TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 2
本項で使用する用語・略語 3
1. まとめ 5
1.1. 反復投与毒性試験 8
1.2. 遺伝毒性試験 10
1.3. 生殖発生毒性試験 10
1.4. 光毒性試験 10
2. 単回投与毒性試験 12
3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 12
3.1. ラットを用いた 5 日間および 14 日間経口投与用量設定試験 12
3.2. ラットを用いた 5 日間経口投与毒性および 28 日間回復性試験 14
3.3. ラットを用いた 28 日間経口投与毒性および 28 日間回復性試験 16
3.4. ラットを用いた 13 週間経口投与毒性および 4 週間回復性試験 18
3.5. イヌを用いた 5 日間および 14 日間経口投与用量設定試験 21
3.6. イヌを用いた 5 日間経口投与毒性および 28 日間回復性試験 23
3.7. イヌを用いた 28 日間経口投与毒性および 29 日間回復性試験 25
3.8. イヌを用いた 13 週間経口投与毒性および 4 週間回復性試験 26
4. 遺伝毒性試験 29
4.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験 29
4.2. 染色体異常試験 29
4.3. 骨髄細胞の小核試験 30
5. がん原性試験 31
6. 生殖発生毒性試験 32
6.1. 受胎能及び初期胚発生に関する試験 32
6.2. 胚・胎児発生に関する試験 32
6.3. 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 33
7. 局所刺激性試験 34
8. その他の毒性試験 34
8.1. In vitro 光毒性試験 34

8.2. 有色ラットを用いた反復経口投与光毒性試験 35
8.3. タラゾパリブによる骨髄抑制機序に関する試験 35
8.4. ヒト DU145 細胞を用いた PARP 阻害薬による DNA 損傷および細胞毒性マーカーの評価 36
9. 考察及び結論 39
9.1. リンパ造血系 39
9.2. 消化管 40
9.3. 雄性生殖器 41
9.4. 肝臓 41
9.5. 雌性生殖器 41
9.6. 発生毒性 41
9.7. 遺伝毒性 42
9.8. 結論 42
10. 図表 42
11. 参考文献 43

LIST OF TABLES

Table 1. タラゾパリブの毒性試験一覧 5

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
ACC	activity concentration at cut-off：活性濃度のカットオフ値
ALP	alkaline phospahatase：アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransfearase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotrasnsferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{24}	area under the plasma concentration-time curve from zero to 24 hours： 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
BLOQ	below the limit of quantitation：定量下限未満
BMMNC	bone marrow mononuclear cell：骨髄単核球細胞
C_{avg}	average concentration：平均血漿中濃度
CFR	Code of Federal Regulation：連邦規則集
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CMC	carboxymethyl cellulose：カルボキシメチルセルロース
DDR	DNA damage response：DNA 損傷応答
DMAC	dimethylethanamide：ジメチルアセトアミド
DMSO	dimethyl sulfoxide：ジメチルスルホキシド
DNA	deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
DPBS	Dulbecco’s Phosphate Buffered Saline：ダルベッコ リン酸緩衝生理食塩水
dsDNA	double-stranded DNA：二本鎖 DNA
EMA	European Medicines Agency：欧州医薬品庁
FACS	fluorescence-activated cell sorting：蛍光活性化セルソーティング
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
γH2AX	H2A histone family, member X, gamma subunit：H2A ヒストンファミリーmember X，γ サブユニット
f_u	fraction unbound：非結合型分率
GALT	gut-associated lymphoid tissue：腸管関連リンパ組織
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
hERG	human ether-à-go-go related gene：ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HNSTD	highest non-severely toxic dose：重篤な毒性が発現しない最大投与量
IC_{50}	50% inhibitory concentration：50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration：赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	mean corpuscular volume：平均赤血球容積
M:E	myeloid: erythroid：顆粒球系/赤芽球系
MFD	maximum feasible dose：最大投与可能量
MI	mitotic index：有糸分裂指数
MTD	Maximum human exposure：最大耐量
MPE	mean photo effect
NOAEL	no observed adverse effect level：無毒性量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
PARP	poly(ADP-ribose) polymerase：ポリ（ADP-リボース）ポリメラーゼ
PBMC	peripheral blood mononuclear cell：末梢血単核球
PBS	Phosphate buffered salts：リン酸緩衝生理食塩水
PIF	photo irritancy factor

QTc	corrected QT interval：心拍数で補正した QT 間隔
SMCC	silicified microcrystalline cellulose：ケイ酸処理結晶セルロース
STD_{10}	severely toxic dose in 10% of the animals：供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する投与量
$t_{½}$	apparent terminal elimination half-life：終末相の見かけの消失半減期
T_{max}	time of occurrence of C_{max}：最高血漿中濃度到達時間
UV	ultraviolet light：紫外線

1. まとめ

タラゾパリブ（BMN673，MDV3800，PF-06944076）の非臨床毒性プロファイルを Table 1 に示す一連の試験により評価した。これらの試験は，標的臓器の特定，曝露-反応関係および所見の回復性を含むタラゾパリブの毒性プロファイルを明らかにすることを目的として計画した。重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は，非げっ歯類で観察された死に至る，生命を脅かすまたは臨床でモニター不可能な毒性，ならびに不可逆的な所見の発現頻度に基づいて定義し，10%に重篤な毒性が発現する投与量（STD_{10}）は，致死性の事象が試験に供したラットの10%以下で発現することと定義した。ラットおよびイヌを用いた反復投与毒性試験（Sprague Dawley ラットおよびビーグル犬，最長 13 週間），in vitro（Ames 試験および染色体異常試験）および in vivo（Sprague Dawley ラットを用いた小核試験）の遺伝毒性試験，妊娠 Sprague Dawley ラットを用いた胚・胎児発生（EFD）に関する試験，ならびに in vitro（Balb/C 3T3 細胞）および in vivo（雌 Long Evans 有色ラット）の光毒性試験を実施した。このほかに，中枢神経系および呼吸系への影響を評価するために Sprague Dawley ラットを用いた単回投与安全性薬理試験（2.6.2.4 項）を実施し，心血管系の評価として in vitro のヒト ether-à-go-go-関連遺伝子（hERG）試験，およびイヌを用いた反復投与毒性試験（5 日間，28 日間および 13 週間，2.6.6.3 項）では心電図測定を実施した。さらに，タラゾパリブによる遺伝毒性および骨髄毒性の機序を明らかにするために追加の探索的試験を実施した。

試験デザインおよび検査項目は，医薬品規制調和国際会議（ICH），経済協力開発機構（OECD）および各国の規制（米国 FDA，欧州連合 EMA および厚生労働省）にて概説された一般原則ならびに実施基準を遵守した。すべての重要な試験（一般毒性試験，生殖発生毒性試験，遺伝毒性試験，光毒性試験，hERG 試験および安全性薬理試験）は，米国 FDA の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。重要な試験以外の試験（GLP 非適用）は，GLP または施設標準操作手順書（SOP）を遵守する試験施設で実施した。一連の毒性試験は，ICH S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」[1]，ICH S2 (R1)「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス」[2]，ICH S5A (R2)「医薬品の生殖発生毒性試験についてのガイドライン」[3]，ICH S10「医薬品の光安全性評価ガイドライン」[4]および ICH-S7A「安全性薬理試験ガイドライン」[5]に従って実施した。

Table 1.　タラゾパリブの毒性試験一覧

試験の種類および期間（報告書番号）	投与経路	動物種	投与量 [a]	GLP[b]
反復投与毒性試験				
ラットを用いた 5 日間および 14 日間反復投与試験（参考資料 VQZ00001）	経口	ラット／Sprague Dawley	5 日間：0.3, 3.0, 10, 30[c] 14 日間：0, 0.1, 0.3, 1.0[c,d]	非適用
ラットを用いた 5 日間反復投与試験（報告書番号 8227540）	経口	ラット／Sprague Dawley	0, 0.3[g], 1.0, 3.0[d,f]	適用
ラットを用いた 28 日間反復投与試験（報告書番号 8227533）	経口	ラット／Sprague Dawley	0, 0.005, 0.015, 0.05[d,f,g]	適用

Table 1.　タラゾパリブの毒性試験一覧

試験の種類および期間（報告書番号）	投与経路	動物種	投与量 [a]	GLP[b]
ラットを用いた 13 週間反復投与試験（報告書番号 8279299）	経口	ラット／Sprague Dawley	0, 0.005, 0.015[g], 0.05/0.04[f]	適用
イヌを用いた 5 日間および 14 日間反復投与試験（参考資料 VQZ00002）	経口	イヌ／ビーグル犬	5 日間：0, 0.1, 1.0 14 日間：　0, 0.01, 0.03, 0.1[c]	非適用
イヌを用いた 5 日間反復投与試験（報告書番号 8227539）	経口	イヌ／ビーグル犬	0, 0.003, 0.01, 0.03[g], 0.1[e,f]	適用
イヌを用いた 28 日間反復投与試験（報告書番号 8227532）	経口	イヌ／ビーグル犬	0, 0.0005, 0.0015, 0.005, 0.01[e,f,g]	適用
13 週間反復投与試験（報告書番号 8279298）	経口	イヌ／ビーグル犬	0, 0.0015, 0.005, 0.01[f,g,h]	適用
遺伝毒性試験				
細菌を用いる復帰突然変異試験（報告書番号 [redacted]）	In vitro	細菌／*Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli*	100, 333, 1000, 3333, 5000 µg/plate[f,i]	適用
染色体異常試験（報告書番号 [redacted]）	In vitro	ヒト末梢血リンパ球	4 時間：10, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 380 µg/mL[f,i] 20 時間：0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 µg/mL[j]	適用
小核試験（報告書番号 [redacted]）	経口	ラット／Sprague Dawley	24 時間：0, 150, 300, 600 mg/kg[d,f] 48 時間：600 mg/kg[d,f]	適用
生殖発生毒性試験				
胚・胎児発生に関する試験（報告書番号 20074799）	経口	ラット／Sprague Dawley	妊娠 6～17 日：0, 0.015, 0.05, 0.15 [h]	適用 [k]
その他の毒性試験				
In vitro ニュートラルレッド取り込み試験（報告書番号 20054208）	In vitro	BALB/c 3T3 細胞	0.6, 1.0, 1.8, 3.2, 5.7, 10.1, 17.9, 31.9 µg/mL	適用
有色ラットを用いた反復経口投与光毒性試験（報告書番号 20116618）	経口	ラット／Long-Evans	0, 0.015, 0.05 mg/kg	適用
ヒト DU145 細胞を用いたタラゾパリブによる DNA 切断および細胞毒性マーカーを 3 種類の PARP 阻害薬と比較する in vitro 試験（参考資料 [redacted]GR323）	In vitro	DU145 前立腺癌細胞株	2.4～20 µmol/L	非適用

