）でそれぞれ 12,700 ng/mL および 23,200 ng•h/mL，雌（30 mg/kg/日）でそれぞれ 1360 ng/mL および 3020 ng•h/mL であった。

5.1.2. rasH2（wt/wt）マウスを用いた 1 ヵ月間経口投与用量設定試験［8392586 試験（[redacted]GR173），概要表 2.6.7.10B］

雌雄 rasH2（wt/wt）マウス（10 例/性/群，投与開始時に約 8～9 週齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），75，225 または 450 mg/kg/日の用量で 1 ヵ月間 QD 経口投与した。マウスを用いた 2 週間経口投与忍容性試験の結果に基づき用量を設定した。この試験における高用量は MTD またはそれに近いと予想され，他の 2 用量により用量依存性が評価できると考えた。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，臨床病理検査（血液学的検査，血液生化学的検査）を行った。試験 28 日の投与後 1，4，7 および 24 時間にサテライト群の動物（9～12 例/性/群）から採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。投与期間終了時に剖検を行い，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

いずれの用量においても，リトレシチニブに関連した死亡または毒性所見は認められなかった。毒性学的意義の乏しい所見がリンパ系組織（胸腺，脾臓，腸間膜および鼠径リンパ節）および肝臓で認められた。225 mg/kg/日以上の雄および 75 mg/kg/日以上の雌でリンパ系組織（胸腺，脾臓，腸間膜および鼠径リンパ節）に軽微～中等度のリンパ球の細胞充実性低下［450 mg/kg/日の雄および 225 mg/kg/日以上の雌でみられたリンパ球数の軽微な減少（0.40 倍；以下，対照群との比較））と関連］ならびに脾臓重量（0.64～0.75 倍）および胸腺重量（0.66～0.94 倍）の減少が認められた。リンパ系組織におけるリンパ球の細胞充実性の低下は薬理作用である JAK 阻害に符合するものであり，臓器構造に重大な変化はみられず，免疫抑制/日和見感染を示唆する一般状態の変化もみられなかったことから，これらの所見の毒性学的意義は乏しいと考えた。肝臓では 225 mg/kg/日を除くすべての用量で軽微な単核細胞浸潤の発現頻度の低下が認められた。単核細胞浸潤は自然発生所見であり，対照群ではほとんどの個体で認められたが，75 mg/kg/日での発現頻度は低く，225 mg/kg/日以上ではほとんどみられなかった。この変化はリンパ系組織にみられるリンパ球の細胞充実性の低下と同様，リトレシチニブの薬理作用に関連するものであり，肝臓の変性または日和見感染が認められなかったことから，毒性学的意義に乏しい所見と考えた。

450 mg/kg/日の雄で白血球数（0.49 倍），好酸球数（0.33 倍）およびリンパ球数（0.40 倍）の減少が，225 mg/kg/日以上の雌でリンパ球数の減少（0.44 倍）が認められた。これらの変化はリトレシチニブの予想される薬理作用と符合するものであり，リンパ系組織の重量減少およびリンパ球の細胞充実性の低下と関連していた。臨床的に意味のある免疫抑制/日和見感染を示唆する病理組織学的所見がみられなかったことから，毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

その他の毒性学的意義の乏しい所見として，450 mg/kg/日の雄で網状赤血球数の低下（0.75 倍），グルコースの上昇（1.3 倍）およびナトリウムの低下（0.98 倍）が，雌雄で MCV の低下（0.95～0.97 倍）が認められた。これらの変化の機序は特定できなかったが，変化の程度が小さいことから，毒性学的意義は乏しい所見と考えた。

試験 28 日における曝露量（C_{max} および AUC_{24}）はいずれの群においても雌雄で類似しており，用量の増加に伴い増加した。

以上のように，rasH2（wt/wt）マウスへのリトレシチニブの 450 mg/kg/日までの用量での 28 日間 QD 経口投与の忍容性が認められた。リトレシチニブの薬理作用に符合する毒性学的意義の乏しい所見が血液学的パラメータ，リンパ系組織および肝臓に認められた。毒性所見が認められなかったことから本試験における NOAEL は 450 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 28 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 32,400 ng/mL および 105,000 ng•h/mL であった。

5.1.3. rasH2（tg/wt）マウスを用いた 6 ヵ月間経口投与がん原性試験［8400625 試験（[redacted]GR034），概要表 2.6.7.10C］

雌雄 Tg rasH2 ヘミ接合体（tg/wt）マウス（25 例/性/群，投与開始時に約 8～9 週齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），30，100 または 300 mg/kg/日の用量で最長 26 週間 QD 経口投与した。なお，本試験の用量は C57BL/6NTac マウスを用いた 2 週間投与忍容性試験および rasH2 野生型マウスを用いた 1 ヵ月間投与用量設定毒性試験に基づいて設定した。すなわち，2 週間試験（8390402 試験）では 1000 mg/kg/日の忍容性が認められず，1 ヵ月間投与試験（8392586

試験）では 450 mg/kg/日までの用量で程度の軽い毒性学的意義に乏しい所見がリンパ系組織および肝臓で用量依存的に認められたことから，上記用量とした。投与容量は 10 mL/kg とした。別の群（15 例/性）には，試験 1 日に 75 mg/kg の NMU を腹腔内投与し，陽性対照とした。試験 28 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の rasH2 野生型（wt/wt）マウス（12 例/性/群）から採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。死亡の有無，一般状態観察（腫瘤の評価を含む），体重測定，摂餌量測定，剖検および病理組織学的検査を行った。

いずれの投与群においても生存率はがん原性の評価に十分であった。リトレシチニブに関連した腫瘍や生存への影響はみられなかった。

陽性対照群でみられた発がん性の反応および死亡率の上昇は，MNU により Tg rasH2 ヘミ接合体（tg/wt）マウスで予想される影響と一致していた。認められた腫瘍は悪性リンパ腫，前胃の扁平上皮乳頭腫または扁平上皮癌，皮膚/皮下組織の扁平上皮乳頭腫または血管肉腫，乳腺癌および骨癌であった。陽性対照群におけるこれらの腫瘍の発生は，試験に用いた動物に rasH2 遺伝子が適切に導入されていることを示すものである。

毒性学的意義の乏しい非腫瘍性変化が鼠径リンパ節および肝臓に認められた（Table 5）。

Table 5.　Tg マウスを用いた 6 ヵ月間投与がん原性試験における非腫瘍性変化の発現頻度および程度

投与量	雄				雌			
（mg/kg/日）	0	30	100	300	0	30	100	300
リンパ節，鼠径部								
例数	24	20	23	19	23	21	22	24
細胞充実性低下，リンパ球，軽微	0	0	2	7	0	1	4	6
肝臓								
例数	25	25	25	25	25	25	25	25
浸潤，混合細胞，軽微	13	8	4	3	24	12	12	7

100 mg/kg/日以上の雄および 30 mg/kg/日以上の雌で鼠径リンパ節に細胞充実性の軽微な低下が，30 mg/kg/日以上の雌雄の肝臓で自然発生性の混合性細胞浸潤の発現頻度のわずかな低下が認められた。その他の病理組織学的所見はいずれも発現頻度が低く，対照群を含む各群でランダムにみられたこと，または Tg rasH2 ヘミ接合体（tg/wt）マウスで予想される程度の変化であったことから，自然発生性のまたは偶発的な所見であり，リトレシチニブに関連した変化ではないと考えられた。リンパ系組織の細胞充実性の低下は，JAK3/TEC 阻害の既知の薬理作用によるものであり，程度は軽微であったこと，組織構造に重大な変化はみられず，免疫抑制/日和見感染を示唆する一般状態の変化もみられなかったことから，これらの所見の毒性学的意義は低いと考えた。肝臓でみられた自然発生性の混合性細胞浸潤は，リンパ系組織にみられるリンパ球の充実性の低下に類似しており，リトレシチニブの免疫調節作用に関連したもので，程度は軽微であったこと，日和見感染を示唆する所見が認められなかったことから，毒性学的意義は低いと考えた。
300 mg/kg/日の雌で試験 1 日～182 日に体重増加量の減少（0.64 倍）が認められ，摂餌量の減少と関連していた。これらの影響は程度が軽いことから，毒性学的意義に乏しい所見と考えた。

試験 28 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，いずれの用量においても雌雄で類似しており，用量にほぼ比例して増加した。

以上のように，リトレシチニブの雌雄 Tg rasH2 ヘミ接合体（tg/wt）マウスへの 30，100 または 300 mg/kg/日の 26 週間 QD 経口投与によりがん原性は認められなかったことから，本試験における NOAEL は 300 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 28 日の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 20,000 ng/mL および 55,100 ng•h/mL であった。非腫瘍性の変化として，毒性学的意義に乏しい鼠径リンパ節におけるリンパ球の充実性の低下および肝臓で自然発生性の混合性細胞浸潤の発現頻度の低下が認められた。

5.2. ラット

5.2.1. ラットを用いた 104 週間経口投与がん原性試験[8384525 試験（[redacted]MA002），概要表 2.6.7.10D]

雌雄 Wistar Han ラット（60 例/性/群，投与開始時に約 6～7 週齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），10，30 または 100 mg/kg/日の用量で最長 104 週間 QD 経口投与した。なお，本試験の用量は Wistar Han ラットに 50，100 または 200 mg/kg/日の用量でリトレシチニブを投与した 6 ヵ月間投与試験（20070067 試験）の結果に基づいて設定した。投与容量は 10 mL/kg とした。試験 179/180 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の動物（5 例/性/群）から採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。死亡の有無，一般状態観察（腫瘤の評価を含む），体重測定，摂餌量測定，剖検および病理組織学的検査を行った。

リトレシチニブに関連した死亡は認められなかった。

100 mg/kg/日でリトレシチニブに関連した良性の腫瘍が胸腺および甲状腺に認められた。胸腺では，100 mg/kg/日の雌で良性および総（良性と悪性の合計）胸腺腫の発生率の上昇が認められ，この群でみられた剖検所見（胸腺の形態異常，胸腺肥大および胸腺腫瘤）の発現頻度の上昇と関連していた。総胸腺腫の発生率は用量依存的に上昇し，統計学的に有意（$p < 0.005$）であった。100 mg/kg/日の雌で胸腺過形成の発現頻度および程度の上昇が認められた。悪性胸腺腫の発生率にはリトレシチニブによる影響は認められなかった（Table 6）。

リトレシチニブに関連した良性胸腺腫は，腫瘤を覆い隠すほどの多数のリンパ球と腫瘍性上皮細胞が混在した孤立性で大きさが一定しない拡張性の結節領域を特徴とし，隣接する胸腺を圧迫するものの，被膜または隣接する脂肪への浸潤は認められなかった。

一般的に胸腺過形成は，上皮細胞とリンパ球数の増加あるいは比率の変化に応じて腫大した限局性または多発性の結節で，隣接組織を圧迫しないことを特徴とし，影響のみられない小葉と比較して皮質と髄質の厚さの比が変化する[20]。

30 mg/kg/日以上の雌で良性および総胸腺腫の発生率の上昇が認められ，100 mg/kg/日では 30%超（32.1%）であったことからリトレシチニブ関連の変化と考えられたが，30 mg/kg/日においてはリトレシチニブとの関連性は明らかでなかった。30 mg/kg/日での発生率は 25.9%であり，対照群（13.8%），試験実施施設での背景データ（11.9%）および公表文献の値[21]（良性では最大 18%）を上回っていたが，胸腺過形成には発生率の上昇は認められなかった（$p \geq 0.01$，対比較）ことから，この用量の雌で認められた Wistar Han ラットの一般的な所見である胸腺腫の発生率上昇が偶発的であることを完全に否定できないことが示唆された。100 mg/kg/日の雄においても良性およ

び総胸腺腫の発生率は，雄の対照群，試験施設の背景データまたは公表文献の値[21]と比較して高値を示した。統計学的に有意ではなく，胸腺過形成の増加は認められなかったことから，100 mg/kg/日の雄における胸腺腫の発生率上昇は偶発的であり，リトレシチニブによる影響ではないと考えた。

Table 6.　ラットを用いた 104 週間投与がん原性試験における胸腺の良性および悪性胸腺腫ならびに過形成の発生率

	雄					雌				
	Trend					Trend				
用量 (mg/kg/日)	(1,2,3,4)	0	10	30	100	(1,2,3,4)	0	10	30	100
例数		56	58	52	53		58	57	58	56
良性胸腺腫										
発生例数		2	5	3	7		8	7	14	16[a]
発生率（%）		3.6	8.6	5.8	13.2		13.8	12.3	24.1	28.6
Peto P 値	0.0303	NA	0.2069	0.4466	0.0458	0.0130	NA	0.6958	0.0759	0.0348
悪性胸腺腫										
発生例数		0	0	0	1		0	0	1	2
発生率（%）		0.0	0.0	0.0	1.9		0.0	0.0	1.7	3.6
Peto P 値	0.2288	NA	1.0000	1.0000	0.4576	0.0595	NA	1.0000	0.4935	0.2541
良性胸腺腫 + 悪性胸腺腫										
発生例数		2	5	3	8		8	7	15	18[a]
発生率（%）		3.6	8.6	5.8	15.1		13.8	12.3	25.9	32.1
Peto P 値	0.0121	NA	0.2069	0.4466	0.0229	0.0033*	NA	0.6958	0.0490	0.0138
過形成										
軽度		0	0	0	0		2	1	1	1
中等度		0	0	0	0		1	3	2	2
重度		0	0	0	0		1	0	0	4
計		0	0	0	0		4	4	3	7

* 統計学的に有意（p<0.005，一般的な腫瘍）
a. リトレシチニブ関連

胸腺腫は発達中の胸腺リンパ球と相互作用し，ホーミング，成熟および増殖をサポートする胸腺上皮細胞の腫瘍であり，上皮の増殖性変化は加齢に伴うリンパ系細胞の変化およびそれに続く上皮およびリンパ系の相互作用の乱れに関連すると考えられている[22]。

リトレシチニブによる雌の Wistar Han ラットにおける胸腺腫の発生率上昇の正確な病因および機序は特定されていないが，リトレシチニブは遺伝毒性物質ではないことから，非遺伝毒性的機序による可能性が考えられる。ラットを用いた反復投与毒性試験で胸腺リンパ球の細胞充実性の低下または循環血中のリンパ球数の減少が認められたことは，リトレシチニブが胸腺の JAK/STAT シグナル伝達を阻害することを示すものであり，本試験で認められた雌における胸腺腫の形成には，リトレシチニブの免疫抑制作用が部分的に関連したと考えられる。ノックアウトマウスを用いた検討では，JAK/STAT シグナル伝達の阻害のみにより胸腺上皮細胞またはリンパ球由来の腫瘍細胞の増殖が促進されることを示唆する報告例はない。その他の要因で最も重要なことは，Sprague-Dawley ラットなどの他の一般的に使用される系統と比較して，雌 Wistar Han ラットでは老年期に胸腺腫が自然発生するという系統的な素因も胸腺腫の発症に寄与したと考えられる。対

照群，試験実施施設の背景データまたは公表文献の値は，雌の Wistar Han ラットでは一般的な自然発生腫瘍として良性胸腺腫が発生することを示すものであり，雌の Wistar Han ラットで報告された胸腺腫の高い自然発生率[23]に加えて，3 つの公表文献でも無処置の雌 Wistar Han ラットにおける胸腺腫の高い自然発生率が報告されている[20,21,24]。

甲状腺では，100 mg/kg/日の雄で濾胞細胞腺腫および総（濾胞細胞腺腫と癌腫の合計）濾胞細胞腫瘍の発生率の統計学的に有意な上昇（それぞれ 32.2%および 35.6%）が認められた（Table 7）。この群における発生率は，対照群における総濾胞細胞腫瘍の発生率（11.7%），良性腺腫についての公表文献値[21]（最大 15.3%）。および試験実施施設の背景データ（最大 21.8%）を上回っており，剖検所見（甲状腺肥大および甲状腺腫瘤）の発現頻度の上昇と関連していた。甲状腺濾胞癌の発生率の上昇は統計学的に有意ではなく，試験実施施設の背景データの範囲内であったことから，リトレシチニブ関連ではないと考えた。濾胞細胞過形成の発生率には明確な用量依存性はみられなかった。100 mg/kg/日の雄でみられた濾胞過形成の程度の上昇は，この群で濾胞細胞腺腫が同時に認められたことから，リトレシチニブによるものと考えられた。

Table 7.　ラットを用いた 104 週間投与がん原性試験における甲状腺濾胞細胞の腺腫，癌腫および過形成の発生率

	雄					雌				
	Trend					Trend				
用量 (mg/kg/日)	(1,2,3,4)	0	10	30	100	(1,2,3,4)	0	10	30	100
例数		60	60	60	59		60	60	60	60
腺腫										
発生例数		7	12	13	19[a]		2	4	4	6
発生率（%）		11.7	20.0	21.7	32.2		3.3	6.7	6.7	10.0
Peto P 値	0.0042*	NA	0.0997	0.0684	0.0027	0.0761	NA	0.4094	0.3498	0.1542
癌腫										
発生例数		2	1	1	4		0	1	2	0
発生率（%）		3.3	1.7	1.7	6.8		0	1.7	3.3	0
Peto P 値	0.0675	NA	0.8527	0.8654	0.2630	0.6326	NA	0.5357	0.2532	1.0000
腺腫 + 癌腫										
発生例数		7	13	14	21[a]		2	5	6	6
発生率（%）		11.7	21.7	23.3	35.6		3.3	8.3	10.0	10.0
Peto P 値	0.0013*	NA	0.0593	0.0438	0.0008	0.1313	NA	0.2821	0.1398	0.1542
過形成										
軽微		2	2	2	3		1	2	3	1
軽度		5	8	3	3		0	1	1	2
中等度		0	1	3	2		1	1	1	0
重度		0	0	0	1		0	0	0	0
計		7	11	8	9		2	4	5	3

*統計学的に有意（p<0.005，一般的な腫瘍）
a. リトレシチニブ関連

雌における濾胞細胞腫瘍の発生率（最大 10%）は，いずれの用量においても試験施設での背景データまたは文献で報告された値[21]の範囲内であり，統計学的に有意ではなく，用量依存性もみられなかった。試験実施施設での 104 週間のがん原性試験における Wistar Han ラットの甲状腺濾胞細

胞腺腫の発生率の背景データは雄で 12.1%（4.0%～21.8%），雌で 4.5%（2.0%～8.0%）であり，総濾胞細胞腫瘍の発生率は雄で 15.0%（8.0%～23.6%），雌で 5.4%（3.3%～10.0%）であった。

甲状腺濾胞細胞腺腫もラットの一般的な自然発生腫瘍で，系統差および性差があることが知られている[21,25]。すなわち，雌より雄で，Sprague-Dawley ラットよりも Wistar Han ラットでより高い自然発生率を示した。100 mg/kg/日でみられたリトレシチニブによる過形成および濾胞性腺腫の程度上昇の正確な機序は不明である。

リトレシチニブに関連した非腫瘍性の病理組織学的所見が，リンパ系組織（胸腺，脾臓および腸間膜リンパ節），肝臓，腎臓で認められた。

リンパ系組織では 100 mg/kg/日の雌雄でリンパ球の細胞充実性低下の発現頻度または程度の上昇（脾臓および腸間膜リンパ節では軽微～中等度，胸腺では軽微～顕著）が認められた。リンパ系組織におけるリンパ球の細胞充実性の低下は, JAK/TEC 阻害の既知の薬理作用によるものであり，免疫抑制または日和見感染を示唆する所見は認められなかったことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。

肝臓では 30 mg/kg/日以上の雌で多核肝細胞数の増加が認められ，発現頻度および程度（軽微または軽度）は用量依存的に上昇した。多核肝細胞は一般に適応反応であり，発がんの可能性を示すものではないと考えられている[4,26]。多核肝細胞は老齢ラットで自然発生する可能性が考えられることから[27]，30 mg/kg/日以上の雌でこの所見がより顕著であったことは，背景所見の増悪を示すものであり毒性学的意義は乏しいと考えた。

100 mg/kg/日の雌雄の肝臓で自然発生所見である単核細胞浸潤の発現頻度および程度の低下が認められたが，リンパ系細胞に対するリトレシチニブの薬理作用である免疫調節作用の二次的な変化であり，毒性学的意義は乏しいと考えた。

腎臓では 100 mg/kg/日の雌雄で尿細管上皮細胞に色素沈着の発現頻度と程度（軽微または軽度）の上昇が認められた。尿細管上皮細胞における色素沈着の増加は，程度が軽く，関連する炎症，壊死または尿細管上皮の変性が認められなかったことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。

早期安楽死させた時期にすべての用量の雌で認められた削痩の発現頻度の上昇は，100 mg/kg/日の雌で認められた体重増加抑制と関連していた。

100 mg/kg/日の雌雄で体重増加抑制がみられ，雄では試験 64 日（0.95 倍），雌では試験 22 日（0.96 倍）から認められた。減少の程度は試験期間を通して緩徐に増加し，試験終了時までに 30 mg/kg/日の雄（0.92 倍）ならびに 10 mg/kg/日および 30 mg/kg/日の雌（それぞれ 0.90 倍および 0.95 倍）でも体重減少が認められた。しかしながら，試験期間中に体重は継続的に増加し，衰弱または生存への影響とは関連していなかったことから，体重への影響の毒性学的意義は乏しいと考えた。

試験 179/180 日（26 週目）の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）はいずれの用量においても雌雄で類似しており, 用量にほぼ比例して増加した。T_{max} はいずれの用量においても投与後 1 時間であった。

以上のように，リトレシチニブの雌雄 Wistar Han ラットへの 10，30 または 100 mg/kg/日の 104 週間 QD 投与により，100 mg/kg/日の雌で良性胸腺腫，雄で良性甲状腺濾胞腺腫が認められた。

この用量における試験 26 週目の平均（雌雄合算）C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 19,300 ng/mL および 47,000 ng•h/mL であった。

6. 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

6.1. 受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験

6.1.1. ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験［00655209 試験（[redacted]GR019），概要表 2.6.7.12］

雌雄 Wistar Han ラット（20 例/性/群，投与開始時に約 10～11 週齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），20，60 または 200 mg/kg/日の用量で QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。雌には無処置雄との交配の 14 日前から妊娠 7 日まで投与した。雄には無処置雌との 1 回目の交配の 28 日前（2 回目の交配の 84 日前）から予定解剖の前日まで投与した（少なくとも 15 週間投与）。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，発情周期観察および剖検を行った。雌については交配を確認後，妊娠 14 日に帝王切開を実施し，黄体数，着床数および生存胚数を確認した。着床の認められない子宮は，10%硫化アンモニウム溶液に浸漬し，早期死亡胚の有無を調べた。雄については交配相手の雌の剖検後に全例を安楽殺して精子検査を行い，生殖器の重量を測定した。試験 12 日の投与後 1 時間に 3 例/性/群のラットから，また，試験 62 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に 3 例/群の雄ラットから採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。

200 mg/kg/日の雄で体重増加抑制および体重増加量の減少が投与期間を通して認められた。200 mg/kg/日の雄で試験 39 日から安楽死させるまで対照群と比較して統計学的に有意な体重増加抑制（0.89～0.94 倍；以下，対照群との比較）が認められた。200 mg/kg/日の雄で投与開始後（試験 0～4 日），1 回目の交配前（試験 0 日～27 日），2 回目の交配前（試験 0 日～83 日）および投与期間全体（試験 0 日～116 日）で体重増加量の減少（それぞれ 0.78 倍，0.84 倍，0.74 倍および 0.73 倍）が認められ，試験 0 日～83 日および試験 0 日～116 日では統計学的に有意であった。200 mg/kg/日における体重への影響は毒性と判断した。60 mg/kg/日で投与開始から 2 回目の交配前（試験 0 日～83 日）に体重増加量の減少（0.85 倍）が認められたが，実体重には影響がみられなかったことから毒性学的意義は低いと考えた。

リトレシチニブを投与された雄と無処置の雌の組み合わせでは，雄の生殖能（交配，妊孕性または交尾）に対する影響はみられなかった。200 mg/kg/日で着床前胚損失率の上昇が認められ，着床数および生存胚数が減少した。1 回目の交配における対照群，20，60 および 200 mg/kg/日群の一腹あたりの着床前胚損失率はそれぞれ 2.0%，4.8%，2.9%および 20.2%であった。試験実施施設の背景データは最大で一腹あたり 13.9%であり，200 mg/kg/日で認められた着床前胚損失率の上昇は毒性と判断した。200 mg/kg/日で一腹あたりの着床数の減少（対照群の 14.7 に対して 11.2）が認められ，その後一腹あたりの生存胚数の減少（対照群の 13.9 に対して 10.6）も認められた。これらは統計学的に有意であったが，影響がみられた雄の例数は少なく，授胎能のある雄と交尾した雌の着床数には大きなばらつき（ある雄が交尾した雌の着床数は 3 個または 14 個で，別の雄では 1 個または 15 個など）がみられた。

以上の結果を踏まえて，対照群および 200 mg/kg/日群について，追加の 20 例の無処置の雌を用いて 2 回目の交配試験を実施した。2 回の交配（雄では 84 日間投与）でも，200 mg/kg/日で一腹あたりの着床前胚損失率の上昇（対照群の 5.2%に対して 27.1%）が認められた（試験実施施設の背景データは最大で一腹あたり 13.9%）。200 mg/kg/日の着床前胚損失率の上昇に符合して着床数

の減少（対照群の一腹あたり 13.2 に対して 8.6）およびそれに続く生存胚数の減少（対照群の一腹あたり 12.3 に対して 8.4）が認められた（試験実施施設の背景データはそれぞれ最大で一腹あたり 13.3 および 12.5）。200 mg/kg/日では生存胚数の有意な減少が認められたが，生存胚比率は対照群と比較して有意に高かった。これは着床後胚損失率が低かったことによるものであり，リトレシチニブ投与との関連はないものと考えられた。200 mg/kg/日ではより多くの雄が影響を受け（7 例と交配した雌で着床前胚損失率が 40%以上を示した），2 回の交配で必ずしも同じ雄が影響を受けなかったことから，200 mg/kg/日での着床前胚損失率の上昇は，雄の授胎能に対する影響と考えられた。200 mg/kg/日で着床後の胚生存への影響はみられなかった。

いずれの用量においても，リトレシチニブの 115 日または 116 日間の投与による精子形成（精巣および精巣上体における精子数または精子形成率，運動性ならびに形態）に対する影響はみられなかった。

リトレシチニブを投与した雌と無処置の雄の組み合わせでは，雌の体重，生殖能（交配，妊孕性，受胎能）または初期胚発生（着床数および初期胚生存）に対する影響はみられなかった。

200 mg/kg/日を投与した雌では発情周期の延長（1.14 倍）が認められたが，この群では発情周期の異常を示した例数がより多かった。交配，妊孕性または受胎能への影響が認められなかったことから，毒性学的意義は乏しいと考えた。

試験 62 日の雄の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量にほぼ比例して増加した。T_{max} はいずれの用量においても投与後 1 時間であった。試験 12 日の投与後 1 時間の血漿中濃度は，いずれの用量においても雌雄で類似しており（2 倍以内），用量にほぼ比例して増加した。試験 62 日の 60 mg/kg/日における雄の C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 10,800 ng/mL および 22,000 ng•h/mL であり，試験 12 日の 200 mg/kg/日における雌の血漿中濃度は 33,500 ng/mL であった。

以上のように，200 mg/kg/日の雄で体重増加抑制および体重増加量の減少が認められたことから，本試験における雄の全身毒性に関する NOAEL は 60 mg/kg/日と判断した。200 mg/kg/日でリトレシチニブを投与した雄と交配した未処置の雌で着床前胚損失率の上昇が認められたことから，雄の授胎能に関する NOAEL は 60 mg/kg/日と判断した。雌に毒性所見が認められなかったことから，雌の全身毒性，受胎能および初期胚発生に関する NOAEL はいずれも 200 mg/kg/日と判断した。

6.2. 胚・胎児発生に関する試験

6.2.1. ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験［20069224 試験（[redacted]GR573），概要表 2.6.7.11］

妊娠した Wistar Han ラット（6 例/群，投与開始時に約 10～11 週齢）に，リトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），75，175 または 325 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 17 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 21 日に剖検後，妊娠子宮重量を測定し，卵巣および子宮の検査，胎児の性別判定，胎児体重ならびに胎児の外表検査を行った。

リトレシチニブに関連した死亡，一般状態の変化，母動物の体重および摂餌量への影響または剖検所見は認められなかった。胚・胎児の生存に対する影響はみられず，胎児の外表検査でも異常

は認められなかった。75 mg/kg/日または 175 mg/kg/日ではリトレシチニブに関連した卵巣または子宮への影響はみられなかった。

リトレシチニブに関連する変化として，325 mg/kg/日で胎児体重の減少（0.81 倍）が認められ，妊娠 18 日～21 日にみられた母動物の体重増加量の減少（0.71 倍）および妊娠子宮重量の減少（0.75 倍）と関連していた。

以上のように，この用量設定試験から本試験の用量の設定に十分な情報が得られた。

6.2.2. ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験［20075271 試験（[redacted]GR148），概要表 2.6.7.13A］

妊娠した Wistar Han ラット（22 例/群，投与開始時に約 9～10 週齢）に，リトレシチニブを 0（0.5% メチルセルロース），75，175 または 325 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 17 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 21 日に剖検後，妊娠子宮重量を測定し，卵巣および子宮の検査，胎児の性別判定，胎児体重ならびに胎児の外表，内臓および骨格検査を行った。妊娠 17 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の雌（3～5 例/群）から採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。

リトレシチニブに関連した死亡，一般状態の変化，剖検所見または胚・胎児の生存への影響はみられず，外表または内臓検査で異常は認められなかった。

母動物に対する影響として，325 mg/kg/日で体重，体重増加量および摂餌量の減少が認められた。325 mg/kg/日で対照群と比較して統計学的に有意な母動物の体重増加量の減少が妊娠 6 日～18 日（0.81 倍），妊娠 6 日および妊娠 12 日（0.57～0.65 倍）ならびに妊娠 15 日～18 日（0.87 倍）に認められた。投与期間終了後の妊娠 18 日～21 日にも母動物の体重増加量の減少（0.94 倍）が認められた。妊娠 6 日～21 日において母動物の体重増加量の減少（0.85 倍）は継続してみられた。母動物の摂餌量の減少が妊娠 6 日～18 日（0.87 倍）および妊娠 6 日～21 日（0.90 倍）に認められた。325 mg/kg/日で認められた体重および摂餌量に対する影響は毒性と判断した。

発生毒性として，175 mg/kg/日および 325 mg/kg/日で胎児体重の減少（それぞれ 0.94 倍および 0.81 倍）ならびに骨格奇形および変異の発現頻度の上昇が認められた。325 mg/kg/日で認められた胎児体重の減少により，妊娠子宮重量の減少（0.86 倍）および骨化遅延の発現頻度の上昇がみられた。

胎児の骨格奇形として，175 mg/kg/日で肋骨の分岐および胸椎の半椎（1 例）が，325 mg/kg/日では胸椎体の癒合（1 例），肋骨の分岐（1 例）ならびに肋骨の癒合，腰椎体の癒合，胸椎弓の癒合および過剰椎骨（1 例）が認められた。

175 mg/kg/日および 325 mg/kg/日で胎児の骨格変異として，前肢指骨の未骨化，後肢中足骨の未骨化，肋骨の結節形成，波状肋骨および胸骨分節の未骨化の発現頻度上昇が認められた。
325 mg/kg/日のみで認められた胎児の骨格変異として，前肢中手骨の未骨化，肋骨の形態異常および短縮，胸骨分節の骨化不全，頚椎弓の形態異常，腰椎体の二分骨化，胸椎弓の形態異常，胸椎の二分骨化ならびに胸椎体の片側性骨化の発現頻度の上昇が認められた。胎児体重の減少が認められた用量でみられた骨格の骨化遅延は，成長遅延の二次的変化と考えられた。

妊娠 17 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量の増加にほぼ比例して増加した。T_{max} は投与後 1 時間または 1.4 時間であった。

以上のように，325 mg/kg/日で体重，体重増加量および摂餌量の減少が認められたことから，本試験における母動物に関する NOAEL は 175 mg/kg/日と判断した。この用量における C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 20,500 ng/mL および 79,000 ng•h/mL）であった。175 mg/kg/日および 325 mg/kg/日で胎児体重の減少ならびに骨格奇形および変異の発現頻度の上昇が認められたことから，胚・胎児発生に関する NOAEL は 75 mg/kg/日と判断した。この用量における C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 11,600 ng/mL および 25,300 ng•h/mL であった。

6.2.3. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験［20069228 試験（[redacted]GR574），概要表 2.6.7.11］

妊娠した New Zealand White ウサギ（6 例/群，約 5 ヵ月齢）に，リトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），10，75，175 または 325 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日から 19 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 29 日に剖検後，妊娠子宮重量を測定し，卵巣および子宮の検査，胎児体重ならびに胎児の外表検査を行った。

175 mg/kg/日および 325 mg/kg/日で重篤な一般状態の変化，母動物の体重または摂餌量の減少が認められ死亡または安楽死させたことから，すべての動物が予定解剖まで生存しなかった。すなわち，175 mg/kg/日および 325 mg/kg/日でそれぞれ 1 例が死亡発見され，残りの 5 例はそれぞれ 8 回～13 回および 2 回～3 回の投与後に安楽死させた。

死亡または安楽死の前に一般状態の変化として，活動性の低下，呼吸音異常，衰弱および糞便異常が認められた。325 mg/kg/日で妊娠 8 日～9 日動物の体重減少（0.01 kg）および摂餌量の減少が妊娠 7 日～8 日（0.67 倍；以下，対照群との比較）と妊娠 8 日～9 日（0.13 倍）に認められた。175 mg/kg/日では妊娠 20 日に母動物の体重増加抑制（0.93 倍）および妊娠 7 日～20 日に摂餌量の減少（0.09～0.78 倍）が認められた。10 mg/kg/日または 75 mg/kg/日では一般状態の変化ならびに母動物の体重，体重増加量または摂餌量に対する影響はみられず，母動物に剖検所見も認められなかった。

75 mg/kg/日で一腹あたりの後期胚吸収（対照群の 0 に対して 2.2）および死亡胎児（対照群の 0 に対して 0.2）の発現頻度の上昇，胎児体重の減少（0.93 倍）が認められた。後期胎児死亡の発現頻度の上昇に伴い着床後胚損失率の上昇（対照群の 8.08%に対して 25.12%），一腹あたりの生存胎児数の減少（対照群の 7.8 に対して 10.2）が認められた。着床後胚損失率上昇および胎児体重減少により二次的に妊娠子宮重量が減少（0.81 倍）した。

10 mg/kg/日では胎児の発達または生存率に対する影響はみられず，10 mg/kg/日または 75 mg/kg/日で胎児の外表異常は認められなかった。

以上のように，この用量設定試験から本試験の用量の設定に十分な情報が得られた。

6.2.4. ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験［20075272 試験（[redacted]GR149），概要表 2.6.7.13B］

妊娠した New Zealand White ウサギ（20 例/群，約 4～5 ヵ月齢）に，リトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），5，25 または 75 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日から 19 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定を行い，妊娠 29 日に剖検後，妊娠子宮重量を測定し，卵巣および子宮の検査，胎児の性別判定，胎児体重ならびに胎児の外表，内臓および骨格検査を行った。試験 19 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にサテライト群の雌（3～5 例/群）から採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。

いずれの用量においてもリトレシチニブに関連した死亡，一般状態の変化，母動物の体重および摂餌量への影響または剖検所見は認められなかった。

75 mg/kg/日で後期胚吸収の増加（対照群の 0.18 倍に対して 0.59 倍，後期胚吸収がみられた例数は対照群の 3 例に対し 10 例）が認められ，着床後胚損失率の上昇（対照群の 8.25%に対して 13.08%）がみられた。75 mg/kg/日の後期胚吸収数は対照群と比較して統計学的に有意であったが，一例の雌での高値（着床数 14 に対しで後期胚吸収数 11）に起因していた。75 mg/kg/日で着床後胚損失率の発現頻度の上昇が認められたが，一腹あたりの生存胚数に影響がみられなかったことから毒性学的意義は乏しいと考えた。

発生毒性として，75 mg/kg/日で統計学的に有意な胎児体重の減少（0.88 倍），胎児の内臓奇形［腎臓の位置異常（3 例）］および骨格奇形［過剰胸骨分節（7 本，1 例），第 13 胸椎の椎弓欠損，第 13 胸椎と第 1 腰椎の癒合（1 例）および第 9 胸椎と第 10 胸椎の癒合］ならびに骨格変異の発現頻度の上昇が認められた。

75 mg/kg/日で骨格変異として，成長遅延に伴う二次的な骨化遅延（指，恥骨，頭蓋骨，胸椎および胸骨分節）および骨格構造（頭蓋骨および椎骨）発達における変異が認められた。骨格の骨化遅延として，前肢指骨，前肢中手骨および恥骨の未骨化，小泉門の軽微な拡張，胸骨分節の未骨化および胸椎の片側の骨化が認められた。75 mg/kg/日での中手骨の未骨化の一腹あたりの発生率（88.2%）は対照群と比較して統計学的に有意であった。75 mg/kg/日で胎児の骨格構造の変異として，頭頂骨の分離骨化部位，胸椎弓の形成不全および胸椎体の形態異常の発現頻度の上昇が認められた。

75 mg/kg/日で認められた妊娠子宮重量の減少（0.83 倍）は，胎児体重の減少の二次的変化と考えられた。

妊娠 19 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量にほぼ比例して増加した。T_{max} はいずれの用量においても投与後 1 時間であった。

以上のように，母動物に毒性所見が認められなかったことから，本試験における母動物に関する NOAEL は高用量の 75 mg/kg/日と判断した。この用量における C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 51,400 ng/mL および 202,000 ng•h/mL であった。75 mg/kg/日で胎児体重の減少，内臓および骨格奇形の発現頻度の上昇ならびに骨格変異が認められたことから，胚・胎児発生に関する NOAEL は 25 mg/kg/日と判断した。この用量における C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 15,400 ng/mL および 45,600 ng•h/mL であった。

6.3. ラットを用いた出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験［00655232 試験（[redacted]GR230），概要表 2.6.7.14］

妊娠した Wistar Han ラット（22 例/群，投与開始時に約 10～11 週齢）に，リトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），25，75 または 175 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から授乳 20 日まで QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。母動物について一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，分娩に関するパラメータ測定を行い，授乳 21 日に剖検を行った。F1 出生児については一般状態観察，体重測定，性成熟判定，機能行動検査を実施し，性成熟した F1 出生児を同居させて，生殖機能を評価した後，剖検した。

F0 の生存，一般状態，体重または体重増加量（妊娠中または授乳中），摂餌量（妊娠中），妊娠期間，分娩に関するパラメータまたは剖検所見には，リトレシチニブに関連した影響は認められなかった。

175 mg/kg/日の F1 で離乳前の期間に出生後生存率の低下，体重増加抑制および体重増加量の減少が認められた。175 mg/kg/日の出生後生存率の低下は生後 1 日～4 日（対照群の 99.6%に対して 93.7%）および生後 4 日～7 日（対照群の 99.4%に対して 96.5%）に認められ，生後 7 日以降の F1 の生存には影響はみられなかった。F1 の体重増加抑制は 75 mg/kg/日以上で認められ，175 mg/kg/日では毒性と判断した。175 mg/kg/日では，F1 出生時（生後 1 日）の体重は対照群と比較して雄で 0.82 倍，雌で 0.80 倍であり，離乳前の期間（生後 1～21 日）を通じて体重増加量の減少が認められた。それに伴い離乳前の体重は雄および雌でそれぞれ対照群の 0.76 倍および 0.74 倍まで減少した。体重増加量の減少は離乳後も継続し，175 mg/kg/日の F1 の離乳後の体重は雄および雌でそれぞれ対照群の 0.80 倍および 0.78 倍まで減少した。

175 mg/kg/日で包皮分離および膣開口の遅延（それぞれ対照群の 43.8 日に対して 47.4 日および対照群の 34.0 日に対して 37.8 日）が認められた。これらの性成熟遅延は体重に認められた毒性所見と関連しており，毒性と判断した。

F1 雌の生殖に対する影響として，175 mg/kg/日で黄体数の減少（対照群の 14.2 に対して 12.6）が認められ，これに伴い着床数（対照群の 13.3 に対して 11.0）および生存胚数（対照群の 12.5 に対して 10.5）の減少が認められた。