Table 1.　タラゾパリブの毒性試験一覧

試験の種類および期間（報告書番号）	投与経路	動物種	投与量[a]	GLP[b]
タラゾパリブによる骨髄抑制の機序に関する試験（参考資料 [redacted]LJ085）	In vitro	末梢血単核球，初代骨髄細胞	0.1～1000 nmol/L	非適用

CFR：連邦規則集，CMC：カルボキシメチルセルロース，DMAC：ジメチルアセトアミド，DMSO：ジメチルスルホキシド，DPBS：ダルベッコ リン酸緩衝生理食塩水，FDA：米国食品医薬品局，GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，hERG：ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子，HNSTD：重篤な毒性が発現しない最大投与量，ICH：医薬品規制調和国際会議，OECD：経済協力開発機構，PBS：リン酸緩衝生理食塩水

a. 特記ない限り mg/kg/日として表記し，下線の用量は HNSTD であることを示す
b. すべての GLP 試験は，相互データ受け入れ制度が適用となる OECD 加盟国で実施した
c. タラゾパリブの遊離塩基を投与
d. 溶媒：0.5% CMC
e. 溶媒：10% DMAC，6% solutol，84% PBS
f. タラゾパリブトシル酸塩を投与し，遊離塩基相当量を記載した
g. HNSTD の用量を下線で示した
h. 0.5%（w/v）CMC で調製した 1.8776 mg/mL の Prosolv SMCC HD90 溶液を溶媒として使用した
i. 溶媒：DMSO
j. 溶媒：1% DMSO を添加した DPBS（Ca^{2+}および Mg^{2+}含有）
k. 米国 FDA の GLP 規則（CFR 21 Part 58）および ICH S5A（R2）[3] に従って実施した

投与経路は臨床適用経路である経口投与を用いた。薬物動態プロファイル（2.6.4.3.1 項），肝ミクロソームでの in vitro 代謝安定性（2.6.4.5.2.1 項）ならびに代謝経路および消失経路がヒトと類似していること（2.6.4.5 項および 2.6.4.6 項）を踏まえ，一般毒性試験に用いるげっ歯類および非げっ歯類の動物種としてそれぞれラットおよびイヌを選択した。最長 13 週間の GLP 適用反復投与毒性試験の試験開始時には，ラットは 6～10 週齢，イヌは 7～13 ヵ月齢であった。ラットおよびイヌにおけるタラゾパリブの薬物動態プロファイルに基づき，毒性試験では 1 日 1 回投与が可能と考えられた。すべての重要な試験を含むほとんどの毒性試験は，臨床試験で使用するタラゾパリブの市販用製剤に用いられるタラゾパリブトシル酸塩を用いた。重要な試験以外の反復投与試験ではタラゾパリブの遊離塩基を使用した。用量および濃度についてはすべて遊離塩基に換算して表記した。ほとんどの毒性試験で，逆浸透水で調製した 0.5%カルボキシメチルセルロース溶液（CMC，400～800 cps）にタラゾパリブを懸濁して経口投与製剤を投与した。GLP 適用の 13 週間投与試験，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験および in vivo 光毒性試験には，タラゾパリブとの重量比が 1:71（w/w）となるようにケイ酸処理結晶セルロース（SMCC）を加えた 0.5% CMC 溶液（0.5%）にタラゾパリブを懸濁して経口投与製剤を投与した。

反復投与毒性試験および遺伝毒性試験（in vivo 小核試験）ならびに生殖発生毒性試験の母動物においてトキシコキネティクス評価を行い，また光毒性試験では血漿中タラゾパリブ濃度測定を実施した。ラットおよびイヌに単回投与したときのタラゾパリブの見かけの消失半減期（$t_{1/2}$）は長く，半減期はラットで 25.7 時間，イヌでは 48.5 時間であった（2.6.4.3.1 項）。ラットおよびイヌを用いた反復投与毒性試験では（2.6.4.3.3 項），タラゾパリブの曝露量は概して用量の増加に伴い増加し，明らかな性差はみられず（2 倍未満），反復投与後に蓄積が認められた（5 倍以下）。血漿蛋白結合率は，ラット（89.9%），イヌ（63.5%）およびヒト（74%）で異

なっていた（2.6.4.4.3 項）。固形がん患者に臨床推奨用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの定常状態（サイクル 1 の投与 35 日）における C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 21 ng/mL（非結合型：5.46 ng/mL），および 202 ng•h/mL（非結合型：52.5 ng•h/mL）であった［PRP-001（C3441007）試験］。患者に 1 mg/日の用量で反復投与したとき，タラゾパリブの蓄積性が認められた（単回投与時の約 2.3 倍）。毒性試験における動物とヒトとの曝露量比（動物／ヒト）は，動物に特定の影響が認められた用量または無毒性量（NOAEL）を投与したときの非結合型曝露量と，ヒトに臨床推奨用量である 1 mg/日を投与したときの非結合型曝露量とを比較して算出した。

1.1. 反復投与毒性試験

タラゾパリブの単回投与毒性試験は実施していない。反復投与毒性試験で認められたタラゾパリブに関連した主な毒性は，血液毒性（骨髄，脾臓およびリンパ器官），消化管毒性（食道，胃および腸管）および生殖器毒性（精巣）であった。血液および生殖器での所見はすべての反復投与試験（最長 13 週間）で認められ，消化管の所見は 28 日間以内の試験で認められた。毒性所見のみられた標的組織は，ラットを用いた全身オートラジオグラフィー試験（報告書番号 8228660）でタラゾパリブが臓器および組織へ広範に分布したことからも裏付けられた。タラゾパリブの薬理作用は，PARP1/2 阻害作用および DNA 損傷部位での強力な PARP トラッピング作用に起因する，腫瘍細胞に対する細胞傷害作用であるが，反復投与毒性試験で認められた主な臓器毒性も，タラゾパリブの強力な PARP トラッピング作用と関連している可能性がある（報告書番号 [redacted]LJ085，概要表 2.6.7.17）。13 週間投与試験では，血液学的所見（臨床における用量制限毒性）はラットで回復傾向を示したがイヌでは完全回復が認められ，精巣の所見はラットおよびイヌのいずれの動物種でも回復傾向が認められた。13 週間投与試験では，ラットおよびイヌの AUC_{24} の曝露量比がヒトにおける非結合型曝露量のそれぞれ 0.4 倍および 0.3 倍まで消化管毒性は認められなかった。

5 日間投与試験（休薬期間：28 日間）において高用量のタラゾパリブをラットまたはイヌに投与したところ，死亡が認められた。休薬期間中のラット（0.3 mg/kg/日以上，AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍以上）およびイヌ（0.1 mg/kg/日，AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍）で死亡が認められ，死因は複数臓器での敗血症であった。敗血症は，極めて重度の骨髄細胞減少および複数リンパ組織でのリンパ球減少を含むリンパ造血器系に対する毒性の二次的変化と考えられた。早期死亡の原因となった敗血症に加え，3 mg/kg/日のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：12.6 倍）および 0.1 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍）で，腸症を示唆する一般状態の変化が認められた。さらに全身毒性を示唆する複数臓器の出血および血小板数減少に加えて，極めて重度の消化管の絨毛萎縮も認められた。GLP 非適用の 14 日間投与試験においても，リンパ造血器系の所見に起因する死亡が認められ，高用量では消化管毒性も認められた。0.3 mg/kg/日以上のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍以上）および 0.03 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.1 倍）で，血小板数減少および凝固パラメータの上昇に関連した複数組織での出血が認められ，全身毒性を伴った。また 13 週間投与試験では，高用量群である 0.05 mg/kg/日のラットにリンパ造血器系への毒性を伴う瀕死状態が認められたため早期安楽殺し，生存動物は休薬期間を設けた後，用量を 0.04 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.41 倍）に減量して試験を継続した。

この薬剤クラスの用量制限毒性でもある血液学的所見および血小板減少症[6,7,8]はすべての反復投与毒性試験で認められ，発現時期，重症度および回復性はおおむね用量依存的であった。リンパ造血器系の毒性に関連した死亡がラットの 0.05 mg/kg/日以上およびイヌの 0.03 mg/kg/日以上で認められた。リンパ造血器系の毒性として，用量依存的な汎血球減少，軽微から重度の骨髄細胞減少および複数のリンパ器官のリンパ球減少が認められた。重要な 5 日間投与試験では，休薬期間中（ラットでは休薬 6～7 日目，イヌでは休薬 7～8 日目）に 1 mg/kg/日以上のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：5 倍以上）および 0.1 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍）で死亡が認められ，これらは極めて重度の骨髄細胞減少ならびに胸腺または種々のリンパ組織［リンパ節，腸管関連リンパ組織（GALT），脾臓］の胚中心のリンパ球減少を含む重篤なリンパ造血系毒性に起因する合併症によるものであった。5 日間投与試験の低用量群［0.3 mg/kg/日のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍）および 0.03 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.1 倍）］で認められた所見は休薬後に回復傾向を示し，いずれの個体も 28 日間の休薬期間終了時の剖検予定日まで生存した。また 1 mg/kg/日以上のラットでは，休薬後に極めて重度の骨髄過形成が認められた。ラットを用いた 28 日間投与試験では，0.05 mg/kg（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）で，赤血球パラメータおよび白血球数（好中球数，リンパ球数，単球数，大型非染色細胞数など）の減少が認められた。これらのリンパ造血器系の変化に関連する胸腺重量の減少，胸腺，脾臓およびリンパ節のリンパ球減少ならびに軽微からごく軽度の骨髄細胞減少は，休薬により回復した。イヌを用いた 28 日間投与試験では，0.005 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.2 倍）で病理組織学的所見を伴わず毒性学的意義の乏しいリンパ球数減少が認められ，また 0.01 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）では汎血球数減少が認められた。これらのリンパ造血器系の所見は，リンパ組織のリンパ球減少および胸骨の骨髄細胞減少と符合していた。13 週間投与試験では，0.015 mg/kg/日以上のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.16 倍以上）および 0.01 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.30 倍）で汎血球減少が認められ，これらに関連した病理組織学的所見としてラットで骨髄細胞減少およびリンパ節のリンパ球減少，イヌで骨髄内の顆粒球系：赤芽球系比（M:E 比）の上昇が認められたが，いずれも休薬後に回復した。リンパ造血器系の所見の重症度は，おおむね投与期間の延長に伴って増加し，生存例では回復または回復傾向が認められた。

消化管毒性は，ラットおよびイヌを用いた 5 日間および 28 日間投与試験で認められたが，13 週間投与試験では認められなかった。5 日間投与試験では，3 mg/kg/日のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：12.6 倍）および 0.1 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍）で早期の死亡が認められ，腸症を示唆する一般状態変化およびそれに伴う敗血症が認められた。早期の短期間投与試験で，高い曝露量比で重症度の最も高い消化管毒性が認められた。1 mg/kg/日のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：5 倍）では，腸症を伴わない敗血症が認められた。これらの動物では，絨毛萎縮およびアポトーシス増加が消化管全体にみられ小腸で最も顕著であったが，これらの所見は低用量群の動物では休薬後に回復傾向を示した。5 日間投与試験での 0.3 mg/kg/日以上のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍以上）および 0.01 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）ならびに 28 日間投与試験での 0.05 mg/kg/日のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.28 倍）および 0.005 mg/kg/日のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.17 倍）では，死亡および腸症は認められなかったものの，消化管でのアポトーシス/壊死の発現頻度の用量依存的な増加，GALT の退縮，あるいは腸間膜リンパ節のリンパ球減少が認められ，いずれも休薬後に回復した。13 週間投与試験では，長期投与のためタラゾパリブの総曝露量が増加したものの，短期投与試験でみられた消化管毒性は認められなかった。

イヌを用いた 28 日間投与試験を除く最長 13 週間投与試験では，ラットおよびイヌの雄性生殖器での所見として，毒性変化と考えられる精巣の精細管における萎縮および変性が認められ,休薬後に回復傾向が認められた。また，これらに起因した精巣上体の精子減少および精子肉芽腫が認められた。これら精巣での所見の重症度は，タラゾパリブの用量および投与期間と関連していた。イヌを用いた 28 日間投与試験では精巣の所見は認められなかった。0.05/0.04 mg/kg/日以上のラット（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.41 倍以上），0.01 mg/kg/日以上のイヌ（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.30 倍以上）で精巣の所見が認められ，休薬後に回復傾向を示した。精子肉芽腫はラットを用いた 28 日間投与試験の 0.005 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.03 倍以上）のみで認められた。ラットを用いた 5 日間投与試験の 1 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍以上）では，雌の生殖器官の所見として，軽微からごく軽度の卵巣の卵胞閉鎖が認められた。卵巣所見は，28 日間投与試験（曝露量比：0.28 倍以下）および 13 週間投与試験（曝露量比 0.41 倍以下）では認められなかった。

その他の所見として，ラットでは，5 日間投与試験の 1 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍以上）で軽微から中等度の肝細胞壊死，GLP 非適用 14 日間投与試験の 0.3 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.9 倍）で軽微から軽度の肝細胞の限局性凝固壊死，28 日間投与試験の 0.05 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）で軽微からごく軽度の肝細胞壊死が認められた。肝細胞壊死は，イヌを用いた試験およびラットを用いた 13 週間投与試験では認められなかった。

1.2. 遺伝毒性試験

In vitro 遺伝毒性試験において，タラゾパリブは細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）では変異原性を示さなかった。しかし，健康ドナーから採取したヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験（重要な試験），DNA 損傷応答（DDR）が欠損した DU145 前立腺癌細胞株を用いた in vitro 探索的試験およびラット骨髄を用いた in vivo 小核試験（重要な試験）で，タラゾパリブは染色体構造異常を誘発した。これらの試験でみられた染色体構造異常の誘発は，タラゾパリブの薬理作用（PARP1/2 の阻害）によるものと考えられ，他の PARP 阻害薬でも認められていることからクラスエフェクトであると考えられた[9,10,11]。

1.3. 生殖発生毒性試験

妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，0.015 mg/kg/日（母動物での AUC_{24} に基づく曝露量比：0.09 倍）でタラゾパリブによる胚・胎児毒性が認められた。0.015 mg/kg/日で認められた胚・胎児毒性は，胚・胎児死亡率の顕著な増加，胎児奇形（眼部隆起の扁平化，小眼球，胸骨分節の分離および頸椎椎弓の癒合）および骨格変異（頬骨弓の変形，胸骨分節の骨化不全または変形，過剰肋骨ならびに頸椎椎弓の骨化不全または変形）の増加であった。

1.4. 光毒性試験

3T3 ニュートラルレッド取り込み試験により，タラゾパリブの光毒性誘発能を評価した。BALB/c 3T3 細胞において，紫外線非照射時にタラゾパリブは細胞毒性を示さなかったが，紫外線照射時に光毒性陽性を示した。次いで，Long-Evans 有色ラットを用いた in vivo 光毒性試験によりタラゾパリブを評価した。タラゾパリブを最高 0.05 mg/kg/日まで 3 日間経口投与した後，試験 3 日にキセノンランプによる UVA（10.29 J/cm^2），UVB（145 mJ/cm^2）および可視光を照

射した結果，皮膚反応および病理組織学的所見を含めた眼科学的所見は認められず，タラゾパリブは光毒性を有さないことが示された。

2. 単回投与毒性試験

タラゾパリブの単回投与毒性試験は実施していない。

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 5 日間および 14 日間経口投与用量設定試験

参考資料 VQZ00001，概要表 2.6.7.6

Sprague Dawley ラットに，タラゾパリブ遊離塩基を 5 日間（第 1 期，雌雄各 3 匹/群）または 14 日間（第 2 期，雌雄各 5 匹/群）1 日 1 回経口投与（投与容量：5 mL/kg）したときの毒性プロファイルを評価した。第 1 期では 0.3，3，10 および 30 mg/kg/日の用量で 5 日間投与し，第 2 期では 0［溶媒対照：0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）］，0.1，0.3 または 1 mg/kg/日の用量で 14 日間投与した。第 1 期では，一般状態観察，体重測定および剖検を実施した。第 2 期では一般状態観察，体重，摂餌量測定，眼科学的検査，理学的検査，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），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。これとは別に，第 2 期にトキシコキネティクス群（雌雄各 6 匹/群［溶媒対照群のみ雌雄各 3 匹/群］）を加え，試験 14 日に採血し，血漿中タラゾパリブ濃度を測定した。

第 1 期に，タラゾパリブを 30 mg/kg/日で 5 日間投与したときの忍容性は不良であり，雌雄各 1 例が試験 6 日に死亡発見（計画剖検前）された。30 mg/kg/日の全例に，円背位，嗜眠および軟便等のタラゾパリブ投与に関連した一般状態の変化が認められた。3 mg/kg/日以上で，体重減少（投与前と比較して 16%～28%の減少）および試験 1 日から 6 日までの体重増加量の減少が認められた。10 mg/kg/日以上では，試験 4～5 日から軟便および粘液便の増加も認められた。3 mg/kg/日以下では，剖検でタラゾパリブに関連した肉眼的所見は認められなかった。

第 2 期に，最大 0.3 mg/kg/日のタラゾパリブを 14 日間反復投与したときの曝露量（C_{max} および AUC）は，曝露量は概ね用量に比例して増加した。性差は認められず，T_{max} は 2 時間，半減期（$t_{1/2}$）は 6～8 時間であった。

第 2 期に，1 mg/kg/日のタラゾパリブを 14 日間投与したときの忍容性は不良であり，雄は試験 12 日にトキシコキネティクス群を含む全例を，雌は試験 13 日にトキシコキネティクス群の 1 例を除いた全例をそれぞれ一般状態の悪化により安楽殺した。トキシコキネティクス群の雌 1 例は試験 13 日に死亡発見され，1 mg/kg/日の雌雄全例が安楽殺または死亡発見されたため，眼科学的検査およびトキシコキネティクス解析は実施できなかった。1 mg/kg/日の雌雄で，体重減少（17%および 23%：以下，溶媒対照からの変化率）が認められ，これに対応して摂餌量が減少した（13.5%および 20.4%）。安楽殺前に観察された一般状態の変化は，精巣，頸部，後足，前足の内出血および挫傷，口および鼻周囲のポルフィリン着色，口周囲の潰瘍形成および痂皮，中等度の顔面腫脹，円背位，粘膜蒼白，削痩，ならびに体温低下であった。剖検では，胸腺萎縮，肺の暗色巣，ならびに心臓，皮膚，肺，下顎リンパ節および腸間膜リンパ節の変色が認められた。この用量では，組織の病理組織学的検査は実施しなかった。0.3 mg/kg/日では，試験 14 日に瀕死状態になったトキシコキネティクス群の雌 1 例を安楽殺し，トキシコキネティクス群の雌雄各 1 例が死亡発見された。これらのラットでは，鼻および眼周囲のポルフィリン着色，鼻部および頸部の軽度から中等度の腫脹，ならびに 1 mg/kg/日と同様の剖検所見が認められた。0.1 mg/kg/日の忍容性は良好であり，死亡は認められなかった。

第 2 期では，タラゾパリブに関連した体重抑制が 0.1 mg/kg/日以上で認められた。0.1 mg/kg/日，0.3 mg/kg/日および 1 mg/kg/日における体重抑制は，雄および雌でそれぞれ 11%および 9%（試験 14 日：以下，溶媒対照からの変化率），14%および 13%（試験 14 日），24%および 24%（試験 12/13 日）であった。摂餌量の用量依存的な減少もみられ，その減少率は試験 1～7 日に 0.3 mg/kg/日以上で 70%～80%，試験 7～14 日に 0.1 mg/kg/日の雄で 80%，0.3 mg/kg/日で 70%～80%であった。1 mg/kg/日では，安楽殺前にさらに摂餌量が減少した。0.3 mg/kg/日では，タラゾパリブに関連した一般状態の変化として，鼻および眼周囲のポルフィリン着色，ならびに鼻部または頸部の軽度から中等度の腫脹および潰瘍が認められた。いずれの用量においても，眼科学的所見は認められなかった。