F0 の妊娠期間と分娩過程，F1 の離乳後の生存，F1 の神経行動（驚愕反応，活動性または学習と記憶），F1 の生殖能力，F2 胚の子宮内生存にはリトレシチニブに関連した影響は認められなかった。

妊娠 17 日の曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は用量にほぼ比例して増加した。T_{max} はいずれの用量においても投与後 1 時間であった。

以上のように，175 mg/kg/日で F1 の離乳前の生存率低下，F1 の体重増加抑制，性成熟への影響および F1 雌の黄体数減少が認められたことから，本試験における F1 の発生に関する NOAEL は 75 mg/kg/日と判断した。F0 に対する毒性所見は認められなかったことから，F0 母動物に関する NOAEL は 175 mg/kg/日と判断した。175 mg/kg/日における AUC_{24} および C_{max} はそれぞれ 65,700 ng•h/mL および 24,100 ng/mL であった。

7. 局所刺激性試験

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

8. その他の毒性試験

8.1. 有色ラットを用いた光毒性試験［20075773 試験（[redacted]MA032），概要表 2.6.7.17］

リトレシチニブは UVB および可視光線領域において光を吸収し，Long-Evans 有色ラットのぶどう膜に分布することから，メラニン親和性を有することが確認されている（2.6.4.4.1 項）。このため，in vivo 光毒性試験を実施し，眼および皮膚に対する光毒性を評価した。雌の Long-Evans 有色ラット（5 例/群，約 13.5 週齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），50，100 または 200 mg/kg の用量で 3 日間 QD 経口投与し，続いて日光のシミュレーションとして，キセノンランプで背部皮膚および眼を紫外線に曝露させた。紫外線照射は UVA（9.8～10.8 J/cm^2）および UVB（138～152 mJ/cm^2）の単回照射とし，リトレシチニブの最終投与後約 60 分に照射した。また，雌ラット（3 例）に 15 mg/kg/日の 8-MOP を投与し，陽性対照群とした。投与容量はいずれも 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，眼科検査，皮膚反応および病理組織学的検査（眼のみ）を行った。試験 3 日の投与後 1，3，7 および 24 時間に別のサテライト群の雌ラット（3 例/群）から採血し，血漿中アブロシチニブ濃度を測定した。

いずれの用量においても，一般状態の変化，体重または体重増加量への影響は認められず，皮膚反応，眼科検査所見および眼の病理組織学的所見も認められなかった。陽性対照である 8-MOP では光毒性を示す皮膚反応および眼球の所見が認められ，試験系が適切であったことが確認された。

AUC_{24} は 50～200 mg/kg/日で用量にほぼ比例して増加した。C_{max} は 50～100 mg/kg/日では用量にほぼ比例して増加したが，100～200 mg/kg/日ではほぼ一定であった。

以上のように，リトレシチニブを雌 Long-Evans ラットに 200 mg/kg/日までの用量で 3 日間 QD 経口投与し，約 1 時間後に UV 照射したとき，皮膚または眼球の眼科的検査または病理組織学的検査で光毒性を示す所見は認められなかった。

8.2. 抗原性試験

リトレシチニブの抗原性試験は実施していない。反復投与毒性試験では免疫毒性プロファイルについて，標準的な評価を超える特性解析を実施した（CTD 2.6.6.3）。

8.3. 免疫毒性試験

ICH S8（2006）に従い，すべての重要な毒性試験で免疫系に対するリトレシチニブの影響に関連する標準的および追加の免疫毒性パラメータ（血液学的検査，リンパ系器官重量，病理組織学的検査および場合により免疫表現型検査）を評価した（CTD 2.6.6.3）。

標準および追加の免疫表現型の評価から，免疫およびリンパ造血系への影響（脾臓，胸腺，リンパ節，骨髄および GALT における白血球数の減少および細胞充実性の低下）が示された。これらの所見はリトレシチニブの薬理活性に関連するものであり，2 回のイヌを用いた 9 ヵ月間試験の高用量（20 mg/kg/日以上）でみられた過度の免疫抑制（感染など）に関連した所見を除き，毒性

学的意義は乏しいと考えられ，ほぼすべての所見は休薬により完全に回復した。また，共有結合を介した相互作用に起因する過敏反応または非特異的毒性反応を誘発する可能性についての複数の検討結果から，リトレシチニブが過敏反応を引き起こす可能性が低いことが示唆された。

標準および追加の免疫毒性の評価から，免疫およびリンパ造血系への影響はリトレシチニブの薬理作用である JAK3/TEC 阻害に符合するものであり，予期しない免疫毒性は認められないことが示唆された。

8.3.1. マウスアレルギーモデル（[redacted]GR446 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブは低分子の共有結合型阻害剤であるが，タンパク質を共有結合で修飾する薬剤では過敏反応を誘発する可能性が考えられる。薬物による過敏反応の予測ツールとして改変型のマウスアレルギーモデル（MAM）が開発されている[28]。この方法は，薬物を 3 日間連続で QD 皮下投与して流入領域リンパ節の細胞充実性を評価する MAM[29]を改変したものであり，ヒトで過敏反応を示す薬剤で良好な予測性がみられている [28]。

リトレシチニブがその共有結合能に関連して過敏反応を誘発する可能性を MAM で評価した。また，リトレシチニブにより JAK3 依存性サイトカイン反応を調節することを意図しているため，その免疫調節作用によって自身（タンパク質に共有結合するリトレシチニブ）に対する免疫反応の誘発能が抑制されるという仮説を，改変 MAM を用いて検討した。

MAM では，リトレシチニブを雌の C57BL/6 マウス（5 例/群）に 0，1，10 または 100 mg/kg/日の用量で連続 3 日間 QD 皮下投与した。陽性対照および陰性対照として，アモキシシリン（100 mg/kg/日）および 10% DMSO をそれぞれ用いた。試験 6 日に所属リンパ節（上腕リンパ節）を採取し，フローサイトメトリーにより細胞充実性を評価した。結果はリンパ節における総細胞数および刺激指数（SI 値，リンパ節における総細胞数の対照群との比）として示し，SI 値が 2.5 以上の場合に陽性と判定した。また，改変 MAM では，試験 1～5 日に雌の C57BL/6 マウス（5 例/群）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース），1，10 または 100 mg/kg/日の用量で QD 強制経口投与し，試験 1～3 日にはリトレシチニブの投与後 120 分以内にオフロキサシン（MAM での陽性反応およびヒトで過敏反応を示す）または溶媒を皮下投与した。リトレシチニブの用量は，全血中での IL-15 pSTAT5 シグナル伝達の阻害（2.6.2.2.1.5 項）に基づいて選択した。マウスにリトレシチニブを単回投与した薬物動態試験（2.6.4.3.2 項）における曝露量から，用量比例性を仮定して推定した C_{av}（$AUC_{24}/24$）と以下の式に基づき[30]，各用量はそれぞれ IC_{13}，IC_{60} および IC_{94} と推定された［$IC_{xx}= 100 * C_{av}/（IC_{50} + C_{av}）$］。陽性対照として免疫抑制剤であるシクロスポリンを用いた。

MAM では，リトレシチニブを 1，10 および 100 mg/kg までの用量で皮下投与したときの，リンパ節における総細胞数はいずれも対照群と同程度（SI 値はそれぞれ 1.3，0.9 および 1.1）であった。なお，陽性対照のアモキシシリンではリンパ節における総細胞数の増加（SI 値 4.2）が認められた。また，改変 MAM では，10 mg/kg および 100 mg/kg のリトレシチニブ（経口）とオフロキサシン（皮下）の投与により，リンパ節における総細胞数の減少（対照群の SI 値 2.2 に対してそれぞれ SI 値 1.0 および 1.2）が認められた。免疫抑制剤であるシクロスポリン（経口）とオフロキサシン（皮下）の投与では，溶媒（経口）とオフロキサシン（皮下）の投与（SI 値 4.8）と比較して，リンパ節における総細胞数の減少（SI 値 0.9）が認められた。

以上のように，MAM ではリトレシチニブは 100 mg/kg までの用量（皮下投与）で陽性反応を示さなかった。改変 MAM では 10 mg/kg 以上のリトレシチニブ（経口投与）はオフロキサシンにより誘導された過敏反応を減弱させた。これらの結果から，リトレシチニブが過敏反応を誘発する可能性は低いことが示唆され，過敏反応が生じた場合でもリトレシチニブはその免疫調節作用により過敏反応の発現を抑制することが予測された。

8.4. 機序に関する試験

イヌの脳に認められた軸索ジストロフィーについて，その背景データおよび発現機序について検討するため，一連の探索的な試験を実施した。

8.4.1. イヌを用いた 3 日間経口投与試験（[redacted]GR131 試験，概要表 2.6.7.6）

雌ビーグル犬（4 例/群，約 2～3 歳齢）にリトレシチニブを 0（0.5%メチルセルロース）または 40 mg/kg の用量で 3 日間 QD 経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察を実施し，試験 3 日の投与後約 1 時間にリトレシチニブ濃度の測定のために採血した。また，試験 3 日の剖検時の全身灌流直後（投与後約 1 時間）に左右の上オリーブ核，蝸牛神経核および海馬を採取し，上オリーブ核および蝸牛神経核については左右の検体をプールした。

リトレシチニブに関連した一般状態の変化はみられなかった。

対照群から採取した血漿または脳の各部位には定量可能（血漿および脳組織の定量下限値はそれぞれ 2.5 ng/mL および 15.0 ng/g）な濃度のリトレシチニブは認められなかった。40 mg/kg/日の血漿中濃度は 11,300 ng/mL と，脳中濃度（上オリーブ核，蝸牛神経核および海馬でそれぞれ 1080, 1090 および 1340 ng/g）よりも 10 倍程度高かった。

8.4.2. イヌの脳幹における各種キナーゼまたは酸化ストレス関連の遺伝子発現プロファイリング（[redacted]GR142 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブのイヌの 9 ヵ月間試験において，聴覚経路では上オリーブ核にのみ軸索ジストロフィーが認められた。このことが脳の各部位における遺伝子発現プロファイルの差異によるものか検討するため，標的である JAK/TEC ファミリーキナーゼおよびその他の非特異的に阻害される可能性のあるキナーゼの遺伝子ならびに酸化ストレス関連遺伝子のイヌの各脳幹部位（上オリーブ核，蝸牛神経核および海馬）における発現について検討した。

蝸牛神経核は解剖学的位置および聴覚経路との関係が上オリーブ核と類似することから，海馬は脳の解剖学的位置および機能が上オリーブ核と明確に異なることからそれぞれ選択した。雄ビーグル犬（3 例，約 4 歳）から上オリーブ核，蝸牛神経核および海馬を採取し，RNA を単離・精製した後に qPCR および RNA-seq 法によって分析した。キナーゼ遺伝子および酸化ストレス関連遺伝子のプロファイリングには市販のパネルを用いた。

酸化ストレス関連遺伝子の qPCR では蝸牛神経核において上オリーブ核と比較して異なる遺伝子が少数ながらみられたが，これらの遺伝子はいずれも RNA-seq のデータでは有意な差は示さなかった。これらの遺伝子のいくつかの発現量は FPKM 値が 1.0 以下と比較的低く，発現の差異は比較的小さかったことも考慮すると，qPCR によって同定された遺伝子は偽陽性であると考えられた。このように，蝸牛神経核における遺伝子発現には上オリーブ核と比較して全体的な差異が認められなかったことから，酸化ストレス関連遺伝子の mRNA 発現の差異により上オリーブ核

でのみ軸索ジストロフィーが発現したという仮説は支持されなかった。また，蝸牛神経核は海馬よりも解剖学的位置および機能が上オリーブ核と類似することから予想された通り，上オリーブ核と海馬の比較では上オリーブ核と蝸牛神経核の比較より，遺伝子発現（遺伝子数および相対的発現）の差異が大きくなる傾向がみられた。

qPCR および RNA-seq のデータには，JAK3 を含む JAK ファミリーおよび TEC ファミリーキナーゼならびにオフターゲットのキナーゼパネルに有意な差はみられなかった。また，JAK3 遺伝子はイヌの脳において RNA-seq 法の検出限界（FPKM 値 0.2 以上）に近い低いレベルで発現していた。このことは，上オリーブ核と比較して蝸牛神経核および海馬において遺伝子発現の差異がみられなかったことも考慮すると，JAK3/TEC 阻害がビーグル犬の上オリーブ核でみられた軸索ジストロフィーの発現に関与しないことが示唆された。

以上のように，イヌの上オリーブ核，蝸牛神経核および海馬における遺伝子発現プロファイルの比較から，酸化ストレス関連遺伝子の発現の差異により上オリーブ核でのみ軸索ジストロフィーが発現したことは示唆されなかった。また，各部位における JAK3 または他の関連キナーゼの発現にも有意な差は認められなかった。イヌの脳における JAK3 の mRNA 発現量はわずかであり，各部位での発現に差異がみられなかったことから，JAK3 発現の差異により上オリーブ核でのみ軸索ジストロフィーが発現したことは示唆されなかった。

8.4.3. イヌの脳中におけるリトレシチニブのオフターゲットタンパク質の同定（[redacted]GR193 試験，概要表 2.6.7.17）

イヌの 9 ヵ月間試験で中枢神経系および末梢神経系に認められた軸索ジストロフィーの発現機序について考察するため，リトレシチニブと結合するイヌ脳中のオフターゲットタンパク質を還元的ジメチル化に基づく定量的プロテオミクスにより検索した。

正常ビーグル犬（18～21 ヵ月齢）から採取した脳組織（海馬および小脳虫部吻側部）を可溶化させた後にホモジネートを調製し，溶媒（DMSO）またはリトレシチニブ（10 µmol/L）で前処理した後，リトレシチニブのアルキン含有類縁体である PF-06789402（1 µmol/L）とインキュベートした。DMSO およびリトレシチニブで前処理した検体中の PF-06789402 のアルキン基にクリック反応によりそれぞれ軽（L）および重（H）質量タグを導入し，質量分析計で分析した。L/H 比が 2 以上（$\log_2$ L/H が 1 以上）で統計学的に有意（補正 p 値≤0.05）であったタンパク質をリトレシチニブのオフターゲットタンパク質と同定した。海馬および小脳虫部におけるリトレシチニブのオフターゲットタンパク質の検索結果をそれぞれ Table 8 および Table 9 に示す。

Table 8.　リトレシチニブと結合するイヌの海馬におけるオフターゲットタンパク質

タンパク質	Unique Peptides[a]	Peptide spectrum matches[b]	$\log_2$ L/H	補正 p 値	N[c]
BTK	18	46	4.32	2.79E-06	4/5
DOCK10	1	7	4.32	0.000194	3/5
BMX	1	6	4.32	0.009458	2/5
PRKCG	9	37	1.18	0.003774	5/5
MAPK10	13	83	1.16	0.004796	5/5

a. 質量分析で認められた各タンパク質固有のペプチド数
b.タンパク質由来のペプチドと一致したマススペクトル数
c. タンパク質が検出された検体数/評価した検体数

Table 9.　リトレシチニブと結合するイヌの小脳虫部におけるオフターゲットタンパク質

タンパク質	Unique Peptides[a]	Peptide spectrum matches[b]	Log_2 L/H	補正 p 値	N[c]
BTK	15	35	4.32	7.25E-05	3/3
BMX	8	18	4.32	7.25E-05	3/3
DOCK10	1	2	4.32	0.002523	2/3
MAP2K7	8	11	4.32	0.002523	2/3
F13A1	3	6	1.66	0.005456	3/3
PRKCG	16	64	1.42	0.01389	3/3
PRKCA	5	39	1.26	0.005456	3/3
MAPK10	6	35	1.21	0.008606	3/3
PRKCB	2	26	0.99	0.027215	3/3

a. 質量分析で認められた各タンパク質固有のペプチド数
b.タンパク質由来のペプチドと一致したマススペクトル数
c. タンパク質が検出された検体数/評価した検体数

プロテオミクス実験で一般的にみられる夾雑物（ケラチンなど）はオフターゲットタンパク質から除外した。海馬で同定されたオフターゲットタンパク質はいずれも小脳虫部吻側部でも同定された。BTK，DOCK10 および BMX は L/H 比 20（log_2 L/H = 4.32）と高値を示し，リトレシチニブに対する高い結合親和性が示唆された。小脳虫部吻側部でのみ同定されたタンパク質では MAP2K7 が L/H 比 20 と高値を示した。

JAK3 は検出されなかったことから，イヌで認められた軸索ジストロフィーには JAK3 は関連しないことが示唆された。TEC ファミリーキナーゼの BTK および BMX はオフターゲットタンパク質として同定されたが，TEC 阻害剤であるイブルチニブとリトレシチニブでは標的臓器毒性プロファイルが異なることから，これらのキナーゼはイヌの 9 ヵ月間試験で認められた所見に関連している可能性は低いと考えられた。すなわち，リトレシチニブでは TEC 阻害剤で通常認められる膵臓毒性はみられず，BTK および BMX を含む TEC ファミリーキナーゼを阻害する共有結合型キナーゼ阻害薬であるイブルチニブ[31,32]では軸索ジストロフィーは認められなかった。

DOCK10 および MAP2K7 もオフターゲットタンパク質として同定された。Rho グアニンヌクレオチド交換因子である DOCK10 は樹状突起スパインの形態形成に関与していることが報告されているが[33]，DOCK10 が軸索ジストロフィーに直接関与していることを示唆する公表文献はなかった。JAK3 の Cys909 と同じ位置にシステイン残基を持つ 11 種のキナーゼの 1 つである MAP2K7 は，イヌの小脳虫部吻側部ではオフターゲットタンパク質として同定されたが海馬では同定されなかった。軸索ジストロフィーは小脳虫部吻側部で認められており，海馬ではみられなかった。MAP2K7 はマウスの脳において軸索の伸長と移動における調節的役割を果たすことが報告されており[34], MAP2K7 ノックアウトマウスではマウス脊髄における軸索神経障害が発現する[35]。

以上のように，DOCK10 および MAP2K7 は高い L/H 比を示したことから，リトレシチニブが高い結合親和性を示すことが示唆され，イヌの中枢神経系におけるオフターゲットタンパク質として同定された。

8.4.4. 過剰発現細胞株におけるリトレシチニブによるヒト，イヌおよびラットの MAP2K7 結合親和性の比較（[redacted]GR372 試験，概要表 2.6.7.17）

イヌ脳中におけるリトレシチニブのオフターゲットタンパク質として MAP2K7 が同定されたことから，ラット，イヌおよびヒトの MAP2K7 を過剰発現させた HEK293F 細胞を用いてリトレシチニブの結合親和性を検討した。

ラット，イヌまたはヒトの MAP2K7 を過剰発現させた HEK293F 細胞の細胞溶解物を調製し，DMSO またはリトレシチニブ（0.12～30 µmol/L）で前処理した後，リトレシチニブのアルキン含有類縁体である PF-06789402（1 µmol/L）とインキュベートした。クリック反応により PF-06789402 のアルキン基に蛍光タグを導入し，蛍光シグナルを測定した。

リトレシチニブおよびPF-06789402はいずれもMAP2K7の同じシステイン残基に結合することから，MAP2K7 の PF-06789402 との結合を介した蛍光ラベル化は，リトレシチニブとの結合により妨害され，蛍光シグナルが減少する。ラット，イヌおよびヒトの MAP2K7 に対するリトレシチニブの OC_{50} 値はそれぞれ 11.1，7.45 および 14.3 µmol/L であった（Table 10）。

Table 10.　リトレシチニブのラット，イヌおよびヒトの MAP2K7 に対する OC_{50} 値

MAP2K7	OC_{50} (mol/L)	$LogOC_{50}$ (mol/L)	標準誤差 ($LogOC_{50}$) (mol/L)	N
ヒト	14.26 e-6	-4.846	0.220	6
イヌ	7.454 e-6	-5.128	0.118	6
ラット	11.13 e-6	-4.953	0.100	6

以上のように，HEK293F 過剰発現系におけるリトレシチニブのラット，イヌおよびヒトの MAP2K7 に対する結合親和性は 7～14 µmol/L 程度の OC_{50} 値を示し，結合親和性には約 2 倍の種差がみられた。

8.4.5. 小脳における DOCK10 発現の種差（[redacted]GR164 試験，概要表 2.6.7.17）

イヌ脳中におけるリトレシチニブのオフターゲットタンパク質として DOCK10 が同定されたことから，マウス，ラット，イヌおよびヒトの小脳における DOCK10 遺伝子の発現レベルを比較した。

社外および社内の RNA-seq のデータベースからデータを取得して，マウス，ラット，イヌおよびヒトにおける DOCK10 遺伝子の発現プロファイルを比較したところ，小脳における DOCK10 遺伝子の発現はマウス，ラットおよびイヌではヒトと比較して有意に高いことが示された。

8.5. 依存性試験

リトレシチニブの各種の非臨床データにおいて，乱用の潜在的リスクは示唆されないことから，リトレシチニブを用いた依存性試験は実施しなかった［ICH M3 (R2)，2009］。リトレシチニブの主な作用機序は既知の乱用とは関連せず，また，副次的薬理試験ではドーパミン，セロトニン，ガンマアミノ酪酸，オピオイド，カンナビノイド，グルタメートおよびアデノシンのシグナル伝達を含む乱用に関連する可能性がある受容体，トランスポーターまたはイオン依存性チャネルに対する結合または機能的活性は認められなかった。

リトレシチニブは MDR1 および BCRP の基質となることが示されており，ヒトおよび非臨床動物種における中枢系への分布は，血漿中濃度に比べて限定的であると予想される。[^{14}C]リトレシチニブを用いたラットの組織分布試験では放射能濃度の AUC の脳/血漿比は 0.04 であり，脳への分布がわずかであることが示された。

ラットおよびイヌを用いた安全性薬理試験ならびに毒性試験において，自発運動量または機能観察総合評価の各項目への影響，中枢神経系への影響を示唆する一般状態の変化はみられなかった。中枢神経系に対する機能的な影響として，イヌへの 7 ヵ月間の反復投与後に BAEP の変化が認められたが，軸索構造の物理的変化（軸索腫大）に関連しており，乱用または依存のリスクを示すものではないと考えられる。

8.6. 代謝物に関する試験

リトレシチニブの代謝物に関する独立した毒性試験は実施していない。ヒト循環血中の主代謝物である PF-07034562（M2）の安全性は，以下に記したように ICH M3 (R2) に準拠して適切に評価されている。

- M2は第II相反応による代謝物（システイン抱合体）であり，一般的に毒性学的な懸念はないと考えられる［ICH M3 (R2)］。
- M2は JAK1，JAK2，JAK3，TYK2または TEC ファミリーキナーゼのいずれも阻害せず，薬理作用を示さない（2.6.2.2.1.1項）。
- 中枢神経系への分布は限定的であり（AUC の脳/血漿比<0.1），半減期は短く，脳中への M2または他の薬物関連物質の蓄積はないことが示唆されている（2.6.4.4.1項）。
- ヒトと比較して十分な曝露量がラットで得られている（AUC_{24}のラット/ヒト比 ＞1，2.6.4.5.3項）。

また，M2 は 2 つの補完的な in silico モデル（[redacted] および [redacted]）において，いずれも変異原性を示さないと予測された。

8.7. 不純物に関する試験

リトレシチニブの潜在的な不純物について，OECD ガイドライン 488 に準拠した in vitro 遺伝子突然変異試験を実施した。また，ICH M7 (R1) および OECD ガイドライン 471 に沿って潜在的な原薬および医薬品の不純物による影響を評価するために，ラットを用いた 13 週間不純物評価毒性試験を実施した（Table 11）。その他の不純物は，ICH Q3A (R2) および Q3B (R2) ならびに工程についての知識に基づき，適格性が確認されているか，適切に管理されている。

不純物について実施した遺伝毒性試験では，プレートあたりの復帰変異コロニー数が濃度依存的かつ溶媒対照の 2 倍（TA98，TA100，WP2uvrA pKM101）または 3 倍（TA1535，TA1537）以上の場合に陽性と判定した。いずれの試験においても陰性対照および陽性対照では適切な反応が得られたため，試験条件および代謝活性化系が適切であったことが確認された。

Table 11.　不純物に関する試験の概要

試験	試験番号	濃度または用量	GLP 適合/非適合	概要表
*不純物N の細菌を用いる復帰突然変異試験	1149304	3～5000 µg/プレート	適合	2.6.7.17
*不純物L の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR556	5～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
*不純物I の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR004	15～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
*不純物O の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR162	50～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
*不純物B の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR139	313～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
*不純物W の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR140	313～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
*不純物Q の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR189	15～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
*不純物R の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR190	5～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
*不純物S の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR191	50～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
*不純物T の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR192	50～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
*不純物U の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR280	5～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
*不純物C の細菌を用いる復帰突然変異試験	20232598	1.7～5000 µg/プレート	適合	2.6.7.17
*不純物V の細菌を用いる復帰突然変異試験	20232562	1.7～5000 µg/プレート	適合	2.6.7.17
*不純物A の細菌を用いる復帰突然変異試験	[redacted]GR240	15～5000 µg/プレート	非適合	2.6.7.17
ラットを用いた 13 週間経口投与不純物評価試験	8413430 ([redacted]GR371)	0，200，200[a] mg/kg/日	適合	2.6.7.17

a.ラットに，リトレシチニブ 200 mg/kg/日単独もしくは不純物（ *不純物C ， *不純物D ， *不純物E ， *不純物F ， *不純物G ， *不純物H ， *不純物I ， *不純物J ， *不純物K ， *不純物L および *不純物M ）と混合したリトレシチニブ 200 mg/kg/日を投与した。

以下に示すように，*不純物B と *不純物A を除き，評価した不純物は *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。*不純物B は陽性の判定基準は下回ったものの弱い変異原性を示したことから，ICH M7 に基づき許容 1 日量により管理する予定である。また，*不純物A は変異原性を示したことから read-across 法により許容 1 日量を求めたところ 1 µg と予測された（詳細は 3.2.P.5.6 に記す）

8.7.1. *不純物N の細菌を用いる復帰突然変異試験（1149304 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である *不純物N の復帰突然変異誘発性について，*Salmonella typhimurium*（TA1537, TA98, TA100, TA1535）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital/β-naphthoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下および非存在

＊新薬承認情報提供時に置き換え

下で検討した。変異原性試験はプレート法を用いて，代謝活性化の有無にかかわらず，各濃度につき 3 枚のプレートを用いて実施した。

用量設定試験は 3，10，33，100，333，1000，2500 および 5000 µg/プレート，本試験は 10，33，100，333，1000，2500 および 5000 µg/プレートの　　*不純物N　　濃度で実施した。すべての試験菌株において，代謝活性化の有無にかかわらず，すべての濃度で復帰変異コロニー数は背景データの範囲と同程度であった。

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

8.7.2.　*不純物L　の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR556 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である　*不純物L　について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 1254 誘導ラット肝 S9）の存在下および非存在下で復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。　*不純物L　を DMSO に溶解して 5～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

本試験は 5，15，50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートの　*不純物L　濃度で実施した。5000 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも　*不純物L　の析出は認められず，濃度依存的な細胞毒性はいずれの試験菌株においても代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

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

8.7.3.　*不純物I　の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR004 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である　*不純物I　について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 1254 誘導ラット肝 S9）の存在下および非存在下で復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。　*不純物I　を DMSO に溶解して 15～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

本試験は 15, 50, 150, 500, 1500 および 5000 µg/プレートの　*不純物I　濃度で実施した。5000 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも　*不純物I　の析出は認められず，濃度依存的な細胞毒性はいずれの試験菌株においても代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

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

8.7.4.　*不純物0　の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR162 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である　*不純物0　について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下および非存在下で復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。　*不純物0　を DMSO に溶解して 50～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

初回本試験は 50, 150, 500, 1500 および 5000 µg/プレートの　*不純物0　濃度で実施した（TA1537 については代謝活性化存在下のみ）。5000 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも　*不純物0　の析出は認められず，濃度依存的な細胞毒性はいずれの試験菌株においても代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。2 回目の本試験は初回本試験で実施しなかった代謝活性化系非存在下での TA1537 について，同様の濃度範囲で実施した。この試験においても　*不純物0　の析出および濃度依存的な細胞毒性は認められなかった。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上のように，*不純物0　は *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。

8.7.5.　*不純物B　の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR139 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である　*不純物B　について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下および非存在下で復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。　*不純物B　を DMSO に溶解して 313～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

初回本試験は 313，625，1250，2500 および 5000 µg/プレートの　*不純物B　濃度で実施した。5000 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも　*不純物B　の析出は認められず，濃度依存的な細胞毒性はいずれの試験菌株においても代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。代謝活性化系の非存在下および存在下での TA1535 の復帰突然変異コロニー数が濃度依存的に増加した（それぞれ最大 2.2 倍および 2.6 倍）。代謝活性化の有無にかかわらず，その他の試験菌株においては復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。TA1535 でみられた復帰突然変異コロニー数の増加について確認するために，2 回目の本試験を同様の濃度範囲で TA1535 を用いて実施した。　*不純物B　の析出は認められず，濃度依存的な細胞毒性は代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。代謝活性化系の非存在下では復帰変異コロニー数の増加は認められず，初回本試験の結果は再現されなかったが，代謝活性化系の存在下では復帰突然変異コロニー数が濃度依存的に増加した（最大 2.8 倍）。そこで，3 回目の本試験をより純度の高いロットの　*不純物B　を用いて，2000，3000，4000 および 5000 µg/プレートの濃度範囲で代謝活性化系の存在下で実施した。　*不純物B　の析出は認められず，濃度依存的な細胞毒性は認められなかった。復帰突然変異コロニー数の濃度依存的な増加（最大 2.8 倍）が認められ，初回

および 2 回目の本試験でみられた結果が再現された。これらの増加はこの菌株の陽性の判定基準（3 倍）をわずかに下回っていたが，3 回の試験でいずれも濃度依存性がみられたことから，*不純物B は弱い変異原性を示すと考えられた。

以上のように，*不純物B は *Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において弱い変異原性を示した。

8.7.6. *不純物W の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR140 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である *不純物W について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。*不純物W を DMSO に溶解して 313～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

本試験は 313，625，1250，2500 および 5000 µg/プレートの *不純物W 濃度で実施した。5000 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも *不純物W の析出は認められなかった。細胞毒性は代謝活性化の有無にかかわらず，TA1537 では 2500 µg/プレート以上で濃度依存的に，TA98，TA100 および WP2uvrA では 5000 µg/プレートで認められたが，TA1535 では濃度依存的な増加はみられなかった。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

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

8.7.7. *不純物Q の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR189 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である *不純物Q ついて，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。*不純物Q を DMSO に溶解して 15～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

本試験は 15, 50, 150, 500, 1500 および 5000 µg/プレートの *不純物Q 濃度で実施した。5000 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも *不純物Q の析出は認められなかった。細胞毒性はいずれの試験菌株においても代謝活性化の有無にかかわらず 1500 µg/プレート以上で濃度依存的に認められた。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

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

8.7.8. *不純物R の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR190 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である *不純物R について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。 *不純物R を DMSO に溶解して 5～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

初回本試験は 15，50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートの *不純物R 濃度で TA1535 および TA1537 を用いて実施した。5000 µg/プレートでは 37°C でインキュベート後に *不純物R の析出が認められた。細胞毒性はいずれの試験菌株においても代謝活性化の有無にかかわらず 1500 µg/プレート以上で濃度依存的に認められた。2 回目の本試験は 50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートの濃度で TA98，TA100 および WP2uvrA pKM101 を用いて実施した。5000 µg/プレートでは 37°C でインキュベート後に *不純物R の析出が認められた。代謝活性化系非存在下では細胞毒性が TA100 で 150 µg/プレート以上で，TA98 および WP2uvrA pKM101 では 1500 µg/プレート以上でいずれも濃度依存的に認められた。代謝活性化系存在下では細胞毒性は TA100 で 500 µg/プレート以上で, TA98 および WP2uvrA pKM101 では 1500 µg/プレート以上でいずれも濃度依存的に認められた。3 回目の本試験では 2 回目の試験で細胞毒性のために 1 濃度でしか評価できなかった代謝活性化系非存在下の TA100 について，5，15，50，150 および 500 µg/プレートの濃度で再度実施した。500 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも *不純物R の析出は認められなかったが，濃度依存的な細胞毒性が 15 µg/プレート以上で認められた。より低濃度で実施したにもかかわらず，細胞毒性のため 1 濃度でしか評価できなかったが，復帰変異コロニー数の増加は認められなかったことから，この結果は許容範囲内と考えた。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

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

8.7.9. *不純物S の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR191 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である *不純物S について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。 *不純物S を DMSO に溶解して 50～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

本試験は 50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートの *不純物S 濃度で実施した。5000 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも *不純物S の析出は認められず，濃度依存的な細胞毒性はいずれの試験菌株においても代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

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

8.7.10. *不純物T の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR192 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である *不純物T について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。*不純物T を DMSO に溶解して 50～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

本試験は 50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートの *不純物T 濃度で実施した。5000 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも *不純物T の析出は認められず，濃度依存的な細胞毒性はいずれの試験菌株においても代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

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

8.7.11. *不純物U の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR280 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物であり幾何異性体の混合物である *不純物U について，*Salmonella typhimurium*（TA98, TA100, TA1535, TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，リトレシチニブの不純物である *不純物U の復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。*不純物U を DMSO に溶解して 5～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

初回本試験は 78，156，313，625，1250，2500 および 5000 µg/プレートの *不純物U 濃度で実施した。1250 µg/プレート以上の濃度では 37°C でインキュベート後に *不純物U の析出が認められた。代謝活性化系非存在下では細胞毒性が TA100 および TA1537 で 78 µg/プレート以上（検討した全濃度）で，TA1535 では 156 µg/プレート以上で，TA98 では 625 µg/プレート以上でいずれも濃度依存的に認められた。代謝活性化系存在下では細胞毒性が TA100 および TA1537 で 78 µg/プレート以上（検討した全濃度）で，TA1535 では 2500 µg/プレート以上でいずれも濃度依存的に，TA98 では 5000 µg/プレートで認められた。濃度依存的な細胞毒性は WP2uvrA pKM101 ではみられなかったが，5000 µg/プレートでは過度の析出により背景細菌叢の評価が妨害された。いずれの試験系においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかったが，TA100 および TA1537 ならびに代謝活性化系非存在下の TA1535 では過度の細胞毒性により 0 または 1 濃度でしか評価できなかった。2 回目の本試験は 5，15，50，150 および 500 µg/プレートの濃度で TA1535（代謝活性化系非存在下のみ），TA100 および TA1537 を用いて実施した。500 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも *不純物U の析出は認められなかった。代謝活性化系非存在下では細胞毒性が

TA100 で 50 µg/プレート以上で，TA1535 および TA1537 では 150 µg/プレート以上でいずれも濃度依存的に認められた。代謝活性化系存在下では細胞毒性は TA100 で 50 µg/プレート以上で，TA1537 では 150 µg/プレート以上でいずれも濃度依存的に認められた。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

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

8.7.12.　*不純物C　の細菌を用いる復帰突然変異試験（20232598 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である　*不純物C　について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 1254 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，リトレシチニブの不純物である　*不純物C　の復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。　*不純物C　を DMSO に溶解して 1.7～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

用量設定試験は TA100 および WP2uvrA pKM101 を用いて，1.7，5.4，17，52，164，512，1600 および 5000 µg/プレートの　*不純物C　濃度で実施した。この試験の結果に基づき，初回本試験は 52，164，512，1600 および 5000 µg/プレートの濃度範囲で TA98，TA1535 および TA1537 を用いて実施した。2 回目の本試験は 492～5000 µg/プレートの　*不純物C　濃度で実施した。5000 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも　*不純物C　の析出は認められなかった。試験したいずれの濃度においても背景細菌叢の減少は認められず，生物学的に意味のある復帰突然変異コロニー数の減少はみられなかった。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

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

8.7.13.　*不純物V　の細菌を用いる復帰突然変異試験（20232562 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である　*不純物V　について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（Aroclor 1254 誘導ラット肝 S9）の存在下または非存在下で，リトレシチニブの不純物である　*不純物V　の復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。　*不純物V　を DMSO に溶解して 1.7～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

用量設定試験は TA100 および WP2uvrA pKM101 を用いて，1.7，5.4，17，52，164，512，1600 および 5000 µg/プレートの　*不純物V　濃度で実施した。この試験の結果に基づき，初回本試験は 52，164，512，1600 および 5000 µg/プレートの濃度範囲で TA98，TA1535 および TA1537 を用いて実施した。2 回目の本試験は 492～5000 µg/プレートの　*不純物V　濃度で実施した。5000 µg/プレートまでの濃度では 37°C でインキュベート後にも　*不純物V　の析出は認められなかった。試験したいずれの濃度においても背景細菌叢の減少は認められなかった。初回本試

験の代謝活性化系非存在下の TA100 では細胞毒性（復帰突然変異コロニー数の減少）が認められたが，それ以外では生物学的に意味のある復帰突然変異コロニー数の減少はみられなかった。

代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

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

8.7.14.　*不純物A　の細菌を用いる復帰突然変異試験（[redacted]GR240 試験，概要表 2.6.7.17）

リトレシチニブの不純物である　*不純物A　について，*Salmonella typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）および *Escherichia coli*（WP2uvrA pKM101）を用い，代謝活性化系（phenobarbital-5,6 benzoflavone 誘導ラット肝 S9 またはハムスター肝 S9）の存在下および非存在下で復帰突然変異誘発性の有無をプレート法により検討した。 *不純物A　を DMSO に溶解して 15～5000 µg/プレートの濃度となるように調製し，各濃度につき 3 枚のプレートを用いた。

初回本試験は 15，50，150，500，1500 および 5000 µg/プレートの　*不純物A　濃度で代謝活性化系としてラット肝 S9 を用いて実施した。5000 µg/プレートの濃度では 37°C でインキュベート後に　*不純物A　の析出が認められ，TA98，TA100，TA1535 および TA1537 では代謝活性化の有無にかかわらず細胞毒性が認められた。代謝活性化系の非存在下および存在下での TA1535 の復帰突然変異コロニー数が濃度依存的に増加した（それぞれ最大 5.0 倍および 3.1 倍）。代謝活性化の有無にかかわらず，その他の試験菌株においては復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。2 回目の本試験は 313，625，1250，2500 および 5000 µg/プレートの濃度範囲で代謝活性化系としてハムスター肝 S9 の存在下で実施した。5000 µg/プレートの濃度では 37°C でインキュベート後に　*不純物A　の析出が認められ，TA100，TA1535 および TA1537 では細胞毒性が認められた。TA1535 および TA100 の復帰突然変異コロニー数が濃度依存的に増加した（それぞれ最大 4.0 倍および 2.3 倍）が，その他の試験菌株においては復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。3 回目の本試験は 1250，2500 および 5000 µg/プレートの濃度範囲で TA100 および TA1535 を用いて実施した。代謝活性化系にはラット肝 S9 を用いた。5000 µg/プレートの濃度では 37°C でインキュベート後に　*不純物A　の析出が認められた。濃度依存的な細胞毒性は TA1535 および TA100 で代謝活性化系の非存在下ではそれぞれ 2500 µg/プレート以上および 5000 µg/プレートで，代謝活性化系の存在下ではそれぞれ 5000 µg/プレートおよび 2500 µg/プレート以上で認められた。TA1535 の復帰突然変異コロニー数の濃度依存的な増加（最大 4.0 倍）が代謝活性化系の存在下でのみ認められ，初回本試験の代謝活性化系の非存在下の結果は再現されなかった。また，TA100 の復帰突然変異コロニー数は代謝活性化の有無にかかわらずわずかに増加（最大 1.6 倍）した。4 回目の本試験は 3 回目と同じ条件（TA1535 は代謝活性化系の非存在下のみ）で再度実施した。5000 µg/プレートの濃度では 37°C でインキュベート後に　*不純物A　の析出が認められた。濃度依存的な細胞毒性は TA1535 および TA100 で代謝活性化系の非存在下ではそれぞれ 2500 µg/プレート以上および 5000 µg/プレートで，代謝活性化系の存在下（TA100 のみ）では 5000 µg/プレートで認められた。代謝活性化系の非存在下で TA1535 の復帰突然変異コロニー数の濃度依存的な増加（最大 4.0 倍）が認められ，初回本試験の結果が再現された。TA100 の復帰変異コロニー数の増加は代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。

以上のように，　*不純物A　は TA1535 の復帰突然変異コロニー数を代謝活性化系の非存在下および存在下で，また，ハムスターの肝 S9 を用いた代謝活性化系の存在下では TA100 の復帰突然変異コロニー数も増加させ，*Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示した。