臨床病理検査では，0.1 mg/kg/日以上でタラゾパリブに関連した用量依存的な変化が認められた。血液学的検査値では，赤血球パラメータの減少［赤血球数が 32%～75%（以下，溶媒対照との比率），ヘモグロビンが 33%～77%，ヘマトクリットが 29%～73%，平均赤血球容積（MCV）が 89%から定量限界未満（BLOQ）］および代償性の赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）上昇（103%～111%）と網状赤血球数減少（4%～18%）が認められ，また白血球数（10%～54%），リンパ球数（10%～58%），単球数（BLOQ～0.17%），好中球数（5%～30%）および好酸球数の減少（BLOQ～0.37%）が認められた。血液学的検査パラメータの変化と関連した病理組織学的変化として，0.3 mg/kg/日では骨髄の造血組織の完全な消失，赤脾髄の造血組織の顕著な減少（雄），脾臓重量の減少，胸腺萎縮および胸腺重量の減少と関連する重度のリンパ球減少が認められた。0.3 mg/kg/日以上では，複数の組織での出血と関連した血小板数の顕著な減少（1%～8%）およびこれに伴うプロトロンビン時間の延長（110%～120%）が認められた。また，フィブリノゲンの増加（210%～300%）も認められた。血液生化学的検査では，0.1 mg/kg/日および 0.3 mg/kg/日で AST（40%～80%），ALP（50%～90%），アルブミン（80%，0.3 mg/kg/日雌）およびアルブミン／グロブリン比（70%，0.3 mg/kg/日雌）の軽微からごく軽度の減少が認められ，これらの変化は毒性学的意義のない変化と考えられた。1 mg/kg/日では，ALT（180%）および AST（140%）のごく軽度の上昇が認められた。

タラゾパリブに関連する器官重量の変化として，0.1 mg/kg/日および 0.3 mg/kg/日で胸腺（-40%～-85%：以下，溶媒対照からの変化率）および脾臓（-18%～-28%）の重量減少，ならびに副腎重量の増加（0.3 mg/kg/日，11%～37%）が認められた。剖検では，0.1 mg/kg/日の雄で，脂肪の変色，肺の暗色巣および腎盂の暗色化が認められた。また 0.3 mg/kg/日では，中等度から重度の胸腺リンパ球減少と関連した胸腺萎縮，複数臓器の出血と関連した肺，下顎リンパ節，腸間膜リンパ節，皮膚，精巣および精巣上体（雄），骨格筋，卵巣（雌），膵臓，食道，気管，胃の多巣性の暗色化，巣状壊死と関連した肝臓の暗色巣（雌 1 例），病理組織学的所見を伴わない下顎唾液腺の暗色化および眼での出血，慢性／活動性炎症と関連した鼻部の皮下への透明な液体の貯留，ならびに潰瘍と関連した頸部皮膚の脱毛が認められた。

病理組織学的検査では，0.1 mg/kg/日でタラゾパリブに関連した所見は認められなかった。0.3 mg/kg/日では，胸腺における中等度から重度のリンパ球減少，骨髄における脂肪組織への置換を伴う重度の造血細胞減少，肺での軽微から軽度の出血，肺胞内血栓または肺胞腔内の好酸性／ヘモグロビン結晶物，肺胞の出血部位周囲における軽微から中等度のマクロファージ浸潤，ならびに病変部での肺胞上皮細胞の肥大が認められた。下顎および腸間膜リンパ節では軽度のリンパ球減少，傍皮質リンパ球のわずかな減少，髄洞内の軽微から中等度の出血が認めら

れた。下顎リンパ節周囲の皮下組織に軽度の出血および軽度から中等度の浮腫（透明な液体が貯留した領域）ならびに軽度の線維化が認められた。一部の雄で赤脾髄の造血組織の顕著な減少および造血細胞の消失が認められた。他に，複数の組織で出血が認められた（大脳皮質，精巣上体および直腸粘膜の軽微な限局性出血，食道周囲の粘膜下および結合組織内の軽微から軽度の出血，卵巣間質の軽微な出血，膵臓の小葉間質内の軽度から中等度の出血，軽微から軽度の皮下出血，胃粘膜内の軽微な出血，気管周囲の結合組織の軽度の出血）。また 0.3 mg/kg/日の雌 2 例で，軽微から軽度の肝細胞の限局性凝固壊死も認められた。

以上，第 1 期にタラゾパリブを 30 mg/kg/日で 5 日間投与したときの忍容性は不良であり，試験 6 日に 2 例の早期死亡が認められ，全例で一般状態の悪化が認められた（円背位，嗜眠および軟便）。汎血球減少，極めて重度の骨髄細胞減少および複数のリンパ節でのリンパ球減少が認められたことから，死亡および複数の組織における出血は敗血症によるものと考えられた。第 2 期にタラゾパリブを 1 mg/kg/日で 14 日間投与したときの忍容性は不良であり，試験 12～13 日にトキシコキネティクス群を含む全例が早期死亡または安楽殺に至った。また，0.3 mg/kg/日の 3 例が早期死亡／安楽殺に至った。これらの死因は重度の血液毒性に起因した複数臓器への細菌感染と，これに続発した敗血症であると考えられた。NOAEL，最大耐量（MTD）および STD_{10} である 0.1 mg/kg/日を投与したときの試験 14 日における C_{max} および AUC_{24} の雌雄合算平均値はそれぞれ 42.5 ng/mL（非結合型：4.29 ng/mL）および 280 ng•h/mL（非結合型：28.2 ng•h/mL） であった。NOAEL を投与したときの曝露量比は，臨床用量である 1 mg をヒトに投与したときの非結合型 C_{max} および AUC_{24} と比較してそれぞれ 0.8 倍および 0.5 倍であった。

3.2. ラットを用いた 5 日間経口投与毒性および 28 日間回復性試験

報告書番号 8227540，概要表 2.6.7.7A

Sprague Dawley ラット（雌雄各 18 匹/群）にタラゾパリブトシル酸塩を 0（溶媒対照：0.5% CMC），0.3，1 または 3 mg/kg/日の用量で 5 日間 1 日 1 回経口投与（投与容量：5 mL/kg）したときのタラゾパリブの毒性および曝露量，ならびに 28 日間休薬したときの影響の可逆性および持続性または遅発性毒性の有無を評価した。投与量は，毒性の用量反応関係を得ることを目的として設定した。すなわち，本試験の高用量を 3 mg/kg/日（毒性は認められるが，評価可能な生存率が得られると考えられる用量）とし，以下 1 mg/kg/日，0.3 mg/kg/日（毒性が認められないと考えられる用量）および溶媒のみを投与する対照群を設けた。各群の雌雄各 12 匹/群を投与期間終了時に，残りの雌雄各 6 匹/群を 28 日間の休薬期間終了時に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，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，尿検査），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を実施した。これとは別に，トキシコキネティクス群（雌雄各 12 匹/群）を加え，投与 1 日および投与 5 日に採血し，血漿中のタラゾパリブ濃度を測定した。

タラゾパリブの曝露量は用量増加に伴い増加した。投与 1 日における C_{max} および AUC_{24} は用量に概ね比例して増加したが，投与 5 日には用量比例性を下回った。曝露量に性差は認められず（2 倍未満），5 日間の反復投与後に蓄積性は認められなかった。T_{max} は 3～8 時間であり， $t_{1/2}$ は 20～38 時間であった。

全例が試験 6 日の計画屠殺時まで生存した。休薬期間中に 1 mg/kg/日以上の全例がタラゾパリブに関連した死亡発見または瀕死状態により早期安楽殺され（1 mg/kg/日で休薬 6～7 日目，3 mg/kg/日で休薬 1～3 日目），死亡時期に用量依存性が認められた。1 mg/kg/日以上で安楽殺前に体重抑制（10%～35%：以下，溶媒対照からの変化率），摂餌量の著しい減少（投与 4 日目に 24%～67%）がみられ，一般状態変化として，削痩，頭部または頸部腹側の腫脹を伴う円背位，蒼白，自発運動量の低下，鼻および眼からのポルフィリン分泌物，被毛の粗剛化／汚れおよび半眼が認められた。1 mg/kg/日における死因は，下顎リンパ節および唾液腺（唾液腺重量の増加を伴う）の軽微から重度の炎症および病巣内細菌を伴う敗血症であった。これら組織よりも低頻度であったが，肺，腎臓および脳においても出血および病巣内細菌を伴う敗血症が認められた。敗血症は，タラゾパリブに関連した極めて重度の骨髄細胞減少，ならびに胸腺重量の減少を伴う胸腺およびその他リンパ組織（リンパ節，GALT および脾臓）の胚中心における軽微から中等度のリンパ球減少によって生じた白血球の減少に続発したと考えられた。

1 mg/kg/日以上で休薬期間中に認められたその他の変化として，大腿骨および胸骨での軽微から中等度の骨髄過形成，脾臓および肝臓における軽微から中等度の代償性の髄外造血，脾臓重量の増加を伴う脾臓におけるマクロファージ浸潤が認められた。また剖検では，1 mg/kg/日でタラゾパリブに関連した変化として下顎唾液腺の形態異常，脳の変色，精巣の斑状化および精巣上体の変色が認められた。

休薬期間における 3 mg/kg/日の死因になったと考えられる変化として，腸管全体（十二指腸，空腸，回腸，盲腸，結腸および直腸）の軽微から極めて重度のアポトーシス／壊死ならびに絨毛の萎縮およびアポトーシス増加と関連する下痢（水様便）が認められた。

0.3 mg/kg/日では，雄 1 例が休薬 11 日目に死亡した。この動物には脾臓および下顎リンパ節の肥大がみられたが，敗血症は確認されておらず，タラゾパリブによる死亡とは確定できなかった。0.3 mg/kg/日の他の動物には一般状態の変化は認められず，全例が休薬期間終了時まで生存したことから，同個体の死亡はタラゾパリブに関連したものではないと考えられた。0.3 mg/kg/日の生存動物では，休薬期間終了時に体重（2%～13%：以下，溶媒対照からの変化率）および摂餌量（5%～7%）の軽微な減少が認められた。

血液学的検査では，投与期間終了時である投与 6 日に，タラゾパリブを投与した全用量でタラゾパリブに関連した血液学的パラメータの変化が認められた。赤血球（8%～14%：以下，溶媒対照からの変化率），ヘモグロビン（7%～14%），ヘマトクリット（10%～16%）および網状赤血球数（99%）の減少が認められたが，赤血球数減少に対する代償性変化は認められなかった。また，白血球数（24%～36%），好中球数（28%～57%），リンパ球数（20%～35%），単球数（77%～82%），大型非染色細胞数（50%～83%）および血小板数（44%～54%）の減少が認められた。血液生化学的検査においても，タラゾパリブを投与した全用量で，グルコース上昇（52%，0.3 mg/kg/日以上の雄），カリウム（10%～16%，雄），AST（19%～27%，雄）および ALT の低下（15%～45%），ならびにグルコースの低下（18%，3 mg/kg/日雌）が認められた。血液生化学的検査で認められた変化は，いずれも毒性学的意義の乏しい変化であると判断した。0.3 mg/kg/日で認められた血液学的検査値の変化は，28 日間の休薬後には，赤血球数（7%，雌）および血小板数（28%～37%）の減少を除いて回復した。血液凝固検査または尿検査においては，タラゾパリブと関連する変化は認められなかった。

タラゾパリブを投与した全用量でタラゾパリブに関連した器官重量の変化が認められた。脾臓（11%～29%：以下，溶媒対照からの変化率）および胸腺（66%～79%）の重量減少（対体重比）が認められたが，0.3 mg/kg/日では休薬後に回復した。

病理組織学的検査では，タラゾパリブを投与した全用量で変化が認められた。0.3 mg/kg/日以上では，大腿骨および胸骨における中等度から極めて重度の骨髄細胞減少，胃および腸管（小腸，盲腸，結腸および直腸を含む）における軽微から中等度のアポトーシス増加，回腸，盲腸および結腸の GALT における軽微からごく軽度のリンパ球減少，下顎リンパ節の胚中心における軽微からごく軽度のリンパ球減少，ならびに胸腺重量の減少と関連する胸腺におけるごく軽度から重度のリンパ球減少が認められた。その他，1 mg/kg/日以上では，小腸における軽微から中等度の絨毛萎縮，肝臓における軽微から中等度の壊死，および卵巣における軽微からごく軽度の卵胞閉鎖（雌）が認められた。3 mg/kg/日では，肺における軽微な肺胞上皮の肥大および脾臓における軽微からごく軽度のリンパ球減少が認められたが，毒性学的意義の乏しい変化であった。

休薬後に 0.3 mg/kg/日でみられたタラゾパリブに関連した所見は，投与期間中に認められた骨髄細胞減少に対する代償性変化と考えられる肝臓での髄外造血の増加，および遅発性変化として認められた精巣における軽微な萎縮および変性であった。

以上，Sprague Dawley ラットにタラゾパリブを 0.3，1 または 3 mg/kg/日で 5 日間経口投与したとき，投与期間中はすべての用量で忍容性が認められたが，28 日間の休薬期間中には 1 mg/kg/日以上の用量［試験 5 日における雌雄合算の C_{max} は 327 ng/mL（非結合型：33.0 ng/mL）以上，AUC_{24} は 2589 ng•h/mL（非結合型：261.5 ng•h/mL）以上，C_{avg} は 107.9 ng/mL（非結合型：10.9 ng/mL）以上］では忍容性が認められなかった。5 日間の投与期間中にタラゾパリブの蓄積は認められなかったが，毒性徴候，体重減少および摂餌量の著しい減少に起因した遅発性毒性により，1 mg/kg/日の動物は休薬 7 日目まで，3 mg/kg/日の動物は休薬 3 日目までに，用量依存的に早期死亡または計画外の安楽殺に至った。死因と考えられる病理組織学的所見は，細菌性敗血症または消化管における腸症であった。0.3 mg/kg/日では雄 1 例が休薬 11 日目に死亡した。このラットでは脾臓および下顎リンパ節の肥大ならびに脾臓重量の増加が認められたが，同個体に敗血症は認められず，同用量を投与した他のすべての動物では忍容性が認められた。0.3 mg/kg/日で認められたタラゾパリブに関連した所見は体重および摂餌量の減少であり，一般状態および病理組織学的所見における変化は軽微で，概して回復性が認められた。この試験では，NOAEL は得られなかった。STD_{10} である 0.3 mg/kg/日を投与したときの試験 5 日における雌雄合算での C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 122 ng/mL（非結合型：12.3 ng/mL）および 856.7 ng•h/mL（非結合型：86.5 ng•h/mL）であった。STD_{10} における非結合型 C_{max} および AUC_{24} は，臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型曝露量のそれぞれ 2.3 倍および 1.6 倍であった。

3.3. ラットを用いた 28 日間経口投与毒性および 28 日間回復性試験

報告書番号 8227533，概要表 2.6.7.7B

Sprague Dawley ラット（雌雄 18 匹/群）にタラゾパリブトシル酸塩を 0（溶媒対照：0.5% CMC），0.005，0.015 または 0.05 mg/kg/日の用量で 28 日間 1 日 1 回経口投与（投与容量：5 mL/kg）したときのタラゾパリブの毒性および曝露量，ならびに 28 日間休薬したときの影響

の可逆性および持続性，または遅発性毒性の有無を評価した。雌雄 12 匹/群を投与期間終了時に，残りの雌雄 6 匹/群を 28 日間の休薬期間終了時に安楽殺して剖検した。投与量は，毒性の用量反応関係を得ることを目的として設定した。すなわち，本試験の高用量を 0.05 mg/kg/日（毒性は認められるが，評価可能な生存率が得られると考えられる用量）とし，以下 0.015 mg/kg/日，0.005 mg/kg/日（毒性が認められないと考えられる用量）および溶媒のみを投与する対照群を設けた。一般状態観察，体重，摂餌量測定，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，尿検査），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を評価した。これとは別に，トキシコキネティクス群（雌雄 12 匹/群）を加え，投与 1，15 および 28 日に採血し，血漿中のタラゾパリブ濃度を測定した。

タラゾパリブの曝露量は用量増加に伴って増加した。C_{max} の増加は概して用量比例性を上回ったが，AUC_{24} は概ね用量に比例して増加した。曝露量に性差は認められず（2 倍未満），28 日間の反復投与後には蓄積が認められた（3.12 倍以下）。T_{max} は投与 1 日で 2～12 時間，投与 28 日では 1～4 時間であり，$t_{1/2}$ は 20～38 時間であった。

いずれの用量においてもタラゾパリブの忍容性は良好であり，すべての動物が計画屠殺時まで生存した。0.015 mg/kg/日以下では，一般状態，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検所見または器官重量に変化は認められなかった。0.05 mg/kg/日では，タラゾパリブに関連した一般状態変化として被毛の汚れ，投与期間終了時に体重（4%～5%：以下，溶媒対照からの変化率）および摂餌量（7%～9%）の軽微な減少が認められ，いずれも休薬期間終了時までに回復したことから，毒性学的意義のない変化と考えられた。

0.05 mg/kg/日で認められたタラゾパリブに関連した血液学的検査パラメータの変化（血小板数増加は除く）は毒性変化および代償性変化と考えられたが，血液生化学的検査パラメータの変化は概して毒性学的意義の乏しい変化であると判断した。血液学的検査では，0.05 mg/kg/日の雌雄で赤血球パラメータの減少［赤血球数（38%～45%：以下，溶媒対照からの変化率），ヘモグロビン（30%～42%）およびヘマトクリット（29%～42%）］が認められ，投与期間終了時には，代償性変化として雄で MCV（14%）および MCHC（13%）の増加が認められた。また網状赤血球数の減少が雌雄で認められ，試験 8 日に最低値（89%～96%）を示したが，投与期間終了時までに回復した（雄では 42%増加，雌では溶媒対照との差なし）。その他，投与期間終了時に白血球数（21%～42%），好中球数（23%～69%），リンパ球数（15%～42%），単球数（50%～79%）および大型非染色細胞数（50%～57%）の減少が認められた。また，投与期間終了時に血小板数の増加（12%～25%）が認められ，投与初期に生じた減少（データなし）に対する代償性変化である可能性が考えられた。血液凝固検査では，投与期間終了時に雄でフィブリノゲン減少（7%）が認められた。血液生化学的検査では，雄で ALP の低下（20%）および血清リンの上昇（8%）が認められた。その他に，グルコース（14%～28%）およびカリウム（9%～17%）の上昇，γ-グルタミルトランスフェラーゼの検出（6～10 U/L，溶媒対照では検出限界未満），ならびにグロブリンの低下（8%～9%）およびこれに対応するアルブミン／グロブリン比の上昇（1.11～1.13 倍）が認められた。

0.05 mg/kg/日で，タラゾパリブに関連した器官重量（絶対重量）の変化が認められた。病理組織学的検査でみられた精巣のごく軽度の萎縮／変性に関連した軽微な精巣重量の減少（12%,休薬後に回復傾向が認められた：以下，溶媒対照からの変化率），リンパ球減少に関連する中等度の胸腺重量の減少（17%～36%，休薬後に回復した），および関連する病理組織学的所見を伴わ

ない軽微からごく軽度の心臓重量の増加（5%～10%，休薬後に回復傾向が認められた）が認められた。休薬後にも，雌で心臓重量の軽微な増加（12%），雄で精巣上体および精巣重量の軽微な減少（20%および 41%）ならびに精嚢重量の軽微な増加（18%）が認められた。タラゾパリブに関連した剖検所見として，投与終了時に 0.05 mg/kg/日の雄 1 例で精巣上体に巣状の黄褐色化が認められ，病理組織学的検査でみられた精巣上体の精子肉芽腫と関連していた。

病理組織学的検査では，0.05 mg/kg/日でタラゾパリブに関連した変化が認められた。赤血球パラメータの減少と関連する軽微からごく軽度の胸骨および大腿骨での骨髄細胞減少，白血球数減少と関連した下顎および腸間膜リンパ節の胚中心，脾臓の辺縁帯ならびに胸腺における軽微から軽度のリンパ球減少，ならびに休薬後に回復傾向がみられた精巣の軽微からごく軽度の萎縮／変性および精巣上体におけるごく軽度の精子肉芽腫が認められた。またタラゾパリブに関連した毒性学的意義の乏しい病理組織学的所見として，腺胃および十二指腸における軽微なアポトーシス増加，ならびにトランスアミナーゼの増加を伴わない肝臓における軽微からごく軽度の単細胞壊死が認められた。0.015 mg/kg/日の雄 2 例でも精巣上体にごく軽度または中等度の精子肉芽腫が認められた。休薬後に，0.005 mg/kg/日および 0.015 mg/kg/日で精巣上体に軽微からごく軽度の精子肉芽腫が認められ，0.05 mg/kg/日で精巣における軽微から中等度の萎縮／変性および精巣上体内腔の軽微な細胞残屑が認められた。その他の病理組織学的変化はすべて，休薬後に回復した。

以上，タラゾパリブを 0.05 mg/kg/日以下の用量で 28 日間投与したときの忍容性は良好であり，全例が計画屠殺時まで生存した。0.015 mg/kg/日以下では，一般状態，血液学的検査，血液生化学的検査および剖検所見に変化は認められず，0.05 mg/kg/日で体重および摂餌量に軽微で可逆的な減少が認められたが，これらは毒性学的意義のない変化と判断した。0.05 mg/kg/日で認められたタラゾパリブに関連した血液学的検査，血液生化学的検査および病理組織学的検査で認められた変化は概して休薬後に回復し，精巣における軽微から中等度の萎縮／変性（毒性変化）は休薬後に回復傾向を示した。投与期間終了時に 0.015 mg/kg/日および 0.05 mg/kg/日で，休薬後に 0.005 mg/kg/日の 1 例でも精巣上体の精子肉芽腫が認められたことから，NOAEL は得られなかった。HNSTD（0.05 mg/kg/日）を投与したときの試験 28 日における雌雄合算での C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 21.7 ng/mL（非結合型：2.19 ng/mL）および 148 ng•h/mL（非結合型：15.0 ng•h/mL）であり，臨床用量の 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型曝露量のそれぞれ 0.4 倍および 0.3 倍であった。