8.7.15. ラットを用いたリトレシチニブの 13 週間経口投与不純物評価試験［8413430 試験（[redacted]GR371），概要表 2.6.7.17］

リトレシチニブの 11 種類の不純物（ *不純物C ， *不純物D ， *不純物E ， *不純物F ， *不純物G ， *不純物H ， *不純物I ， *不純物J ， *不純物K ， *不純物L および *不純物M ）を評価するため，in vivo 試験を実施した。雌雄 Wistar Han ラット（10 例/性/群，投与開始時に約 8～9 週齢）にリトレシチニブを単独で 200 mg/kg/日の用量で 13 週間 QD 経口投与した。同様に，11 種類の不純物（計 4.37%）と混合したリトレシチニブ 200 mg/kg/日を投与する群（10 例/性）を設けた。溶媒対照群（10 例/性）には 0.5%メチルセルロースを投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科検査および臨床病理検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査）を行った。試験 91 日の投与後 1，3，7 および 24 時間にラット（3 例/性/群/時点）から採血し，血漿中リトレシチニブ濃度を測定した。投与期間終了時に剖検，器官重量測定および病理組織学的検査を実施した。

200 mg/kg/日の両群（リトレシチニブ単独およびリトレシチニブと不純物の混合）において，雌雄で体重増加量の減少が認められた。体重増加量減少の程度はリトレシチニブ単独群（雄で 0.83 倍，雌で 0.91 倍）よりもリトレシチニブと不純物の混合群（雄で 0.72 倍，雌で 0.73 倍）の方がやや大きかった。

200 mg/kg/日の両群で臨床病理検査において，MCV（不純物混合の雌除く），赤血球分布幅，ヘモグロビン濃度および尿タンパクの増加（雄のみ），白血球数，リンパ球数，単球数（雄のみ）および好酸球数の減少，ALT の上昇（雌のみ），アルブミン，カルシウム，クロール（雄のみ）およびカリウムの低下ならびに変形赤血球が認められた。臨床病理検査値に対する影響の程度は両群で同様であった。

200 mg/kg/日の両群で胸腺および脾臓重量の減少，リンパ系細胞充実性の低下（胸腺，脾臓，腸間膜および鼠径部リンパ節，骨髄（胸骨），腎臓における硝子滴蓄積，単核細胞浸潤（肝臓，腎臓，精巣上体および前立腺）が認められ，雌の胸腺小型化がリトレシチニブと不純物の混合群で認められた。

リンパ系組織でみられた所見は，リトレシチニブの薬理作用に関連したものであり，毒性学的意義は乏しいと判断された。リトレシチニブ単独および不純物と混合したリトレシチニブを 200 mg/kg/日の用量で投与した両群の総合的な毒性プロファイルは類似していた。

両群とも毒性変化が認められなかったことから，本試験における NOAEL はリトレシチニブ単独，不純物を混合したリトレシチニブのいずれにおいても 200 mg/kg/日と判断した。この用量における試験 91 日の C_{max} および AUC_{24}（雌雄合算）は，リトレシチニブ単独 200 mg/kg/日投与時でそれぞれ 22,500 ng/mL および 67,300 ng•h/mL，不純物と混合したリトレシチニブ 200 mg/kg/日投与時でそれぞれ 30,500 ng/mL および 85,800 ng•h/mL であった。

9. 考察及び結論

リトレシチニブの毒性プロファイルを評価するために，ラットおよびイヌを用いた単回投与毒性試験，ラット（最長 6 ヵ月間）およびイヌ（最長 9 ヵ月間）を用いた反復投与毒性試験，in vitro および in vivo の遺伝毒性試験，Tg rasH2 ヘミ接合体（tg/wt）マウスおよびラットを用いたがん原性試験，ラットを用いた受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験，ラットおよびウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験，ラットを用いた出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験を実施した。また，その他の毒性試験として，ラットを用いた光毒性試験，ラットを用いた免疫毒性試験，ラットを用いた不純物評価試験，イヌでみられた軸索ジストロフィーの発現機序に関する探索的 in vitro および in vivo 試験を実施した。

ラットおよびイヌを用いた反復投与毒性試験における投与開始時期はそれぞれ約 7 週齢および 9～12 ヵ月齢であり，ヒトでは 12 歳以上に相当する年齢であった。

特定された標的臓器および重要な所見は，死亡発生（ラットおよびウサギ），中枢神経系および末梢神経系（イヌ），免疫系およびリンパ造血系（ラットおよびイヌ），胸腺および甲状腺（ラット），精子形成への影響を伴わない雄授胎能への影響（ラット），胚・胎児発生への影響（ラットおよびウサギ），ならびに出生前および出生後の発生への影響（ラット）であった。その他の所見として，軽微かつ一貫性のない心血管系への影響（ラットおよびイヌ），腎臓および肝臓への影響（ラット），副腎への影響（ラットおよびイヌ），ならびに嘔吐および糞便異常（イヌ）が認められた。

ラットの 6 ヵ月間およびイヌの 9 ヵ月間反復投与毒性試験における NOAEL はそれぞれ 200 mg/kg/日および 10 mg/kg/日（非結合型 AUC_{24} はそれぞれ 53,700 ng•h/mL および 7940 ng•h/mL）であった。

リトレシチニブは in vitro の遺伝毒性試験において変異原性および染色体異常誘発性は示さなかったが，臨床での曝露量を大きく上回る濃度で異数性誘発性を示した。異数性誘発性には閾値があり，閾値以下の濃度では染色体の損傷は誘発しないと考えられる[18,19]。リトレシチニブは in vivo 小核試験では小核を誘発しなかった。

リトレシチニブ投与による死亡例が，ラットを用いた 8 週間投与毒性試験および妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験で認められた。

中枢神経系および末梢神経系では軸索腫大（ジストロフィー）がイヌを用いた 9 ヵ月間投与毒性試験でのみ認められたが（種特異的な変化と考えられる），休薬によりほぼ完全に回復した。軸索変性，軸索貪食，神経細胞壊死または炎症・グリオーシスは認められなかった。軸索ジストロフィーに関連する所見として聴覚機能（BAEP）への可逆的な影響が認められた。

リトレシチニブの免疫系に対する影響の評価は ICH S8（2006）に準拠して実施した。ラットおよびイヌで免疫系およびリンパ造血系への影響（白血球数の減少ならびに胸腺，脾臓，リンパ節，GALT および骨髄の細胞充実性の低下）が認められた。これらの変化は JAK3/TEC に対するリトレシチニブの薬理活性と符合していた。薬理活性に起因するこれらの変化はイヌを用いた 9 ヵ月投与試験の 20 mg/kg/日以上でみられた過度の免疫抑制（感染症など）を伴うものを除き毒性学的

意義の乏しい変化と考えられ，休薬により完全に回復した。JAK3/TEC 阻害との明確な関連はない変化として赤血球パラメータへの影響および赤血球の形態異常が認められた。

リトレシチニブのラットを用いた 104 週間投与がん原性試験において良性胸腺腫および胸腺過形成（雌）ならびに甲状腺濾胞細胞の良性腺腫および過形成（雄）が認められた。Tg rasH2 ヘミ接合体（tg/wt）マウスを用いた 26 週間投与試験ではがん原性は認められず，イヌを用いた 9 ヵ月投与試験でも過形成は認められなかった。

リトレシチニブを投与した雄と交配した未処置の雌で着床前胚損失率の上昇が認められたことから，雄の授胎能に関する NOAEL は 60 mg/kg/日と考えられた。その他の受胎能および生殖能への影響はみられなかった。雌の全身毒性，受胎能および初期胚発生に関する NOAEL はいずれも 200 mg/kg/日であった。

胎児の発達への影響（ラットおよびウサギにおける胎児体重の減少ならびに骨格奇形および変異，ウサギにおける内臓奇形）が認められた。ラットおよびウサギにおける胚・胎児発生に関する NOAEL はそれぞれ 75 mg/kg/日および 25 mg/kg/日であり，母動物に関する NOAEL はいずれの試験においても胚・胎児発生に関する NOAEL より高かった。

生殖発生毒性試験においてラットおよびウサギ胎児で骨格への影響がみられたが，非妊娠動物を用いた試験（ラットの最長 6 ヵ月間およびイヌの最長 9 ヵ月間反復投与毒性試験，マウスの 6 ヵ月間がん原性試験ならびにラットの 2 年間がん原性試験）ではリトレシチニブによる骨への影響は認められなかった。なお，ラットおよびイヌを用いた反復投与毒性試験における投与開始時期はヒトでは 12 歳以上に相当する年齢であった。

リトレシチニブによる F1 への影響（離乳前の生存率低下，体重増加抑制，性成熟への影響および雌の黄体数減少）が評価した最高用量の 175 mg/kg/日でのみ認められた。F0 に対する毒性所見は認められなかった。F1 の発生に関する NOAEL および F0 母動物に関する NOAEL はそれぞれ 75 mg/kg/日および 175 mg/kg/日であった。

リトレシチニブは[^{14}C]標識体を用いたラットの組織分布試験で眼および皮膚のメラニンに対する親和性を示したが，有色ラットを用いた光毒性試験において眼および皮膚に光毒性を示す所見は認められなかった。

リトレシチニブは JAK3 および TEC に対する共有結合型の阻害剤であるが，過敏反応または非特異的毒性反応を誘発する可能性についての複数の検討結果から，リトレシチニブが過敏反応を引き起こす可能性が低いことが示唆された。

以上のように，非臨床安全性試験の成績は 12 歳以上の患者へのリトレシチニブ投与の妥当性を裏付けているものと考える。

9.1. 中枢および末梢神経系

イヌを用いた 2 回の 9 ヵ月間投与毒性試験で中枢神経系および末梢神経系に可逆的な軸索腫大（ジストロフィー）の発現頻度または程度の上昇が認められた。この所見は，イヌを用いた 8 週間試験，ラット（6 ヵ月間～2 年間）またはマウス（6 ヵ月間）を用いた反復投与毒性試験およびがん原性試験ではみられなかった。

イヌの脳における軸索ジストロフィーの背景データおよび発現機序について検討するために一連の探索的な試験を実施した。

9.1.1. リトレシチニブの毒性試験で認められた軸索ジストロフィーの特徴

9.1.1.1. イヌにおける軸索ジストロフィー

スフェロイドまたは軸索腫大とも呼ばれる軸索ジストロフィーは，イヌや他の動物種にみられる一般的な背景所見とされている。リトレシチニブでは，軸索ジストロフィーはイヌの中枢神経系および末梢神経系のさまざまな部位でみられ，発現頻度および程度において用量依存性を示し，可逆的であった。

一般的に，軸索ジストロフィーにおける腫大した軸索にはニューロフィラメントとミトコンドリアが存在していると考えられる[36,37]。スフェロイド，軸索ジストロフィーという用語は動物においては明確に区別されずに使用されるが，スフェロイドは軸索の腫大で末梢神経障害または神経圧迫と関連すると考えられ，神経軸索ジストロフィーは一般に終末または終末前の長い軸索に局在する軸索腫大と関連するとされている[36,38]。

軸索スフェロイドは加齢に伴う自然発生所見として動物あるいはヒトの中枢神経系で最も一般的に発現するとされているが[13,14,15,36,39]，脊髄の軸索終末や末梢神経系の一部の部位（自律神経節など）での発生も報告されている[12,36,38,39]。スフェロイドは正常ビーグル犬の蝸牛神経核[14]，正常または消耗性疾患（フィラリア，がん悪液質など）時のイヌの楔状束核および薄束核[15]で高い発生頻度でみられる。

9.1.1.2. 病理学的特徴および背景発生率

リトレシチニブのイヌを用いた 8 週間試験および 1 回目の 9 ヵ月間試験では，オリーブ核などの脳幹（髄質）を含む脳のさまざまな解剖学的部位を Society of Toxicologic Pathology の推奨する非げっ歯類試験における脳組織のトリミング，サンプリングおよび切片作製方法[9,10]に準拠してすべての動物から採取した。また，TEM 検査は 1 回目のイヌの 9 ヵ月間試験において，一部の個体の残存した脳幹から採取した上オリーブ核および蝸牛神経核について実施した。2 回目の 9 ヵ月間試験ではより包括的な病理組織学的検査を実施するために，拡張的な神経系組織のトリミングおよびサンプリングを行った。

光学顕微鏡検査では，軸索ジストロフィーは中心部が顆粒状ないしガラス状を呈する円形または卵円形の好酸性構造（スフェロイド）の存在を特徴としていた。軸索変性，軸索貪食，神経細胞壊死または炎症・グリオーシスなどの変性や髄鞘形成への影響は認められなかった。TEM 検査では，サイズおよび位置が光学顕微鏡検査でオリーブ核に認められた軸索ジストロフィーと符合する軸索終末の腫大が認められた。これらの腫大部と隣接する神経細胞体との間のシナプスは形態学的に正常であった。腫大部には軸索ジストロフィーの重要な特徴であるゆるく絡んだニューロフィラメントと考えられる線形フィラメントの超微細構造が認められた。また，腫大部にはミトコンドリアが広い間隔で存在しており，軸索ジストロフィーは活動的な変性過程にはないと考えられた。

2 回目の 9 ヵ月間試験において 10 mg/kg/日以上で小脳虫部（吻側内側）に認められた軸索ジストロフィーの背景データは，脳のこの部位および切片は通常の毒性試験では一般的にサンプリング

されないため不明であった。95 例の対照ビーグル犬を用いてこの所見の背景データを評価するための試験を実施したところ，約 25%のイヌで小脳虫部吻側部にスフェロイドがみられ，加齢に伴うスフェロイド数の増加が認められた。

9.1.1.3. 発現部位，用量依存性および回復性

軸索ジストロフィーは中枢神経系および末梢神経系のさまざまな部位でみられ，発現頻度および程度に用量依存性があり，6 ヵ月間の休薬期間終了時に回復性がみられた。40 mg/kg/日の 2 例の動物における BAEP の変化は，40 mg/kg/日のみで認められた軽微～中等度の軸索ジストロフィーと関連していた。所見の程度は低用量（20 mg/kg/日以下）では軽微～軽度のみであった。

Table 12.　2 回目の 9 ヵ月間試験における主要な神経系所見の要約

所見	NOAEL 10 mg/kg (QD)	LOAEL 20 mg/kg (QD)	LOAEL 20 mg/kg (10 BID)	40 mg/kg (QD)
BAEP 検査				
2 または 4 ヵ月における変化	0/8	0/14	0/8	0/14
軽度, 7 および 9 ヵ月における一側性聴覚障害	0/8	0/14	0/8	2/14
神経関連の一般状態の変化	0/8	0/14	0/8	0/14
軸索ジストロフィー				
上オリーブ核，脳				
軽微	1/8	6/8	4/8	1/8
軽度	0/8	0/8	1/8	1/8
中等度	0/8	0/8	0/8	4/8
外側毛帯，脳				
軽微	0/8	5/8	7/8	7/8
軽度	0/8	0/8	0/8	1/8
小脳虫部吻側部，脳				
軽微	4/8	6/8	7/8	2/8
軽度	4/8	2/8	1/8	5/8
中等度	0/8	0/8	0/8	1/8
末梢神経，複数の部位				
軽微	0/8	8/8	8/8	7/8
過度の免疫抑制（皮膚感染）	0/8	3/8	4/8	5/8

9.1.1.4. 種特異性

軸索ジストロフィーはイヌの 9 ヵ月間試験でのみ認められた。同等以上の曝露量で実施したイヌの 8 週間試験, ラットの 6 ヵ月間試験, マウスの 6 ヵ月間がん原性試験およびラットの 2 年間がん原性試験では軸索ジストロフィーはみられなかった。なお，軸索ジストロフィーがみられなかった 8 週間のイヌの試験においても，脳組織の採取，トリミングおよび切片の作製方法は，軸索ジストロフィーが認められた 1 回目の 9 ヵ月間試験と同様であった。以上のように，リトレシチニブにより認められた軸索ジストロフィーはイヌに特異的な所見と考えられた。

9.1.1.5. 典型的な神経毒性物質で認められる所見との差異

イヌの 9 ヵ月間試験で認められた加齢およびリトレシチニブ投与に関連した軸索ジストロフィーは，アクリルアミド，ヘキサカーボン，二硫化炭素，リン酸エステルなどの軸索障害を示す既知

の薬物で認められた影響とは大きく異なっていた。これらの神経毒性物質では，1）軸索変性または萎縮に関連する神経関連の一般状態変化を伴う[40,41]，2）急性，亜慢性または最長 6 ヵ月間までの試験の高用量で認められる[42,43]，3）複数の動物種で認められる[40,44,45]という特徴がみられるが，リトレシチニブで認められた所見はいずれにも該当しなかった。

リトレシチニブでは，軸索ジストロフィーはラットでは 2 年間までの投与でもみられず，単一の動物種（イヌ）で，7 ヵ月間以上の曝露後にのみ認められた。ラットおよびイヌのいずれにおいても神経行動毒性を示唆する所見はみられておらず，イヌに高用量（40 mg/kg）で 7～9 ヵ月間の曝露後に数例で聴覚閾値の軽度な変化のみが認められた。リトレシチニブ投与により認められた軸索ジストロフィーは，神経変性，軸索変性，軸索萎縮，グリオーシスまたは免疫細胞浸潤を伴わない軸索および終末スフェロイド（軸索腫大）を特徴としている。TEM 検査では軸索ジストロフィーはニューロフィラメントの蓄積に関連するシナプス前部の腫大であり，シナプスには異常が認められないことが示された。

以上のように，リトレシチニブ投与に関連してみられた軸索ジストロフィーは，単一動物種のみでの発現，長期間の高用量での高曝露により発現するという発現の時間的経過ならびに軸索腫大が細胞傷害を伴わないという病理組織学的および超微細構造的な特徴という点において，化学物質誘発性の毒性所見として報告されているものとは大きく異なっていた。

9.1.2. モニター可能性/機能評価

軸索ジストロフィーに関連する機能異常の有無を評価するため詳細な一般状態観察を実施した。

聴覚経路に関連する脳幹（上オリーブ核，外側毛帯）に軸索ジストロフィーが認められたことから，聴覚検査（BAEP 検査）を実施して，光学顕微鏡下で認められた軸索ジストロフィーが機能異常と関連しているか検討した。また，BAEP は他の部位（小脳虫部吻側部など）に認められた軸索ジストロフィーの機能的な代替エンドポイントとしても用いた。

9.1.2.1. 脳幹聴覚誘発電位（BAEP）

BAEP 検査は第 8 脳神経から下丘に至るまでの聴覚経路の完全性を判断するための手法として確立されている。

- 中枢伝導時間は聴覚神経の活性化を反映する最初の反応のピークと下丘レベルでの活動を表す5番目の反応の潜時差として定義される。これは中枢神経系における求心性伝導の尺度であり，中枢神経系における脱髄および軸索障害に鋭敏である。
- 聴覚閾値は測定可能な BAEP 応答を誘発する最低強度の刺激（単位：デシベル）と定義される。
- I波とV波のピーク潜時は，最初の刺激から聴覚応答の最初の成分（I波）と5番目の成分（V波）のピーク潜時と定義される。

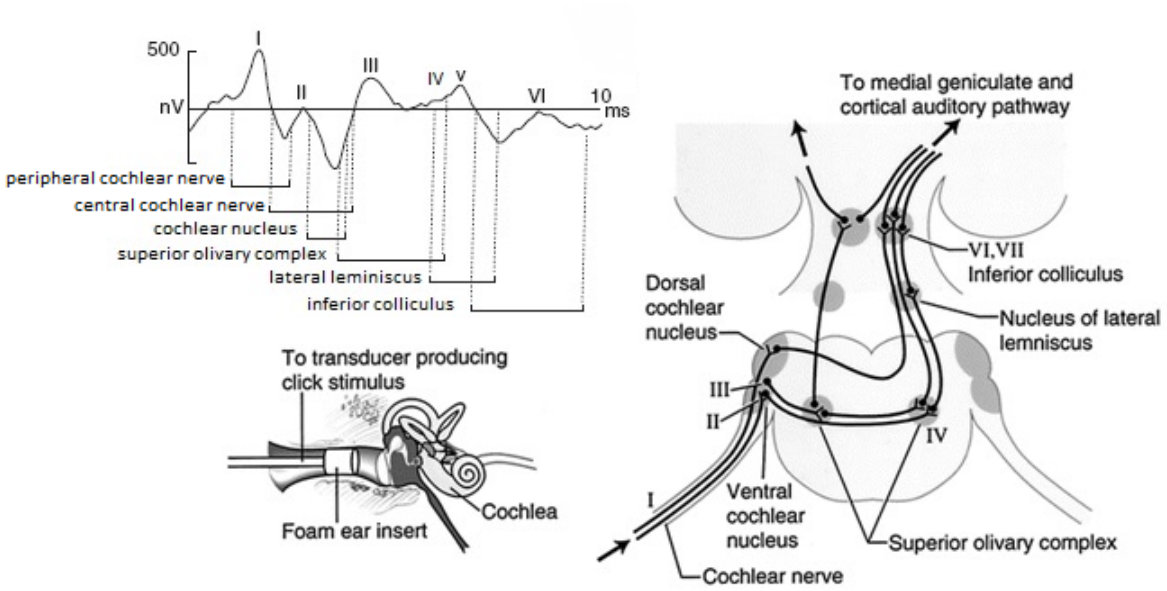
9.1.2.2. イヌにおける聴覚刺激と閾値

聴覚系への一般的な影響を評価する場合，矩形波パルスやショートクリックなどの周波数範囲を活性化する広帯域刺激を用いることが一般的である[46]。鎮静化された正常成熟ビーグル犬への広

帯域聴覚刺激により約 50 dB の聴覚閾値を示すが[47,48]，9 ヵ月間試験における対照群のイヌへの広帯域聴覚刺激では文献で報告された聴覚閾値が示されたことから，試験系の適切性が確認された。

BAEP 波形はよく認識されている 5 つの波（I波～V波）と，信頼性の低い 2 つの波（VI波およびVII波）で構成されており[46,49,50]，聴覚神経と上行性聴覚経路の特定の核の連続的な活性化を反映している。一般に，BAEP 波形の各成分に関与する主な構造は，蝸牛/聴覚神経（I波～II波），蝸牛神経核（II波～III波），上オリーブ核（III波～IV波），外側毛帯（IV波～V波），下丘（V波～VI波）および内側膝状体VI波～VII波）とされている[51,52]。聴覚経路の概略図を Figure 1 に示す。

Figure 1 聴覚経路の概略図



（参考文献.51，52 より改変）

9.1.2.3. 毒性試験における BAEP 検査評価の有用性

BAEP 検査は中枢神経系への影響に関連する機能評価において有用なツールとなると考えられている。個体間の変動はある程度存在するが，一般に BAEP 検査は長期間の評価でも再現性よく，変化を比較的容易に識別できる[50]。このことから，BAEP 検査は脳幹内の病変の局在化[53,54]，薬物または環境曝露による一般的な神経系への影響の評価など，さまざまな用途で臨床および非臨床で使用されている[55,56,57,58,59,60]。

BAEP 検査では初期波の変化から聴覚末梢系の損傷も検出可能である。末梢聴覚神経線維は聴覚刺激が内耳から聴覚神経に伝導される蝸牛の有毛細胞を神経支配する[61]。アミノグリコシド系抗生物質および白金製剤による化学療法では，蝸牛の外有毛細胞への損傷を介して急性毒性を呈し，長時間の曝露では広範な損傷と不可逆的な聴覚障害がみられる[62]。このクラスの化合物ではBAEPのI波と形態学的変化には関連がみられるが[63,64]，リトレシチニブではI波潜時に対する影響は認められなかった。

BAEP 波形は，ラットにおけるアクリルアミドおよび 2,5-ヘキサンジオンによる神経毒性の機能的評価についての検討において，体性感覚誘発電位および行動観察と比較して，神経系への影響

のより高感度の指標となることが示された[60]。体性感覚誘発電位は非常に変動が大きく変化を検出できなかった。行動観察ではアクリルアミド投与後 2～3 週間および 2,5-ヘキサンジオン投与後 3 週間に行動異常が認められた。BAEP 検査では，I波とIII波の潜時はアクリルアミド投与後 1 週間に，II波とIV波では投与後 3 週間に延長がみられ，2,5-ヘキサンジオンではすべての波の潜時およびI-IV波頂点間潜時は投与後 2 週間に延長がみられた[60]。BAEP 潜時の延長は，アクリルアミドを投与したラットの中吻側髄質の軽度の軸索腫大と関連しており，アクリルアミドまたは 2,5-ヘキサンジオンを投与したいずれの群においてもワーラー様変性を示す神経線維がみられた[60]。

イヌを用いた 2 回目の 9 ヵ月間試験で 40mg/kg/日の 2 例に認められた聴覚障害は，閾値への影響および異常なIV波/V 波の形態はみられたが，I波の潜時に対する影響は伴っておらず，末梢ではなく中枢の聴覚機能への影響と考えられ，6 ヵ月の休薬により完全に回復した。

9 ヵ月間の投与期間終了時に BAEP 検査を実施した雌イヌで聴覚障害（聴覚の閾値の 58dB への上昇，聴覚の非対称性ならびにIV波およびV波の不明瞭化）に関連する中等度の軸索ジストロフィーが外側上オリーブ核に認められた。外側上オリーブ核および外側毛帯の神経活動は BAEP のIV波およびV波に寄与しており[49,51,52,65,66,67]，イヌで認められた軸索ジストロフィーと BAEP 検査で認められた中枢性の聴覚障害との関連性が示唆された。また，中等度の軸索ジストロフィーは高用量でのみ認められたことから，所見の程度は異常な BAEP 波形の変化と関連すると考えられた。

リトレシチニブに関連した軸索ジストロフィーは聴覚経路に限定されておらず，聴覚領域に軸索ジストロフィーが認められたすべての動物で BAEP 波形の変化を示したわけではなかった。中枢神経系は非常に複雑であり，終端でない特定の軸索における機能を評価することは困難である。BAEP 検査などの電気生理学的アプローチは，単一の軸索または神経線維の機能ではなく，特定の経路への神経入力の集合的な機能を反映している。BAEP 検査は特に聴覚機能の評価に利用されるが，中枢神経系に対する薬物関連の影響の代替機能測定法としても使用されている[58,59,60]。20 mg/kg/日以下のリトレシチニブを投与された動物の聴覚経路内外の部位における軸索ジストロフィーは，所見の程度は軽微～軽度のみであり，BAEP 検査または一般状態観察において関連する機能的変化（歩行または運動失調など）はみられなかった。

9.1.3. 軸索ジストロフィーの機序に関する検討

リトレシチニブは共有結合型の阻害剤であることから，脳中のリトレシチニブの主要な結合標的を評価するための探索的な試験を実施した。この試験では DOCK10 および MAP2K7 がイヌの脳中のリトレシチニブに強く結合することが示された。DOCK10 および MAP2K7 は特にアクチンのダイナミクスと軸索の形態において，神経系で役割を果たすと考えられている[33,34]。また，DOCK10 はヒトの脳と比較してイヌでより高いレベルで発現していること，MAP2K7 はヒトと比較してイヌでリトレシチニブに対する結合親和性が高いことが示され，イヌは他の動物種よりもこれらのオフターゲットタンパク質に対して高い感受性を示すことが示唆された。このことは，ラットおよびマウスではより高い曝露量での最長 2 年間の毒性試験においても軸索ジストロフィーがみられなかったことと符合する。

以上のように，軸索ジストロフィーの発現機序は完全には解明されていないが，毒性試験および追加で実施した機序に関する探索的試験の成績から，軸索ジストロフィーはイヌでより高い感受性を示すオフターゲット作用である可能性が示唆された。

9.1.3.1. 脳の各部位におけるリトレシチニブおよび代謝物濃度

リトレシチニブは MDR1 および BCRP の基質となることが示されており，ヒトおよび非臨床動物種における中枢系への分布は，血漿中濃度に比べて限定的であると予想される。[^{14}C]リトレシチニブを用いたラットの組織分布試験では放射能濃度の AUC の脳/血漿比は 0.04 であり，脳への分布がわずかであることが示された（2.6.4.4.2 項）。また，ラットの組織分布試験において放射能の消失半減期が短かったことから，軸索ジストロフィーは中枢神経系におけるリトレシチニブまたはその代謝物の蓄積と関連する可能性は低いと考えられた。

リトレシチニブの聴覚中枢経路における分布について検討するために，聴覚（上オリーブ核，蝸牛神経核）および聴覚外（海馬）におけるリトレシチニブ濃度を比較したところ，各部位の曝露量には差異はみられなかった。このことから，上オリーブ核に軸索ジストロフィーが認められたが，蝸牛神経核または海馬ではみられなかったことに，標的である JAK3 発現の差異が関与した可能性は低いと考えられた。脳の各部位における代謝物プロファイルの差異についても検討したところ（2.6.4.4.2 項），未変化体に加えて各部位の主な代謝物としてグルタチオン抱合関連のシステイン抱合体（M2）が認められた。なお，グルタチオン抱合はいずれの動物種においても主要な消失機序と考えられている（2.6.4.5.1 項）。脳の他の部位と比較して上オリーブ核に特有の代謝物は認められず，検出された代謝物はいずれもイヌの循環血中にもみられた。

9.1.3.2. 聴覚経路における酸化ストレス関連遺伝子

脳の聴覚領域と非聴覚領域で酸化防御システムの発現に差異がみられるか検討するために，未処置のイヌを用いて上オリーブ核，蝸牛神経核および海馬における酸化ストレス関連遺伝子の発現について評価したところ，これら 3 つの脳領域間に差異は認められなかった。このことから，酸化ストレスに対する感受性の差異が上オリーブ核の軸索ジストロフィーに対する感受性に関連する可能性は低いことが示唆された。

9.1.3.3. イヌの聴覚経路における JAK3 発現

脳の聴覚領域と非聴覚領域で JAK3 の mRNA 発現に差異がみられるか検討するために，未処置のイヌの上オリーブ核，蝸牛神経核および海馬における JAK1，JAK2 および JAK3 の mRNA 発現について評価したところ，これら 3 つの脳領域間に各 JAK アイソフォームの mRNA 発現に有意な差はみられなかった。また，アイソフォーム間での mRNA 発現を比較すると，JAK1 が最も多く，JAK3 は最も少なかった。これらのことから，各脳部位における JAK3 の発現量の差異が上オリーブ核の軸索ジストロフィーに対する感受性に関連する可能性は低いこと，JAK3 の発現は軸索ジストロフィーには関連しないことが示唆された。

9.1.3.4. オフターゲットタンパク質の同定

リトレシチニブにより認められた軸索ジストロフィーが JAK3 阻害に関連する可能性は低いことが示唆されたことから，意図しない（オフターゲットの）タンパク質との相互作用が関与している可能性が考えられた。そこで，イヌの脳中（小脳虫部および海馬）におけるリトレシチニブのオフターゲットタンパク質について検討したところ，軸索ジストロフィーが認められた小脳虫部では DOCK10, MAP2K7, BTK および BMX がオフターゲットタンパク質として同定された。JAK3 は検出されなかったことから，イヌで認められた軸索ジストロフィーには JAK3 は関連しないことが示唆された。JAK3 の Cys909 と同じ位置にシステイン残基を有する TEC ファミリーキナー

ゼの BTK および BMX については，TEC 阻害剤であるイブルチニブとリトレシチニブでは標的臓器毒性プロファイルが異なることから，これらのキナーゼはイヌの 9 ヵ月間試験で認められた所見に関連している可能性は低いと考えられた。すなわち，リトレシチニブでは TEC 阻害剤で通常認められる膵臓毒性はみられず，BTK および BMX を含む TEC ファミリーキナーゼを阻害する共有結合型キナーゼ阻害薬であるイブルチニブ [31,32] では軸索ジストロフィーは認められなかった。

9.1.3.5. 神経系における DOCK10 および MAP2K7 の役割

DOCK10 は Cdc42 を介して樹状突起スパインの形態形成を調節する役割を果たしており，DOCK10 が Cdc42 の活性を上昇させると樹状突起スパインの形成が促進され，低下させると形成は抑制される [33]。JAK3 の Cys909 と同じ位置にシステイン残基を持つ 11 のキナーゼの 1 つである MAP2K7 は，イヌの小脳虫部吻側部ではオフターゲットタンパク質として同定されたが，海馬では同定されなかった。軸索ジストロフィーは小脳虫部吻側部で認められており，海馬ではみられなかった。MAP2K7 は軸索の伸長と移動において調節的役割を果たすと考えられている [34]。

9.1.3.6. DOCK10 遺伝子発現および MAP2K7 に対する親和性の種差

イヌ脳中におけるリトレシチニブのオフターゲットタンパク質として DOCK10 が同定されたことから，マウス，ラット，イヌおよびヒトの小脳における DOCK10 遺伝子の発現レベルを比較したところ，小脳における DOCK10 遺伝子の発現はマウス，ラットおよびイヌではヒトと比較して有意に高いことが示された。

イヌ脳中におけるリトレシチニブのオフターゲットタンパク質として MAP2K7 が同定されたことから，ラット，イヌおよびヒトの MAP2K7 に対するリトレシチニブの結合親和性を比較したところ，OC_{50} 値はそれぞれ 11.1, 7.45 および 14.3 µmol/L であり，リトレシチニブはイヌの MAP2K7 に対してより高い結合親和性を示した。

9.1.4. 軸索腫大の青年期集団に対する外挿性

ラットおよびイヌの反復投与毒性試験を含む毒性試験の成績は 12 歳以上の患者に対する潜在的なリスクを示しており，これらの患者におけるリトレシチニブの使用を支持すると考えられる。

イヌの 9 ヵ月間試験で軸索ジストロフィーが中枢神経系および末梢神経系の複数の部位で認められた。ヒトにおいては，小脳などの発達が遅い部位でも神経新生は 1 歳で，シナプス形成は約 3.5 歳で完了し，約 2～2.4 歳には成人サイズとなる[68]。同様に，末梢神経系は形態学的には胎生中にほぼ成熟しており，出生時に十分に有髄化されている [68]。髄鞘の発達は末梢神経系での出生後の主要な形態学的変化である[69,70]。神経新生および髄鞘形成の大部分は 6 歳までに完了するが，髄鞘およびシナプスは青少年期後期から若年成人期まで形成される。中枢神経系全体の白質（有髄ニューロン）量は 4～22 歳までに約 12%増加し，27 歳以降では髄鞘形成の変化はみられない [68]。以上のように，イヌの 9 ヵ月間試験で軸索ジストロフィーが認められた中枢神経系および末梢神経系の部位の構造的または形態学的な発達はヒトでは 6 歳までにほぼ完了することから，6 歳以上の小児集団で発生する神経系発達過程への潜在的な影響は実施した毒性試験により評価できていると考えられる。

聴覚器官は聴覚末梢系および聴覚中枢系で構成されており[61,71,72]，ヒトの聴覚伝導路（BAEP 頂点潜時）は聴覚末梢系（I波）は生後約 6 週，聴覚中枢系（V～I 波）では約 12～18 ヵ月までに成人レベルに達する[72,73]。他の文献では，I 波および V 波はそれぞれ 2 歳および 4 歳まで発達し[71]，ヒトの聴覚閾値は 1 歳頃までに成人レベルに成熟する[71]と報告されている。ビーグル犬では脳幹の聴覚伝導路は 10 週齢までに成熟する[74]。

Table 13.　イヌで軸索ジストロフィーが認められた神経系組織のヒトにおける発達

イヌの 9 ヵ月間試験で所見が認められた部位	ヒトにおける発達
脳幹	神経新生は 1 歳までに，シナプス形成は 3.5 歳までに完了する[68]
脊髄（白質および灰白質）	髄鞘形成は 28 ヵ月までに成人レベルとなる[75]。
坐骨神経	無髄線維は出生時まで存在し，3～6 歳で成人値となる[69,76,77]
迷走神経の枝	有髄迷走神経線維数は出生時から出生後 10 週間で成人レベルとなる[69,77]
消化管，膣，膀胱の筋層間神経叢および粘膜下神経叢	筋層間神経系は主に胎生中に発達し，8～10 歳まで出生後の発達（ニューロン密度の低下）は継続する[78,79]
小脳（白質）	中枢神経系全体の白質（有髄ニューロン）量は 4～22 歳で約 12%増加し，27 歳以降では髄鞘形成の変化はみられない。小脳では髄鞘形成は 6 歳まで急速に増加する[68]
脳幹の聴覚伝導路	聴覚伝導路は 4 歳まで発達する[71,72]

9.2. 免疫・リンパ造血系

ラットおよびイヌで，リンパ球数ならびにリンパ系組織（胸腺，脾臓，リンパ節および GALT）および骨髄の変化が認められた。これらの変化は JAK3/TEC に対するリトレシチニブの薬理活性と符合していた。薬理活性に起因するこれらの変化は，イヌおよびラットを用いたすべての反復投与毒性試験ならびにラットまたはトランスジェニックマウスを用いたがん原性試験で認められ，概して用量依存的で，3～6 ヵ月後には完全に回復し，日和見感染に至る過度の免疫抑制の場合を除き，毒性学的意義の乏しい変化であった。ラットを用いた 2 年間投与がん原性試験で認められた良性胸腺腫および胸腺過形成の発現頻度の上昇は一部にリトレシチニブの免疫抑制作用と関連した変化と考えられ，これについては 9.3 項でより詳細に考察する。

ラットの 6 ヵ月間投与毒性試験では，全用量で白血球数，リンパ球数，単球数，好酸球数および好塩基球数の減少が認められた。同様に，イヌの 8 週間投与試験および 9 ヵ月間投与試験の全用量でリンパ球数の減少が認められた。イヌの 8 週間投与試験および 9 ヵ月間投与試験で実施した免疫表現型検査から，同用量で全 T 細胞数，ヘルパーT 細胞数，細胞傷害性 T 細胞数および NK 細胞数の減少が示された。B 細胞数の減少も，8 週間投与試験では 45 mg/kg/日で認められ，9 ヵ月間投与毒性試験では 1 回目の試験でのみ全用量で認められた。

ラットおよびイヌのいずれでも，循環血中のリンパ球数の減少はリンパ系組織（胸腺，脾臓，リンパ節および GALT）の細胞充実性低下と関連していた。イヌを用いた 2 回目の 9 ヵ月間投与毒性試験を除いて，脾臓重量の減少および胸腺の小型化もこれらの変化と関連していた。

ラットおよびイヌの重要な毒性試験（ラットおよびイヌの 8 週間投与試験，ラットの 6 ヵ月間投与試験およびイヌの 9 ヵ月間投与試験）で骨髄の細胞充実性低下が認められた。ラットおよびイ

ヌの試験で認められた骨髄の細胞充実性低下は用量依存的であり，ラットでは軽微～重度の変化が認められた。

ラットの 8 週間投与試験では，肺の好酸球浸潤の発現頻度の低下が全用量で認められ，これは好酸球数の減少と関連していた。ラットのリンパ球数，リンパ系組織および骨髄の変化は，3 ヵ月間の休薬期間終了時に回復した。イヌを用いた 1 回目の 9 ヵ月間投与試験では，3 ヵ月間の休薬期間終了時にリンパ球数および T 細胞数の回復傾向ならびにリンパ系組織および骨髄の回復が認められ，イヌを用いた 2 回目の 9 ヵ月間投与試験では，6 ヵ月間の休薬期間終了時にこれらの変化はいずれも回復した。

白血球数およびリンパ系組織の細胞充実性の変化の毒性学的意義は乏しいと判断したが，イヌを用いたいずれの 9 ヵ月間投与毒性試験でもこれらの所見と関連する免疫抑制の徴候（皮膚の炎症および肺の限局性炎症）が認められ，皮膚の炎症については毒性変化と判断した。イヌを用いた 1 回目および 2 回目の 9 ヵ月間投与毒性試験では，投与期間の終了時までにそれぞれ 40 mg/kg/日および 20 mg/kg/日以上で皮膚の限局性炎症が認められた。これはリトレシチニブによる過度の免疫抑制によるものであり，リンパ球数の減少に関連していた。

トランスジェニックマウスを用いたがん原性試験およびラットを用いた 2 年間投与がん原性試験では毒性学的意義の乏しいリンパ節の細胞充実性低下が認められた。

反復投与毒性試験で，ラットおよびイヌの赤血球パラメータ，ならびにラットの赤血球形態への影響が認められたが，薬理作用との明らかな関連はなかった。赤血球粒度分布幅および網状赤血球数の増加は軽度の赤血球再生と符合しており，赤血球の形態異常は酸化的損傷と符合する。赤血球数，ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の変化は休薬期間の終了時には回復していた。

ラットの 8 週間投与毒性試験および 6 ヵ月間投与毒性試験で平均血小板容積の増加が認められ，イヌの 9 ヵ月間投与毒性試験では 20 mg/kg/日以上で血小板数，10 mg/kg/日以上でフィブリノーゲンの増加が認められたが，血小板数およびフィブリノーゲンの変化は休薬後に回復した。変化の程度が小さく，他の血小板パラメータの変化や血液凝固に対する機能的影響を示す所見がなかったことから，これらの所見の毒性学的意義は乏しいと考えた。

9.3. 胸腺および甲状腺

ラットを用いたがん原性試験でリトレシチニブを 2 年間投与したとき，良性胸腺腫および胸腺過形成（雌のみ）ならびに良性の甲状腺濾胞細胞腺腫および甲状腺濾胞細胞過形成（雄のみ）が認められた。トランスジェニックマウスを用いた 6 ヵ月間投与試験または最長 9 ヵ月間まで投与したイヌの試験では，過形成または腫瘍性変化は認められなかった。

ラットで認められた胸腺上皮細胞の過形成および腫瘍は複数の要因による変化であり，リトレシチニブの免疫調節作用に加え，年齢，性別（雌のみ），動物の系統（Wistar Han）とも関連していた。

雌の Wistar Han ラットにみられたリトレシチニブによる胸腺腫発現頻度の増加の正確な原因および機序は特定されていないが，リトレシチニブは遺伝毒性を示さないことから，遺伝毒性以外の機序に関連する可能性が考えられる。

ラットを用いた反復投与毒性試験で胸腺リンパ組織の細胞充実性低下または血中リンパ球数の減少が認められたことによって示されたように，リトレシチニブは JAK/STAT シグナル伝導を阻害する。このことから，ラットを用いたがん原性試験で雌の Wistar Han ラットにみられた胸腺腫の形成はリトレシチニブの免疫抑制作用に関連した変化と考えられた。

JAK/STAT シグナル伝導阻害が単独で胸腺上皮細胞由来の腫瘍細胞の増殖を促進することを示唆するノックアウトマウスを用いた研究は報告されていない。胸腺腫の発現には他の要因も関与しており，高齢の雌 Wistar Han ラットは他の一般的に用いられる系統のラット（Sprague-Dawley ラットなど）に比べて胸腺腫を自然発症しやすい傾向があることが示されている。対照群，試験実施施設の既存対照データベースおよび公表文献により，雌の Wistar Han ラットでは自然発生腫瘍として良性胸腺腫を発現しやすいことが示された。また，雌の Wistar Han ラットでは胸腺腫の自然発生率が高く [23]，無処置の雌 Wistar Han ラットが高い頻度で胸腺腫を自然発症することが複数の文献で示されている [20,21,24]。

リトレシチニブの免疫抑制作用により，加齢に伴って自然に生じる胸腺リンパ系細胞の減少が増悪し，その結果として，100 mg/kg/日群の雌 Wistar Han ラットで胸腺腫の発現頻度が上昇したと考えられた。トファシチニブなどの他の JAK 阻害薬は胸腺のリンパ組織の細胞充実性を変化させ胸腺腫の形成をもたらすが[80]，Wistar 系ラットに比べて胸腺腫の自然発生率が低い Sprague-Dawley 系のラットを用いたがん原性試験では，より高い用量および曝露量においても胸腺腫の発生頻度上昇は認められない。以上のように，雌の Wistar ラットでは胸腺の生物学的特徴に系統特異的な相違がみられ，胸腺腫が他の系統のラットに比べて高い頻度で加齢に伴い自然に形成される。他の免疫抑制薬の投与後にこの影響が増悪することが示されている。

甲状腺濾胞細胞腺腫もラットによくみられる自然発生腫瘍であり，系統および性別によって素因が異なる。自然発生率は雌ラットよりも雄ラットで高い。また，Wistar Han ラットは Sprague-Dawley ラットよりも甲状腺濾胞細胞腺腫の自然発生率も高く，Wistar Han ラットではこの腫瘍が比較的発生しやすい [21,25] ことと符合する。リトレシチニブに関連して過形成および濾胞腺腫の程度が上昇する正確な機序は不明である。

市販されている JAK または TEC 阻害薬では甲状腺は標的臓器として報告されていないことから [80,81,82,83]，リトレシチニブによる甲状腺腫瘍の誘発がリトレシチニブの薬理作用に関連している可能性は低いと考えられる。

要約すると，以下の理由により，リトレシチニブを投与された Wistar Han ラットで認められた良性胸腺腫（雌）および甲状腺腺腫（雄）の発現頻度の上昇がリトレシチニブを投与されたヒトに対してリスクをもたらす可能性は極めて低いと考えられる。

- リトレシチニブは遺伝毒性を示さない。
- 雌および雄の Wistar Han ラットは特にそれぞれ胸腺腫および甲状腺腺腫を加齢に伴い自然発症しやすい。
- 雄または雌の Wistar Han ラットではいずれの用量においても，それぞれ胸腺腫または甲状腺腺腫は認められなかった。

- リトレシチニブを最長9ヵ月間投与されたげっ歯類以外の動物種（ビーグル犬）では，胸腺腫またはその他の腫瘍は認められなかった。

- げっ歯類の甲状腺腫瘍のヒトへの外挿性は低いことから[84]，リトレシチニブを投与された雄ラットで認められたこの良性腫瘍は，臨床的に意味のある曝露量ではヒトの安全性に重大なリスクをもたらさない。

9.4. 受胎能および生殖発生

リトレシチニブの投与による，雄の授胎能，胚・胎児発生，ならびに出生前および出生後の発生への影響が認められた。

ラットを用いた受胎能および初期胚発生に関する試験では，雌の受胎能への影響は認められなかった。雄では高用量群のみで授胎能への影響が認められ，リトレシチニブを 200 mg/kg/日の用量で投与した雄と交配した無処置雌で着床前胚損失率の上昇のみ認められた。精子形成への影響は認められなかった。本試験では回復性を直接評価しなかったが，剖検所見および器官重量の変化や，授胎能のその他の評価項目および精子形成への影響がなかったことから，200 mg/kg/日の雄に認められた影響は回復性を示すと予測される。また，ラットおよびイヌにそれぞれ最長 6 ヵ月間および9 ヵ月間投与したときに,雌雄の生殖器にリトレシチニブの影響は認められなかった。さらに，ラットの受胎能および初期胚発生に関する試験では，雄には継続してリトレシチニブを投与したにもかかわらず，2 回の交配期間で影響が認められた雄は必ずしも同一でなかったことから，当該所見は長期間の投与により進行せず，回復性を示す可能性が示唆された。

妊娠ラットおよび妊娠ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験で，いずれの動物種でも骨格の奇形および変異ならびに胎児体重の減少が認められた。また，ウサギでは内臓奇形の発現頻度の増加が認められた。これらは，リトレシチニブの毒性試験全体を通じて認められた唯一の骨の所見であった。非妊娠動物を用いた毒性試験（イヌで最長 9 ヵ月間，マウスで最長 6 ヵ月間，ラットで最長 6 ヵ月間の反復投与毒性試験またはラットを用いた 2 年間投与がん原性試験を含む）では，試験開始時にラットが幼若（約 7 週齢，成長板閉鎖前で長骨が成長している時期）であったにもかかわらず，剖検または病理組織学的検査で骨への影響は認められなかった。

ラットを用いた出生前および出生後の発生に関する試験では，最高用量（175 mg/kg/日）でのみ F1 雌雄出生児に出生後の生存率の低下, 体重増加抑制ならびに離乳前および離乳後の期間の体重増加量減少，性成熟に対する影響（発育遅延によるものと考えられた），F1 雌の生殖に対する影響（黄体数，着床数および生存胚数の減少）などの毒性変化が認められた。

9.5. その他の所見

9.5.1. 腎臓

ラットを用いた 6 ヵ月間投与毒性試験で，毒性学的意義の乏しい用量依存的かつ可逆的な近位尿細管上皮細胞の硝子滴蓄積が認められた。この変化は腎機能に影響を及ぼすことはほとんどなく，臨床的意味はほとんどない。イヌおよびマウスでは，ラットと同程度以上の曝露量でも腎臓の変化は認められなかった。

硝子滴の組織化学染色の特徴および形態学的特徴は，髄質内では主としてリポフスチン（ヘモグロビンや鉄ではない）であり，皮質内では α2μ-グロブリンに一致した。リポフスチンは，正常な

ラットの近位尿細管上皮細胞の細胞質に認められ加齢とともに増加する消耗性色素であり，腎機能への影響や臨床的意味はほとんどない[6,7,85,86]。尿細管腔内の円柱，壊死または炎症反応は認められなかった。雄ラットで皮質の近位尿細管上皮に認められた細胞質内硝子滴は，α2μ-グロブリン蓄積の増悪と符合する変化であった。α2μ-グロブリンの蓄積は雄ラットにみられるラットの種特異的所見であり[7]，ヒトへの外挿性は低いと考えられる[7,85,87,88,89]。

50 mg/kg/日以上の群の雄で，毒性学的意義の乏しい尿タンパクの増加が認められ，この変化は最高用量群を除くすべての用量群で投与期間中に一過性に生じ，最高用量群では休薬期間終了時に回復傾向が認められた。

ラットを用いた 2 年間投与がん原性試験では，100 mg/kg/日群の雌雄の腎尿細管上皮細胞に毒性学的意義の乏しい色素沈着の発現頻度ならびに程度の上昇が認められたが，このがん原性試験により，硝子滴蓄積はより長期間の投与によっても進行しないことが示された。

9.5.2. 肝臓

ラットを用いた 14 日間投与試験および 8 週間投与試験のみで，肝細胞の空胞化または小葉中心性肥大が認められた。

2 年間投与がん原性試験では，30 mg/kg/日以上の用量群の雌ラットで，毒性学的意義の乏しい非腫瘍性の多核肝細胞数の増加（対照群との比較）が認められた。多核肝細胞の増加は一般に適応反応であると考えられており[4,26]，がん原性の可能性を示すものではない。多核肝細胞は高齢ラットで自然発生する可能性があることから[27]，30 mg/kg/日以上の用量群の雌でこの所見がより顕著であったことは，背景所見の増悪を示すものであり毒性学的意義の乏しい変化であると判断された。

9.5.3. 副腎

ラットおよびイヌを用いた 8 週間投与毒性試験で，毒性学的意義の乏しい一過性かつ用量依存的な副腎の変化が認められた。ラットで副腎重量の有意な減少（雄）および副腎皮質の空胞化の増加が認められ，イヌでは球状帯に副腎皮質細胞の空胞化の発現頻度または程度の上昇が認められた。

副腎への影響は重要な試験であるラットを用いた 6 ヵ月間投与試験またはイヌを用いた 2 回の 9 ヵ月間投与試験のいずれにおいても，8 週間投与試験で軽微な影響が認められた用量と同等以上の用量および曝露量でもみられなかったことから，一過性の変化であったと考えられた。JAK または TEC 阻害薬の薬理作用に基づくと，副腎または副腎機能への影響は予測されない。副腎の所見は，変性性の変化，壊死，炎症または電解質の毒性変化を伴わなかった。加えて，副腎皮質細胞の空胞化はイヌでは一般的な背景所見である[11]。

9.5.4. 心血管系

In vitro および in vivo 試験の結果により，リトレシチニブがヒトで QTc 延長を誘発する可能性は極めて低いことが示唆された。イヌを用いた心血管系の安全性薬理試験または反復投与毒性試験のいずれにおいてもリトレシチニブの投与後に QTc 延長は認められなかった。

種々の安全性薬理試験および毒性試験で，比較的わずかで一貫性のない心拍数および血圧の変化が認められたが，心拍数および血圧への影響は概して軽微または軽度であった。変化の方向（増加または減少）に差異がみられた理由は不明である。心臓の病理組織学的変化はいずれの毒性試験でも認められなかった。ラットおよびイヌを用いたそれぞれ最長 6 ヵ月間および 9 ヵ月間の反復投与毒性試験で，血栓，塞栓または凝固パラメータの変化は認められなかった。

9.5.5. 嘔吐および糞便異常

イヌを用いたリトレシチニブの重要な試験以外の試験および重要な試験で毒性学的意義の乏しい嘔吐および糞便異常（軟便，水様便，粘液便，赤色便）が認められたが，消化管の剖検所見または病理組織学的所見はみられなかった。免疫抑制と消化管所見との関連性は明確ではなかった。

10. 図表

本文中に記載した。

参考文献

1 Leonard WJ, Spolski R. Interleukin-21: a modulator of lymphoid proliferation, apoptosis and differentiation. Nat Rev Immunol 2005;5:688-98.

2 Leonard WJ, Lin JX, O'Shea JJ. The γc family of cytokines: basic biology to therapeutic ramifications. Immunity 2019;50:832-850.

3 Ma A, Koka R, Burkett P. Diverse functions of IL-2, IL-15 and IL-7 in lymphoid homeostasis. Annu Rev Immunol 2006;24:657-79.

4 McInnes EF. Wistar and Sprague-Dawley rats. In: McInnes EF, ed. Background lesions in laboratory animals: a color atlas (1st Edition): Saunders Elsevier; 2012:17-36.

5 Stockham SL, Scott MA. Erythrocytes. In: Fundamentals of veterinary clinical pathology. Ames, IA: Iowa State Press: 2002;103-4;131-2.

6 Brunk UT, Terman A. Lipofuscin: mechanisms of age-related accumulation and influence on cell function. Free Radical Biol and Med 2002;33(5):611-9.

7 Hard GC. Some aids to histological recognition of hyaline droplet nephropathy in ninety day toxicity studies. Toxicol Pathol 2008;36:1014-17.

8 Stohlawetz PJ, Dzirlo L, Hergovich N, et al. Effects of erythropoietin on platelet reactivity and thrombopoiesis in humans. Blood 2000;95(9):2983-89.

9 Bolon B, Garman RH, Pardo ID, et al. STP position paper: Recommended practices for sampling and processing the nervous system (brain, spinal cord, nerve, and eye) during nonclinical general toxicity studies. Toxicol Pathol 2013;41(7):1028-48.

10 Pardo ID, Garman RH, Weber K, et al. Technical guide for nervous system sampling of the cynomolgus monkey for general toxicity studies. Toxicol Pathol 2012;40(4):624-36.

11 Sato J, Doi T, Wako Y et al. Histopathology of incidental findings in beagles used in toxicity studies. J Toxicol Pathol 2012;25 (1):103-34.

12 Pardo ID, Otis D, Ritenour HN, et al. Spontaneous axonal dystrophy in the brain and spinal cord in naive beagle dogs. Toxicol Pathol 2020;48(5):694-701.

13 Borras D, Ferrer I, Pumarola M. Age-related changes in the brain of the dog. Vet Pathol 1999; 36:202-211.

14 Slayter MV, Summers BA, Meade RP, et al. Axonal spheroids in the cochlear nucleus of normal beagle dogs. Vet Pathol 1998;35:150-3.

15 Suzuki Y, Suu S. Spheroids (axonal dystrophy) in the central nervous system of the dog I. light microscopic observations. Jap J Vet Sci 1978;40:325-34.

16 Ronen A, Heddle JA. Site-specific induction of nuclear anomalies (apoptotic bodies and micronuclei) by carcinogens in mice. Cancer Res 1984;44(4):1536-40.

17 Meintieres S, Biola A, Pallardy M, et al. Apoptosis can be a confusing factor in in vitro clastogenic assays. Mutagenesis 2001;16(3):243-50.

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

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

20 Tomonari Y, Sato J, Kurotaki T, et al. Thymomas and associated hyperplastic lesions in Wistar Hannover rats. Toxicol Pathol 2019;47(2):129-137.

21 Taylor I, Mowat V. Comparison of longevity and common tumor profiles between Sprague Dawley and Han Wistar rats. J Toxicol Pathol 2020;33:189–96.

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

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

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

25 Isobe K, Mukaratirwa S, Petterino C, et al. Historical control background incidence of spontaneous thyroid and parathyroid glands lesions of rats and CD-1 mice used in 104 week carcinogenicity studies. J Toxicol Pathol 2016:201–206.

26 Cattley RC, Popp JA, Vonderfecht SL. Liver, gallbladder and exocrine pancreas. In: Sahota PS, Popp JA, Hardisty JF, Gopinath C, eds. Toxicologic pathology: nonclinical safety assessment. 2nd ed. CRC Press; 2018:451-513.

27 Thoolen B, Maronpot RR, Harada T, et al. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse hepatobiliary system. Toxicol Pathol 2010;38:5S-81S.

28 Whritenour J, Cole S, Zhu X, Li D, Kawabata TT. Development and partial validation of a mouse model for predicting drug hypersensitivity reactions. J Immunotoxicol 2014;11:141-7.

29 Weaver, JL, Chapdelaine, J.M., Descotes, J, et al. Evaluation of a lymph node proliferation assay for its ability to detect pharmaceuticals with potential to cause immune mediated drug reactions. J Immunotoxicol 2005;2:11-20.

30 Dowty M, Lin T, Wang L, et al. Lack of differentiation of Janus kinase inhibitors in rheumatoid arthritis based on Janus kinase pharmacology and clinically meaningful concentrations. Ann Rheum Dis 2014;73 (Suppl2).

31 Bhaskaran M, Cornwell PD, Sorden SD, et al. Pancreatic effects of a Bruton's tyrosine kinase small-molecule inhibitor in rats are strain-dependent. Toxicol Pathol 2018;46(4):460-72.

32 Erickson RI, Schutt LK, Tarrant JM, et al. Bruton's tyrosine kinase small molecule inhibitors induce a distinct pancreatic toxicity in rats. J Pharmacol Exp Ther 2017;360(1):226-38.

33 Jaudon F, Raynaud F, Wehrle R, et al. The RhoGEF DOCK10 is essential for dendritic spine morphogenesis. Mol Biol Cell 2015;26(11)(Jun):2112-27.

34 Yamasaki T, Kawasaki H. Arakawa S, et al. Stress-activated protein kinase MKK7 regulates axon elongation in the developing cerebral cortex. J Neurosci 2011;31(46):16872-83.

35 Yamasaki T, Deki-Arima N, Kaneko A, et al. Age-dependent motor dysfunction due to neuron-specific disruption of stress-activated protein kinase MKK7. Sci Rep 2017;7(1):7348.

36 Summers BA, Cummings JF, de Lahunta A, et al. Neuropathology of aging. In: Veterinary Neuropathology. New York:Mosby;1995:49-55.

37 Diaz JV, Duque C, Geisel R. Neuroaxonal dystrophy in dogs: case report in 2 litters of Papillon puppies. J Vet Intern Med 2007;21(3)(May-Jun):531-4.

38 Schmidt RE, Chae HY, Parvin CA, et al. Neuroaxonal dystrophy in aging human sympathetic ganglia. Am J Pathol 1990;136(6)(Jun):1327-38.

39 Youssef SA, Capucchio MT, Rofina JE, et al. Pathology of the aging brain in domestic and laboratory animals, and animal models of human neurodegenerative diseases. Vet Pathol 2016;53(2):327-48.

40 Shipp A, Lawrence G, Gentry R, et al. Acrylamide: review of toxicity data and dose-response analyses for cancer and noncancer effects. Critical Reviews in Toxicology 2006;36: 6-7, 481-608.

41 Clark AW, Griffin JW, Price DL. The axonal pathology in chronic IDPN intoxication. J Neuropathol Exp Neurol 1980;39(1)(Jan/Feb):42-55.

42 Burek JD, Albee RR, Beyer JE, et al. Subchronic toxicity of acrylamide administered to rats in the drinking water followed by up to 144 days of recovery. J Environ Pathol Toxicol 1980;4(5-6)(Nov):157-82.

43 Spencer PS, Schaumburg HH. Neurotoxic properties of certain aliphatic hexacarbons. Proc R Soc Med 1977;70(1)(Jan):37-9.

44 Graham DG, Amarnath V, Valentine WM, et al. Pathogenetic studies of hexane and carbon disulfide neurotoxicity. Crit Rev Toxicol 1995;25(2):91-112.

45 Ehrich M, Jortner BS. Chapter 69. Organophosphorus-induced delayed neuropathy A2. In: Krieger R, editor. Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology, 3rd ed. New York, Academic Press; 2010:1479-1504.

46 Boston JR, Moller AR. Brainstem auditory-evoked potentials. Crit Rev Biomed Eng 1985;13(2):97-123.

47 Venker-van Haagen AJ, Siemelink RJ, Smoorenburg GF. Auditory brainstem responses in the normal beagle. Vet Q 1989;11(3)(Jul):129-37.

48 Uzuka Y, Fukaki M, Hara Y, et al. Brainstem auditory evoked responses elicited by tone burst stimuli in clinically normal dogs. J Vet Intern Med 1998;12(1)(Jan-Feb):22-5.

49 Legatt AD, Arezzo JC, Vaughan HG. The anatomic and physiologic bases of brain stem auditory evoked potentials. Neurol Clin 1988;6(4)(Nov):681-704.

50 Chiappa KH, Gladstone KJ, Young RR. Brain stem auditory evoked responses: studies of waveform variations in 50 normal human subjects. Arch Neurol 1979;36(2): 81-87.

51 Banoub M, Tetzlaff JE, Schubert A. Pharmacologic and Physiologic Influences Affecting Sensory Evoked Potentials: Implications for Perioperative Monitoring. Anesthesiology 2003;99:716-37.

52 Jiang ZD. Evoked potentials in pediatric brainstem lesions. In: Galloway GM, editor. Clinical Neurophysiology in Pediatrics: a Practical Approach to Neurodiagnostic Testing and Management. New York, Demos Medical Publishing, LLC; 2015:187-213.

53 Chiappa KH, Harrison JL, Brooks EB, et al. Brainstem auditory evoked responses in 200 patients with multiple sclerosis. Ann Neurol 1980;7(2)(Feb):135-43.

54 Hecox K, Cone B, Blaw ME. Brainstem auditory evoked response in the diagnosis of pediatric neurologic diseases. Neurology 1981;31(7)(Jul):832-40.

55 Calderon-Garciduenas L, D'Angiulli A, Kulesza RJ, et al. Air pollution is associated with brainstem auditory nuclei pathology and delayed brainstem auditory evoked potentials. Int J Dev Neurosci 2011;29(4)(Jun):365-75.

56 Murata K, Weihe P, Budtz-Jorgensen E, et al. Delayed brainstem auditory evoked potential latencies in 14-year-old children exposed to methylmercury. J Pediatr 2004;144(2)(Feb):177-83.

57 Edwards MSB, Powers SK, Baringer RA, et al. Evoked potentials in rats with misonidazole neurotoxicity. I. Brain stem auditory evoked potentials. J Neurooncol 1983;1(2):115-23.

58 Arezzo JC, Simson R, Brennan NE. Evoked potentials in the assessment of neurotoxicity in humans. Neurobehav Toxicol Teratol 1985;7(4)(Jul-Aug):299-304.

59 Gordon DG, Edwards MSB. Evaluation of SR-2508 induced neurotoxicity and myotoxicity in rats using brainstem auditory evoked potentials and the posterior auricular muscle response. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1985;11(10)(Oct):1805-7.

60 Towell TL, Shell L, Inzana KD, et al. Electrophysiological detection of the neurotoxic effects of acrylamide and 2,5-hexanedione on the rat sensory system. Int J Toxicol 2000;19(3):187-93.

61 Pickles, JO. Chapter 1 - Auditory pathways: anatomy and physiology. Handbook of Clinical Neurology. Elsevier 2015;129:3-25.

62 Lanvers-Kaminsky C, Zehnhoff-Dinnesen AA, Parfitt R, et al. Drug-induced ototoxicity: mechanisms, pharmacogenetics, and protective strategies. Clin Pharmacol Ther 2017;101(4): 491-500.

63 Otto WC, Brown RD, Gage-White L, et al. Effects of cisplatin and thiosulfate upon auditory brainstem responses of guinea pigs. Hear Res 1988;35(1):79-85.

64 Yamamoto M, Kurata Y, Chiba S, et al. Effects of aminoglycoside antibiotics on the auditory brainstem response and post rotatory nystagmus in rats. Fundamental Appl Toxicol 1992;18(4):499-503.

65 Goldberg JM, Brown PB. Functional organization of the dog superior olivary complex: an anatomical and electrophysiological study. J Neurophysiol 1968;31(4)(Jul):639-56.

66 Fischer A, Obermaier G. Brainstem auditory-evoked potentials and neuropathologic correlates in 26 dogs with brain tumors. J Vet Intern Med 1994;8(5)(Sep-Oct):363-9.

67 Steiss JE, Cox NR, Hathcock JT. Brain stem auditory-evoked response abnormalities in 14 dogs with confirmed central nervous system lesions. J Vet Intern Med 1994;8(4)(Jul Aug):293-8.

68 Watson RE, DeSesso JM, Hurtt ME, et al. Postnatal growth and morphological development of the brain: a species comparison. Birth Defects Research Part B: Dev & Repro Toxicol 2006;77(5):471-84.

69 Ashwell KWS, Waite PME. Chapter 2. Development of the peripheral nervous system. In: Mai JK, Paxinos G, editors. The human nervous system. 3rd ed. San Diego, CA: Academic Press; 2012: p. 14-30.

70 Catala M, Kubis N. Gross anatomy and development of the peripheral nervous system. Handb Clin Neurol 2013;115:29-41.

71 Jiang ZD, Tierney TS. Development of human peripheral hearing revealed by brainstem auditory evoked potentials. Acta Paediatrica 1995;84(11):1216-20.

72 Salamy A, McKean CM. Postnatal development of human brainstem potentials during the first year of life. Electroencephalog Clin Neurophysiol 1976;40(4)(Apr):418-26.

73 Hecox K, Galambos R. Brain stem auditory evoked responses in human infants and adults. Arch Otolaryngol 1974;99(1)(Jan):30-3.

74 Kuse H, Okaniwa A. Postnatal development of the auditory brainstem response (ABR) in beagle dogs. Exp Anim 1993;42(3):377-82.

75 Webb SJ, Monk CS, Nelson CA. Mechanisms of postnatal neurobiological development: implications for human development. Developmental Neuropsychology 2001;19(2):147-71.

76 Davison AN, Duckett S, Oxberry JM. Correlative morphological and biochemical studies of the human fetal sciatic nerve. Brain research. 1973;57(2):327-42.

77 Cai F, Zhang J. Study of nerve conduction and late responses in normal Chinese infants, children, and adults. Journal of child neurology. 1997;12(1):13-8.

78 Wester T, O'Briain DS, Puri P. Notable postnatal alterations in the myenteric plexus of normal human bowel. Gut 1999;44(5):666-74.

79 Wallace AS, Burns AJ. Development of the enteric nervous system, smooth muscle and interstitial cells of Cajal in the human gastrointestinal tract. Cell tissue research. 2005;319(3):367-82.

80 Xeljanz® (tofacitinib citrate). United States Prescribing Information. New York, NY: Pfizer Inc; December 2019. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/203214s025lbl.pdf. Accessed: 13 April 2020.

81 Imbruvica® (ibrutinib). United States Prescribing Information. Pharmacyclics LLC. Apr 2020. Available: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/205552s030,210563s006lblPI.pdf.

82 RINVOQ™ (upadacitanib). United States Prescribing Information. Sligo, Ireland: AbbVie Inc; August 2019. Available: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/211675s000lbl.pdf. Accessed: 13 April 2020.

83 Olumiant® (baricitinib). United States Prescribing Information. Indianapolis, IN: Lilly LLC; Revised October 2019. Available: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/207924s001lbl.pdf. Accessed: 13 April 2020.

84 Wu KM & Farrelly JG. Preclinical development of new drugs that enhance thyroid hormone metabolism and clearance: inadequacy of using rats as an animal model for predicting human risks in an IND and NDA. Am J Ther 2006;13(2)(Mar/Apr):141-4.

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

86 Kikuqawa K, Beppu M, Kato T, et al. Accumulation of autofluorescent yellow lipofuscin in rat tissues estimated by sodium dodecylsulfate extraction. Mech Ageing Dev 1994;74(1-2):135-48.

87 Montgomery CA, Seely JC. Kidney. In: GA Boorman et al, eds. Pathology of the Fischer rat: reference and atlas. 2nd ed. Academic Press; 1990:127-53.

88 Short BG, Burnett VL, and Swenberg JA. Elevated proliferation of proximal tubule cells and localization of accumulated α2u-globulin in F344 rats during chronic exposure to unleaded gasoline or 2,2,4-trimethylpentane. Toxicol Appl Pharmacol 1989;101(3):414-31.

89 Swenberg JA, Short B, Borghoff S, et al. The comparative pathobiology of α2u-globulin nephropathy. Toxicol Appl Pharmacol 1989;97:35-46.

TABLE OF CONTENTS

LIST OF ABBREVIATIONS AND DEFINITION OF TERMS 2
2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW 4
2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS 12
2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA 14
2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE 20
2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY 23
2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 25
2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 8-WEEK 28
2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 6-MONTH 33
2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 8-WEEK 38
2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (1) 41
2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2) 50
2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO MICROBIAL REVERSE MUTATION ASSAY 61
2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO MICRONUCLEUS ASSAY 64
2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO MECHANISTIC FOLLOW-UP 66
2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO 69
2.6.7.10A CARCINOGENICITY: TOLERABILITY AND TOXICOKINETIC STUDY 70
2.6.7.10B CARCINOGENICITY: DOSE RANGE FINDING STUDY 71
2.6.7.10C CARCINOGENICITY: TRANSGENIC MOUSE 6-MONTH 74
2.6.7.10D CARCINOGENICITY: RAT 104-WEEK 79
2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 88
2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION 89
2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: RAT EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 93
2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: RABBIT EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 96
2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION 99
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES 103

LIST OF ABBREVIATIONS AND DEFINITION OF TERMS

-	no noteworthy findings
A/G	albumin/globulin ratio
ALB	albumin
ALT	alanine aminotransferase
AUC	area under the concentration-time curve
AUC_{24}	area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours
B	primary, benign neoplasm
BAEP	brainstem auditory evoked potential
BID	twice daily
BW	body weight
BWG	body weight gain
CA	calcium
CL	chloride
C_{max}	maximum (peak) observed drug concentration
DMSO	dimethylsulfoxide
DOCK10	dedicator of cytokinesis 10
DRF	dose range-finding
EFD	embryo-fetal development
EOS	eosinophil(s)
F	female
(F)	infiltrating neoplasm
F0	maternal/paternal generation
F1	first generation
FC	food consumption
FISH	fluorescent in situ hybridization
GALT	gut-associated lymphoid tissue
GD	gestation day
GLOB	globulin
GLP	Good Laboratory Practice
HCl	hydrochloric acid
Hg	hemoglobin
HR	heart rate
ICH	International Conference on Harmonisation
K	potassium
LD	lactation day
L/H	light/heavy ratio
LYM	lymphocyte(s)
M	male
(M)	primary, malignant neoplasm
MAM	mouse allergy model
MBP	mean blood pressure
MCV	mean cell volume
MN	micronucleated mononucleates, micronucleus(i)

MNRET	micronucleated reticulocytes
MNU	N-methyl-N-nitrosourea
MONO	monocyte(s)
MTD	maximum tolerated dose
N	metastatic neoplasm
NA	not applicable
N/A	not available
NC	not calculated; insufficient data
NCE	normochromatic erythrocytes
NEUT	neutrophil(s)
NK	natural killer
NOAEL	no observed adverse effect level
NT	not tested
NZW	New Zealand white
OC_{50}	occupancy concentration 50%
PND	postnatal day
PPND	pre- and postnatal development
PWRDM	Pfizer Worldwide Research, Development & Medical
QD	quaque die (once daily)
RDW	red cell distribution width
RET	reticulocyte(s)
RPD	relative population doubling
S9	postmitochondrial supernatant
SBP	systolic blood pressure
SC	subcutaneous
SI	stimulation index
SON	superior olivary nucleus
SPL	sound pressure level
tg	transgenic
TK	toxicokinetic(s)
TK6	thymidine kinase-6
TP	total protein
WBC	white blood cell(s)
wt	wild-type

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Ritlecitinib

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module Number	Sponsor Reference Number
Single-Dose Toxicity								
Toxicokinetic	Rat/Wistar Han (males)	Oral Gavage	Single	0, 250, 500, 1000	No	PWRDM Andover, MA	[redacted]MA012/ 4.2.3.1.1	NA
Toxicokinetic	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	Single	25, 75, 200	No	PWRDM Andover, MA	[redacted]MA133/ 4.2.3.1.2	NA
Toxicity	Dog/Beagle	Oral Gavage	Single	20, 90, 300	No	PWRDM San Diego, CA	[redacted]LJ078/ 4.2.3.1.3	NA
Toxicokinetic	Dog/Beagle	Oral Capsule, Modified Release	Single	65 mg/dose	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR208/ 4.2.3.1.4	NA
Repeat-Dose Toxicity								
Rat Studies								
Toxicity	Rat/Wistar Han (males)	Oral Gavage	14 Days	0, 125, 300, 500	No	PWRDM Andover, MA	[redacted]MA039/ 4.2.3.2.1	NA
Toxicity and Micronucleus Assessment	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	8 Weeks	0, 75, 175[b], 400	Yes	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR132/ 4.2.3.2.2	NA
Toxicity With a 3-Month Recovery	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	6 Months	0, 50, 100, 200[b]	Yes	[redacted], OH	20070067/ 4.2.3.2.3	[redacted]MA142
Dog Studies								
Toxicity	Dog/Beagle	Oral Gavage	15 Days	0, 15, 45, 75	No	PWRDM San Diego, CA	[redacted]LJ111/ 4.2.3.2.4	NA
Toxicity	Dog/Beagle	Oral Gavage	8 Weeks	0, 5, 15, 45[b]	Yes	PWRD Groton, CT	[redacted]GR135/ 4.2.3.2.5	NA
Toxicity With a 3-Month Recovery	Dog/Beagle	Oral Gavage	9 Months	0, 5[b], 20, 40	Yes	[redacted], OH	20070068/ 4.2.3.2.6	[redacted]MA143

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Ritlecitinib

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module Number	Sponsor Reference Number
Toxicity With a 6-Month Recovery	Dog/Beagle	Oral Gavage	9 Months	0, 10[b], 20, 20 (10 BID), 40	Yes	[redacted], OH	20099163/ 4.2.3.2.7	[redacted]MA106
Genotoxicity[c]								
Bacterial Reverse Mutation Assay	*S typhimurium* strains TA1537, TA98, TA100, and TA1535 and *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	25 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted], IL	WIL-655100/ 4.2.3.3.1.1	[redacted]GR129
Micronucleus Assay	TK6 Cells	In Vitro	NA	169 to 1000 µM	Yes	[redacted], IL	WIL-655099/ 4.2.3.3.1.2	[redacted]GR130
Mechanistic Follow-Up Testing	TK6 Cells	In Vitro	NA	90.8 to 736 µM	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GTX10/ 4.2.3.3.1.3	NA
Micronucleus Assay	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	8 Weeks[d]	0, 75, 175[b], 400	Yes	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR132/ 4.2.3.2.3	NA
Carcinogenicity								
Tolerability and TK	Mouse/C57BL/6NTac	Oral Gavage	Up to 14 days[e]	0, 30, 100, 300, 1000[e]	No	[redacted], WI	8390402/ 4.2.3.4.2.1	[redacted]GR117
Dose Range-Finding	Mouse/CByB6F1-Tg (rasH2 [wt/wt])	Oral Gavage	1 Month	0, 75, 225, 450[b]	Yes	[redacted], WI	8392586/ 4.2.3.4.2.2	[redacted]GR173
Carcinogenicity	Mouse/CByB6F1-Tg (rasH2 [tg/wt])	Oral Gavage	26 Weeks (6 Months)	0, 30, 100, 300[b]	Yes	[redacted], WI	8400625/ 4.2.3.4.2.3	[redacted]GR034
Carcinogenicity	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	104 Weeks	0, 10, 30, 100	Yes	[redacted], WI	8384525/ 4.2.3.4.1.1	[redacted]MA002

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Ritlecitinib

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module Number	Sponsor Reference Number
Reproductive and Developmental Toxicity								
Fertility and Early Embryonic Development to Implantation								
Male and Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	M: 28 days (1st breeding phase) or 84 days (2nd second breeding phase) prior to mating, throughout mating, and continuing for a minimum of 15 weeks F: 14 days prior to mating, throughout mating, and continuing through GD 7	0, 20, 60[f], 200[f]	Yes	[redacted], OH	00655209/ 4.2.3.5.1.1	[redacted]GR019
Dose Range-Finding Embryo-Fetal Development	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	GD 6 through 17	0, 75, 175, 325	No	[redacted], PA	20069224/ 4.2.3.5.2.1	[redacted]GR573
Embryo-Fetal Development	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	GD 6 through 17	0, 75[g], 175[g], 325	Yes	[redacted], PA	20075271/ 4.2.3.5.2.2	[redacted]GR148

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Ritlecitinib

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module Number	Sponsor Reference Number
Dose Range-Finding Embryo-Fetal Development	Rabbit/NZW	Oral Gavage	GD 7 through 19	0, 10, 75, 175, 325	No	[redacted], PA	20069228/ 4.2.3.5.2.3	[redacted]GR574
Embryo-Fetal Development	Rabbit/NZW	Oral Gavage	GD 7 through 19	0, 5, 25[h], 75[h]	Yes	[redacted], PA	20075272/ 4.2.3.5.2.4	[redacted]GR149
Pre- and Postnatal Development Including Maternal Function	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	GD 6 through LD 20	0, 25, 75[i], 175[i]	Yes	[redacted], OH	00655232/ 4.2.3.5.3.1	[redacted]GR230
Other Toxicity Studies								
Phototoxicity								
Phototoxicity	Rat/Long-Evans	Oral Gavage	3 Days	0, 50, 100, 200	Yes	[redacted], PA	20075773/ 4.2.3.7.7.1	[redacted]MA032
Immunotoxicity								
Mouse Allergy Model/ Modified Mouse Allergy Model[j]	Mouse/C57BL/6	Subcutaneous/ Oral Gavage	3 Days/ 5 Days	0, 1, 10, 100	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR446/ 4.2.3.7.2.1	NA
Mechanistic Studies								
Toxicokinetic	Dog/Beagle (Female)	Oral Gavage	3 Days	0, 40	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR131/ 4.2.3.7.3.1	NA
Gene Expression Profiling of Selected Brainstem Regions in Untreated Control Dog	Dog/Beagle (Male)	In Vitro	NA	NA	No	PWRDM Andover, MA	[redacted]GR142/ 4.2.3.7.3.2	NA
Off-Target Identification in Normal Dog Brain Tissue Homogenates	Dog/Beagle	In Vitro	NA	10 µM	No	PWRDM Cambridge, MA	[redacted]GR193/ 4.2.3.7.3.3	NA

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Ritlecitinib

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module Number	Sponsor Reference Number
Comparison of Human, Dog, and Rat MAP2K7 Binding Affinity	293F cells overexpressing human, rat, and dog MAP2K7	In Vitro	NA	0.12 to 30 µM	No	PWRDM Cambridge, MA	[redacted]GR372/ 4.2.3.7.3.4	NA
Expression of DOCK10 in Cerebellum of Human, Dog, Rat, and Mouse	Tissues/cells from cerebellum of humans, dogs, rats, and mice	In Vitro	NA	NA	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR164/ 4.2.3.7.3.5	NA
Studies on Impurities								
Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物N	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.003 to 5 mg/plate	Yes	[redacted], Germany	1149304/ 4.2.3.7.6.1	NA
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物L	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.005 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR556/ 4.2.3.7.6.2	NA
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物I	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.015 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR004/ 4.2.3.7.6.3	NA
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物O	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.05 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR162/ 4.2.3.7.6.4	NA

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Ritlecitinib

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module Number	Sponsor Reference Number
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物B	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.313 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR139/ 4.2.3.7.6.5	NA
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物W	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.313 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR140/ 4.2.3.7.6.6	NA
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物Q	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.015 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR189/ 4.2.3.7.6.7	NA
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物R	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.005 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR190/ 4.2.3.7.6.8	NA
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物S	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.05 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR191/ 4.2.3.7.6.9	NA
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物T	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.05 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR192/ 4.2.3.7.6.10	NA

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Ritlecitinib

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module Number	Sponsor Reference Number
Bacterial Mutagenicity of Geometric Isomer Mixture of *不純物U	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.005 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR280/ 4.2.3.7.6.11	NA
Bacterial Mutagenicity of *不純物C	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.0017 to 5 mg/plate	Yes	[redacted] The Netherlands	20232598/ 4.2.3.7.6.12	NA
Bacterial Mutagenicity of *不純物V	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.0017 to 5 mg/plate	Yes	[redacted] The Netherlands	20232562/ 4.2.3.7.6.13	NA
Bacterial Mutagenicity of *不純物A	*S typhimurium* strains TA98, TA100, and TA1535, and TA1537 *E coli* strain WP2 uvrA pKM101	In Vitro	NA	0.015 to 5 mg/plate	No	PWRDM Groton, CT	[redacted]GR240/ 4.2.3.7.6.14	NA
Impurity Qualification	Rat/Wistar Han	Oral Gavage	13 Weeks	0, 200[b], 200 + impurities[b,k]	Yes	[redacted], WI	8413430/ 4.2.3.7.6.15	[redacted]GR371

a. Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. For repeat-dose toxicity studies the NOAEL is underlined.
c. Additional preliminary screening assays were conducted.
d. Samples collected for micronucleus evaluation on Day 4.
e. 1000 mg/kg was not tolerated; all animals in that group were euthanized on Day 1.
f. NOAEL for male fertility = 60 mg/kg/day; NOAEL for female toxicity, fertility, and early embryonic development = 200 mg/kg/day.
g. Maternal NOAEL = 175 mg/kg/day; developmental NOAEL = 75 mg/kg/day.
h. Maternal NOAEL = 75 mg/kg/day; developmental NOAEL = 25 mg/kg/day.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: Ritlecitinib

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ CTD Module Number	Sponsor Reference Number

i. NOAEL for F1 developmental toxicity =75 mg/kg/day; NOAEL for F0 maternal toxicity = 175 mg/kg/day.
j. In the Modified Mouse Allergy Model ritlecitinib was administered by oral gavage for 5 days in combination with 100 mg/kg ofloxacin administered subcutaneously for 3 days.
k. Rats administered 200 mg/kg/day ritlecitinib alone or 200 mg/kg/day ritlecitinib blended with 4.37% impurities.