3.4. ラットを用いた 13 週間経口投与毒性および 4 週間回復性試験

報告書番号 8279299，概要表 2.6.7.7C

Sprague Dawley ラット（雌雄各 18 匹/群）にタラゾパリブトシル酸塩を 0（溶媒対照：1.031 mg/mL の Prosolv® SMCC HD90 を含む 0.5%CMC），0.005，0.015 または 0.05/0.04 mg/kg/日の用量で 13 週間 1 日 1 回経口投与（投与容量：5 mL/kg）したときのタラゾパリブの毒性および曝露量，ならびに 28 日間休薬したときの影響の可逆性および持続性，または遅発性毒性の有無を評価した。投与量は，ラットを用いた 28 日間経口投与毒性試験（報告書番号 8227533）で忍容性および用量依存的な毒性発現が認められたことから，28 日間経口投与毒性試験と同様とした。すなわち，0.05 mg/kg/日を最高用量とし，以下 0.015 mg/kg/日，0.005 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。雌雄各 12 匹/群を投与期間終了時に，残りの雌雄各 6 匹/群

を 28 日間の休薬期間終了時に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，臨床病理検査（血液学的検査，凝固検査，血液生化学的検査，尿検査），器官重量測定，剖検，病理組織学的検査を評価した。感染の有無を評価するため，溶媒対照群および 0.05/0.04 mg/kg/日を対象として試験 49 日から週 1 回の体温測定を実施した。これとは別に，トキシコキネティクス群（雌雄各 12 匹/群）を加え，試験 1，29 および 91 日に採血し，血漿中のタラゾパリブ濃度を測定した。

タラゾパリブの曝露量は用量増加に伴い増加した。C_{max} の増加はいずれの評価日においても概して用量比例性を上回った。AUC_{24} の増加は，試験 1 日に用量比例性を上回ったが，反復投与後の試験 29 日および試験 91 日には概ね用量に比例した。曝露量に性差はなく（2 倍未満），試験 1 日と比べて試験 91 日には蓄積が認められた（C_{max} で 5 倍，AUC_{24} で 4.1 倍）。T_{max} は 0.25～4 時間であり，$t_{1/2}$ は 20～52 時間であった。

0.05 mg/kg/日におけるタラゾパリブの忍容性は不良であり，タラゾパリブに関連した瀕死状態に至ったため，試験 49 日に雄 5 例（主試験の毒性評価群の雄 4 例およびトキシコキネティクス群の雄 1 例）および雌 1 例（主試験群）を安楽殺した。これら瀕死状態の動物では，体重減少，耳，眼または足の蒼白，および活動性低下が認められた。これらの所見（耳，眼または足の蒼白，活動性低下）は重度から極めて重度の赤血球パラメータの減少に起因するものであり，これと関連した病理組織学的所見として骨髄細胞減少が認められた。また軽度から中等度の白血球数減少，ならびに好中球数，リンパ球数，好塩基球数および大型非染色細胞数の減少も，瀕死状態の一因と考えられた。0.05 mg/kg/日では，試験 49 日に瀕死状態による安楽殺例が認められたことに加えて，この群では足（雄 9 例および雌 8 例）および眼（雌雄各 2 例）の蒼白が認められたことから，試験 50 日から 63 日まで休薬し，試験 64 日から 0.04 mg/kg/日に減量して投与を再開した。このほかに，試験 43 日に主試験群の雌 2 例（0.05 mg/kg/日の 1 例および 0.005 mg/kg/日の 1 例）が採血に関連して偶発的に死亡した（タラゾパリブとの関連なし）。

0.015 mg/kg/日以下では，タラゾパリブに関連した一般状態の変化は認められなかったが，0.015 mg/kg/日以上で，投与期間終了時に体重抑制（8%～9%，雄：溶媒対照からの変化率），体重増加量および摂餌量の軽微な減少が認められた。0.05/0.04 mg/kg/日では，体重増加量の減少は投与期間中の休薬時および休薬期間終了時に回復したが，体重抑制は休薬期間終了時まで持続した。0.05/0.04 mg/kg/日で，散発的な体温上昇がみられたが，その程度からは白血球数減少に起因する二次感染の有無を判断できなかった。

血液学的検査では，0.005 mg/kg/日でタラゾパリブに関連した血液学的パラメータの変化は認められなかった。0.015 mg/kg/日ではタラゾパリブに関連した可逆的な血液学的パラメータの変化がみられ，試験 92 日に赤血球数の減少（5%～6%：以下，溶媒対照との比率），試験 85 日に雄で MCV（4%）および MCH（4%）の増加，ならびに試験 8 日に雌で網状赤血球数減少（19%）が認められた。0.05/0.04 mg/kg/日では試験 8 日から 92 日にかけて血液学的パラメータの進行性変化が認められ，赤血球パラメータの減少（赤血球数が 7%～39%，ヘモグロビンが 7%～31%，ヘマトクリットが 9%～31%）が認められた。試験 92 日には MCV（13%～19%）および MCH（13%～21%）の増加が認められた。休薬後には，赤血球数減少ならびに MCV および MCH の増加は回復傾向を示し，その他のすべての赤血球パラメータの変化は回復した。その他の血液学的パラメータの変化として，試験 8 日に網状赤血球数の重度の減少（96%～98%）が認められ，試験 22 日までに徐々に回復した。試験 29 日および 62 日に網状赤血球数は溶媒対照群と比

して増加したが，試験 71 日に再度著しく減少した。その後網状赤血球数は徐々に回復（試験 8 日との比較）したが，試験 92 日まで減少（13%～39%）は持続した。加えて，投与期間終了時には，白血球数の減少（35%～49%；回復傾向が認められた），好酸球を除く白血球分画の減少（好中球数が 35%～54%，リンパ球数が 33%～49%，単球数が 58%～79%，好塩基球数が 75%，大型非染色細胞数が 60%～67%），および血小板数増加（38%～45%）が認められた。

0.015 mg/kg/日以下ではタラゾパリブに関連した器官重量の変化または剖検所見は認められなかった。0.05/0.04 mg/kg/日ではタラゾパリブに関連した器官重量（絶対重量および相対重量）の変化が認められた。雄で髄外造血の増加と関連した脾臓重量の増加，雌でリンパ球減少と関連した胸腺重量の減少，ならびに雄で精巣の変性/萎縮および精巣上体の精子数減少と関連した精巣および精巣上体重量の減少が認められた。休薬期間終了時においても，精巣および精巣上体重量の減少が認められた。0.05/0.04 mg/kg/日で，病理組織学的所見を伴わない毒性学的意義の乏しい剖検所見として，肺，膵臓（0.015 mg/kg/日の雄 1 例でも認められた）および下垂体の白色化が認められた。

0.005 mg/kg/日ではタラゾパリブに関連した病理組織学的所見は認められなかった。0.015 mg/kg/日では，腸間膜リンパ節にリンパ球減少が認められたが，可逆的であり毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。0.05/0.04 mg/kg/日では，タラゾパリブに関連した変化として，投与期間終了時に精巣の精細管に軽微から中等度の変性／萎縮，精巣の変化に続発したと考えられる精巣上体での軽微から中等度の管腔内精子数減少，精巣上体での軽微からごく軽度の管腔内細胞残屑および精巣上体管の上皮の空胞化が認められた。その他の毒性変化として，胸骨および大腿骨での軽微から中等度の骨髄細胞減少，赤血球パラメータの変化と関連した軽微からごく軽度の M:E 比の増加，ならびに骨髄における軽微からごく軽度の肥満細胞浸潤の増加が認められた。このほか，雄における脾臓重量の増加および赤血球パラメータおよび網状赤血球数の回復／リバウンドと関連した脾臓での軽微からごく軽度の髄外造血の増加（休薬後に回復傾向が認められた）が認められた。また雌における胸腺重量の減少と関連した胸腺での軽微からごく軽度のリンパ球減少および腸間膜リンパ節における軽微なリンパ球減少も認められたが，変化の程度が小さいことから，毒性学的意義の乏しい変化と考えた。休薬期間終了時までに，精巣（精細管の軽微な変性／萎縮）および精巣上体（管腔内の軽微な細胞残屑，管腔内精子の軽微からごく軽度の減少）の変化は回復傾向を示し，骨髄細胞の減少ならびに胸腺およびリンパ節におけるリンパ球の減少は完全に回復した。

以上，ラットにタラゾパリブを 0.015 mg/kg/日まで投与したときの忍容性は良好であった。0.005 mg/kg/日ではタラゾパリブによる影響は認められず，0.015 mg/kg/日ではごく軽微で可逆的な変化が認められた。一方，0.05 mg/kg/日では毒性変化が認められ，試験 49 日に雄 5 例および雌 1 例が瀕死状態のため安楽殺に至り，眼および足の蒼白および赤血球パラメータの進行性変化が複数のラットで認められたことから，試験 50 日から 63 日まで休薬し，試験 64 日から 0.04 mg/kg/日に減量して投与を再開した。0.04 mg/kg/日を投与したときの試験 91 日における雌雄合算の曝露量は，C_{max} で 29.22（非結合型：2.95） ng/mL，AUC_{24} で 210.7（非結合型：21.3） ng•h/mL および C_{avg} で 10.8（非結合型：1.09） ng/mL であった。その他に，骨髄細胞減少（休薬期間終了時に回復）と関連した赤血球パラメータの減少（休薬期間終了時に回復傾向），雄で精巣上体の管腔内精子の減少と関連する精巣の変性／萎縮が認められた。NOAEL/STD_{10}（0.015 mg/kg/日）を投与したときの試験 91 日における雌雄合算の曝露量は，C_{max} で

8.09 ng/mL（非結合型：0.817 ng/mL）および AUC_{24} で 83.44 ng•h/mL（非結合型：8.43 ng•h/mL）であった。NOAEL/ STD_{10} における非結合型 C_{max} および AUC_{24} の曝露量比は，臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型曝露量のそれぞれ 0.1 倍および 0.2 倍であった。