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS

Test Article: Ritlecitinib

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)/ CTD Module Number
Single-Dose TK	Rat/Wistar Han (males)	Oral gavage	250, 500, 1000	No	[redacted]MA012 4.2.3.1.1
Single-Dose Toxicity	Dog/Beagle	Oral gavage	20, 90, 300	No	[redacted]LJ078 4.2.3.1.3
Single-Dose TK	Rat/Wistar Han	Oral gavage	25, 75, 200	No	[redacted]MA133 4.2.3.1.2
Single-Dose TK	Dog/Beagle	Oral capsule, modified release	65 mg/dose	No	[redacted]GR208 4.2.3.1.4
14-Day Toxicity	Rat/Wistar Han	Oral gavage	125, 300, 500	No	[redacted]MA039 4.2.3.2.1
15-Day Toxicity	Dog/Beagle	Oral gavage	15, 45, 75	No	[redacted]LJ111 4.2.3.2.4
3-Day Toxicokinetic	Dog/Beagle	Oral gavage	40	No	[redacted]GR131 4.2.3.7.3.1
8-Week Toxicity	Rat/Wistar Han	Oral gavage	75, 175, 400	Yes	[redacted]GR132 4.2.3.2.2
6-Month Toxicity With 3-Month Recovery	Rat/Wistar Han	Oral gavage	50, 100, 200	Yes	20070067 ([redacted]MA142) 4.2.3.2.3
8-Week Toxicity	Dog/Beagle	Oral gavage	5, 15, 45	Yes	[redacted]GR135 4.2.3.2.5
9-Month Toxicity With 3-Month Recovery	Dog/Beagle	Oral gavage	5, 20, 40	Yes	20070068 ([redacted]MA143) 4.2.3.2.6
9-Month Toxicity With 6-Month Recovery	Dog/Beagle	Oral gavage	10, 20 (QD), 20 (10 BID), 40	Yes	20099163 ([redacted]MA106) 4.2.3.2.7
2-Week Tolerability and TK	Mouse/C57BL/6NTac	Oral gavage	30, 100, 300, 1000[b]	Yes	8390402 ([redacted]GR117) 4.2.3.4.2.1
1-Month Dose Range-Finding	Mouse/CByB6F1-Tg (rasH2 [wt/wt])	Oral gavage	75, 225, 450	Yes	8392586 [redacted]GR173) 4.2.3.4.2.2
6-Month Carcinogenicity	Mouse/CByB6F1-Tg (rasH2 [wt/wt])[c]	Oral gavage	30, 100, 300	Yes	8400625 ([redacted]GR034) 4.2.3.4.2.3
104-Week Carcinogenicity	Rat/Wistar Han	Oral gavage	10, 30, 100	Yes	8384525 ([redacted]MA002)

2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS

Test Article: Ritlecitinib

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)/ CTD Module Number
Fertility and Early Embryonic Development	Rat/Wistar Han	Oral gavage	20, 60, 200	Yes	4.2.3.4.1.1 00655209 ([redacted]GR019)
Embryo-Fetal Development	Rat/Wistar Han	Oral gavage	75, 175, 325	Yes	4.2.3.5.1.1 20075271 ([redacted]GR148)
Embryo-Fetal Development	Rabbit/NZW	Oral gavage	5, 25, 75	Yes	4.2.3.5.2.2 20075272 ([redacted]GR149)
Pre- and Postnatal Development including Maternal Function	Rat/Wistar Han	Oral gavage	25, 75, 175	Yes	4.2.3.5.2.4 00655232 ([redacted]GR230)
Phototoxicity	Rat/Long Evans	Oral gavage	50, 100, 200	Yes	4.2.3.5.3.1 20075773 ([redacted]MA032)
13-Week Impurity Qualification	Rat/Wistar Han	Oral gavage	0, 200, 200[d]	Yes	4.2.3.7.7.1 8413430 ([redacted]GR371)

4.2.3.7.6.15

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day unless otherwise stated.
b. 1000 mg/kg was not tolerated, and this group was euthanized on Day 1.
c. Hemizygous (tg/wt) mice were used for the carcinogenicity portion of the study.
d. Rats administered 200 mg/kg/day ritlecitinib alone or 200 mg/kg/day ritlecitinib blended with 4.37% impurities.

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Ritlecitinib

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Unbound[b] Steady State AUC_{24} (ng•h/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
				Combined Sexes[c]	Combined Sexes[c]	F	Combined Sexes[c]	
5	8-Week Toxicity	[redacted]GR135	54				3780	
5	9-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070068 ([redacted]MA143)	273				4020	
5	Rabbit EFD	20075272 ([redacted]GR149)	GD 19			1780		
10	9-Month Toxicity/6-Month Recovery	20099163 ([redacted]MA106)	273				7940	
10	104-Week Carcinogenicity	8384525 ([redacted]MA002)	179/180		2000			
15	15-Day Toxicity	[redacted]LJ111	14				9100	
15	8-Week Toxicity	[redacted]GR135	54				10900	
20	Single-Dose Toxicity	[redacted]LJ078	1				17900	
20	9-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070068 ([redacted]MA143)	273				18000	
20 (QD)	9-Month Toxicity/6-Month Recovery	20099163 ([redacted]MA106)	273				14500	
20 (10 BID)	9-Month Toxicity/6-Month Recovery	20099163 [redacted]MA106)	273				16900	
20	Fertility & Early Embryonic Development	00655209 ([redacted]GR019)	62		3360 (M)			
25	Single-Dose TK	[redacted]MA133	1		3340 (M)			
25	Rabbit EFD	20075272 ([redacted]GR149)	GD 19			13200		
25	Pre- and Postnatal Development	00655232 ([redacted]GR230)	GD 17		4230 (F)			
30	2-Week Tolerability & TK	8390402 ([redacted]GR117)	14	757				
30	6-Month Carcinogenicity	8400625 ([redacted]GR034)	28	605				
30	104-Week Carcinogenicity	8384525 ([redacted]MA002)	179/180		6770			
40	9-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070068 ([redacted]MA143)	273				36900	
40	9-Month Toxicity/6-Month Recovery	20099163 ([redacted]MA106)	273				35200	
45	15-Day Toxicity	[redacted]LJ111	14				31700	
45	8-Week Toxicity	[redacted]GR135	54				44100	
50	6-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070067 ([redacted]MA142)	176		10300			
50	3-Day Phototoxicity	20075773 ([redacted]MA032)	3		17400 (F)			
60	Fertility & Early Embryonic Development	00655209 ([redacted]GR019)	62		14700 (M)			
65	Single-Dose Capsule TK	[redacted]GR208	1				3110 (M), 5020 (F)	
75	Single-Dose TK	[redacted]MA133	1		18020 (M)			
75	15-Day Toxicity	[redacted]LJ111	14				52480	

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Ritlecitinib

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Unbound[b] Steady State AUC_{24} (ng•h/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
				Combined Sexes[c]	Combined Sexes[c]	F	Combined Sexes[c]	
75	8-Week Toxicity	[redacted]GR132	53		17200			
75	1-Month DRF	8392586 ([redacted]GR173)	28	2330				
75	Rat EFD	20075271 ([redacted]GR148)	GD 17		17000 (F)			
75	Rabbit EFD	20075272 ([redacted]GR149)	GD 19			58600		
75	Pre- and Postnatal Development	00655232 ([redacted]GR230)	GD 17		15400 (F)			
90	Single-Dose Toxicity	[redacted]LJ078	1				100860	
100	6-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070067 ([redacted]MA142)	176		21400			
100	2-Week Tolerability & TK	8390402 ([redacted]GR117)	14	5130				
100	6-Month Carcinogenicity	8400625 ([redacted]GR034)	28	3230				
100	104-Week Carcinogenicity	8384525 ([redacted]MA002)	179/180		31500			
100	3-Day Phototoxicity	20075773 ([redacted]MA032)	3		36700 (F)			
125	14-Day Toxicity	[redacted]MA039	14		17900 (M)			
175	8-Week Toxicity	[redacted]GR132	53		53100			
175	Rat EFD	20075271 ([redacted]GR148)	GD 17		52900 (F)			
175	Pre- and Postnatal Development	00655232 ([redacted]GR230)	GD 17		44000 (F)			
200	Single-Dose TK	[redacted]MA133	1		81700 (M)			
200	6-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070067 ([redacted]MA142)	176		53700			
200	Fertility & Early Embryonic Development	00655209 ([redacted]GR019)	62		58600 (M)			
200	3-Day Phototoxicity	20075773 ([redacted]MA032)	3		59800 (F)			
200	13-Week Impurity Qualification	8413430 ([redacted]GR371)	91		45100			
200+	13-Week Impurity Qualification[d]	8413430 ([redacted]GR371)	91		57500			
225	1-Month Dose Range-Finding	8392586 ([redacted]GR173)	28	10700				
250	Single-Dose TK	[redacted]MA012	1		45900 (M)			
300	Single-Dose Toxicity	[redacted]LJ078	1				379000	
300	14-Day Toxicity	[redacted]MA039	14		79100 (M)			
300	2-Week Tolerability & TK	8390402 ([redacted]GR117)	14	19000				
300	6-Month Carcinogenicity	8400625 ([redacted]GR034)	28	12100				
325	Rat EFD	20075271 ([redacted]GR148)	GD 17		109000 (F)			
400	8-Week Toxicity	[redacted]GR132	32		139000			
450	1-Month DRF	8392586 ([redacted]GR173)	28	23100				
500	Single-Dose TK	[redacted]MA012	1		149000 (M)			

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Ritlecitinib

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Unbound[b] Steady State AUC_{24} (ng•h/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
				Combined Sexes[c]	Combined Sexes[c]	F	Combined Sexes[c]	
500	14-Day Toxicity	[redacted]MA039	14		206400 (M)			
1000	Single-Dose TK	[redacted]MA012	1		225000 (M)			
1000	2-Week Tolerability & TK	8390402 ([redacted]GR117)	1	NC				
50 mg	Clinical Study	B7981015, B7981020, B7981032, B7981036	PK modeling					1070

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Ritlecitinib

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Unbound Steady[b] State C_{max} (ng/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
				Combined Sexes[c]	Combined Sexes[c]	F	Combined Sexes[c]	
5	8-Week Toxicity	[redacted]GR135	54				1510	
5	9-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070068 ([redacted]MA143)	273				1120	
5	Rabbit EFD	20075272 ([redacted]GR149)	GD 19			661		
10	9-Month Toxicity/6-Month Recovery	20099163 ([redacted]MA106)	273				1910	
10	104-Week Carcinogenicity	8384525 ([redacted]MA002)	179/180		931			
15	15-Day Toxicity	[redacted]LJ111	14				4070	
15	8-Week Toxicity	[redacted]GR135	54				4720	
20	Single-Dose Toxicity	[redacted]LJ078	1				4050	
20	9-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070068 ([redacted]MA143)	273				3790	
20 (QD)	9-Month Toxicity/6-Month Recovery	20099163 ([redacted]MA106)	273				3450	
20 (10 BID)	9-Month Toxicity/6-Month Recovery	20099163 ([redacted]MA106)	273				2560	
20	Fertility & Early Embryonic Development	00655209 ([redacted]GR019)	62		1870 (M)			
25	Single-Dose TK	[redacted]MA133	1		1270 (M)			
25	Rabbit EFD	20075272 ([redacted]GR149)	GD 19			4470		
25	Pre- and Postnatal Development	00655232 ([redacted]GR230)	GD 17		2060 (F)			
30	2-Week Tolerability & TK	8390402 ([redacted]GR117)	14	370				
30	6-Month Carcinogenicity	8400625 ([redacted]GR034)	28	321				
30	104-Week Carcinogenicity	8384525 ([redacted]MA002)	179/180		3230			
40	3-Day TK	[redacted]GR131	3				9270 (F)[e]	
40	3-Day TK	[redacted]GR131	3				1080-1350 (F)[f]	
40	9-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070068 ([redacted]MA143)	273				8940	
40	9-Month Toxicity/6-Month Recovery	20099163 ([redacted]MA106)	273				8690	
45	15-Day Toxicity	[redacted]LJ111	14				12220	
45	8-Week Toxicity	[redacted]GR135	54				12000	
50	6-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070067 ([redacted]MA142)	176		4910			
50	3-Day Phototoxicity	20075773 ([redacted]MA032)	3		4490 (F)			
60	Fertility & Early Embryonic Development	00655209 ([redacted]GR019)	62		7240 (M)			
65	Single-Dose Capsule TK	[redacted]GR208	1				377 (M), 562 (F)	

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Ritlecitinib

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Unbound Steady[b] State C_{max} (ng/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
				Combined Sexes[c]	Combined Sexes[c]	F	Combined Sexes[c]	
75	Single-Dose TK	[redacted]MA133	1		6690 (M)			
75	15-Day Toxicity	[redacted]LJ111	14				17600	
75	8-Week Toxicity	[redacted]GR132	53		7710			
75	1-Month DRF	8392586 ([redacted]GR173)	28	1270				
75	Rat EFD	20075271 ([redacted]GR148)	GD 17		7770 (F)			
75	Rabbit EFD	20075272 ([redacted]GR149)	GD 19			14900		
75	Pre- and Postnatal Development	00655232 ([redacted]GR230)	GD 17		7910 (F)			
90	Single-Dose Toxicity	[redacted]LJ078	1				17100	
100	6-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070067 ([redacted]MA142)	176		8980			
100	2-Week Tolerability & TK	8390402 ([redacted]GR117)	14	2880				
100	6-Month Carcinogenicity	8400625 ([redacted]GR034)	28	1540				
100	104-Week Carcinogenicity	8384525 ([redacted]MA002)	179/180		12900			
100	3-Day Phototoxicity	20075773 ([redacted]MA032)	3		11300 (F)			
125	14-Day Toxicity	[redacted]MA039	14		7370 (M)			
175	8-Week Toxicity	[redacted]GR132	53		16200			
175	Rat EFD	20075271 ([redacted]GR148)	GD 17		13700 (F)			
175	Pre- and Postnatal Development	00655232 ([redacted]GR230)	GD 17		16100 (F)			
200	Single-Dose TK	[redacted]MA133	1		19900			
200	6-Month Toxicity/3-Month Recovery	20070067 ([redacted]MA142)	176		16800			
200	Fertility & Early Embryonic Development	00655209 ([redacted]GR019)	62		17800			
200	3-Day Phototoxicity	20075773 ([redacted]MA032)	3		9920 (F)			
200	13-Week Impurity Qualification	8413430 ([redacted]GR371)	91		15100			
200+	13-Week Impurity Qualification[d]	8413430 ([redacted]GR371)	91		20400			
225	1-Month DRF	8392586 ([redacted]GR173)	28	4530				
250	Single-Dose TK	[redacted]MA012	1		15100 (M)			
300	Single-Dose Toxicity	[redacted]LJ078	1				38400	
300	14-Day Toxicity	[redacted]MA039	14		18600 (M)			
300	2-Week Tolerability & TK	8390402 ([redacted]GR117)	14	7960				
300	6-Month Carcinogenicity	8400625 ([redacted]GR034)	28	4400				
325	Rat EFD	20075271 ([redacted]GR148)	GD 17		25500 (F)			
400	8-Week Toxicity	[redacted]GR132	32		25600			

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: Ritlecitinib

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number (Sponsor Reference Number)	Study Day	Unbound Steady[b] State C_{max} (ng/mL)				
				Mouse	Rat	Rabbit	Dog	Human
				Combined Sexes[c]	Combined Sexes[c]	F	Combined Sexes[c]	
450	1-Month DRF	8392586 ([redacted]GR173)	28	7130				
500	Single-Dose TK	[redacted]MA012	1		21600 (M)			
500	14-Day Toxicity	[redacted]MA039	14		30600 (M)			
1000	Single-Dose TK	[redacted]MA012	1		25100 (M)			
1000	2-Week Tolerability & TK	8390402 ([redacted]GR117)	1	21300				
50 mg	Clinical Study	B7981015, B7981020, B7981032, B7981036	PK modeling					318

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Based on unbound fractions in rat (0.67), dog (0.82), rabbit (0.29), and mouse (0.22).
c. Combined sexes unless specified otherwise.
d. Ritlecitinib + 4.37% impurities.
e. Concentration in plasma at approximately 1 hour postdose (Total concentration: 11300 ng/mL).
f. Total concentrations in the superior olivary nucleus, cochlear nucleus, and left and right hippocampus: 1080, 1190, 1350, and 1320 ng/g, respectively.

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: Ritlecitinib

Lot/Batch Number	Assay (%)	Specified Impurities							Study Number (Sponsor Reference Number)	Type of Study
		*不純物J	*不純物L	*不純物I	*不純物H	*不純物E	*不純物G	API Polymer		
[redacted]									[redacted]MA012	Single-Dose TK Rat
									[redacted]GTX10	Mechanistic Follow-Up
									[redacted]GTX10	Mechanistic Follow-Up
	99	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted]GR446	Mouse Allergy Model
	91.3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted]MA039	14-Day Rat
	98	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted]GR446	Mouse Allergy Model
	91.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted]LJ078	1-Day Exploratory Dog
[redacted]	91.8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted]LJ111	15-Day Dog
	99.5 (by area)	N/A	0.27	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted]MA133	Single-Dose TK Rat
[redacted]	71.6[a]	N/A	0.19	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted]GR132	8-Week Rat
	71.6[a]	N/A	0.19	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted]GR135	8-Week Dog
	71.6[a]	N/A	0.19	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	WIL-655100 ([redacted]GR129)	Bacterial Microsome Reverse Mutation Assay
[redacted]	71.6[a]	N/A	0.19	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	WIL-655099 ([redacted]GR130)	Micronucleus Assay in TK6 Cells

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: Ritlecitinib

Lot/Batch Number	Assay (%)	Specified Impurities							Study Number (Sponsor Reference Number)	Type of Study
[redacted]	60.6[b]	N/A	0.28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	20070067 ([redacted]MA142)	6-Month Rat
[redacted]	60.6[b]	N/A	0.28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	20070068 ([redacted]MA143)	9-Month Dog
[redacted]	60.6[b]	N/A	0.28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	20069224 ([redacted]GR573)	DRF EFD Rat
[redacted]	60.6[b]	N/A	0.28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	20069228 ([redacted]GR574)	DRF EFD Rabbit
[redacted]	60.6[b]	N/A	0.28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	20075271 ([redacted]GR148)	EFD Rat
[redacted]	60.6[b]	N/A	0.28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	20075272 ([redacted]GR149)	EFD Rabbit
[redacted]	60.6[b]	N/A	0.28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	20070068 ([redacted]MA143)	9-Month Dog
[redacted]	60.6[b]	N/A	0.28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	20075271 ([redacted]GR148)	EFD Rat
[redacted]	60.6[b]	N/A	0.28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	20075272 ([redacted]GR149)	EFD Rabbit
[redacted]	60.6[b]	N/A	0.28	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	20075773 ([redacted]MA032)	Phototoxicity Rat
[redacted]	62.4[b]	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted]GR208	Single-Dose TK Capsule Dog
[redacted]	62.2[b,c]	0.10	1.06	0.07	N/A	N/A	N/A	1.8	20099163 ([redacted]MA106)	9-Month Dog
[redacted]	60.4[b,c]	0.18	0.96	0.06	N/A	N/A	N/A	4.3	[redacted]GR131	TK Dog
	60.4[b,c]	0.18	0.96	0.06	N/A	N/A	N/A	4.3	20099163 ([redacted]MA106)	9-Month Dog
[redacted]	60.4[b,c]	0.18	0.96	0.06	N/A	N/A	N/A	4.3	8390402 ([redacted]GR117)	2-Week Mouse

2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: Ritlecitinib

Lot/Batch Number	Assay (%)	Specified Impurities							Study Number (Sponsor Reference Number)	Type of Study
[redacted]	97.5	0.19	NMT 0.05	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	8384525 ([redacted]MA002)	104-Week Rat Carcinogenicity
[redacted]	97.5	0.19	NMT 0.05	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	00655209 ([redacted]GR019)	Rat Fertility/Early Embryonic Development
[redacted]	97.5	0.19	NMT 0.05	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	8392586 ([redacted]GR173)	1-Month DRF Mouse
[redacted]	97.0	0.25	NMT 0.05	N/A	0.12	N/A	N/A	N/A	8392586 ([redacted]GR173)	1-Month DRF Mouse
[redacted]	98.8	0.06	NMT 0.05	N/A	0.07	N/A	N/A	NMT 0.05	8400625 ([redacted]GR034)	6-Month Mouse Carcinogenicity
[redacted]	99.2	0.10	NMT 0.05	N/A	0.07	N/A	N/A	NMT 0.05	00655232 ([redacted]GR230)	Rat PPND
[redacted]	100.0	0.08	NMT 0.05	N/A	N/A	N/A	N/A	NMT 0.05	8413430 ([redacted]GR371)	13-Week Impurity Qualification
[redacted]	90.5	0.52	1.0	0.56	0.34	0.28	0.27	0.54	8413430 ([redacted]GR371)	13-Week Impurity Qualification

a = Potency assigned as the malonate salt.
b = Potency assigned as the tosylate salt.
c = Assigned using reference standard E010016319 which had a slightly inaccurate potency applied.

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/Wistar Han	Oral gavage, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose [w/v] in deionized water, pH 3 adjusted with 1 N HCl)/ suspension Lot [redacted]	0, 250, 500, 1000	3 M	1000	>1000	None	[redacted]MA012/ No
Toxicokinetic Parameters (M):							
Dose (mg/kg)			0	250	500	1000	
C_{max} (ng/mL)			NA[b]	22500	32200	37500	
AUC_{24} (ng•h/mL)			NA[b]	68500	223000	336000	
Rat/Wistar Han	Oral gavage, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose [w/v] in deionized water, pH 3 adjusted with 1 N HCl)/ suspension Lot [redacted]	25, 75, 200	3 M	200	>200	None	[redacted]MA133/ No
Toxicokinetic Parameters (M):							
Dose (mg/kg)			25	75	200		
C_{max} (ng/mL)			1900	9990	29700		
AUC_{24} (ng•h/mL)			4990	26900	122000		

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Dog/Beagle	Oral gavage, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose [w/v] in deionized water, pH 3 adjusted with 1 N HCl)/ suspension Lot [redacted]	20, 90, 300	1 M, 1 F	300	>300	**≥20 mg/kg:** Emesis (M). **300 mg/kg:** Emesis (F), partially closed eyes.	[redacted]LJ078/ No
Toxicokinetic Parameters (combined sexes):							
Dose (mg/kg)			20	90	300		
C_{max} (ng/mL)			4940	20800	46800		
AUC_{24} (ng•h/mL)			21800	123000	462000		
Dog/Beagle	Oral modified release capsule, QD Lot [redacted]	65	3M/3F	65	>65	**65 mg/dose:** Watery feces in 1 male.	[redacted]GR208/No
Toxicokinetic Parameters (M/F):							
Dose (mg/dose)			65				
C_{max} (ng/mL)			460/685				
AUC_{24} (ng•h/mL)			3790/6120				

a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight.
b. Samples collected but not analyzed for plasma test article concentration.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Rat/Wistar Han	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] Methylcellulose in deionized water, pH 3 adjusted with 1 N HCl/ suspension) Lot [redacted]	14 Days	0, 125, 300, 500	5 M	Not reported	**≥125 mg/kg/day:** ↓ WBC, ↓ LYM, ↓ EOS, ↑ NEUT, ↓ spleen and thymus weights (absolute, relative to body and brain), small thymus, ↓ thymus cellularity. **≥300 mg/kg/day:** ↓ GLOB, ↑ A/G, small spleen, ↓ bone marrow cellularity. **500 mg/kg/day:** thin appearance, ↓ BW, ↓ BWG, ↓ FC, spleen (↓ cellularity of white pulp, ↓ red pulp), mesenteric lymph node (↓ lymphocytes), ↓ GALT cellularity, hepatocyte cytoplasm vacuolation.	[redacted]MA039/ No

Toxicokinetic Parameters (M):

Dose (mg/kg/day)	0	125	300	500
Day 1				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	10800	21000	26900
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	25500	83700	199000
Day 14				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	11000	27700	45700
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	26700	118000	308000

a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. Control samples collected but not analyzed for plasma test article concentrations.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Dog/Beagle	Oral gavage, QD, 5 mL/kg (0.5% [w/v] Methylcellulose in deionized water, pH 3/ suspension) Lot [redacted]	15 Days	0, 15, 45, 75	1 M, 1 F (15 and 75 mg/kg) 2 M, 2 F (0 and 45 mg/kg)	Not reported	**≥15 mg/kg:** Emesis, ↓ LYM **45 mg/kg:** ↓ SBP, ↓ MBP, ↓ DBP, ↓ HR, ↑ PR-interval. **≥45 mg/kg:** Soft/watery stool, ↓ lymphoid cellularity of spleen and thymus, small thymus	[redacted]LJ111/No

Toxicokinetic Parameters (combined sexes):

Dose (mg/kg/day)	0	15	45	75
Day 1				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	4010	16600	22000
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	9550	42200	64200
Day 14				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	4960	14900	21400
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	11100	38700	64000

a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. Control samples collected but not analyzed for plasma test article concentrations.

2.6.7.6 REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ GLP Compliance
Dog/Beagle	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] Methylcellulose) Lot [redacted]	3 Days	0, 40	4 F	Not reported	None	[redacted]GR131/No

Toxicokinetic Parameters (F):

Dose (mg/kg/day)	0	40
Day 3 (1 hour postdose)		
Plasma Concentration (ng/mL)	NA[b]	11300
Brain Tissue Concentration:		
Superior Olivary Nucleus (ng/g)	NA[b]	1080
Cochlear Nucleus (ng/g)	NA[b]	1190
Hippocampus (Left) (ng/g)	NA[b]	1350
Hippocampus (Right) (ng/g)	NA[b]	1320

a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (2.5 ng/mL for plasma; 15 ng/g for tissue).

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 8-WEEK

Report Title: 8-Week Oral Gavage Toxicity and Micronucleus Assessment Study of PF-06651600 in Wistar Han Rats

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: ~ 9 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 8 Weeks
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: [redacted]GR132
CTD Module Number: 4.2.3.2.2
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose in purified water/Suspension
Special Features: See 2.6.7.9. Genotoxicity In Vivo for micronucleus assay details
No Observed Adverse Effect Level: 175 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**75**		**175**		**400[b]**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicokinetics	3	3	3	3	3	3	3	3
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[c]		8850		22500		29100	
Day 32	NA[d]		NA[d]		NA[d]		38200	
Day 53	NA[c]		11500		24200		NA[b]	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[c]		22800		65700		199000	
Day 32	NA[d]		NA[d]		NA[d]		207000	
Day 53	NA[c]		25600		79300		NA[b]	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	0	0	3[e]
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	1[e]
Body Weight Gain (g)[f]								
Days 43- 50	13.47	-	0.68‡	-	0.48§	-	NA[b]	NA[b]
Food Consumption (g)[f]								
Days 43-50	153.22	-	0.91†	-	0.87‡	-	NA[b]	NA[b]
Days 50-56	133.62	-	0.91*	-	0.90*	-	NA[b]	NA[b]

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 8-WEEK

Study Number: [redacted]GR132

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**75**		**175**		**400[b]**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations								
Skin lesion (forepaw, hindpaw)	0	0	0	0	0	0	1	0
Rough haircoat	0	0	0	0	0	0	0	3
Hunched posture	0	0	0	0	0	0	0	2
Decreased skin turgor	0	0	0	0	0	0	0	2
Decreased activity	0	0	0	0	0	0	0	1
Red staining (forepaws, head)	0	0	0	0	0	0	1	0
Hair loss (hindlimb, abdomen, forelimb, forepaw)	0	0	2	0	0	1	0	1
Ophthalmic Examinations - Day 52	-	-	-	-	-	-	NA[b]	NA[b]
Micronucleus Assay	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Red blood cells (10^6/uL)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7.934	7.944
Day 57	8.626	8.049	8.425	8.122	8.212	7.710	NA[b]	NA[b]
Hemoglobin (g/dL)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	14.59	14.67
Day 57	15.57	15.27	15.38	15.32	15.09	14.67‡	NA[b]	NA[b]
Hematocrit (%)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	45.80	46.26
Day 57	47.50	46.01	46.57	46.09	45.82	44.87	NA[b]	NA[b]
Red cell distribution width (%)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	15.80	14.78
Day 57	11.77	10.46	11.69	10.59	14.08§	12.71§	NA[b]	NA[b]
Reticulocytes (10e3/uL)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	263.6	288.9
Day 57	218.1	208.9	215.8	226.6	266.2	250.6*	NA[b]	NA[b]
Mean platelet volume (fL)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	10.87	9.77
Day 57	8.23	8.90	9.12§	8.84	10.53§	9.38	NA[b]	NA[b]
White blood cells (10e3/uL)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.20	4.37
Day 57	5.08	3.41	3.00§	1.97*	2.33§	1.49‡	NA[b]	NA[b]

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 8-WEEK

Study Number: [redacted]GR132

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		75		175		400[b]	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Neutrophils (10e3/uL)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.278	1.794
Day 57	0.918	0.491	0.879	0.589	0.859	0.708	NA	NA
Lymphocytes (10e3/uL)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.672	2.391
Day 57	3.907	2.771	1.967§	1.273‡	1.351§	0.704§	NA[b]	NA[b]
Monocytes (10e3/uL)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.223	0.147
Day 57	0.143	0.081	0.120	0.080	0.093†	0.072	NA[b]	NA[b]
Eosinophils (10e3/uL)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.013	0.016
Day 57	0.073	0.046	0.030§	0.022‡	0.028§	0.012§	NA[b]	NA[b]
Basophils (10e3/uL)								
Day 32 (only for 400 mg/kg/day)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.005	0.003
Day 57	0.009	0.002	0.001§	0.000	0.000§	0.000	NA[b]	NA[b]
Clinical Chemistry – Day 57								
Potassium (mmol/L)	4.35	3.85	3.78‡	3.52*	3.87‡	3.46*	NA[b]	NA[b]
Cholesterol (mg/dL)	61.9	-	48.3‡	-	49.1‡	-	NA[b]	NA[b]
Urinalysis – Day 57								
Volume (mL)	5.30	3.60	12.40*	5.20	13.10*	8.60	NA[b]	NA[b]
Organ Weights (g)[f]								
Thymus								
Absolute (g)	0.4683	0.3550	0.43§	0.47§	0.31§	0.34§	NA[b]	NA[b]
Relative (g/100 g body weight)	0.1240	0.1605	0.44§	0.49§	0.35§	0.35§	NA[b]	NA[b]
Relative (g/g brain weight)	0.2330	0.1917	0.43§	0.45§	0.32§	0.34§	NA[b]	NA[b]
Spleen								
Absolute (g)	0.696	0.490	0.74‡	0.77‡	0.81‡	0.73§	NA[b]	NA[b]
Relative (g/100 g body weight)	0.186	0.223	0.76†	0.80‡	0.89†	0.76‡	NA[b]	NA[b]
Relative (g/g brain weight)	0.348	0.264	0.73‡	0.75§	0.82‡	0.73§	NA[b]	NA[b]
Adrenal								
Absolute (g)	0.0854	0.0992	0.92	0.96	0.72*	0.84	NA[b]	NA[b]
Relative (g/100 g body weight)	0.0230	0.0447	0.95	1.0	0.78	0.89	NA[b]	NA[b]
Relative (g/g brain weight)	0.0426	0.0534	0.91*	0.93	0.73*	0.85	NA[b]	NA[b]

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 8-WEEK

Study Number: [redacted]GR132

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		75		175		400[b]	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Macroscopic Examination								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Thymus, small	0	0	0	1	4	2	0	2
Microscopic Examination								
Number Examined[g]	10	10	10	10	10	10	10	10
Thymus								
Decreased cellularity, lymphocytes								
Minimal	0	0	0	1	1	0	0 (9)	0
Mild	0	0	5	5	2	1	0 (9)	0
Moderate	0	0	1	3	2	1	0 (9)	0
Marked	0	0	0	0	5	8	0 (9)	0
Severe	0	0	0	0	0	0	9 (9)	10
Spleen								
Decreased cellularity, lymphocytes								
Minimal	0	0	8	2	1	0	0	0
Mild	0	0	0	0	5	7	0	4
Moderate	0	0	0	0	4	0	2	2
Marked	0	0	0	0	0	2	8	4
Mesenteric Lymph Node								
Decreased cellularity, lymphocytes								
Minimal	0	0	1	1	0	0	0 (9)	0 (9)
Mild	0	0	1	0	3	2	2 (9)	4 (9)
Moderate	0	0	0	0	0	1	7 (9)	3 (9)
Marked	0	0	0	0	0	0	0 (9)	2 (9)
Inguinofemoral Lymph Node								
Decreased cellularity, lymphocytes								
Mild	0	0	NA (0)	NA (0)	0 (9)	0 (9)	2 (8)	2 (9)
Moderate	0	0	NA (0)	NA (0)	0 (9)	0 (9)	1 (8)	4 (9)
Marked	0	0	NA (0)	NA (0)	0 (9)	0 (9)	1 (8)	0 (9)

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 8-WEEK

Study Number: [redacted]GR132

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		75		175		400[b]	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Bone Marrow								
Decreased cellularity, all lineages								
Mild	0	0	3	0	7	0	8	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1
Marked	0	0	0	0	0	0	1	1
Severe	0	0	0	0	0	0	0	2
Gastrointestinal tract: stomach, duodenum, jejunum, ileum, and cecum, combined								
Inflammation, mucosa								
Minimal	0	0	NA (0)	NA (0)	0	0	1	4
Lung								
Infiltrates of eosinophils								
Minimal	8	9	1	1	0	0	0	0
Adrenal gland								
Vacuolation, cortex								
Minimal	0	0	1	0	6	0	1	0
Liver								
Vacuolation, periportal								
Minimal	0	0	NA (0)	NA (0)	0	0	2	0
Hypertrophy, hepatocellular, centrilobular								
Minimal	0	0	NA (0)	NA (0)	0	0	0	6

∗ $p \le 0.05$; † $p \le 0.01$; ‡ $p \le 0.005$; § $p \le 0.001$, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings.
a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. The 400 mg/kg/day group was euthanized on Day 32 due to a continued decline in health status based on clinical signs, body weight loss, and decreased food consumption.
c. All samples below limit of quantitation (1 ng/mL).
d. Samples not collected.
e. Three toxicity animals were euthanized on Days 10, 14, or 28 due to adverse clinical signs and body weight loss. The TK animal was found dead on Day 28.
f. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
g. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically when less than the total number of animals examined in the group.