3.5. イヌを用いた 5 日間および 14 日間経口投与用量設定試験

参考資料 VQZ00002，概要表 2.6.7.6

ビーグル犬にタラゾパリブを 5 日間（第 1 期，雌雄各 1 匹/群）または 14 日間（第 2 期，雌雄各 1 匹/群）経口投与したときの忍容性および毒性を評価した。第 1 期では 0.1 または 1 mg/kg/日のタラゾパリブ遊離塩基（投与容量：2 mL/kg）を投与した。1 mg/kg/日での忍容性は不良であり，観察期間中の試験 7 日に瀕死状態となったため安楽殺した。0.1 mg/kg/日では，計画屠殺日である試験 6 日に安楽殺した。第 2 期では，0（溶媒対照：0.5% CMC），0.01，0.03 および 0.1 mg/kg/日でタラゾパリブ遊離塩基（投与容量：2 mL/kg）を 14 日間投与し，試験 15 日に安楽殺した。第 1 期では，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，理学的検査，眼科学的検査，臨床病理検査（血液学的検査，凝固検査，血液生化学的検査）を実施し，組織は保存したものの病理組織学的検査は実施しなかった。第 2 期では，第 1 期の評価項目に加えて，剖検および病理組織学的検査，ならびに骨髄塗抹標本による評価を実施した。早期死亡に至った 0.03 mg/kg/日の雄および 0.1 mg/kg/日の雌の骨髄塗抹標本は作製しなかった。第 2 期では，試験 1 日および試験 14 日に採血し，血漿中のタラゾパリブ濃度を測定した。

第 1 期に，タラゾパリブ 1 mg/kg/日を 5 日間投与したときの忍容性は不良であり，投与終了後の観察期間である試験 7 日に瀕死状態のため安楽殺した。一般状態変化として，糞便異常（血液が混入した変色便，粘液便および重度の軟便），側臥位，嘔吐，自発運動量低下および浅速呼吸が認められた。試験 7 日に体重減少（10%～15%：投与前値からの変化率）が認められ，摂餌量の減少を伴っていた。血液学的検査では，雌雄ともに網状赤血球（29%～36%：以下，投与前値との比率），白血球（2%～10%），好中球（1%～10%），リンパ球（5%～11%），単球（4%～5%），好酸球（BLOQ～14%），好塩基球（BLOQ～60%）および血小板（37%～61%）の減少が認められた。凝固検査では，雌で活性化部分トロンボプラスチン時間（147%）およびプロトロンビン時間（126%）の延長，雌雄でフィブリノゲンの増加（雄 160%，雌 367%）が認められた。血液生化学的検査では，雄で ALT（183%）および雌で ALP（156%）の上昇が認められた。剖検では，胃，十二指腸，回腸および直腸に変色（赤色），雌では食道，空腸および子宮の変色（赤色）および肺において暗色変化が認められ，血小板数の減少および凝固パラメータの変化を伴っていたことから，これら臓器での出血が示唆された。

第 1 期において，タラゾパリブ 0.1 mg/kg/日を 5 日間投与したところ忍容性が認められ，一般状態，体重，摂餌量，血液生化学的検査値および剖検所見にタラゾパリブに関連した影響は認められなかった。血液学的検査では，網状赤血球（11%～40%：以下，投与前値との比率），白血球（50%，雄），好中球（55%，雄），リンパ球（50%～51%），単球（10%～12%），好酸球（38%～56%），好塩基球（11%～20%），血小板（72%～73%）の減少が認められた。凝固検査では，雌でフィブリノゲンの増加（153%）が認められた。

第 2 期において 0.03 mg/kg/日以上のタラゾパリブを 14 日間投与したときの忍容性は不良であり，試験 12～14 日に死亡発見または瀕死状態により安楽殺した。このため，0.03 mg/kg/日以上

の TK 評価は試験 1 日のみ実施し，試験 14 日には実施しなかった。試験 1 日におけるタラゾパリブの C_{max} および AUC_{24} は，概ね用量比例的に増加した。曝露量の性差は用量間でばらついたものの，2 倍を超える差は認められなかった。0.01 mg/kg/日ではタラゾパリブの 14 日間反復投与後に蓄積性（4 倍以下）が認められた。

第 2 期の 0.03 mg/kg/日以上で，死亡前の一般状態変化として，糞便異常（血液が混入した変色便，重度の軟便および粘液便），嘔吐，嗜眠，食欲不振，接触時の温感，脱水，運動失調および粘膜の蒼白が認められた。0.03 mg/kg/日以上では，試験 12～14 日に体重減少（8%～17%：投与前値からの変化率）が認められ，これと関連して 0.1 mg/kg/日の雌で摂餌量減少が認められた。0.03 mg/kg/日以上では，血液学的検査の変化として，網状赤血球数（3%～61%：以下，投与前値との比率），血小板数（2%～4%，雌），白血球数（2%～64%），好中球数（1%～62%），リンパ球数（7%～73%），単球数（2%～5%）および好酸球数（雌，BLOQ～8%）の減少が認められた。また凝固および血液生化学的検査値の変化として，0.1 mg/kg/日の雌で活性化部分トロンボプラスチン時間の延長（48%），フィブリノゲンの増加（0.03 mg/kg/日以上の雌で 337%～597%，0.1 mg/kg/日の雄で 94%）も認められた。肝酵素の上昇［0.03 mg/kg/日の雌で ALT，AST および ALP（それぞれ 150%，160%および 493%）ならびに 0.1 mg/kg/日で ALP（143%～227%）］も認められた。病理組織学的検査では，0.03 mg/kg/日以上で胸腺のリンパ球および骨髄の造血細胞の中等度から重度の枯渇，脾臓のリンパ濾胞における軽度から中等度のリンパ球枯渇，腸間膜リンパ節での中等度のリンパ球枯渇ならびに消化管での軽微から重度の出血が認められた。骨髄塗抹標本による評価では，0.03 mg/kg/日以上で，末梢血での血液学的変化と一致する全系統の造血細胞の枯渇がみられ， M:E 比は算出できなかった。

第 2 期の 0.01 mg/kg/日では，タラゾパリブの忍容性は良好であり，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液生化学的検査，剖検および病理組織学的検査でタラゾパリブに関連した影響は認められなかった。血液学的検査では，重症度は低いものの 0.03 mg/kg/日以上と同様の傾向を示したタラゾパリブに関連した変化として，網状赤血球数（19%，雄：以下，投与前値との比率），血小板数（19%～51%），白血球数（32%～60%），好中球数（13%～66%），リンパ球数（58%～62%），単球数（18%～41%）および好塩基球数（14%，雄）の減少が認められた。骨髄塗抹標本による評価では，雄で中等度の造血細胞減少（M:E 比は 1.2:1.0），雌で軽微な赤芽球細胞減少（M:E 比は 2.2:1.0）が認められたが，赤血球パラメータに影響はみられなかった。

以上，第 1 期でタラゾパリブを 1 mg/kg/日で 5 日間投与したときの忍容性は不良であり，試験 7 日に全例を一般状態の悪化による瀕死状態により安楽殺した。0.1 mg/kg/日では，タラゾパリブの忍容性は良好であり，軽微から中等度の血液学的変化が認められた。第 2 期でタラゾパリブ 0.03 mg/kg/日以上を 14 日間投与したときの忍容性は不良であり，骨髄における造血細胞の枯渇，リンパ組織（胸腺，脾臓および腸間膜リンパ節）におけるリンパ球の枯渇および消化管出血が認められた。0.01 mg/kg/日では，タラゾパリブの忍容性は良好であり，関連する病理組織学的所見を伴わない重症度の低い血液学的所見として網状赤血球数，血小板数および白血球数の減少が認められた。NOAEL，MTD または HNSTD である 0.01 mg/kg/日における試験 14 日の C_{max} および AUC_{24} は，雄でそれぞれ 8.16 ng/mL（非結合型：3.0 ng/mL）および 64.3 ng•h/mL（非結合型：23 ng•h/mL），雌でそれぞれ 4.38ng/mL（非結合型：1.6 ng/mL）および

54.8 ng•h/mL（非結合型：20 ng•h/mL） であった。NOAEL/HNSTD の用量と臨床用量である 1 mg をヒトに投与したときの曝露量比は，C_{max} で 0.4 倍，AUC_{24} で 0.4 倍であった。

3.6. イヌを用いた 5 日間経口投与毒性および 28 日間回復性試験

報告書番号 8227539，概要表 2.6.7.7D

ビーグル犬（雌雄 7 匹/群）にタラゾパリブトシル酸塩を 0（溶媒対照：0.5% CMC），0.003，0.01，0.03 または 0.1 mg/kg/日の用量で 5 日間 1 日 1 回経口投与（投与容量：0.5 mL/kg）したときのタラゾパリブの毒性および曝露量，ならびに 28 日間休薬したときの影響の回復性，持続性または遅発性毒性の有無を評価した。投与量は，タラゾパリブの臨床試験として計画された 5 日間経口投与試験（21 日間のウォッシュアウト期間を含む）での臨床投与計画を支持することを目的として設定した。雌雄 4 匹/群を投与期間終了時に，残りの雌雄 3 匹/群を休薬期間終了時に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，理学的検査，体温測定，眼科学的検査，心電図検査，臨床病理検査（血液学的検査，凝固検査，血液生化学的検査，尿検査），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を評価した。加えて，試験 1 および 5 日に採血し，血漿中のタラゾパリブ濃度を測定した。

タラゾパリブの C_{max} および AUC_{24} は，0.003～0.1 mg/kg/日の用量範囲で概ね用量比を上回って増加した。5 日間反復投与後の曝露量に性差はほとんどみられず（2 倍未満），蓄積性（全用量で 3.5 倍以下）が認められた。反復投与後の T_{max} は 2.14～8.29 時間，$t_{½}$は 35.8～74.1 時間であった。

投与期間中にタラゾパリブに関連した一般状態の変化は認められず，投与期間終了時の計画屠殺時まで全例が生存し，0.03 mg/kg/日以下では休薬期間終了時の剖検予定日まで全例が生存した。本試験では，タラゾパリブに関連した眼科学的所見または心電図の変化（PR 間隔，QRS 時間，QT 間隔，QTc 間隔，RR 間隔，心拍数）は認められなかった。