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 6-MONTH

Report Title: A 6-Month Oral Gavage Toxicity Study of PF-06651600 in Rats with a 3-Month Recovery Period

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: 7 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 6 Months
Duration of Postdose: 3 Months
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: 20070067
Sponsor Reference Number: [redacted]MA142
CTD Module Number: 4.2.3.2.3
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose in reverse osmosis deionized water/Suspension
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 200 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**50**		**100**		**200**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	20	20	15	15	15	15	20	20
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 91	NA[b]		4900		14200		21900	
Day 176	NA[b]		7330		13400		25100	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 91	NA[b]		12000		32800		76200	
Day 176	NA[b]		15400		31900		80100	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	1[c]	0	0	0	0	0	1[d]	1[e]
Body Weight (kg)[f] – Day 182	452.7	269.3	1.0	0.98	0.97	0.97	0.88§	0.92§
Body Weight Gain (kg)[f] – Days 1 to 182	276.1	114.0	1.1	0.96	0.96	0.92	0.82§	0.79§
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 6-MONTH

Study Number: 20070067

Dose[a] (mg/kg)	0 (Control)		50		100		200	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Red blood cells (10^6/µL) - Day 90/91	8.96	8.23	9.01	8.25	8.86	8.23	8.48*	7.81†
- Day 183/184	8.44	8.11	8.33	7.88	8.23	7.52§	7.71§	7.31§
Red cell distribution width (%) - Day 90/91	12.1	10.7	12.2	11.0	12.7†	11.2*	14.8§	13.6§
- Day 183/184	12.1	10.3	12.4	10.7	12.5	10.6	13.9§	11.6§
Red blood cell morphology								
Poikilocytosis (incidence [degree]) - Day 90/91	0	0	0	0	0	0	3 [1 to 2+]	3 [1+]
- Day 183/184	0	0	0	0	0	0	0	0
Hemoglobin (g/dL) - Day 90/91	15.6	15.1	15.9	15.5	15.8	15.6	15.1	14.7
- Day 183/184	14.8	15.2	14.8	15.0	14.8	14.6*	14.0§	14.2§
Hematocrit (%) -Day 90/91	46.5	44.6	46.9	45.2	46.5	45.6	45.3	43.4
- Day 183/184	44.3	44.9	44.1	44.0	43.6	42.3§	41.5§	41.1§
Mean corpuscular volume (fL) - Day 90/91	51.9	54.2	52.2	54.7	52.5	55.4	53.5*	55.6
- Day 183/184	52.6	55.4	53.0	55.9	53.0	56.3	53.9	56.3
White blood cells (10^3/µL) - Day 90/91	5.12	2.67	3.74§	2.20	4.12*	2.72	3.19§	2.01*
- Day 183/184	3.94	2.59	2.69§	1.62§	2.53§	1.43§	2.50§	1.54§
Neutrophils (10^3/µL) - Day 90/91	0.89	0.46	1.12	0.58	1.58§	0.78	1.26*	0.71†
- Day 183/184	0.78	0.42	0.81	0.45	0.97	0.43	1.18*	0.70§
Lymphocytes (10^3/µL) - Day 90/91	3.97	2.07	2.38§	1.48*	2.31§	1.78	1.75§	1.18§
- Day 183/184	2.89	1.95	1.70§	1.02†	1.37§	0.85§	1.16§	0.72§
Monocytes (10^3/µL) - Day 90/91	0.11	0.05	0.09	0.06	0.11	0.08*	0.08	0.05
- Day 183/184	0.12	0.10	0.10	0.09	0.10	0.09	0.10	0.08
Eosinophils (10^3/µL) - Day 90/91	0.11	0.07	0.12	0.07	0.09	0.06	0.08	0.05
- Day 183/184	0.10	0.07	0.06§	0.04§	0.06§	0.03§	0.04§	0.03§
Basophils (10^3/µL) - Day 90/91	0.03	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02*	0.01*
- Day 183/184	0.04	0.03	0.03§	0.02	0.02§	0.02	0.02§	0.02§
Mean platelet volume (fL) - Day 90/91	6.2	6.3	6.5	6.7	7.0†	6.6	8.1§	7.0†
- Day 183/184	6.4	6.3	6.5	6.5	6.6	6.4	7.4§	6.3
Reticulocytes (10^9/µL) - Day 90/91	141.3	145.6	142.6	155.6	161.9*	138.9	171.6§	162.8
- Day 183/184	164.3	159.9	173.4	176.7	175.8	153.3	173.6	155.2

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 6-MONTH

Study Number: 20070067

Dose[a] (mg/kg)	0 (Control)		50		100		200	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Chemistry								
Potassium (mE/dL) - Day 90/91	4.5	3.8	3.8§	3.4§	3.8§	3.4§	3.7§	3.4§
- Day 183/184	4.2	4.1	3.9†	3.7†	3.9†	3.6§	3.8§	3.5§
Triglycerides (mg/dL) - Day 90/91	52	38	53	34	49	30†	42	29†
- Day 183/184	74	50	70	42	54*	38	40§	30§
Aspartate aminotransferase (U/L) - Day 90/91	72	68	57§	52§	60†	54†	58§	57*
- Day 183/184	52	60	43†	49†	43†	43§	48	44†
Glucose (mg/dL) - Day 90/91	119	109	122	100*	105	97†	117	98†
- Day 183/184	146	123	146	117	136	117	121§	109
Urinalysis								
Protein (incidence of 2+) - Day 90/91	0	-	6	-	4	-	7	-
- Day 183/184	0	-	0	-	0	-	2	-
Organ Weights[f]								
Number Examined	15	15	15	15	15	15	14	14
Spleen								
Absolute (g)	0.731	0.547	0.82†	0.90	0.82†	0.80§	0.86*	0.79§
Relative (g/100 g body weight)	0.1667	0.2159	0.80§	0.91	0.87†	0.82§	1.0	0.86*
Relative (g/g brain weight)	34.5780	27.9529	0.80§	0.89	0.82§	0.79§	0.89*	0.78§
Thymus								
Absolute (g)	0.215	0.202	0.47§	0.62*	0.39§	0.41§	0.21§	0.16§
Relative (g/100 g body weight)	0.0494	0.0791	0.45§	0.63	0.40§	0.42§	0.25§	0.17§
Relative (g/g brain weight)	10.1726	10.3299	0.46§	0.61*	0.39§	0.40§	0.22§	0.16§
Macroscopic Examination								
Number Examined	15	15	15	15	15	15	14	14
Thymus, small	0	0	3	0	2	2	11	9
Microscopic Examination								
Number Examined[g]	15	15	15	15	15	15	14	14
Kidney								
Accumulation, hyaline droplets; epithelial, tubular								
Minimal	4	1	12	1	13	7	5	10
Mild	0	0	2	0	1	0	9	2

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 6-MONTH

Study Number: 20070067

Dose[a] (mg/kg)	0 (Control)		50		100		200	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Spleen								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	6	7	9	6	3	6
Mild	0	0	0	0	0	0	11	7
Mesenteric lymph node								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	0	6	5
Mild	0	0	0	0	0	0	3	7
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1
Inguinal lymph node								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0 (14)	0 (14)	0 (12)	0	0 (11)	0	0 (8)	5
Mild	0 (14)	0 (14)	0 (12)	0	0 (11)	0	0 (8)	1
Bone marrow, sternum								
Decreased cellularity, all lineages								
Minimal	0	0	0	0	0	0	4	3
Thymus								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0 (14)	0	10	8	7	3 (14)	0 (13)	0
Mild	0 (14)	0	3	2	6	5 (14)	1 (13)	0
Moderate	0 (14)	0	0	1	1	6 (14)	3 (13)	1
Marked	0 (14)	0	0	0	0	0 (14)	8 (13)	4
Severe	0 (14)	0	0	0	0	0 (14)	1 (13)	9

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY: RAT 6-MONTH

Study Number: 20070067

Dose[a] (mg/kg)	0 (Control)		50		100		200	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	5	5	0	0	0	0	5	5
Body Weight (kg)[f] – Day 272	-	295.6	NA	NA	NA	NA	-	0.89
Body Weight Gain (kg)[f] – Days 1 to 272	-	139.8	NA	NA	NA	NA	-	0.79
Urinalysis								
Protein (incidence of 2+) – Day 273	0	-	NA	NA	NA	NA	2	-

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

- = No noteworthy findings.

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

b. All samples below assay limit of quantitation (1 ng/mL).

c. Euthanized moribund on Day 259 due to lymphoma.

d. Euthanized moribund on Day 70 due to unilateral changes in the eye suggestive of traumatic injury to the cornea and subsequent inflammation and unrelated to test article.

e. Found dead on Day 96; cause of death considered incidental and unrelated to test article.

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

g. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically when less than the total number of animals examined in that group.

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 8-WEEK

Report Title: 8-Week Oral Gavage Toxicity Study of PF-06651600 in Beagle Dogs

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain: Dog/Beagle
Age at First Dose: >8 Months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 56 Days
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Oral gavage, QD, 5 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose in purified water/Suspension
Special Features: Immunophenotyping
No Observed Adverse Effect Level: 45 mg/kg/day
Study Number: [redacted]GR135
CTD Module Number: 4.2.3.2.5
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**45**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	3	3	3	3	3	3	3	3
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA[b]		1760		5110		14300	
Day 54	NA[b]		1840		5760		14600	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	NA[b]		3890		12300		50000	
Day 54	NA[b]		4610		13300		53800	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 8-WEEK

Study Number: [redacted]GR135

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**45**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations								
Emesis	0	2	1	2	2	2	2	3
Mucoid feces	1	0	0	0	0	0	3	0
Red discolored feces	0	0	0	0	0	0	2	0
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography – Day 53[c]	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
Heart Rate (bpm)	5.9		0.7		3.7		27.2	
PR (msec)	-3.5		-1.9		-3.6		-12.0	
QT (msec)	-6.7		0.2		-2.1		-15.2	
Hematology/Coagulation - Day 57								
Lymphocytes (10e3/uL)	2.383	1.993	1.793	1.920	1.673*	1.360	1.317*	1.460
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunophenotyping - Day 57								
Total T cells (cells/µL)	1459.3	1198.0	925.3*	866.7*	720.7*	617.0*	592.0*	620.0*
T helper cells (cells/µL)	909.3	791.3	620.0	523.3*	439.3*	405.0*	370.0*	349.7*
Cytotoxic T cells (cells/µL)	385.0	271.7	175.0*	200.3	176.0*	125.3	136.0*	169.7
NK cells (cells/µL)	154.2	121.8	57.1	48.0	41.9	20.7	26.5	11.8
B cells (cells/µL)	384.7	337.7	435.7	610.0	536.7	340.3	282.7	406.3
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Microscopic Examination								
Number Examined[d]	3	3	3	3	3	3	3	3
Thymus								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	3	1 (2)	0	0	0	0	0 (2)	0
Mild	0	0 (2)	0	0	1	0	1 (2)	0
Moderate	0	0 (2)	0	0	0	1	1 (2)	2
Marked	0	0 (2)	0	0	0	1	0 (2)	1
Severe	0	0 (2)	0	0	0	1	0 (2)	0

2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 8-WEEK

Study Number: [redacted]GR135

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		15		45	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Mesenteric lymph node								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Bone marrow (sternum)								
Decreased cellularity, lymphoid: all types								
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Adrenal gland								
Vacuolation; zona glomerulosa								
Minimal	0	3	2	2	1	2	0	1
Mild	0	0	1	1	0	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	1

*p ≤ 0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings.
a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below limit of quantitation (1 ng/mL).
c. Group mean differences from predose to postdose on Day 53.
d. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically when less than the total number of animals examined in the group.

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (1)

Report Title: A 9-Month Oral Gavage Toxicity Study of PF-06651600 in Dogs with a 3-Month Recovery Period

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain: Dog/Beagle
Age at First Dose: 11 to 12 Months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 9 Months
Duration of Postdose: 3 Months
Method of Administration: Oral gavage, QD, 1 mL/kg
Study Number: 20070068
Sponsor Reference Number: [redacted]MA143
CTD Module Number: 4.2.3.2.6
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose in reverse osmosis deionized water/Suspension
Special Features: Auditory testing (BAEP) performed prior to dosing initiation, at Month 2, Month 4, Month 7, and Month 9, and twice during the recovery phase, immunophenotyping.
No Observed Adverse Effect Level: 5 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**20**		**40**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	6	6	4	4	4	4	6	6
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 94	NA[b]		1130		4480		9830	
Day 273	NA[b]		1360		4620		10900	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 94	NA[b]		4160		20100		37600	
Day 273	NA[b]		4900		21900		45000	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (kg)[c]								
Day 273	10.78	7.97	0.99	0.98	0.96	0.90	0.94	0.90
Body Weight Gain (kg)								
Days 1-273	0.8	0.5	0.3	0.5	0.2	-0.1	0.1	0.0
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (1)

Study Number: 20070068

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations								
Soft feces	6	6	4	4	4	4	6	6
Red skin	3	4	1	2	1	2	6	2
Focal skin scabs/papules/nodules	1	1	0	1	1	1	5	3
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Lymphocytes (10^3/μL)								
Day 87	2.72	2.80	1.63†	1.66‡	1.64†	1.45‡	1.40‡	1.39‡
Day 274	2.30	2.21	1.05*	1.05‡	1.09	0.80‡	1.01†	0.85‡
Basophils (10^3/μL)								
Day 87	0.13	0.15	0.10	0.09	0.12	0.11	0.07	0.07†
Day 274	0.15	0.18	0.09*	0.10	0.10	0.07*	0.07‡	0.05†
Eosinophils (10^3/μL)								
Day 87	0.36	0.17	0.21†	0.17	0.19†	0.44	0.20†	0.17
Day 274	0.36	0.21	0.21†	0.17	0.15‡	0.33	0.17‡	0.14
White blood cells (10^3/μL)								
Day 87	8.82	9.18	8.73	8.99	10.00	11.29	10.43	10.62
Day 274	7.61	7.01	7.03	6.97	7.78	7.94	10.04*	10.32*
Neutrophils (10^3/μL)								
Day 87	5.21	5.63	6.22	6.64	7.37	8.58	8.10	8.37
Day 274	4.50	4.07	5.21	5.29	5.93	6.26	8.12‡	8.58‡
Monocytes (10^3/μL)								
Day 87	0.38	0.41	0.56	0.40	0.64	0.68	0.64	0.60
Day 274	0.30	0.32	0.47	0.35	0.49	0.48	0.67†	0.69†
Red blood cells (10^6/μL)								
Day 87	7.62	7.87	7.16	6.70*	6.88	6.35†	6.42†	6.05‡
Day 274	8.02	7.90	7.62	6.78†	6.69‡	6.66†	5.95‡	5.80‡
Hemoglobin (g/dL)								
Day 87	17.8	17.9	16.3	15.4*	15.9*	15.0*	15.0‡	13.9‡
Day 274	18.6	18.3	17.2	15.6†	15.2‡	15.4†	13.4‡	13.2‡
Hematocrit (%)								
Day 87	53.0	53.8	49.0	46.6*	48.8	45.7*	46.8†	44.3†
Day 274	55.2	54.1	51.8	47.0†	46.3‡	47.2†	42.6‡	41.9‡

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (1)

Study Number: 20070068

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Platelets (10^3/μL)								
Day 87	250	277	272	302	320	331	300	435‡
Day 274	212	249	256	309	307*	353	341†	490‡
Reticulocytes (10^3/μL)								
Day 87	61.0	59.3	37.3	33.6	44.7	31.8	38.7	43.7
Day 274	56.7	63.4	41.8	32.4	35.2	30.5	20.8†	31.8
Fibrinogen (mg/dL)								
Day 8	210	185	235	203	245	296	283	253
Day 274	218	190	203	221	253	269	352†	295*
Clinical Chemistry								
Albumin (g/dL)								
Day 87	3.4	3.4	3.5	3.1	3.4	2.9	3.1*	3.0*
Day 274	3.2	3.2	3.4	3.1	3.0	3.0	2.6‡	2.7‡
Globulin (g/dL)								
Day 87	2.3	2.2	2.5	2.2	2.4	3.1	2.5	2.4
Day 274	2.8	2.6	2.8	2.5	2.8	2.8	3.3*	2.7
Albumin/Globulin Ratio								
Day 87	1.5	1.6	1.4	1.5	1.4	1.2	1.3	1.4
Day 274	1.1	1.3	1.2	1.2	1.1	1.1	0.8†	1.0
Phosphorus (mg/dL)								
Day 87	4.9	4.4	4.3*	4.0	4.5	3.9	4.2†	3.6
Day 274	4.4	3.8	3.7*	3.3	3.7*	3.0†	3.6*	3.5
Cholesterol (mg/dL)								
Day 87	153	177	139	130*	122	163	121	132*
Day 274	148	159	129	147	105†	142	128	130
Creatinine (mg/dL)								
Day 87	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5
Day 274	0.7	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6	0.5*	0.5†
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (1)

Study Number: 20070068

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Immunophenotyping[d]								
Total T Cells (cell/µL)								
Day 87	0.66-1.25	0.86-1.10	2/4 (0.35-0.45)	4/4 (0.42-0.74)	4/4 (0.27-0.48)	4/4 (0.27-0.42)	6/6 (0.28-0.43)	6/6 (0.23-0.58)
Day 274	0.65-1.02	0.70-0.89	4/4 (0.22-0.33)	4/4 (0.20-0.31)	4/4 (0.09-0.11)	4/4 (0.06-0.11)	6/6 (0.07-0.21)	6/6 (0.01-0.17)
Helper T Cells (cell/µL)								
Day 87	0.67-1.32	0.85-1.06	3/4 (0.33-0.52)	4/4 (0.35-0.77)	4/4 (0.28-0.49	4/4 (0.25-0.43)	6/6 (0.27-0.41)	6/6 (0.23-0.64)
Day 274	0.58-0.99	0.66-0.84	4/4 (0.21-0.30)	4/4 (0.20-0.31)	4/4 (0.08-0.12)	4/4 (0.06-0.10)	6/6 (0.07-0.22)	6/6 (0.01-0.19)
Cytotoxic T Cells (cell/µL)								
Day 87	0.70-1.12	0.98-1.19	2/4 (0.40-0.49)	4/4 (0.53-0.76)	4/4 (0.22-0.46)	4/4 (0.25-0.45)	6/6 (0.29-0.51)	6/6 (0.22-0.53)
Day 274	0.81-1.16	0.73-0.98	4/4 (0.19-0.37)	4/4 (0.18-0.30)	4/4 (0.06-0.09)	4/4 (0.05-0.07)	6/6 (0.06-0.14)	6/6 (0.00-0.12)
B Cells (cell/µL)								
Day 274	0.54-0.88	0.54-0.86	3/4 (0.30-0.57)	4/4 (0.31-0.46)	4/4 (0.22-0.41)	4/4 (0.09-0.38)	5/6 (0.10-0.27)	6/6 (0.02-0.44)
Natural Killer Cells (cell/µL)								
Day 87	0.58-0.78	0.52-1.14	4/4 (0.15-0.36)	2/4 (0.44-0.54)	4/4 (0.09-0.34)	4/4 (0.13-0.33)	6/6 (0.14-0.26)	6/6 (0.12-0.44)
Day 274	0.54-1.09	0.56-1.34	4/4 (0.08-0.57)	4/4 (0.21-0.35)	4/4 (0.04-0.19)	4/4 (0.04-0.19)	6/6 (0.07-0.37)	6/6 (0.01-0.26)
Organ Weights[c]								
Spleen								
Absolute (g)	97.430	67.992	0.83	0.89	0.79	1.0	0.72	0.75
Relative (g/100 g body weight)	0.9146	0.8986	0.84	0.87	0.80	1.1	0.75	0.84
Relative (g/g brain weight)	124.8189	95.7645	0.81	0.93	0.81	1.0	0.83	0.77

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (1)

Study Number: 20070068

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Macroscopic Examination								
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Skin, scabs/nodules	0	0	0	0	0	0	2	1
Lung, discolored foci	0	0	0	0	0	0	1	1
Microscopic Examination								
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Brain								
Axonal dystrophy, superior olivary nucleus[§]								
Minimal	1	0	0	0	3	1	3	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Thymus								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	3	1	1	0	2	1	1
Mild	0	0	1	0	1	0	1	2
Moderate	0	0	0	0	0	1	0	1
Spleen								
Decreased cellularity, lymphoid (white pulp)								
Minimal	0	0	0	0	4	3	1	3
Mild	0	0	1	0	0	0	1	0
GALT								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	1	0	2	1	0	1
Mild	0	0	0	0	2	3	3	2
Mesenteric Lymph Node								
Decreased cellularity, lymphoid (cortex)								
Minimal	0	0	2	2	0	0	0	0
Mild	0	0	1	0	4	2	4	2
Moderate	0	0	0	0	0	2	0	2

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (1)

Study Number: 20070068

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Popliteal Lymph Node								
Decreased cellularity, lymphoid (cortex)								
Minimal	0	0	1	1	3	3	3	2
Mild	0	0	0	0	1	0	0	1
Bone Marrow (sternum)								
Decreased cellularity (all types)								
Minimal	0	0	0	0	2	0	2	0
Skin/Adnexa								
Chronic/active inflammation								
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Parasite, follicular (*Demodex*)								
Present	0	0	0	0	0	0	2	0
Lung								
Chronic inflammation								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	2	2	0	0	0	0	2	2
Clinical Observations[c]								
Soft feces	1	0	NA	NA	NA	NA	2	1
Red skin	1	2	NA	NA	NA	NA	2	2
Focal skin scabs/papules	0	0	NA	NA	NA	NA	2	2
Thin fur cover	0	0	NA	NA	NA	NA	2	2
Flaking/oily skin	0	0	NA	NA	NA	NA	1	1
Food Consumption (g)[c]								
Week 40	301.2	-	NA	NA	NA	NA	0.5	-
Week 52	327.6	-	NA	NA	NA	NA	0.9	-

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (1)

Study Number: 20070068

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Hematology								
Lymphocytes (10^3/μL)								
Day 309	2.54	2.44	NA	NA	NA	NA	1.71	1.46
Day 365	2.45	2.27	NA	NA	NA	NA	1.95	1.76
Basophils (10^3/μL)								
Day 309	0.17	0.19	NA	NA	NA	NA	0.08	0.07
Red blood cells (10^6/μL)								
Day 309	7.97	8.41	NA	NA	NA	NA	6.93	6.65
White blood cells (10^3/μL)								
Day 309	7.71	7.42	NA	NA	NA	NA	6.83	7.71
Hemoglobin (g/dL)								
Day 309	18.6	19.1	NA	NA	NA	NA	15.6	14.8
Hematocrit (%)								
Day 309	54.6	57.1	NA	NA	NA	NA	48.4	45.5
Monocytes (10^3/μL)								
Day 309	0.27	0.29	NA	NA	NA	NA	0.35	0.55
Platelets (10^3/μL)								
Day 309	231	259	NA	NA	NA	NA	367	461
Fibrinogen (mg/dL)								
Day 309	174	144	NA	NA	NA	NA	253	209
Clinical Chemistry								
Albumin (g/dL)								
Day 309	3.1	3.2	NA	NA	NA	NA	2.6	2.7
Globulin (g/dL)								
Day 309	3.1	2.6	NA	NA	NA	NA	4.6	3.1
Day 365	2.8	2.5	NA	NA	NA	NA	3.4	2.6
Albumin/Globulin Ratio								
Day 309	1.0	1.3	NA	NA	NA	NA	0.6	0.9
Day 365	1.3	1.4	NA	NA	NA	NA	1.0	1.3
Phosphorus (mg/dL)								
Day 309	4.3	3.9	NA	NA	NA	NA	3.9	3.8
Cholesterol (mg/dL)								
Day 309	136	152	NA	NA	NA	NA	113	128

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (1)

Study Number: 20070068

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Immunophenotyping[d]								
Total T Cells (cell/µL)								
Day 309	0.91-1.0	0.72-1.06	NA	NA	NA	NA	2/2 0.55-0.58	2/2 0.39-0.51
Day 365	0.80-1.06	0.78-0.83	NA	NA	NA	NA	2/2 0.65-0.67	2/2 0.53-0.73
Helper T cells (cell/µL)								
Day 309	0.83-0.91	0.64-1.03	NA	NA	NA	NA	2/2 0.52-0.60	2/2 0.32-0.42
Day 365	0.71-0.98	0.68-0.78	NA	NA	NA	NA	2/2 0.59-0.68	2/2 0.55-0.63
Cytotoxic T cells (cell/µL)								
Day 309	1.0	0.86-1.0	NA	NA	NA	NA	2/2 0.52	2/2 0.50-0.61
Day 365	0.89-1.19	0.93-0.99	NA	NA	NA	NA	2/2 0.61-0.80	1/2 0.50
B Cells (cell/µL)								
Day 309	0.69-1.22	0.64-0.96	NA	NA	NA	NA	2/2 0.46-0.60	2/2 0.35-0.59
Day 365	0.85-1.49	0.75-0.77	NA	NA	NA	NA	2/2 0.72-0.86	2/2 0.38-0.49
Natural killer cells (cell/µL)								
Day 309	0.68-1.36	0.93-1.14	NA	NA	NA	NA	0/2 NA	1/2 0.89
Day 365	0.81-1.67	0.80-0.84	NA	NA	NA	NA	2/2 0.66-0.89	1/2 0.71
Organ Weights[c]								
Spleen								
Absolute (g)	147.507	-	NA	NA	NA	NA	0.52 (30.737)[f]	-
Relative (g/100 g body weight)	1.3125	-	NA	NA	NA	NA	0.59 (0.3454)[f]	-
Relative (g/g brain weight)	180.1752	-	NA	NA	NA	NA	0.54 (41.3911)[f]	-

2.6.7.7D REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (1)

Study Number: 20070068

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Auditory (BAEP) Testing[g]								
Severe to mild hearing loss and waveform defects[h]	0	0	NA	NA	NA	NA	2	0
Microscopic Examination								
Brain								
Axonal dystrophy, superior olivary nucleus[i]								
Minimal, unilateral	0	0	NA	NA	NA	NA	1	2

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01; ‡ p ≤0.001, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (1 ng/mL).
c. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
d. Incidence of animals with test article-related changes are shown followed by a range of values (ratio relative to baseline) in parentheses for either individual control animals, animals with test article-related changes, or animals with partial recovery.
e. Beginning approximately on Recovery Day 15, skin condition of the 40 mg/kg/day animals progressed in severity as evidenced by development of adverse clinical signs and ear infections which required veterinary treatment. Full recovery by end of recovery phase.
f. Mean absolute and relative spleen weights remained lower only in male dogs indicating partial recovery; however, this was largely driven by Animal 6992 (values in parentheses).
g. Recorded unilaterally on the left side.
h. The BAEP signal became undetectable at 40-46 dB in control animals. In contrast, the BAEP was undetectable at intensities below 82 dB in 1 male 6992 and the signal was lost at an intensity of 52 dB in male 6993. In Animal 6992 the signal was poorly formed and reduced in amplitude with significant and progressive deterioration beginning at the high intensity of 88 dB. By 82 dB the signal was almost gone and was completely absent by 76 dB. This pattern represents a significant deficit in auditory processing and is consistent with a severe loss of hearing.
i. Partial recovery by end of recovery phase.
§ Ultrastructurally, the axonal dystrophy corresponded to axosomatic bouton enlargements. These enlargements contained widely spaced mitochondria, loose tangles of linear filaments approximately 10 nm in diameter which were interpreted as neurofilaments, and poorly demarcated non-membrane bound oval to spherical structures which were moderately electron dense, either single or merged with one another, and with a homogenous internal appearance without further visible internal organization.

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Report Title: A 9-Month Oral Gavage Toxicity Study of PF-06651600 in Dogs with a 6-Month Recovery Period

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain: Dog/Beagle
Age at First Dose: 9 Months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 9 Months
Duration of Postdose: 6 Months
Method of Administration: Oral gavage, QD or BID[a], 1 mL/kg

Study Number: 20099163
Sponsor Reference Number: [redacted]MA106
CTD Module Number: 4.2.3.2.7
Lot Number: [redacted], [redacted]
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose in reverse osmosis deionized water/Suspension
Special Features: Auditory testing (BAEP) performed prior to dosing initiation, at Month 2, Month 4, Month 7, and Month 9, and twice during the recovery phase, immunophenotyping
No Observed Adverse Effect Level: 10 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**20**		**20 (10 BID)[b]**		**40**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	7	7	4	4	7	7	4	4	7	7
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)										
Day 1	NA[c]		3610		7080		3210		13100	
Day 91	NA[c]		2540		4100		3860		8690	
Day 273	NA[c]		2330		4210		3120		10600	
AUC_{24} (ng•h/mL)										
Day 1	NA[c]		8830		18500		20300		39800	
Day 91	NA[c]		9300		17500		23600		36800	
Day 273	NA[c]		9680		17700		20600		42900	
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1[d]
Body Weight (kg)[e] - Day 273	9.51	7.87	0.94	0.95	0.93	0.94	0.94	0.97	0.94	0.93
Body Weight Gain (kg) - Days 1 - 273	0.99	0.46	0.50	-0.05	0.17*	0.01	0.08*	-0.33	0.13*	-0.23
Food Consumption (g/day)[e] – Week 39	229.02	155.98	0.92	1.1	0.87	1.3	0.87	1.0	0.95	1.2

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Study Number: 20099163

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		20 (10 BID)[b]		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations										
Thin appearance	4	1	2	2	2	5	0	4	3	6
Red skin	7	7	4	4	6	7	4	4	7	7
Thin fur	2	3	1	2	3	6	4	3	6	7
Focal skin papules	0	1	3	0	6	2	3	3	4	6
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Auditory (BAEP) Testing[f]										
Mild hearing deficits (58 dB), significant asymmetry in threshold across ears, and abnormal morphology of Waves IV and V										
7 Months	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (right ear)	1 (left ear)
9 Months	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (right ear)	1 (left ear)
Hematology/Coagulation										
Red blood cells (10^6/uL)										
Day 80	7.161	7.117	6.878	6.763	6.811	6.446*	6.783	6.108†	6.024§	5.907§
Day 274	7.480	7.129	7.118	6.653	6.637†	6.267*	6.715*	6.383	5.897§	5.513§
Hemoglobin (g/dL)										
Day 80	16.51	16.44	15.83	15.43	15.70	14.53†	15.80	13.73§	13.84†	13.67§
Day 274	17.66	16.91	16.78	15.65	15.51*	14.50†	15.83	14.60*	13.84§	13.12§
Hematocrit (%)										
Day 80	49.23	49.36	47.50	47.15	47.31	44.77*	47.73	41.53†	42.86†	42.43†
Day 274	51.46	49.20	49.25	46.88	46.59*	44.36*	47.13	44.10	42.21§	40.10§
Reticulocytes (10^9/L)										
Day 14	37.13	28.57	17.78	21.85	38.77	36.30	29.90	28.30	26.93	24.99
Day 80	35.77	33.13	15.20	20.30	28.90	37.60	18.85	17.50	22.13	22.27
Day 274	47.40	39.50	19.85	31.03	27.20	32.41	23.73	19.58	23.20	39.05
Red cell distribution width (%)										
Day 80	-	12.30	-	12.70	-	13.16*	-	13.05	-	13.23*
Day 274	-	12.79	-	13.30	-	13.89†	-	13.75	-	13.78*
White blood cells (10^3/uL)										
Day 80	8.293	8.219	7.855	6.330	6.176†	8.063	7.673	8.360	8.769	8.210
Day 274	8.323	8.730	7.950	7.918	10.129	9.924	7.843	12.008	9.881	9.165

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Study Number: 20099163

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		20 (10 BID)[b]		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Neutrophils (10^3/uL)										
Day 80	4.804	-	5.535	-	4.249	-	5.453	-	6.220*	-
Day 274	-	4.850	-	6.000	-	8.011*	-	9.840†	-	7.230
Lymphocytes (10^3/uL)										
Day 14	2.619	2.973	1.773	1.583†	1.541*	1.850	1.678	2.003	1.677	1.604§
Day 80	2.661	2.891	1.550	1.125§	1.277§	1.496*	1.365*	1.463	1.663	1.647*
Day 274	2.597	3.049	1.305§	1.093	1.030§	0.966†	0.838§	0.990*	1.033§	0.973†
Monocytes (10^3/uL)										
Day 80	0.407	0.326	0.453	0.400	0.451	0.509	0.588	0.605*	0.643*	0.540*
Day 274	0.404	0.374	0.533	0.570	0.796	0.681	0.675	0.898†	0.809	0.728*
Eosinophils (10^3/uL)										
Day 14	-	0.270	-	0.108	-	0.133	-	0.115	-	0.074†
Day 80	0.316	0.239	0.213	0.090†	0.126§	0.111†	0.165*	0.153	0.153†	0.097†
Day 274	0.357	0.374	0.285	0.183*	0.174†	0.200*	0.210*	0.228	0.191†	0.182*
Basophils (10^3/uL)										
Day 80	-	0.069	-	0.060	-	0.050	-	0.038	-	0.059
Day 274	0.080	0.064	0.078	0.050	0.066	0.050	0.025*	0.038	0.036	0.037
Fibrinogen (mg/dL)										
Day 80	-	165.57	-	179.00	-	246.57†	-	227.50	-	274.57†
Day 274	-	171.00	-	210.50	-	262.57*	-	344.25§	-	280.50*
Clinical Chemistry										
Creatinine (mg/dL)										
Day 80	0.73	0.66	0.58*	0.65	0.59*	0.50†	0.55*	0.60	0.59*	0.53*
Day 274	-	0.69	-	0.68	-	0.54*	-	0.60	-	0.55*
Cholesterol (mg/dL)										
Day 14	149.14	175.43	146.50	160.25	112.43	136.14	97.25†	138.75	112.71	131.43
Day 80	156.86	171.29	156.50	125.50	123.71	128.86	97.75†	149.75	121.71	136.86
Day 274	142.86	170.57	140.75	133.50	108.29	128.00	101.50	143.75	117.14	130.83
Albumin (g/dL)										
Day 274	3.14	3.09	2.98	2.85	2.84	2.67§	2.75*	2.55§	2.70†	2.58§
Globulin (g/dL)										
Day 274	2.54	2.43	2.78	2.35	2.89	2.73	3.03	3.25§	2.76	2.77

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Study Number: 20099163

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		20 (10 BID)[b]		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Albumin/Globulin ratio										
Day 80	1.20	1.23	1.15	1.38	1.07	1.06	1.05	1.13	0.99	1.13
Day 274	1.24	1.27	1.10	1.23	0.91†	1.00	0.93*	0.80†	1.03	0.95*
Calcium (mg/dL)										
Day 14	10.34	10.53	10.30	10.10†	10.14	10.06§	9.93	10.03†	10.13	9.97§
Day 80	10.30	10.50	10.35	10.20	10.23	9.96†	10.08	10.05	9.97*	10.07*
Day 274	10.04	10.01	9.98	9.70	9.67*	9.51	9.68	9.60	9.59†	9.25†
Phosphorus (mg/dL)										
Day 14	5.09	4.77	4.20*	4.20	4.36*	4.11*	4.45	3.95*	4.33*	4.13*
Day 80	4.97	-	4.18	-	4.30	-	4.48	-	4.07*	-
Day 274	4.04	3.69	3.45	3.45	3.26†	3.43	3.45	3.60	3.39*	2.97
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunophenotyping[g]										
Total T Cells (cells/µL)										
Day 14	0.52-1.20	0.90-1.41	4/4 (0.60-0.76)	4/4 (0.58-0.76)	7/7 (0.54-0.75)	6/7 (0.48-0.74)	3/4 (0.64-0.72)	4/4 (0.45-0.76)	6/7 (0.55-0.68)	6/7 (0.36-0.70)
Day 80	0.70-1.05	0.70-1.25	4/4 (0.32-0.56)	4/4 (0.28-0.36)	7/7 (0.22-0.53)	7/7 (0.30-0.53)	4/4 (0.34-0.50)	4/4 (0.28-0.42)	7/7 (0.28-0.54)	7/7 (0.20-0.53)
Day 274	0.70-1.13	0.86-1.46	4/4 (0.29-0.47)	4/4 (0.27-0.48)	7/7 (0.16-0.53)	7/7 (0.15-0.36)	4/4 (0.17-0.44)	4/4 (0.12-0.27)	7/7 (0.15-0.29)	6/6 (0.12-0.45)
Helper T Cells (cells/µL)										
Day 14	0.51-1.23	0.91-1.38	3/4 (0.62-0.72)	3/4 (0.56-0.66)	7/7 (0.53-0.77)	6/7 (0.45-0.75)	4/4 (0.63-0.79)	4/4 (0.45-0.79)	6/7 (0.57-0.72)	7/7 (0.33-0.77)
Day 80	0.72-1.05	0.64-1.26	4/4 (0.28-0.69)	4/4 (0.27-0.32)	7/7 (0.19-0.51)	7/7 (0.25-0.46)	4/4 (0.32-0.50)	4/4 (0.27-0.37)	7/7 (0.23-0.52)	7/7 (0.18-0.45)
Day 274	0.67-1.07	0.90-1.58	4/4 (0.27-0.57)	4/4 (0.25-0.47)	7/7 (0.15-0.61)	7/7 (0.16-0.37)	4/4 (0.17-0.46)	4/4 (0.13-0.32)	7/7 (0.13-0.32)	6/6 (0.12-0.51)
Cytotoxic T Cells (cells/µL)										
Day 14	0.59-1.21	0.79-1.40	2/4 (0.55-0.58)	4/4 (0.52-0.67)	7/7 (0.37-0.72)	6/7 (0.54-0.74)	4/4 (0.56-0.78)	3/4 (0.43-0.56)	6/7 (0.46-0.75)	6/7 (0.32-0.69)
Day 80	0.57-1.03	0.82-1.16	4/4 (0.29-0.62)	4/4 (0.23-0.40)	7/7 (0.27-0.51)	7/7 (0.37-0.59)	4/4 (0.39-0.57)	4/4 (0.29-0.57)	6/7 (0.33-0.60)	7/7 (0.22-0.64)
Day 274	0.73-1.33	0.89-1.56	4/4 (0.23-0.55)	4/4 (0.24-0.55)	7/7 (0.18-0.31)	7/7 (0.14-0.51)	4/4 (0.11-0.41)	4/4 (0.08-0.23)	7/7 (0.18-0.31)	6/6 (0.10-0.51)

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Study Number: 20099163

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		20 (10 BID)[b]		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Natural Killer Cells (cells/µL)										
Day 14	0.60-1.60	0.94-1.90	4/4 (0.22-0.47)	3/4 (0.41-0.44)	7/7 (0.35-0.63)	6/7 (0.37-0.57)	4/4 (0.14-0.41)	4/4 (0.10-0.78)	6/7 (0.29-0.52)	6/7 (0.06-0.71)
Day 80	0.55-2.16	0.97-2.35	4/4 (0.17-0.29)	4/4 (0.14-0.40)	7/7 (0.14-0.46)	7/7 (0.15-0.48)	4/4 (0.04-0.10)	4/4 (0.10-0.34)	7/7 (0.09-0.29)	7/7 (0.07-0.45)
Day 274	0.41-1.98	0.95-2.91	3/4 (0.21-0.35)	3/4 (0.18-0.51)	6/7 (0.20-0.61)	6/7 (0.28-0.62)	4/4 (0.03-0.50)	4/4 (0.14-0.64)	7/7 (0.02-0.31)	5/6 (0.13-0.55)
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Examination										
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
Skin										
Nodule	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Mass	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Cyst	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lung										
Pale focus	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Microscopic Examination										
Number Examined[h]	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Brain										
Axonal dystrophy, lateral superior olivary nucleus										
Minimal	0	1	0	1	3	3	3	1	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1
Axonal dystrophy, lateral lemniscus and/or ventral nucleus										
Minimal	0	0	0	0	3	2	4	3	3	4
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Axonal dystrophy, rostral vermis cerebellum (white matter)										
Minimal	0	0	2	2	3	3	4	3	0	2
Mild	0	0	2	2	1	1	0	1	3	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Study Number: 20099163

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		20 (10 BID)[b]		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spinal Cord										
Axonal dystrophy, white/gray matter										
Minimal	4	4	4	4	3	4	3	4	2	2
Mild	0	0	0	0	1	0	1	0	2	2
Sciatic Nerve										
Axonal dystrophy										
Minimal	0	0	0	0	2	2	0	2	2	2
Stomach										
Axonal dystrophy, vagus nerve branches										
Minimal	0	0	0	0	2	1	0	1	1	1
Axonal dystrophy, Auerbach's plexus										
Minimal	0	0	0	0	4	3	4	4	3	3
Duodenum										
Axonal dystrophy, vagus nerve branches										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Axonal dystrophy, Auerbach's plexus										
Minimal	0	0	0	0	1	1	0	1	3	2
Axonal dystrophy, Meissner's plexus										
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Jejunum										
Axonal dystrophy, Auerbach's plexus										
Minimal	0	0	0	0	2	1	1	1	2	1
Axonal dystrophy, Meissner's plexus										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Study Number: 20099163

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		20 (10 BID)[b]		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Ileum										
Axonal dystrophy, Auerbach's plexus										
Minimal	0	0	0	0	2	0	2	0	1	0
Axonal dystrophy, Meissner's plexus										
Minimal	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Cecum										
Axonal dystrophy, Auerbach's plexus										
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	2	1
Axonal dystrophy, Meissner's plexus										
Minimal	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
Colon										
Axonal dystrophy, Auerbach's plexus										
Minimal	0	0	0	0	0	2	0	0	2	1
Axonal dystrophy, Meissner's plexus										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Axonal dystrophy, vagus nerve branches										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Adrenal Gland										
Axonal dystrophy, autonomic Nerves										
Minimal	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Pancreas										
Axonal dystrophy, vagus nerve branches										
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Study Number: 20099163

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		20 (10 BID)[b]		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Heart										
Axonal dystrophy, vagus nerve branches										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Aorta										
Axonal dystrophy, vagus nerve branches										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen										
Axonal dystrophy, vagus nerve branches										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Decreased cellularity, lymphocyte										
Minimal	0	0	2	1	3	3	2	3	0	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2
Lymph Node, Mesenteric										
Axonal dystrophy, vagus nerve branches										
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	1	2	0
Decreased cellularity, lymphocyte										
Minimal	0	0	2	1	0	2	0	1	0	1
Mild	0	0	1	1	3	1	1	2	2	1
Moderate	0	0	1	0	1	1	3	1	2	1
Lymph Node, Popliteal										
Decreased cellularity, lymphocyte										
Minimal	0	0	1	3	0	1	0	1	0	1
Mild	0	0	1	1	4	0	4	0	4	0

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Study Number: 20099163

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		20 (10 BID)[b]		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Gut-Associated Lymphoid Tissue										
Decreased cellularity, lymphocyte										
Minimal	0	0	1	2	2	3	1	2	4	1
Mild	0	0	0	0	1	1	1	2	0	2
Kidney										
Axonal dystrophy, vagus nerve branches										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
Urinary Bladder										
Axonal dystrophy, Auerbach's Plexus										
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	2	2
Vagina										
Axonal dystrophy, Auerbach's plexus										
Minimal	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Thymus[h]										
Decreased cellularity, lymphocyte										
Minimal	0	0	3	2	1	2 (3)	1	0	2	0
Mild	2	0	1	0	1	0 (3)	2	3	2	4
Moderate	0	0	0	0	0	0 (3)	1	0	0	0
Bone Marrow, sternum[h]										
Decreased cellularity, all cell types										
Minimal	0	0	0	0 (3)	0	0	1	0	1	2
Lung										
Infiltration, mixed cell										
Minimal	1	1	2	0	2	1	2	2	3	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Study Number: 20099163

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		20 (10 BID)[b]		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Skin										
Hyperplasia with viral inclusions, epidermis										
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Inflammation, neutrophils										
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Inflammation, follicle										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Postdose Evaluation										
Number Examined	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3
Clinical Observations										
Red skin	3	3	NA	NA	3	3	NA	NA	3	3
Thin fur	0	2	NA	NA	2	3	NA	NA	3	3
Focal skin papules	0	1	NA	NA	2	2	NA	NA	2	3
Auditory (BAEP) Testing[f]										
3 Months (Recovery Phase):										
Severe auditory threshold deficits (70 dB)	0	0	NA	NA	0	0	NA	NA	1 (bilateral)	0
Abnormal morphology of Waves IV and V	0	0	NA	NA	0	0	NA	NA	1 (left)	0
End of Recovery Phase (6 Months):	-	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-	-

2.6.7.7E REPEAT-DOSE TOXICITY: DOG 9-MONTH (2)

Study Number: 20099163

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		20 (10 BID)[b]		40	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Microscopic Examination										
Number Examined	3	3	0	0	3	3	0	0	3	3
Brain										
Axonal dystrophy, rostral vermis cerebellum (white matter)										
Minimal	0	0	NA	NA	0	0	NA	NA	0	1

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01;§ p≤0.001, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Animals in the 20 (10 BID) mg/kg/day group were dosed twice daily, approximately 6 hours apart.
c. All samples were below assay limit of quantitation (1.00 ng/mL).
d. One female was euthanized on Day 218 due to clinical signs of distress associated with the anesthesia procedure performed for auditory testing.
e. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
f. Number of dogs in each group that had a hearing deficit that precluded processing an auditory signal, significant asymmetry in threshold across ears (defined as a difference across ears of >10 dB) or abnormal morphology of Waves IV and V of the BAEP (loss of clarity and amplitude for Waves IV and V of the BAEP). Mild hearing deficit defined as hearing deficit that precluded processing an auditory signal less than 46 dB SPL (ie, threshold ≥46 dB SPL). Severe hearing deficit defined as hearing deficit that precluded processing an auditory signal less than 60 dB SPL (ie, threshold ≥60 dB SPL).
g. For the ritlecitinib-dosed groups, the number of animals with test article-related changes out of the total number of animals in the dose group is shown. The numbers in parentheses are the range of values (ratio relative to baseline Day -12 values) for animals with test article-related changes.
h. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically when less than the total number of animals examined in the group.

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO MICROBIAL REVERSE MUTATION ASSAY

Report Title: PF-06651600: *Salmonella-E. coli*/Mammalian Microsome Reverse Mutation Assay

Test Article: Ritlecitinib

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Species/Strains: *Salmonella typhimurium, Escherichia coli*
Number of Independent Assays: 2
Number of Replicate Cultures: 3
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
S9 Batch Number: 3246
Study Number: WIL-655100
Sponsor Reference Number: [redacted]GR129
CTD Module Number: 4.2.3.3.1.1
Lot Number: [redacted]
Vehicles for Test Article and Positive Controls: DMSO
GLP Compliance: Yes
Treatment: Plate incorporation for 48 hours with and without metabolic activation
Dates of Treatment: [redacted] and [redacted] 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Reduction in the background lawn and/or mean number of revertant colonies at ≥2500 µg/plate in strain TA100 +/- S9 and at 5000 µg/plate in strain TA1537, TA98 and TA1535 +/- S9.
Genotoxic Effects: None

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	10±7	74±14	6±4	4±2	142±14
PF-06651600	25	9±5	79±10	10±0	1±0	144±12
PF-06651600	50	8±5	82±4	11±4	4±1	156±7
PF-06651600	100	12±5	73±7	7±2	5±1	157±14
PF-06651600	250	12±1	75±16	9±3	2±1	147±13
PF-06651600	500	9±4	86±21	8±6	8±2	157±25
PF-06651600	1000	15±4	79±5	8±3	2±1	142±39
PF-06651600	2500	8±3	67±8	7±4	3±2	126±15
PF-06651600	5000	8±2	51[a]±5	0[b]±0	2±3	121±8

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO MICROBIAL REVERSE MUTATION ASSAY

Study Number: WIL-655100

Test Article	Dose (µg/plate)	Initial Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
Positive controls						
2-Nitrofluorene	2.5	320±49	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	337±19	339±4	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	168±15	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	4262±102
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	14±2	80±13	5±3	5±0	154±6
PF-06651600	25	14±2	86±12	7±2	3±3	155±16
PF-06651600	50	13±5	82±17	6±2	3±2	156±1
PF-06651600	100	15±3	80±8	5±3	3±3	160±4
PF-06651600	250	13±4	79±15	6±1	6±2	153±32
PF-06651600	500	14±3	83±9	11±5	7±4	128±22
PF-06651600	1000	14±2	82±13	7±1	4±3	129±45
PF-06651600	2500	12±5	62±3	8±3	5±3	148±22
PF-06651600	5000	10±2	45±11	5[b]±2	2[c]±3	123±15
Positive controls						
2-Aminoanthracene	2.5	1176±213	753±106	83±12	141±48	NT
2-Aminoanthracene	10	NT	NT	NT	NT	2767±408

2.6.7.8A GENOTOXICITY: IN VITRO MICROBIAL REVERSE MUTATION ASSAY

Study Number: WIL-655100

Test Article	Dose (µg/plate)	Confirmatory Assay Revertant Colony Counts (Mean of 3 Plates ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*Escherichia coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2 uvrA pKM101
Without Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	8±3	64±2	7±1	7±3	105±8
PF-06651600	100	8±5	56±11	8±4	4±5	102±15
PF-06651600	250	9±3	60±12	9±2	3±3	84±15
PF-06651600	500	12±6	58±4	5±5	2±1	110±23
PF-06651600	1000	10±4	48±8	4±1	5±3	104±20
PF-06651600	2500	12[a]±3	38[b]±17	6±1	3±3	72±15
PF-06651600	5000	9[b]±1	11[b]±8	2[b]±2	3[b] ±1	81±17
Positive Controls						
2-Nitrofluorene	2.5	471±36	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	374±5	251±3	NT	NT
ICR-191 acridine	0.5	NT	NT	NT	237±47	NT
4-Nitroquinoline-N-oxide	2.0	NT	NT	NT	NT	3121±82
With Metabolic Activation						
Control (DMSO)	0.1 mL/plate	13±9	65±11	9±3	6±3	99±9
PF-06651600	100	14±3	75±8	8±4	4±1	100±4
PF-06651600	250	15±6	67±4	4±3	2±1	93±9
PF-06651600	500	11±4	56±6	5±2	4±1	97±16
PF-06651600	1000	13±2	58±3	11±7	3±1	99±6
PF-06651600	2500	7±3	49[b]±14	6[a]±4	5±0	85±23
PF-06651600	5000	6[b]±3	30[b]±3	6[b]±2	2[c]±3	89±3
Positive Controls						
2-Aminoanthracene	2.5	1226±29	706±175	85±7	221±119	NT
2-Aminoanthracene	10	NT	NT	NT	NT	1684±549

Criteria for significance: 2-fold (TA 98, TA 100, and WP2 uvrA pKM101) and 3-fold (TA 1535 and TA 1537) over controls.
a. Slightly reduced background lawn.
b. Cytotoxicity: reduced background lawn.
c. Cytotoxicity: >50% reduction in mean number of revertants.

2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO MICRONUCLEUS ASSAY

Report Title: PF-06651600: In Vitro Micronucleus Assay in TK6 Cells

Test Article: Ritlecitinib

Test for Induction of: Micronuclei
Test Cells: TK6 Lymphoblastoid Cells
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
S9 Batch Number: 3246
Vehicles for Test Article and Positive Controls: DMSO

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 2
Number of Cells Analyzed/Culture: 1000

Study Number: WIL-655099
Sponsor Reference Number: [redacted]GR130
CTD Module Number: 4.2.3.3.1.2
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Date(s) of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Treatment: 4-hour treatment without metabolic activation, 4-hour treatment with metabolic activation, and 27-hour treatment without metabolic activation.
Cytotoxic Effects: 51% reduction in RPD at 125 µg/mL in the 27-hour treatment without metabolic activation. No cytotoxicity (>50% reduction in RPD) in the 4-hour treatments with or without metabolic activation.
Genotoxic Effects: Statistically significant increase in the % of micronucleated mononucleate cells at 125 µg/mL in the 27-hour treatment without metabolic activation.

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]
4-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.15	NA	NA
PF-06651600	205	2000	16.38	0.20	1	NA
PF-06651600	242	2000	17.61	0.30	0.5073	
PF-06651600	285	2000	22.03	0.50	0.09176	
Mitomycin C	0.125	2000	42.59	3.25	<0.01†	NA
4-Hour Treatment With Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.30	NA	NA
PF-06651600	205	2000	27.86	0.25	1	NA
PF-06651600	242	2000	24.67	0.15	0.5073	
PF-06651600	285	2000	27.50	0.40	0.7902	
Cyclophosphamide	11.9	2000	30.44	1.45	<0.01†	NA

2.6.7.8B GENOTOXICITY: IN VITRO MICRONUCLEUS ASSAY Study Number: WIL-655099

Test Article	Dose (µg/mL)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[a] Mean %	% MN[b]	p Value[c]	Trend[d]
27-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	2000	0.00	0.25	NA	NA
PF-06651600	48.3	2000	16.74	0.30	1	<0.01
PF-06651600	66.3	2000	21.96	0.45	0.4231	
PF-06651600	125	2000	51.01	2.90	<0.01†	
Vinblastine Sulfate	0.0020	2000	37.58	3.05	<0.01†	NA

† p ≤0.01, significantly different from control based on Fishers Exact Test. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.

a. Toxicity = (100-RPD), where RPD= (the number of population doublings in the treated cultures/the number of population doublings in the negative control cultures) x 100.

b. % MN = (the total number of micronucleated mononucleates/ the total number of mononucleates analyzed).

c. P value based on a Fisher's Exact test <0.05 = significant. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.

d. Trend: a Cochran-Armitage test is performed. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.

2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO MECHANISTIC FOLLOW-UP

Report Title: Mechanistic Follow-Up Testing for In Vitro Micronucleus Results with PF-06651600

Test Article: Ritlecitinib

Test for Induction of: Micronuclei
Test Cells: TK6 Lymphoblastoid Cells
Metabolizing System: NA
Test Article Vehicle: DMSO
Cytotoxic Effects: Toxicity observed at ≥391 µM.
Genotoxic Effects: Genotoxicity observed at ≥352 µM.

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 1
Number of Cells Analyzed/Culture: 1000
Positive Control Vehicle: DMSO

Study Number: eTK620[redacted]-17[a]
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: No
S9 Batch Number: NA
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Test Article	Dose (µM)	Total Cells Analyzed for Micronuclei	Toxicity[b] Mean %	% MN[c]	p Value	Trend[d]
27-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	1000	0	1	NA	NA
PF-06651600	170	1000	15.5	0.9	0.676	<0.01†
PF-06651600	232	1000	19.2	1.4	0.269	
PF-06651600	352	1000	34.9	2.4	0.011*	
PF-06651600	391	1000	45.4	3.4	<0.01†	
PF-06651600	434	1000	50.8	4	<0.01†	
PF-06651600	482	1000	58	6.6	<0.01†	
Noscapine	11.1	1000	87.9	4.4	<0.01†	NA

*p < 0.05, †p < 0.01 = significant P value based on a Fisher's Exact test. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.
a. Study Numbers eTK620[redacted]-17, eTK620[redacted]-17 FISH, eTK620[redacted]-17 CA-1, eTK620[redacted]-17 Aneuploidy, and eTK620[redacted]-17 WB are summarized under Report [redacted]GTX10. (CTD Module Number: 4.2.3.3.1.3)
b. Toxicity = (100-RPD) x 100, where RPD= (the number of population doublings in the treated cultures/the number of population doublings in the negative control cultures) x 100.
c. % MN = (the total number of micronucleated mononucleates/ the total number of mononucleates analyzed).
d. Trend: a Cochran-Armitage test is performed. A full description of the statistical decision can be found in the final report for this study.

2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO MECHANISTIC FOLLOW-UP

Study Number: [redacted]GTX10

Test for Induction of: Centromere Positive and Centromere Negative Micronuclei
Test Cells: TK6 human lymphoblastoid cells
Treatment: 27-hour treatment without metabolic activation
Cytotoxic Effects: NA
Genotoxic Effects: Inconclusive (both centromere positive and negative micronuclei)

Number of Independent Assays: 1
Number of Slides: 1
Test Article Vehicle: DMSO

Study Number: eTK620[redacted]-17 FISH[a]
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: No
Date of Hybridization: [redacted] 20[redacted]

Test Article	Concentration (μM)	Total No. Micronuclei per 1000 cells[b]	Micronucleated Cells[c] (%)	Total No. Micronuclei Evaluated	Total No. C+ Micronuclei[d]	Total No. C- Micronuclei[e]	%C+[f]	%C-[g]
Solvent Control: DMSO	1%	10	1.0	32	12	20	37.5	62.5
PF-06651600	391	34	3.4	100	60	40	60.0	40.0
PF-06651600	482	66	6.6	100	54	46	54.0	46.0
Noscapine	11.1	44	4.4	100	74	26	74.0	26.0

a. Studies eTK620[redacted]-17, eTK620[redacted]-17 FISH, eTK620[redacted]-17 CA-1, eTK620[redacted]-17 Aneuploidy, and eTK620[redacted]-17 WB are summarized under Report [redacted]GTX10. (CTD Module Number: 4.2.3.3.1.3)
b. Total number of micronuclei observed per 1000 cells scored by microscopy using Acridine Orange method on separate slides as part of Study eTK620[redacted]-17 prior to FISH analysis.
c. % Micronucleated Cells = (# of micronucleated cells /total # cells scored) x 100.
d. Total number of evaluated micronuclei which displayed centromere signal.
e. Total number of evaluated micronuclei which did not display centromere signal.
f. %C+ = (Total C+)/(Total C+) + (Total C-) x 100.
g. %C- = (Total C-)/(Total C+) + (Total C-) x 100.

2.6.7.8C GENOTOXICITY: IN VITRO MECHANISTIC FOLLOW-UP

Study Number: [redacted]GTX10

Test for Induction of: Chromosome Aberration
Test Cells: TK6 Lymphoblastoid Cells
Metabolizing System: NA
Test Article Vehicle: DMSO
Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 1
Number of Cells Analyzed/Culture: 200
Positive Control Vehicle: DMSO

Study Number: TK620[redacted]-17-CA-1[a]
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: No
S9 Batch Number: NA
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Test Article	Dose (µM)	Total Cells Analyzed for Chromosome Aberration	Toxicity Mean[b] (%)	% Abnormal Cells[c]	p Value	Trend
27-Hour Treatment Without Metabolic Activation						
DMSO	1.0%	200	0	0	NA	NA
PF-06651600	182	200	13	1	NA	
PF-06651600	344	200	31	0	NA	
PF-06651600	609	200	51	1	NA	
Mitomycin C	0.6	100	58	18	NA	

a. Studies eTK620[redacted]-17, eTK620[redacted]-17 FISH, eTK620[redacted]-17 CA-1, eTK620[redacted]-17 Aneuploidy, and eTK620[redacted]-17 WB are summarized under Report [redacted]GTX10. (CTD Module Number: 4.2.3.3.1.3)
b. Toxicity = (100-RPD) x 100, where RPD= (the number of population doublings in the treated cultures/the number of population doublings in the negative control cultures) x 100.
c. % abnormal cells = (the number of abnormal cells/the total number of cells analyzed) x 100.

2.6.7.9 GENOTOXICITY: IN VIVO

Report Title: 8-Week Oral Gavage Toxicity and Micronucleus Assessment Study of PF-06651600 in Wistar Han IGS Rats

Test Article: Ritlecitinib

Test for Induction of: Peripheral blood micronuclei
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: ~ 9 Weeks
Cells Evaluated: RET and NCE
Special Features: None
Toxic/Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None

Treatment Schedule: 3 Consecutive Days
Sample Time: Day 4
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% Methylcellulose/Suspension
Number of Cells Analyzed/Animal: ~ 20,000 RET for micronuclei and for RET:NCE ratio

Study Number: [redacted]GR132[a]
CTD Module Number: 4.2.3.3.2.1
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Evidence of Exposure: Toxicokinetic parameters are presented on 2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity tabulated summary

Test Article	Dose[b] (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	RET (%) Mean ± SD		MNRET (%) Mean ± SD	
			Male	Female	Male	Female
PF-06651600	0	5M, 5F	2.7 ± 0.5	2.7 ± 0.4	0.13 ± 0.05	0.12 ± 0.04
PF-06651600	75	5M, 5F	2.6 ± 0.4	2.1 ± 0.8	0.12 ± 0.05	0.15 ± 0.05
PF-06651600	175	5M, 5F	2.2 ± 0.5	2.7 ± 0.6	0.12 ± 0.05	0.11 ± 0.03
PF-06651600	400	5M, 5F	2.3 ± 0.4	1.9 ± 0.3	0.12 ± 0.04	0.11 ± 0.03

A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
a. Assay conducted in 8-week repeat-dose toxicity study reported on 2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity tabulated summary.
b. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.

2.6.7.10A CARCINOGENICITY: TOLERABILITY AND TOXICOKINETIC STUDY

Test Article: Ritlecitinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/ Sex/Group	MTD (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Mouse/ C57BL/6NTac	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] A4M methylcellulose, 4000 cps, in reverse osmosis water/Suspension) Lot [redacted]	2 Weeks	0, 30, 100, 300, 1000	12 M, 12 F	100 mg/kg/day (M) 30 mg/kg/day (F)	**≥100 mg/kg/day**: mortality[b, c, d]. **100 mg/kg/day:** ataxia, hypoactivity, hunched, squinting eyes, limited use of left hind leg. **1000 mg/kg/day:** squinting eyes, hypoactivity, recumbency, cold to the touch (entire body); discolored (dark red) sections on spleen.	8390402 ([redacted]GR117)/No

Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes): Dose (mg/kg/day)	0	30	100	300	1000
Day 1					
C_{max} (ng/mL)	NA[e]	2400	19300	48400	96700
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[e]	4330	38900	191000	NA[d]
Day 14					
C_{max} (ng/mL)	NA[e]	1700	13100	36200	NA[d]
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[e]	3440	23300	86300	NA[d]

a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. At 100 mg/kg/day, 1 female was euthanized on Day 8 at approximately 4 hours postdose. This animal lost 13% body weight from Days 1 to 8 and was noted with squinted eyes on Day 6. At necropsy, there were no remarkable macroscopic observations.
c. At 300 mg/kg/day, 1 male and 1 female were found dead at the 1 hour postdose observation period on Days 7 or 8. Animals had no prior abnormal clinical observations or changes in body weight. At necropsy there were no remarkable macroscopic observations. Deaths were considered test article-related based on clinical observations for the euthanized female administered 100 mg/kg/day that were consistent with moribund euthanasia animals at 1000 mg/kg/day.
d. At 1000 mg/kg/day, at least 9 of 24 animals were in a moribund condition by approximately 4 hours postdose on Day 1 and euthanized. Blood samples were collected for toxicokinetic analysis and the remaining animals administered 1000 mg/kg/day were euthanized; AUC was not calculated due to insufficient data.
e. All samples below assay limit of quantitation (1.0 ng/mL).

2.6.7.10B CARCINOGENICITY: DOSE RANGE FINDING STUDY

Report Title: 1-Month Oral Gavage Dose Range-Finding Study of PF-06651600-15 in rasH2 (wt/wt) Mice

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain: Mice/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (rasH2 [wt/wt])
Age at First Dose: 8 to 9 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Duration of Dosing: 28 Days
Duration of Postdose: None
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: 8392586
Sponsor Reference Number: [redacted]GR173
CTD Module Number: 4.2.3.4.2.2
Lot Number: [redacted]
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose, 4000 cps, in reverse osmosis water/Suspension
GLP Compliance: Yes
Basis for High Dose Selection: The doses were based on the results from a 2-week exploratory tolerability and toxicokinetic study in mice (8390402). The high dose was expected to be at or near the MTD and the 2 lower doses were expected to provide a dose-response relationship.
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 450 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**75**		**225**		**450**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicokinetics	9	9	12	12	12	12	12	12
Toxicokinetics – Day 28:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)	NA[b]		5770		20600		32400	
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]		10600		48800		105000	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	1[c]	1[c]	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	1[d]	1[d]	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.10B CARCINOGENICITY: DOSE RANGE FINDING STUDY

Study Number: 8392586

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**75**		**225**		**450**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Hematology/Coagulation – Day 29								
Mean corpuscular volume (fL)	51.0	53.0	50.4	50.8	50.3	51.0	49.6*	50.4*
Reticulocytes (10^3/µL)	257.3	-	253.5	-	239.0	-	193.5*	-
White blood cells (10^3/µL)	3.72	-	2.54	-	2.27	-	1.83	-
Lymphocytes (10^3/µL)	3.03	2.51	1.85	1.34	1.70	1.10	1.21	1.05
Eosinophils (10^3/µL)	0.09	-	0.06	-	0.05	-	0.03*	-
Clinical Chemistry								
Glucose (mg/dL)	246	-	280	-	236	-	309*	-
Sodium (mmol/L)	153	-	151	-	153	-	150*	-
Organ Weights[e]								
Thymus								
Absolute (g)	0.0456	0.0670	1.17	0.73*	0.94	0.76	0.86	0.66*
Relative (g/100 g body weight)	0.1529	0.2882	1.19	0.75	0.94	0.78	0.87	0.66*
Relative (g/g brain weight)	9.6836	14.2036	1.17	0.71*	0.94	0.74	0.84	0.68*
Spleen								
Absolute (g)	0.0816	0.0926	0.90	0.66*	0.75*	0.70*	0.72*	0.64*
Relative (g/100 g body weight)	0.2752	0.3963	0.90	0.68*	0.74*	0.72*	0.72*	0.66*
Relative (g/g brain weight)	17.2856	19.4527	0.90	0.64*	0.75*	0.69*	0.73*	0.65*
Macroscopic Examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Microscopic Examination[f]								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Spleen								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	5	2	4	6
Mild	0	0	0	0	1	1	0	1
Thymus								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	0	2 (9)	0	0 (9)	7
Mild	0	0	0	0	0 (9)	0	6 (9)	2
Moderate	0	0	0	0	1 (9)	0	1 (9)	0

2.6.7.10B CARCINOGENICITY: DOSE RANGE FINDING STUDY

Study Number: 8392586

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		75		225		450	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Lymph Node, Mesenteric								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0 (9)	0	0	0	2	5	5	7
Mild	0 (9)	0	0	0	1	0	0	0
Lymph Node, Inguinal								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0 (7)	0	0 (9)	0 (9)	2 (9)	1 (8)	7 (9)	4 (7)
Liver								
Infiltrate, mononuclear cell								
Minimal	6	9	3	2	0	0	0	1
Mild	0	1	0	0	0	0	0	0

∗ p ≤0.05; significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety. Dose concentrations were corrected for the lot specific potency using a correction factor of 1.656.
b. All samples below assay limit of quantitation (1.00 ng/mL).
c. Male at 225 mg/kg/day was euthanized moribund on Day 27. Female at 225 mg/kg/day was euthanized moribund on Day 14; deaths were considered gavage related.
d. Female at 225 mg/kg/day was euthanized moribund on Day 15 due to tail injury. Male at 450 mg/kg/day was found dead on Day 16 with no recorded abnormal observations; necropsies were not conducted on toxicokinetic animals.
e. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
f. Number in ( ) indicates total number of organs/tissues examined microscopically when less than the total number of animals examined in the group.

2.6.7.10C CARCINOGENICITY: TRANSGENIC MOUSE 6-MONTH

Report Title: 6-Month Oral Gavage Carcinogenicity Study of PF-06651600 in Hemizygous rasH2 Transgenic (tg/wt) Mice

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain: Mouse/rasH2 transgenic hemizygous (tg/wt) and wild-type (wt/wt)[a]
Duration of Dosing: 26 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Study Number: 8400625
Sponsor Reference Number: [redacted]GR034
Age at First Dose: 8 to 9 Weeks
CTD Module Number: 4.2.3.4.2.3
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Lot Number: [redacted]
Vehicle Control Article/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose (4000 cps) in reverse osmosis water/Suspension
GLP Compliance: Yes
Positive Control: MNU in 150 mM sodium chloride and 15 mM sodium citrate in reverse osmosis water adjusted to pH 4.5 ± 0.1 with 1 N HCl[b]
Basis for High-Dose Selection: The high dose was selected to represent one-third the lethal dose of 1000 mg/kg/day from the 2-week tolerability and toxicokinetic study in mice (8390402). The intermediate and low doses were selected to evaluate a gradation of doses and exposures.
Special Features: None

Dose[c] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**30**		**100**		**300**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Carcinogenicity - Hemizygous	25	25	25	25	25	25	25	25
Toxicokinetics – Wild-type	9	9	12	12	12	12	12	12
Toxicokinetics: Day 28	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)	NA[d]		1460		6980		20000	
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[d]		2750		14700		55100	
Died or Sacrificed Moribund								
Carcinogenicity[e]	1	1	2	4	1	2	2	3
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0
Survival of Carcinogenicity Animals (%)	96	100	96	84	96	92	92	81
Body Weight[f]								
Day 36	-	19.8	-	0.99	-	0.98	-	0.96
Day 64	-	20.5	-	0.99	-	0.97	-	0.96*
Day 85	-	21.2	-	0.98	-	0.95*	-	0.95*
Day 99	-	21.5	-	0.95*	-	0.95*	-	0.94*
Day 120	-	21.3	-	0.98	-	0.99	-	0.97
Day 162	-	21.9	-	0.99	-	0.99	-	0.96
Day 182	-	21.9	-	1.0	-	1.0	-	0.96
Body Weight Change[f]								
Day 1-182	-	2.8	-	1.1	-	0.93	-	0.64*

2.6.7.10C CARCINOGENICITY: TRANSGENIC MOUSE 6-MONTH Study Number: 8400625

Findings with PF-06651600								
Dose[c] (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Food Consumption (g/animal/day)[f]								
Days 57-64	-	4.3	-	0.70	-	0.60	-	0.60
Days 78-85	-	5.0	-	0.60	-	0.66	-	0.58*
Days 85-92	-	3.6	-	0.83	-	0.81	-	0.78*
Days 99-106	-	3.6	-	0.78	-	0.97	-	0.69*
Days 106-113	-	4.3	-	0.70	-	0.67	-	0.65*
Days 120-127	-	2.9	-	1.3	-	0.90	-	0.86*
Days 176-182	-	3.2	-	1.0	-	1.1	-	0.84
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Neoplastic Lesions - Test Article-Related	-	-	-	-	-	-	-	-
Neoplastic Lesions – Incidental/Spontaneous								
Number Examined	25	25	25	25	25	25	25	25
Adipose: N-Sarcoma, metastatic	0	0	0	1	0	0	0	0
Epididymis: Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Femur: N-Sarcoma, metastatic	0	0	0	1	0	0	0	0
Harderian Gland:								
B-Adenoma	0	1	0	1	0	1	0	0
(M)-Carcinoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Hemolymphoreticular System: (M)-Malignant lymphoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Limb: (M)-Hemangiosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Liver:								
B-Adenoma, hepatocellular	0	0	0	0	0	0	1	0
N-Sarcoma, metastatic	0	0	0	0	0	0	1	0
Lung:								
B-Adenoma, bronchiolo-alveolar	3	1	1	1	1	0	2	2
(M)-Carcinoma, bronchiolo-alveolar	1	0	0	0	0	0	0	0
Lymph Node, Mesenteric: (M)-Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Mammary Gland: (M)-Carcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Muscle, Biceps Femoris: N-Sarcoma, metastatic	0	0	0	1	0	0	0	0
Muscle, Skeletal, Other: (M)-Hemangiosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Nasal Turbinate: (M)-Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.10C CARCINOGENICITY: TRANSGENIC MOUSE 6-MONTH Study Number: 8400625

Findings with PF-06651600								
Dose[c] (mg/kg/day)	0 (Control)		30		100		300	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Ovary:								
B-Hemangioma	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
(M)-Hemangiosarcoma	NA	0	NA	1	NA	0	NA	1
Skin/Subcutis: (M)-Hemangiosarcoma	0	0	0	1	0	1	0	0
Spleen:								
(F)-Hemolymphoreticular tumor	0	0	0	1	0	0	0	0
(M)-Hemangiosarcoma	1	5	1	5	2	1	3	3
Stomach, Glandular: N-Sarcoma, metastatic	0	0	0	1	0	0	0	0
Stomach, Nonglandular:								
B-Papilloma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	0	1
Thymus:								
B-Thymoma, benign	0	0	0	1	0	0	0	0
(F)-Hemolymphoreticular tumor	0	0	0	1	0	0	0	0
Macroscopic Examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	25	25	25	25	25	25	25	25
Nonneoplastic Microscopic Examination								
Number Examined[g]	25	25	25	25	25	25	25	25
Lymph node, Inguinal								
Decreased cellularity, lymphoid, minimal	0 (24)	0 (23)	0 (20)	1 (21)	2 (23)	4 (22)	7 (19)	6 (24)
Liver								
Infiltrate, mixed cell, minimal	13	24	8	12	4	12	3	7

2.6.7.10C CARCINOGENICITY: TRANSGENIC MOUSE 6-MONTH Study Number: 8400625

Findings with Positive Control		
Sex	**M**	**F**
Number of Animals – Hemizygous	15	15
Died or Sacrificed Moribund	14	13
Survival (%) Week 26	7	13
Microscopic Neoplastic Lesions[g,h]		
Bone, Other: (F)-Hemolymphoreticular tumor	1 (1)	0 (0)
Bone, Other: (M)-Carcinoma	1 (1)	0 (0)
Kidney: (F)-Hemolymphoreticular tumor	2 (2)	0 (0)
Liver: (F)-Hemolymphoreticular tumor	2 (2)	4 (4)
Lymph Node, Inguinal: (F)-Hemolymphoreticular tumor	5 (5)	1 (2)
Lymph Node, Mesenteric: (F)-Hemolymphoreticular tumor	2 (2)	3 (3)
Lymph Node, Other: (F)-Hemolymphoreticular tumor	10 (10)	6 (7)
Mammary Gland: (M)-Carcinoma	0 (0)	1 (1)
Ovary: (F)-Hemolymphoreticular tumor	NA	1 (1)
Skin/Subcutis: B-Papilloma, squamous cell	5 (5)	3 (4)
Skin/Subcutis: (M)-Hemangiosarcoma	0 (5)	1 (4)
Spleen: (F)-Hemolymphoreticular tumor	10 (10)	6 (7)
Stomach, nonglandular: B-Papilloma, squamous cell	6 (10)	5 (11)
Stomach, nonglandular: (M)-Carcinoma, squamous cell	2 (10)	0 (11)
Thymus: (F)-Hemolymphoreticular tumor	13 (15)	13 (15)

2.6.7.10C CARCINOGENICITY: TRANSGENIC MOUSE 6-MONTH Study Number: 8400625

Findings with Positive Control		
Sex	**M**	**F**
Noteworthy Findings		
Macroscopic Examination		
Number Examined[g]	15	15
Bone, other – confirmed mass	1 (1)	0 (0)
Clitoral Gland – confirmed mass	NA	1
Duodenum – confirmed mass	0	1
Skin/Subcutis – confirmed mass	1	1
Stomach – confirmed mass	1	0
Thymus – confirmed mass	3	1

∗ p ≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study. For MNU, statistical analysis limited to lymphoma and stomach papilloma and carcinoma.
- = No noteworthy findings; B = primary, benign neoplasm; (F) = infiltrating neoplasm; (M) = primary, malignant neoplasm; N = metastatic neoplasm.
a. Carcinogenicity and positive control animals were rasH2 (001178-T [hemizygous], CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic) and toxicokinetic animals were rasH2 (001178-W [wild-type], CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic).
b. Positive controls (15/sex) were dosed once with 75 mg/kg MNU via intraperitoneal injection on Day 1.
c. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
d. All samples below assay limit of quantitation (1.00 ng/mL).
e. No ritlecitinib-related mortality or effects on survival were noted.
f. Group means in grams are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance was based on actual data and not on the multiples.
g. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically when less than the total number of animals examined in the group.
h. The survival incidence and MNU-related neoplasia, predominant masses noted macroscopically, and hematopoietic neoplasms noted microscopically, were consistent with the published data for rasH2 mice administered MNU.

2.6.7.10D CARCINOGENICITY: RAT 104-WEEK

Report Title: 104-Week Oral Gavage Carcinogenicity Study with PF-06651600 in Rat

Test Article: Ritlecitinib

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

Duration of Dosing: 104 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose, 4000 cps, in reverse osmosis water/Suspension
Treatment of Controls: Vehicle

Study Number: 8384525 ([redacted]MA002)
CTD Module Number: 4.2.3.4.1.1
Lot Number: [redacted], [redacted], [redacted], [redacted]
GLP Compliance: Yes

Basis for High-Dose Selection: The high dose was based on evidence of immunosuppression and alpha$_{2\mu}$-globulin nephropathy in animals at ≥50 mg/kg/day as well as lower body weight in animals administered 200 mg/kg/day in previous 6-month study in Wistar Han rats (20070067). The low and intermediate doses were selected to assess a gradation of exposures comparable to or more than those tested clinically.
Special Features: None

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10 (Low)**		**30 (Intermediate)**		**100 (High)**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Carcinogenicity	60	60	60	60	60	60	60	60
Toxicokinetics	5	5	5	5	5	5	5	5
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 179/180	NA[b]		1390		4820		19300	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 179/180	NA[b]		2990		10100		47000	
Died or Euthanized Moribund								
Carcinogenicity	24	21	28	15	26	20	29	20
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0
Survival of Carcinogenicity Animals (%)	60	65	53	75	57	67	52	67
Body Weight (g)[c]								
Day 8	229	174	1.00	1.00	1.00	0.99	0.99	0.97
Day 92	416	246	1.00	0.98	0.99	0.97	0.94*	0.93*
Day 176	483	265	1.00	0.99	0.98	0.98	0.94*	0.92*
Day 372	581	316	1.00	0.96	0.97	0.95	0.92*	0.87*
Day 540	655	363	0.99	0.93	0.95	0.93	0.90*	0.85*
Day 729	691	378	0.96	0.90*	0.92*	0.95	0.85*	0.84*
Food Consumption (g/animal/day)[c]								
Day 22 - 29	23	-	1.00	-	0.96	-	0.96*	-
Day 652 - 659	24	17	1.00	0.94	0.92	0.94*	0.83*	0.94*

2.6.7.10D CARCINOGENICITY: RAT 104-WEEK

Study Number: 8384525

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10 (Low)		30 (Intermediate)		100 (High)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations								
Appearance, thin	0	7	0	18	0	20	0	18
Mass Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Neoplastic Lesions - Drug-Related								
Number Examined[d]	60	60	60	60	60	60	60	60
Thymus								
B-Thymoma	2 (56)	8 (58)	5 (58)	7 (57)	3 (52)	14 (58)	7 (53)	16 (56)
Hyperplasia								
Mild	0 (56)	2 (58)	0 (58)	1 (57)	0 (52)	1 (58)	0 (53)	1 (56)
Moderate	0 (56)	1 (58)	0 (58)	3 (57)	0 (52)	2 (58)	0 (53)	2 (56)
Marked	0 (56)	1 (58)	0 (58)	0 (57)	0 (52)	0 (58)	0 (53)	4 (56)
Thyroid								
Adenoma, Follicular Cell	7	2	12	4	13	4	19 (59)	6
Hyperplasia, Follicular Cell								
Minimal	2	1	2	2	2	3	3 (59)	1
Mild	5	0	8	1	3	1	3 (59)	2
Moderate	0	1	1	1	3	1	2 (59)	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1 (59)	0
Neoplastic Lesions - Incidental/Spontaneous								
Number Examined[d]	60	60	60	60	60	60	60	60
Adipose, Other								
B-Fibroma	0 (3)	0 (5)	0 (3)	1 (6)	0 (4)	0 (7)	0 (4)	0 (4)
B-Hibernoma	0 (3)	0 (5)	0 (3)	1 (6)	1 (4)	2 (7)	1 (4)	0 (4)
B-Lipoma	0 (3)	2 (5)	0 (3)	0 (6)	0 (4)	0 (7)	0 (4)	0 (4)
N-Carcinoma, metastatic	0 (3)	0 (5)	1 (3)	0 (6)	1 (4)	0 (7)	0 (4)	0 (4)
Adrenal, Cortex								
B-Adenoma	2	1	1	1	1	2	2	0
(M)-Carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Adrenal, Medulla								
B-Pheochromocytoma	5	1	1	0	3	0	1	3
(M)-Malignant pheochromocytoma	0	0	1	0	2	0	0	0

2.6.7.10D CARCINOGENICITY: RAT 104-WEEK

Study Number: 8384525

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10 (Low)		30 (Intermediate)		100 (High)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Brain								
(M)-Malignant ependymoma	0	0	0	0	0	0	0	1
(M)-Malignant glioma	0	0	1	0	0	0	0	0
(M)-Malignant oligodendroglioma	1	0	0	0	0	0	0	0
Cecum								
(F)-Hematolymphoid tumor	0	1 (59)	0	0	0	0	0 (58)	0
Cervix								
B-Papilloma, squamous cell	NA	1 (59)	NA	0	NA	0 (59)	NA	0
(F)-Hematolymphoid tumor	NA	1 (59)	NA	0	NA	0 (59)	NA	0
I-Sarcoma, locally invasive	NA	1 (59)	NA	0	NA	0 (59)	NA	0
(M)-Leiomyosarcoma	NA	0 (59)	NA	0	NA	0 (59)	NA	1
Clitoral Gland								
B-Adenoma	NA	0 (2)	NA	0 (1)	NA	1 (7)	NA	0 (5)
(M)-Adenocarcinoma	NA	0 (2)	NA	1 (1)	NA	0 (7)	NA	0 (5)
(M)-Carcinoma, squamous cell	NA	0 (2)	NA	0 (1)	NA	1 (7)	NA	1 (5)
Colon								
N-Carcinoma, metastatic	0	0 (59)	0	0	1	0	0 (59)	0
Duodenum								
I-Carcinoma, locally invasive	0	1 (59)	0	0	0	0	0 (59)	0
Epididymis								
(F)-Hematolymphoid tumor	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
(M)-Malignant mesothelioma	3	NA	1	NA	2	NA	0	NA
GALT/Peyer's Patch								
(F)-Hematolymphoid tumor	0 (57)	1 (58)	0 (58)	0 (58)	0 (57)	0	0 (49)	0 (53)
Harderian Gland								
(F)-Hematolymphoid tumor	0	1	0	0	0	0	0	0 (59)
Heart								
(F)-Hematolymphoid tumor	0	1	0	0	0	0	0	0
N-Malignant thymoma, metastatic	0	0	0	0	0	0	0	1
Hemolymphoreticular system								
(M)-Histiocytic sarcoma	0	1	0	0	0	0	1	0
N-Malignant lymphoma	0	1	0	0	0	0	1	0

2.6.7.10D CARCINOGENICITY: RAT 104-WEEK

Study Number: 8384525

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10 (Low)		30 (Intermediate)		100 (High)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Jejunum								
B-Leiomyoma	0	0 (59)	0	1 (59)	0	0	0 (59)	1
N-Carcinoma, metastatic	0	0 (59)	0	0 (59)	1	0	0 (59)	0
Kidney								
(F)-Hematolymphoid tumor	0	1	0	0	0	0	1	0
(M)-Liposarcoma	0	0	1	0	0	1	0	0
(M)-Nephroblastoma	1	0	0	0	0	0	0	0
N-Carcinoma, metastatic	0	0	0	0	1	0	0	0
Lacrimal Gland								
(M)-Malignant schwannoma	0 (1)	NA (0)	0 (2)	NA (0)	1 (1)	NA (0)	0 (2)	NA (0)
Liver								
(F)-Hematolymphoid tumor	0	2	0	0	0	0	2	0
(M)-Carcinoma, hepatocellular	0	1	0	0	0	0	1	0
N-Carcinoma, metastatic	0	0	0	0	1	0	0	0
Lung								
B-Adenoma, bronchiolo-alveolar	0	0	0	0	1	0	0	0
(F)-Hematolymphoid tumor	0	1	0	0	0	0	0	0
(M)-Carcinoma, bronchiolo-alveolar	0	0	0	0	1	0	1	0
N-Carcinoma, metastatic	1	0	1	0	0	1	1	0
Lymph Node, Inguinal								
B-Hemangioma	0 (55)	0 (55)	0 (54)	0 (55)	0 (53)	0 (53)	0 (52)	1 (56)
(F)-Hematolymphoid tumor	0 (55)	1 (55)	0 (54)	0 (55)	0 (53)	0 (53)	0 (52)	0 (56)
Lymph Node, Mesenteric								
B-Hemangioma	7	2	6 (59)	2	8	1	8	0
(F)-Hematolymphoid tumor	0	1	0 (59)	0	0	0	2	0
(M)-Hemangiosarcoma	1	1	4 (59)	0	3	0	2	0
Lymph Node, Other								
(F)-Hematolymphoid tumor	0 (1)	1 (3)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	1 (2)	0 (3)

2.6.7.10D CARCINOGENICITY: RAT 104-WEEK

Study Number: 8384525

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10 (Low)		30 (Intermediate)		100 (High)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Mammary Gland								
B-Adenolipoma	1 (53)	0 (58)	0 (45)	0	0 (52)	1	0 (49)	0
B-Adenoma	0 (53)	1 (58)	0 (45)	1	0 (52)	0	0 (49)	1
B-Fibroadenoma	1 (53)	9 (58)	1 (45)	10	0 (52)	3	0 (49)	3
(F)-Hematolymphoid tumor	0 (53)	1 (58)	0 (45)	0	0 (52)	0	0 (49)	0
(M)-Carcinoma	0 (53)	3 (58)	0 (45)	4	0 (52)	0	0 (49)	1
(M)-Carcinoma arising in fibroadenoma	0 (53)	0 (58)	0 (45)	1	0 (52)	0	0 (49)	0
(M)-Carcinoma, adenosquamous	0 (53)	0 (58)	0 (45)	1	0 (52)	0	0 (49)	0
Mandibular Salivary Gland								
(M)-Carcinoma	1	0	0	1	0	0	0	0
Marrow, sternum								
(F)-Hematolymphoid tumor	0	1	0	0	0	0	1	0
Muscle, Biceps								
I-Sarcoma, locally invasive	1	0	0	0	0	0	0	0
Muscle, Skeletal, Other								
(M)-Fibrosarcoma	0 (1)	NA (0)	NA (0)	1 (1)	NA (0)	0 (1)	NA (0)	NA (0)
(M)-Schwannoma, malignant	0 (1)	NA (0)	NA (0)	0 (1)	NA (0)	1 (1)	NA (0)	NA (0)
Ovary								
B-Granulosa/theca cell tumor	NA	2	NA	1	NA	1 (59)	NA	0
(F)-Hematolymphoid tumor	NA	1	NA	0	NA	0 (59)	NA	0
(M)-Carcinoma, embryonal	NA	1	NA	0	NA	0 (59)	NA	0
(M)-Cystadenocarcinoma	NA	1	NA	0	NA	0 (59)	NA	2
(M)-Thecoma, malignant	NA	0	NA	1	NA	1 (59)	NA	0
Oviduct								
(F)-Hematolymphoid tumor	NA	1	NA	0 (59)	NA	0 (59)	NA	0 (59)
(M)-Leiomyosarcoma	NA	0	NA	1 (59)	NA	0 (59)	NA	0 (59)
Pancreas								
B-Adenoma, islet cell	4	1 (59)	1	0	0	0	0	0
(F)-Hematolymphoid tumor	0	1 (59)	0	0	0	0	1	0
(M)-Carcinoma, islet cell	0	0 (59)	0	0	0	0	1	1
N-Carcinoma, metastatic	0	0 (59)	0	0	1	0	0	0
Parathyroid								
B-Adenoma	0 (58)	0	0 (58)	1 (58)	0 (58)	0 (57)	0 (58)	0 (58)

2.6.7.10D CARCINOGENICITY: RAT 104-WEEK

Study Number: 8384525

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10 (Low)		30 (Intermediate)		100 (High)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Parotid Salivary Gland								
(M)-Carcinoma	1 (1)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	NA (0)
Pituitary								
B-Adenoma	18	31	17 (59)	29	17 (59)	31	14	25
Preputial Gland								
(M)-Sarcoma, NOS	1 (6)	NA	0 (1)	NA	0 (5)	NA	0 (4)	NA
Prostate								
B-Adenoma	4	NA	1	NA	2	NA	2 (59)	NA
(F)-Hematolymphoid tumor	0	NA	0	NA	0	NA	1 (59)	NA
Seminal Vesicle								
(F)-Hematolymphoid tumor	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
(M)-Carcinoma	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Skin/Subcutis								
B-Adenoma, sebaceous	0	0	1	0	0	0	0	0
B-Basal cell tumor	0	0	1	0	1	0	0	0
B-Fibroma	2	0	2	1	3	0	2	0
B-Hemangioma	0	1	0	0	1	0	0	0
B-Keratoacanthoma	6	0	5	0	3	0	1	0
B-Lipoma	3	0	0	0	0	1	0	0
B-Papilloma, squamous cell	0	0	2	0	0	0	0	0
B-Tumor, hair follicle, benign	0	0	0	0	0	1	0	0
I-Sarcoma, locally invasive	1	0	0	0	0	0	0	0
(M)-Carcinoma, squamous cell	1	0	0	0	0	0	0	0
(M)-Fibrosarcoma	1	0	0	0	1	0	0	0
(M)-Fibrosarcoma, pleomorphic	1	0	1	1	0	0	1	0
(M)-Liposarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
(M)-Malignant schwannoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Spinal Cord								
(M)-Malignant astrocytoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Spleen								
(M)-Hematolymphoid tumor	0	2	0	0	0	0	1	0
(M)-Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
N-Sarcoma, metastatic	0	1	0	0	0	0	1	0

2.6.7.10D CARCINOGENICITY: RAT 104-WEEK

Study Number: 8384525

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10 (Low)		30 (Intermediate)		100 (High)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Stomach, Glandular								
(F)-Hematolymphoid tumor	0	1 (59)	0	0	0	0	0	0
I-Sarcoma, locally invasive	1	0 (59)	0	0	0	0	0	0
(M)-Carcinoma	1	1 (59)	0	0	0	0	0	0
(M)-Sarcoma, NOS	0	1 (59)	0	0	0	0	0	0
(M)-Schwannoma, malignant	0	1 (59)	0	0	0	0	0	0
N-Carcinoma, metastatic	0	0 (59)	0	0	1	0	0	0
Testis								
B-Interstitial cell tumor	4	NA	4	NA	6	NA	5	NA
N-Mesothelioma, metastatic	2	NA	1	NA	2	NA	0	NA
Thymus								
B-Cystadenoma, multilocular	0 (56)	1 (58)	0 (58)	0 (57)	0 (52)	0 (58)	0 (53)	0 (56)
B-Thymoma	2 (56)	8 (58)	5 (58)	7 (57)	3 (52)	14 (58)	7 (53)	16 (56)
(F)-Hematolymphoid tumor	0 (56)	1 (58)	0 (58)	0 (57)	0 (52)	0 (58)	1 (53)	0 (56)
(M)-Malignant thymoma	0 (56)	0 (58)	0 (58)	0 (57)	0 (52)	1 (58)	1 (53)	2 (56)
Thyroid								
B-Adenoma, C-cell	10	7	8	5	3	5	4 (59)	3
B-Adenoma, follicular cell	7	2	12	4	13	4	19 (59)	6
(M)-Carcinoma, C-cell	0	0	0	0	0	1	0 (59)	0
(M)-Carcinoma, follicular cell	2	0	1	1	1	2	4 (59)	0
Ureter								
(F)-Hematolymphoid tumor	0 (58)	1 (59)	0 (57)	0 (58)	0 (59)	0 (57)	0 (58)	0 (59)
Urinary Bladder								
(F)-Hematolymphoid tumor	0	0	0 (59)	0	0	0 (59)	1 (59)	0
N-Carcinoma, metastatic	0	0	0 (59)	0	1	0 (59)	0 (59)	0
Uterus								
B-Polyp, endometrial stromal	NA	3	NA	3	NA	3 (59)	NA	4
(M)-Adenocarcinoma, endometrial	NA	1	NA	0	NA	0 (59)	NA	0
(M)-Adenosquamous carcinoma	NA	0	NA	1	NA	0 (59)	NA	0
(M)-Carcinoma, squamous cell	NA	0	NA	0	NA	1 (59)	NA	0
(M)-Hemangiosarcoma	NA	0	NA	1	NA	1 (59)	NA	0
(M)-Leiomyosarcoma	NA	0	NA	1	NA	0 (59)	NA	0
(M)-Sarcoma, endometrial stromal	NA	1	NA	1	NA	1 (59)	NA	0
(M)-Schwannoma, malignant	NA	1	NA	0	NA	0 (59)	NA	0

2.6.7.10D CARCINOGENICITY: RAT 104-WEEK

Study Number: 8384525

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10 (Low)		30 (Intermediate)		100 (High)	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Vagina								
B-Tumor, granular cell, benign	NA	1	NA	0 (59)	NA	0 (59)	NA	0
(F)-Hematolymphoid tumor	NA	1	NA	0 (59)	NA	0 (59)	NA	0
(M)-Carcinoma, squamous cell	NA	0	NA	0 (59)	NA	0 (59)	NA	1
Zymbal Gland								
(M)-Carcinoma	1 (1)	NA (0)	2 (3)	NA (0)	NA (0)	NA (0)	1 (1)	NA (0)
Noteworthy Findings								
Macroscopic Examination								
Number Examined	60	60	60	60	60	60	60	60
Thymus								
Abnormal shape	0	0	0	0	0	0	1	1
Large	0	3	2	2	1	3	3	1
Mass	0	3	3	3	2	5	0	9
Thyroid								
Large	3	0	1	1	7	2	10	1
Mass	2	0	1	0	2	1	1	0
Nonneoplastic Microscopic Examination								
Number Examined[d]	60	60	60	60	60	60	60	60
Kidney								
Pigment, tubule cell								
Minimal	26	31	25	31	28	38	36	33
Mild	2	8	3	8	1	7	16	20
Liver								
Multinucleated hepatocytes, increased								
Minimal	0	0	0	0	0	2	0	5
Mild	0	0	0	0	0	1	0	2
Infiltrate, mononuclear cell								
Minimal	45	39	38	29	43	34	15	14
Mild	4	3	1	1	0	1	0	0
Lymph Node, Mesenteric								
Cellularity, decreased, lymphocytes								
Minimal	5	6	3 (59)	5	3	10	18	12
Mild	1	3	2 (59)	2	1	4	10	16
Moderate	0	0	0 (59)	1	0	0	0	3

2.6.7.10D CARCINOGENICITY: RAT 104-WEEK Study Number: 8384525

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		10 (Low)		30 (Intermediate)		100 (High)	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F
Marked	0	0	0 (59)	0	0	0	0	2
Spleen								
Cellularity, decreased, lymphocytes								
Minimal	7	6	10	10	10	12	15	19
Mild	3	4	2	2	2	2	13	7
Moderate	1	1	1	0	1	0	6	2
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Thymus								
Cellularity, decreased, lymphocytes								
Minimal	18 (56)	18 (58)	15 (58)	19 (57)	18 (52)	17 (58)	5 (53)	1 (56)
Mild	21 (56)	8 (58)	21 (58)	8 (57)	18 (52)	13 (58)	11 (53)	22 (56)
Moderate	5 (56)	3 (58)	5 (58)	2 (57)	6 (52)	3 (58)	14 (53)	8 (56)
Marked	0 (56)	0 (58)	0 (58)	0 (57)	0 (52)	0 (58)	13 (53)	1 (56)

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

B = primary, benign neoplasm; (F) = infiltrating neoplasm; I = locally invasive neoplasm; (M) = primary, malignant neoplasm; N = metastatic neoplasm.

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

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

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

d. Number in ( ) indicates number of organs/tissues examined microscopically when less than the total number of animals examined in the group.

2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Dosing Period	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Rat/Wistar Han	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose [w/v] in reverse osmosis water/Suspension) Lot [redacted]	GD 6 through GD 17	0, 75, 175, 325	6F	**325 mg/kg:** ↓ fetal BW.	20069224 [redacted]GR573)/ No
Rabbit/New Zealand White	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% Methylcellulose [w/v] in reverse osmosis water/Suspension) Lot [redacted]	GD 7 through GD 19	0, 10, 75, 175, 325	6F	**75 mg/kg:** ↑ incidence fetal death (late resorptions and dead fetuses), ↓ fetal BW, ↑ postimplantation loss, ↓ live fetuses, ↓ gravid uterine weight. **≥175 mg/kg:** death/euthanasia, red liquid material, ungroomed fur, ↓ fecal output, BW loss, ↓ food intake.	20069228 [redacted]GR574)/ No

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

2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of PF-06651600 on Male and Female Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Rats

Test Article: Ritlecitinib

Design Similar to ICH 4.1.1: Yes
Species/Strain: Rat/[redacted]
Age at First Dose: 10 to 11 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Day of Mating (F): GD 0
Day of Cesarean Section: GD 14

Dosing Period:
M: 28 days (1st breeding phase) or 84 days (2nd second breeding phase) prior to mating, throughout mating, and continuing for a minimum of 15 weeks
F: 14 days prior to mating, throughout mating, and continuing through GD 7

Study Number: 00655209
Sponsor Reference Number: [redacted]GR019
CTD Module Number: 4.2.3.5.1.1
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose (4000 cps) in reverse-osmosis deionized water/Suspension
Special Features: There were 2 breeding phases. In the 1st phase, after 14 days of dosing, females were paired with non-dosed males. Following a minimum of 28 days of dosing, the males were paired with non-dosed females. In the 2nd phase, following a minimum of 63 days of dosing, males in the control and 200 mg/kg/day groups were paired with a 2nd nulliparous non-dosed female.
No Observed Adverse Effect Level:
Male Systemic Toxicity: 60 mg/kg/day
Female Systemic Toxicity: 200 mg/kg/day
Male Fertility: 60 mg/kg/day
Female Fertility and Early Embryonic Development: 200 mg/kg/day

Dose (mg/kg/day)[a]	**0 (Control)**		**20**		**60**		**200**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number Evaluated	20	44[b]	20	23[b]	20	20[b]	20	42[b]
Plasma Concentration (ng/mL)								
Study Day 12	NA[c]	NA[c]	2820	2990	12200	12800	28800	33500
Toxicokinetics: Day 62								
C_{max} (ng/mL)	NA[c]	NA[d]	2790	NA[d]	10800	NA[d]	26600	NA[d]
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[c]	NA[d]	5010	NA[d]	22000	NA[d]	87500	NA[d]
Males								
Number Died or Euthanized Moribund	0		0		0		0	
Clinical Observations	-		-		-		-	

2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: 00655209

Dose (mg/kg/day)[a]	**0 (Control)**	**20**	**60**	**200**
Body Weight (g)[e]				
Day 39	452	0.96	0.97	0.94*
Day 83	518	0.96	0.95	0.91†
Day 116	552	0.97	0.95	0.89†
Body Weight Change (g)[e]				
Day 0-4	23	0.96	0.83	0.78*
Day 0–27	105	0.91	0.89	0.84
Day 0–83	198	0.89	0.85*	0.74†
Day 0–116	231	0.93	0.87	0.73†
Food Consumption	-	-	-	-
First Breeding Phase				
Mean Number Days Prior to Mating	2.6	2.6	2.7	2.6
Number of Males Mated (Confirmed)	20	20	20	20
Number of Fertile Males	19	20	19	18
Second Breeding Phase				
Mean Number Days Prior to Mating	2.6	NA	NA	2.6
Number of Males Mated (Confirmed)	20	NA	NA	20
Number of Fertile Males	20	NA	NA	17
Necropsy Observations	-	-	-	-
Sperm Motility (% motile cells)	81	82	87	87
Sperm Count (million sperm/gram cauda weight)	688.0	651.4	686.3	663.8
Non-dosed Females (First Breeding Phase)				
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	19	22	19	19
Mean Number Corpora Lutea	15.1	14.7	14.7	14.0
Mean Number Implantations	14.7	14.0	14.3	11.2†
Mean % Preimplantation Loss	2.0	4.8	2.9	20.2
Mean % Postimplantation Loss	6.2	5.2	10.8	8.5
Mean Number Viable Conceptuses	13.9	13.2	12.8	10.6†
Mean Number Early Resorptions	0.8	0.7	1.5	0.6
Mean Number Late Resorptions	0.0	0.0	0.0	0.0

2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: 00655209

Dose (mg/kg/day)[a]	0 (Control)	20	60	200
Non-dosed Females (Second Breeding Phase)				
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	20	0	0	17
Mean Number Corpora Lutea	13.9	NA	NA	11.5†
Mean Number Implantations	13.2	NA	NA	8.6†
Mean % Preimplantation Loss	5.2	NA	NA	27.1*
Mean % Postimplantation Loss	7.0	NA	NA	2.4*
Mean Number Viable Conceptuses	12.3	NA	NA	8.4†
Mean Number Early Resorptions	1.0	NA	NA	0.2
Mean Number Late Resorptions	0.0	NA	NA	0.0
Dosed Females				
Number of Animals	20	20	20	20
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight	-	-	-	-
Gestation Body Weight	-	-	-	-
Premating Food Consumption	-	-	-	-
Gestation Food Consumption	-	-	-	-
Estrous Cycle Length (days)	4.4	4.1	4.6	5.0
Cohabitation Length	2.6	3.2	3.8	3.1
Number of Females Mated (Confirmed)	19	20	18	20
Number of Pregnant Females	19	18	18	20
Number Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	19	18	18	20
Mean Number Corpora Lutea	14.3	15.6	15.8*	15.8*
Mean Number Implantations	12.9	14.6	14.9	14.9
Mean % Preimplantation Loss	10.4	6.6	5.2	6.0

2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Study Number: 00655209

Dose (mg/kg/day)[a]	0 (Control)	20	60	200
Cesarean Section Observations				
Mean % Postimplantation Loss	15.9	13.7	9.6	8.5
Mean Number Viable Conceptuses	11.5	12.7	13.5	13.8
Mean Number Early Resorptions	1.5	1.8	1.4	1.2
Mean Number Late Resorptions	0.0	0.0	0.0	0.0

∗ p≤0.05; † p≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings.
a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. 20 non-dosed females/group were assigned to the first breeding phase. The remaining 20 females in the control and 200 mg/kg/day groups were assigned to the second breeding phase. The additional 2 to 4 females were utilized for breeding when a male did not have evidence of mating after the first 10 days.
c. All samples below assay limit of quantitation (1 ng/mL).
d. Females not sampled.
e. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: RAT EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study of PF-06651600-15 by Oral Gavage in Rats

Test Article: Ritlecitinib

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: 60 to 70 Days
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal: 175 mg/kg/day
Developmental: 75 mg/kg/day

Dosing Period: GD 6 through 17
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 21
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose in reverse osmosis deionized water/Suspension

Study Number: 20075271
Sponsor Reference Number: [redacted]GR148
CTD Module Number: 4.2.3.5.2.2
Lot Number: [redacted] and [redacted]
GLP Compliance: Yes

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	75	175	325
Maternal Females				
Number of Animals				
Toxicity	22	22	22	22
Toxicokinetics	3	5	5	5
Toxicokinetics – GD 17:				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	11600	20500	38000
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	25300	79000	162000
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Number Pregnant (Toxicity)	21	22	22	21[c]
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	1	0	0	1
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)[d]				
GD 7	208.3	0.99	0.97	0.96*
GD 21	292.1	1.0	0.99	0.94*
Body Weight Change (g)[d]				
GD 6 to 18	59.3	1.1	1.0	0.81†
GD 6 to 21	87.8	1.1	1.0	0.85
Corrected Maternal Body Weight Change (g)	-	-	-	-
Food Consumption (g)[d]				
GD 6 to 18	18.3	0.97	0.95	0.87†
GD 6 to 21	18.2	0.97	0.96	0.90*
Uterine Weight	-	-	-	-

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: RAT EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Study Number: 20075271

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	75	175	325
Necropsy Observations	-	-	-	-
Number Evaluated	22	22	22	22
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	21	22	22	20[c]
Mean Number Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean Number Implantations	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	-
Mean % Postimplantation Loss	-	-	-	-
Mean Number Early Resorptions	-	-	-	-
Mean Number Late Resorptions	-	-	-	-
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	168/20	217/22	188/22	164/19
Mean Number Live Fetuses	8.0	9.9	8.5	8.2
Mean Number Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean Fetal Body Weight (g)	5.31	5.25	4.98†	4.31†
Sex Ratios (% males)	50.58	50.25	44.01	42.65
Fetal Observations[e, f]				
Number Fetuses/Litters Evaluated	168/20	217/22	188/22	164/19
External Malformation	-	-	-	-
External Variations	-	-	-	-
Visceral Malformations	-	-	-	-
Visceral Variations	-	-	-	-
Skeletal Malformations[e, f]				
Number Fetuses/Litters Evaluated	89/20	115/22	98/22	87/19
Branched ribs	0.0/0.0	0.0/0.0	1.0/4.5	1.1/5.3
Fused ribs	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.1/5.3
Thoracic hemivertebra	0.0/0.0	0.0/0.0	1.0/4.5	0.0/0.0
Fused thoracic centra	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.1/5.3
Fused lumbar centra	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.1/5.3
Fused thoracic arches	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.1/5.3
Supernumerary vertebra	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.1/5.3

2.6.7.13A REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: RAT EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Study Number: 20075271

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	75	175	325
Skeletal Variations[e, f]				
Number Fetuses/Litters Evaluated	89/20	115/22	98/22	87/19
Unossified forepaw phalanges	22.5/60.0	18.3/50.0	28.6/68.2	82.8/94.7*
Unossified hindlimb metatarsals	0.0/0.0	0.0/0.0	4.1/13.6	50.6/73.7†
Nodulated ribs	7.9/20.0	11.3/36.4	27.6/54.5*	47.1/84.2†
Wavy ribs	0.0/0.0	1.7/9.1	6.1/22.7*	6.9/21.1*
Unossified sternebrae	0.0/0.0	0.9/4.5	3.1/9.1	8.0/26.3†
Unossified forepaw metacarpals	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.1/5.3
Misshapen ribs	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.1/5.3
Short ribs	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	3.4/15.8
Incompletely ossified sternebrae	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	23.0/42.1*
Misshapen cervical arches	2.2/10.0	0.9/4.5	3.1/13.6	11.5/42.1*
Bipartite ossification in lumbar vertebrae	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.1/5.3
Misshapen arches in thoracic vertebrae	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.1/5.3
Bipartite ossification in thoracic vertebrae	0.0/0.0	1.7/9.1	1.0/4.5	9.2/36.8
Unilateral ossification in thoracic vertebrae	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	3.4/15.8

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

- = No noteworthy findings.

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

b. All samples below assay limit of quantitation (1 ng/mL).

c. One female delivered on the day of scheduled euthanasia and was not included in GD 21 ovarian and uterine examinations.

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

e. Values shown are fetuses affected (mean %/litter)/ followed by litter incidence (%).

f. Approximately one-half of the viable fetuses from each litter were utilized for visceral examinations and the remaining fetuses were utilized for skeletal examinations.

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: RABBIT EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study of PF-06651600-15 by Oral Gavage in Rabbits

Test Article: Ritlecitinib

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White
Age at First Dose: 3.5 to 5 Months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal: 75 mg/kg/day
Developmental: 25 mg/kg/day

Dosing Period: GD 7 through 19
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 29
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose (4000 cps) in reverse osmosis water/Suspension

Study Number: 20075272
Sponsor Reference Number: [redacted]GR149
CTD Module Number: 4.2.3.5.2.4
Lot Number: [redacted] and [redacted]
GLP Compliance: Yes

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**5**	**25**	**75**
Maternal Females				
Number of Animals				
Toxicity	20	20	20	20
Toxicokinetics	3	5	5	5
Toxicokinetics – GD 19:				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	2280	15400	51400
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	6150	45600	202000
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Number Pregnant (Toxicity)	17	20	19	17
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Body Weight Change	-	-	-	-
Corrected Maternal Body Weight Change	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Uterine Weight	-	-	-	-

2.6.7.13B REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: RABBIT EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Study Number: 20075272

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**5**	**25**	**75**
Necropsy Observations	-	-	-	-
Number Evaluated	20	20	20	20
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	17	20	19	17
Mean Number Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean Number Implantations	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	-
Mean % Postimplantation Loss	8.25	7.08	6.93	13.08
Mean Number Early Resorptions	-	-	-	-
Mean Number Late Resorptions	-	-	-	-
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	169/17	211/20	187/19	149/17
Mean Number Live Fetuses	9.9	10.6	9.8	8.8
Mean Number Dead Fetuses	0.1	0.1	0.1	0.1
Mean Fetal Body Weight (g)	39.50	37.88	39.43	34.83*
Sex Ratios (% males)	43.93	55.11	54.17	45.70
Fetal Observations[c]				
Number Fetuses/Litters Evaluated	169/17	211/20	187/19	149/17
External Malformation	-	-	-	-
External Variations	-	-	-	-
Visceral Malformations				
Malpositioned kidneys	0.0/0.0	0.5/5.0	0.5/5.3	2.0/11.8
Visceral Variations	-	-	-	-
Skeletal Malformations				
Supernumerary sternebra	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	0.7/5.9
Absent thoracic vertebra arch	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	0.7/5.9
Fused thoracic centra	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.3/11.8

Skeletal Variations				
Unossified forepaw phalanges	4.7/23.5	1.9/15.0	2.7/21.1	7.4/41.2
Unossified forepaw metacarpals	8.9/35.3	9.0/60.0	9.6/47.4	34.2/88.2†
Unossified pubis	0.6/5.9	0.9/10.0	0.0/0.0	2.7/17.6
Posterior fontanelle enlargement	0.0/0.0	0.5/5.0	0.0/0.0	2.7/17.6
Unossified sternebrae	26.0/64.7	22.7/65.0	23.0/68.4	40.9//82.4
Unilateral thoracic centra ossification	0.0/0.0	0.0/0.0	0.0/0.0	1.3/11.8

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (1 ng/mL).
c. Values shown are fetuses affected (mean %/litter)/ followed by litter incidence (%).

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of PF-06651600 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Wistar Rats

Test Article: Ritlecitinib

Design Similar to ICH 4.1.2: Yes
Species/Strain: Rat/Wistar Han
Age at First Dose: 10 to 11 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
F0 Females: 175 mg/kg/day
F1 Males: 75 mg/kg/day
F1 Females: 75 mg/kg/day

Dosing Period: GD 6 through LD 20
Day of Mating: GD 0
Method of Administration: Oral gavage, QD, 10 mL/kg
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Methylcellulose (4000 cps) in reverse osmosis deionized water/Suspension
Litters Culled/Not Culled: Culled

Study Number: 00655232
Sponsor Reference Number: [redacted]GR230
CTD Module Number: 4.2.3.5.3.1
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	25	75	175
F0 Females				
Number of Animals				
Toxicity	22	22	22	22
Toxicokinetics	5	5	5	5
Toxicokinetics (GD 17):				
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	3070	11800	24100
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[b]	6310	23000	65700
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Number Pregnant	21	21	21	18
Number Aborted or with Total Litter Loss	0	0	1	0
Clinical Observations	-	-	-	-

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 00655232

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	25	75	175
F0 Females (continued)				
Gestation Body Weight	-	-	-	-
Lactation Body Weight	-	-	-	-
Gestation Food Consumption	-	-	-	-
Lactation Food Consumption (g/animal/day)[c]				
LD 4-7	36	0.94	0.89*	0.83†
LD 10–14	50	0.94	0.92	0.86
Mean Duration of Gestation	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
F1 Litters (Preweaning)				
Number Litters Evaluated	21	21	20	18
Mean Number Pups/Litter	-	-	-	-
Mean Number Liveborn Pups/Litter	-	-	-	-
Postnatal Survival from Birth to Day 4 (%)	97.9	100.0	93.3	87.1
Postnatal Survival from PND 4 to Weaning (%)	99.4	100.0	98.7	95.8
Body Weight[c]				
PND 1 (M/F)	6.7/6.4	1.0/1.1	0.94/0.94	0.82†/0.80†
PND 10 (M/F)	22.7/22.5	1.0/1.0	095/0.92	0.77†/0.75†
PND 21 (M/F)	48.1/47.1	1.0/0.99	0.92/0.90*	0.81†/0.80†
Body Weight Change[c]				
PND 7-10 (M/F)	7.0/7.0	0.97/0.93	0.87*/0.84†	0.77†/0.77†
PND 17-21 (M/F)	8.8/8.9	1.0/0.97	0.89/0.76†	0.85/0.78*
Sex Ratios	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
F1 Males (Postweaning)				
Number Evaluated	21	20	19	18
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 00655232

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	25	75	175
Body Weight[c]				
PND 21	48	1.0	0.92	0.81†
PND 112	405	1.0	0.94	0.86†
Body Weight Change[c]				
PND 21-84 (premating period)	309	1.0	0.94*	0.86†
PND 21-112 (entire generation)	357	1.0	0.95	0.87†
Balanopreputial Separation (PND)	43.8	45.8*	46.4*	47.4†
Auditory Startle Response	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Biel Maze Swimming Trials	-	-	-	-
Mean Number Days Prior to Mating	3.7	2.3	2.6	3.6
Number of Males Mated (Confirmed)	20	21	18	18
Number of Fertile Males	20	21	18	16
Necropsy Observations	-	-	-	-
F1 Females (Postweaning)				
Number Evaluated	21	21	19	18
Number Died or Euthanized Moribund	1[d]	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight[c]				
PND 21	47	1.0	0.91*	0.79†
Body Weight Change[c]				
PND 21-84 (premating)	173	1.0	0.95	0.90†
Gestation Body Weight Change[c]	47	0.91	1.0	0.87
Mean Age of Vaginal Patency (PND)	34.0	33.9	33.9	37.8†
Auditory Startle Response	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Biel Maze Swimming Trials	-	-	-	-
Estrous Cycle Length (days)	4.9	4.1	4.1	4.3
Cohabitation Length (days)	3.7	2.3	2.6	3.6

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Study Number: 00655232

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	25	75	175
Number of Females Mated (Confirmed)	20	21	18	18
Number of Pregnant Females	20	21	18	16
Number Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	20	21	17	16
Mean Number Corpora Lutea	14.2	14.9	13.9	12.6*
Mean Number Implantations	13.3	13.6	12.8	11.0†
Mean % Preimplantation Loss	6.4	8.2	9.1	12.4
Mean % Postimplantation Loss	5.7	2.5	6.7	4.3
Mean Number Viable Conceptuses	12.5	13.3	11.8	10.5*
Mean Number Early Resorptions	0.8	0.3	0.9	0.5
Mean Number Late Resorptions	0.0	0.0	0.0	0.0

* $p < 0.05$; † $p < 0.01$ significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings.
a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. All samples were below limit of quantitation (1.0 ng/mL).
c. Group means in grams are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
d. Female found dead on PND 63 without clinical signs, effects on body weight, or macroscopic findings at necropsy.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Number)/ GLP Compliance
Phototoxicity						
Rat/Long-Evans	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] Methylcellulose/Suspension) Lot [redacted][b]	3 Days	0, 50, 100, 200	5 F	**≥50 mg/kg/day:** No evidence of cutaneous or ocular phototoxicity.	20075773 ([redacted]MA032)/ Yes
Toxicokinetic Parameters (F):						
Dose (mg/kg/day)		0	50	100	200	
Day 3						
C_{max} (ng/mL)		NA[c]	6700	16900	14800	
AUC_{24} (ng•h/mL)		NA[c]	25900	54800	89300	

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Tosylate salt.
c. All samples below assay limit of quantitation (1 ng/mL).

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Immunotoxicity-Mouse Allergy Model & Modified Mouse Allergy Model						
Mouse/C57BL/6	Subcutaneous, QD, 200 µL/injection (water)[b] Lot [redacted]	3 Days	0, 1, 10, 100	5 F	Ritlecitinib does not induce changes in total lymph node cell numbers. Mean total lymph node cell numbers (SI = 1.3, 0.9, and 1.1 at 1, 10, and 100 mg/kg, respectively) were similar to the vehicle control (SI =1.0)	[redacted]GR446/No
	Oral gavage[c], QD (0.5% [w/v] Methylcellulose/Suspension) Lot [redacted]	5 Days[c]	0, 1, 10, 100	5 F	Ritlecitinib suppresses the response of a positive control in the modified MAM. Administration of 10 or 100 mg/kg oral ritlecitinib and SC ofloxacin resulted in lower mean total lymph node call numbers (SI =1.0 and 1.2, respectively) compared with oral vehicle and SC ofloxacin (SI =2.2)	
Mechanistic Studies						
Toxicokinetic	Oral gavage, QD, (0.5% [w/v] Methylcellulose/Suspension) Lot [redacted]	3 Days	0, 40	4 F	The mean plasma concentration of ritlecitinib at ~ 1 hour postdose was 11300 ng/mL. The mean brain concentration of ritlecitinib following whole body perfusion which initiated at ~ 1 hour postdose was 1080, 1090, and 1340 ng/g for the SON, cochlear nucleus, and hippocampus, respectively.	[redacted]GR131/No

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Ritlecitinib

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Mouse Allergy Model: amoxicillin (100 mg/kg/day) and 10% DMSO were the positive and negative controls, respectively. On Day 6, mice were euthanized, and the draining brachial lymph nodes were collected and processed.
c. Modified Mouse Allergy Model; ritlecitinib, cyclosporine (positive control in mixture of 6.6% Cremophor EL and 3.4% Ethanol), or vehicle were administered by oral gavage for 5 days. Within 120 minutes, 100 mg/kg ofloxacin or vehicle were administered subcutaneously for 3 days. On Day 6, mice were euthanized, and the experimental procedures and data analyses were conducted.

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Ritlecitinib

Type of Test	Test Cells/Tissues	Test Article Lot Number	Concentration or Dose	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Mechanistic Studies					
Gene Expression Profiling of Selected Brainstem Regions	Untreated male beagle dogs	NA	NA	Comparative gene expression profiling in the SON, cochlear nucleus and hippocampus did not support the hypothesis that inherent differences in expression of oxidative stress genes in normal dogs contributed to the presence of ritlecitinib-related axonal dystrophy in the SON but not the cochlear nucleus or the hippocampus. In addition, no statistically significant differences were observed in expression of JAK3 or other related kinases in the different regions. Finally, a low abundance of JAK3 mRNA and absence of differential expression in these brain regions did not support the hypothesis that JAK3 expression differences (ie, on-target pharmacology) have accounted for the presence of axonal dystrophy in the SON but not the cochlear nucleus or hippocampus.	[redacted]GR142/No

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Ritlecitinib

Type of Test	Test Cells/Tissues	Test Article Lot Number	Concentration or Dose	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Off-Target Identification for PF-06651600 in Normal Dog Brain Tissue Homogenates (click chemistry-based chemoproteomic method)	Normal beagle dog hippocampus and rostral cerebellar vermis homogenates	Not provided	10 µM	BTK, DOCK10, and BMX displayed a high L/H ratio of 20 (log_2(L/H) of 4.32), indicative of a high binding affinity for ritlecitinib. Among the proteins that were identified only in rostral cerebellar vermis, MAP2K7 displayed a high L/H ratio of 20 (log_2(L/H) of 4.32), indicative of a high binding affinity for ritlecitinib. For both hippocampus and vermis, proteins with modest L/H ratios bind relatively weakly to ritlecitinib.	[redacted]GR193/No
Comparison of Human, Dog, and Rat MAP2K7 Binding Affinity by PF-06651600 in Overexpressing Cell Lines (in-gel fluorescence-based competition assay)	Dog, human, and rat MAP2K7 transfected in FreeStyle 293F cells	Not provided	0.12 to 30 µM	In 293F cells overexpressing dog, human, or rat MAP2K7, binding affinities between MAP2K7 and ritlecitinib had OC_{50} values of 7-14 µM, and the difference in binding affinities across the species was approximately 2 fold.	[redacted]GR372/No
Gene expression of DOCK10 in Cerebellum of Human, Dog, Rat, and Mouse	Cerebellum tissues/cells from humans, dogs, rats, and mice	NA	NA	Expression of DOCK10 in the cerebellum of dog, rat, and mouse is significantly different and higher than expression in human cerebellum.	[redacted]GR164/No

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Impurities of Ritlecitinib

Type of Test	Test Cells/Tissues	Test Article Lot Number	Concentration or Dose	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Studies on Impurities					
Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物N	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted] or [redacted]	0.003 to 5 mg/plate	*不純物N was not mutagenic.	1149304/Yes
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物L	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.005 to 5 mg/plate	*不純物L was not mutagenic.	[redacted]GR556/No
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物I	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.015 to 5 mg/plate	*不純物I was not mutagenic.	[redacted]GR004/No
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物O	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.05 to 5 mg/plate	*不純物O was not mutagenic.	[redacted]GR162/No
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物B	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.313 to 5 mg/plate	*不純物B was weakly mutagenic.	[redacted]GR139/No

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Impurities of Ritlecitinib

Type of Test	Test Cells/Tissues	Test Article Lot Number	Concentration or Dose	Noteworthy Findings		Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物W	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.313 to 5 mg/plate	*不純物P	was not mutagenic.	[redacted]GR140/No
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物Q	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.015 to 5 mg/plate	*不純物Q	was not mutagenic.	[redacted]GR189/No
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物R	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.005 to 5 mg/plate	*不純物R	was not mutagenic.	[redacted]GR190/No
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物S	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.05 to 5 mg/plate	*不純物S	was not mutagenic.	[redacted]GR191/No
Exploratory Bacterial Mutagenicity Assay of *不純物T	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.05 to 5 mg/plate	*不純物T	was not mutagenic.	[redacted]GR192/No

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Impurities of Ritlecitinib

Type of Test	Test Cells/Tissues	Test Article Lot Number	Concentration or Dose	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Bacterial Mutagenicity of Geometric Isomer Mixture of *不純物U	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.005 to 5 mg/plate	The non-racemic mixture of *不純物U was not mutagenic.	[redacted]GR280/No
Bacterial Mutagenicity of *不純物C	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.0017 to 5 mg/plate	*不純物C was not mutagenic.	20232598/Yes
Bacterial Mutagenicity of *不純物V	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.0017 to 5 mg/plate	*不純物V was not mutagenic.	20232562/Yes
Bacterial Mutagenicity of *不純物A	*S typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E coli* (WP2 *uvrA* pKM101)	[redacted]	0.015- 5 mg/plate	*不純物A was positive for the induction of reverse mutations in strain TA1535 both in the absence and presence of rat and hamster S9 metabolic activation as well as in TA100 only in the presence of hamster S9 metabolic activation.	[redacted]GR240/No

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: Ritlecitinib

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	Number/Sex/ Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Impurity Qualification In Vivo							
Rat/Wistar Han	Oral gavage, QD, 10 mL/kg (0.5% [w/v] methylcellulose in reverse osmosis water/ Suspension) Lot [redacted], Lot [redacted][b]	13 Weeks	0, 200, 200 + impurities[b]	10	200, 200 + impurities[b]	No adverse findings were noted following administration of ritlecitinib with or without impurities and findings were of similar nature, incidence, magnitude, and/or severity between both groups. **200 mg/kg/day**: ↓ BW gain (M: 0.83x control; F: 0.91x control), ↑ MCV (M), ↑ hemoglobin, ↑ RDW, ↓ WBC, ↓ LYM, ↓ MONO (M), ↓ EOS, ↓ TP, ↓ ALB, ↓ CA, ↑ ALT (F), ↓ chloride (M), ↓ potassium, poikilocytosis, ↓ thymus and spleen weights, ↓ lymphoid cellularity (thymus, spleen, mesenteric and inguinal lymph nodes, bone marrow [sternum]), hyaline droplet accumulation in kidney, mononuclear cell infiltrates (liver, kidney, epididymis, and prostate). **200[b] mg/kg/day:** ↓ BW gain (M: 0.72x control; F: 0.73x control), ↑ MCV, ↑ hemoglobin, ↑ RDW, ↓ WBC, ↓ LYM, ↓ MONO (M), ↓ EOS, ↓ TP, ↓ ALB, ↓ CA, ↑ ALT (F), ↓ chloride (M), ↓ potassium, poikilocytosis, small thymus (F), ↓ thymus and spleen	8413430 ([redacted]GR371)/ Yes

				weights, ↓ lymphoid cellularity (thymus, spleen, mesenteric and inguinal lymph nodes, bone marrow [sternum]), hyaline droplet accumulation in kidney, mononuclear cell infiltrates (liver, kidney, epididymis, and prostate).
Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes):				
Dose (mg/kg/day)	0	200	200[b]	
Day 91				
C_{max} (ng/mL)	NA[c]	22500	30500	
AUC_{24} (ng•h/mL)	NA[c]	67300	85800	

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. Ritlecitinib + 4.37% spiked impurities.
c. All samples below assay limit of quantitation (1.0 ng/mL) with 1 exception, 1.52 ng/mL in 1 male at 1 hour postdose on Day 91. This had no impact on TK data analysis because the value was close to the lower limit of quantitation.