0.1 mg/kg/日では，休薬期間中にタラゾパリブの忍容性が認められず，休薬 8 日に全例を瀕死状態のため安楽殺した。タラゾパリブに関連した一般状態変化として，自発運動量低下，過剰な流涎および糞便異常（液状，粘液状，赤色または橙色の変色および無形便）ならびに体温上昇（40.1°C～40.4°C）が認められた。溶媒対照（0.2 kg 以下の体重増加）と比較して，0.1 mg/kg/日では体重減少（0.5～0.9 kg）がみられ，摂餌量の減少（62%～66%：溶媒対照との比率）と関連していた。血液学的検査では，休薬 7 日に赤血球数（24%～28%，以下，溶媒対照からの変化率），ヘモグロビン（23%～25%）およびヘマトクリット（23%～27%）の減少ならびに極めて重度の血小板数の減少（97%）が認められた。また汎血球減少として，網状赤血球数（93%～95%），白血球数（96%～97%），好中球数（99%），リンパ球数（83%～90%），単球数（98%）の大幅な減少がみられ，好酸球，好塩基球および大型非染色細胞は BLOQ であった。血液生化学的検査では，投与期間終了時の顕著な変化として，トリグリセリドの減少（29%～33%）およびビリルビンの軽微な増加が認められた。剖検では，出血および全身組織への影響を示唆する複数臓器の変色が認められた。病理組織学的所見では，体温上昇と関連した複数の臓器（副腎，胃，小腸，盲腸，直腸，腎臓，心臓，リンパ節，肺，胸腺および精巣）での軽微から重度の出血がみられ，病巣内細菌を伴うこともあった。胃腸障害と関連した回腸および盲腸の GALT での軽微から中等度のリンパ球枯渇および十二指腸および空腸でのアポトーシス細胞残屑を伴う軽微からごく軽度の陰窩拡張，赤血球パラメータの変化と関連した大腿骨および胸

骨の骨髄での中等度から重度の細胞減少，リンパ球減少と関連したリンパ節および脾臓の胚中心におけるごく軽度から重度のリンパ球枯渇ならびに胸腺における軽微から重度のリンパ球枯渇，摂餌量の減少と関連した肝臓におけるごく軽度から中等度のグリコーゲンの枯渇，精巣での軽微からごく軽度の精細管変性が認められた。

0.03 mg/kg/日以下では，投与期間および休薬期間に少数例で一般状態変化として自発運動量の低下，過剰な流涎または糞便の異常が認められたものの，休薬期間に一般状態の悪化または瀕死状態に至った個体はみられなかった。発現時期および重症度が用量依存的な摂餌量の減少が0.1 mg/kg/日（試験 1～5 日に 7%～35%，休薬 1～7 日に 33%～38%：以下，溶媒対照からの変化率）および 0.03 mg/kg/日（休薬 1～7 日に 10%～35%，休薬 7～14 日に 32%～47%）で認められた。また 0.03 mg/kg/日では休薬期間中（休薬 8 日）に体温上昇（39.1˚C～39.3˚C）が認められ，細菌感染の可能性が示唆された。

0.003 mg/kg/日では，タラゾパリブに関連した臨床病理学的変化は認められなかった。
0.01 mg/kg/日では，投与期間終了時（試験 6 日）に網状赤血球数，白血球数およびリンパ球数の軽微な減少が認められたが，休薬期間終了までに回復した。0.03 mg/kg/日では，投与期間終了時に重度から極めて重度の汎血球減少がみられ，多くの動物で休薬期間中も持続した。0.03 mg/kg/日の休薬 7 日まで持続した血液学的変化として，網状赤血球数（92%～93%：以下，溶媒対照からの変化率），白血球数（62%～67%），好中球数（76%～79%），リンパ球数（19%～39%），単球数（81%～90%），好塩基球数（67%～69%）および大型非染色細胞数（33%～67%）の減少が認められたが，これらの変化は休薬期間終了時までに回復した。0.03 mg/kg/日での赤血球パラメータは試験 14 日までに最低値（赤血球：24%～34%，ヘモグロビン：21%～31%，ヘマトクリット：22%～33%）に達した後，休薬期間終了時までに回復傾向を示した（赤血球：11%～15%，ヘモグロビン：6%～13%，ヘマトクリット：6%～11%）。0.03 mg/kg/日での血小板数減少は，休薬 7 日に最大となり（87%～92%），休薬 21 日までに回復した（溶媒対照と比較して 68%～94%の増加）。

0.003 mg/kg/日では，器官重量の変化および病理組織学的変化は認められなかった。0.01 mg/kg/日以上でのタラゾパリブに関連した器官重量の変化として，休薬期間終了時に雌の胸腺重量（体重比）の減少（42%～67%：溶媒対照からの変化率）が認められ，病理組織学的検査で認められた胸腺のリンパ球枯渇と関連していた。

0.01 および 0.03 mg/kg/日では，投与期間終了時の病理組織学的変化として，小腸全長，結腸，盲腸および直腸での軽微なアポトーシスの増加，回腸，結腸および盲腸の GALT における軽微からごく軽度のリンパ球枯渇，血液学的変化と関連した顎下腺および腸間膜のリンパ節および脾臓の胚中心における軽微からごく軽度のリンパ球枯渇および大腿骨および胸骨の軽微から中等度の骨髄細胞減少ならびに血液学的変化および胸腺重量減少と関連した胸腺での軽微から重度のリンパ球の枯渇が認められた。休薬後，0.03 mg/kg/日では，タラゾパリブに関連した変化はみられなかったものの，肝臓および脾臓では回復性を示唆する代償性の髄外造血が認められた。

以上，タラゾパリブを 0.1 mg/kg/日以下で 5 日間投与したとき，投与期間終了時まで忍容性が認められたものの，0.1 mg/kg/日では休薬 7 日に瀕死状態となったため，休薬 8 日に全例を安楽殺した。これら瀕死状態となった動物の休薬 8 日でのタラゾパリブに関連した毒性所見として，

重度から極めて重度の汎血球減少症，出血および全身性の影響を示唆する複数臓器の変色，複数臓器で病巣内細菌がみられ，病理組織学的変化としてリンパ節および脾臓の胚中心におけるリンパ球の枯渇，骨髄細胞減少，胸腺でのリンパ球枯渇が認められた。顕著な汎血球減少，ならびに造血系への影響が敗血症および全身毒性を亢進し，瀕死状態に至ったと考えられた。
0.03 mg/kg/日以下では一般状態変化の発現頻度は低く，全例が休薬後の剖検予定日まで生存した。0.03 mg/kg/日では，代償性の血液学的回復性と関連する赤血球パラメータの軽微な変化ならびに肝臓および脾臓での髄外造血を除き，病理組織学的変化は回復性を示した。HNSTD（0.03 mg/kg/日）での試験 5 日における雌雄合算での C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 11.97 ng/mL（非結合型：4.37 ng/mL）および 160.96 ng•h/mL（非結合型：58.8 ng•h/mL）であった。HNSTD での非結合型 C_{max} および AUC_{24} の曝露量比は，臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型曝露量のそれぞれ 0.80 倍および 1.12 倍である。NOAEL（0.003 mg/kg/日）での試験 5 日における雌雄合算での C_{max} および AUC_{24} は，それぞれ 0.56 ng/mL（非結合型：0.203 ng/mL）および 10.4 ng•h/mL（非結合型：3.80 ng•h/mL）であった。NOAEL での非結合型 C_{max} および AUC_{24} の曝露量比は，臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型曝露量のそれぞれ 0.04 倍および 0.1 倍である。

3.7. イヌを用いた 28 日間経口投与毒性および 29 日間回復性試験

報告書番号 8227532，概要表 2.6.7.7E

ビーグル犬（雌雄各 7 匹/群）にタラゾパリブトシル酸塩を 0（溶媒対照：0.5% CMC），0.0005，0.0015，0.005 mg/kg/日または 0.01 mg/kg/日の用量で 28 日間 1 日 1 回経口投与（投与容量：投与 1 日のみ 0.6 mL/kg，以降 0.55 mL/kg）したときの毒性および曝露量，ならびに 29 日間休薬したときの影響の回復性，持続性または遅発性を評価した。投与量は，タラゾパリブの臨床試験として計画された 21 日間経口臨床投与計画を支持することを目的として設定した。雌雄 4 匹/群を投与期間終了時に，残りの雌雄 3 匹/群を休薬期間終了時に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，体温測定，眼科学的検査，心電図検査，臨床病理学的検査（血液学的検査，凝固検査，血液生化学的検査，尿検査），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を評価した。加えて，試験 1，15 および 28 日に採血し，血漿中のタラゾパリブ濃度を測定した。

タラゾパリブの C_{max} および AUC_{24} は概ね用量比例的に増加した。試験 15 日および 28 日の曝露量に性差はほとんどみられず（2 倍未満），蓄積率は 6.6 倍以下であった。試験 28 日における反復後の T_{max} は 2.07～15.3 時間，$t_{½}$ は 66.6～92.4 時間であった。

一般状態，体重，摂餌量，体温，心拍数，眼科学的検査または心電図検査（PR，QT，RR 間隔，QRS 時間，QTc 間隔）にタラゾパリブに関連した変化は認められず，全例が剖検予定日まで生存した。

0.0015 mg/kg/日以下では，タラゾパリブに関連した臨床病理学的変化は認められなかった。
0.005 mg/kg/日では，試験 28 日にタラゾパリブに関連した血液学的パラメータの変化として，リンパ球数の減少（20%～21%：以下，溶媒対照からの変化率）が認められた。0.01 mg/kg/日では，骨髄抑制作用と関連した臨床病理学的変化および病理組織学的所見が認められた。
0.01 mg/kg/日では，投与期間終了時の血液学的変化として，雌雄で赤血球パラメータ［赤血球数（16%～27%），ヘモグロビン（16%～27%）およびヘマトクリット（17%～28%）］，網状赤

血球数（27%～36%），血小板数（27%～53%，試験 15 日に最低値），白血球数（17%～43%）および白血球分画［好中球数（43%，雌），リンパ球数（37%～41%），好塩基球数（67%～80%），単球数（26%～48%），大型非染色細胞数（33%～50%）］の減少が認められた。0.01 mg/kg/日で影響がみられたすべての血液学的検査値は 28 日間の休薬期間終了時までに回復した。

いずれの用量でもタラゾパリブに関連した器官重量の変化または剖検所見は認められず，0.0015 mg/kg/日まで病理組織学的変化も認められなかった。0.005 mg/kg/日以上では，タラゾパリブに関連した病理組織学的変化として回腸，盲腸および結腸の GALT における軽微からごく軽度のリンパ球枯渇，十二指腸でのアポトーシスの軽微な増加（0.01 mg/kg/日の雄 3 例および雌 1 例），腸間膜および下顎のリンパ節および脾臓の胚中心における軽微からごく軽度のリンパ球枯渇ならびに軽微から重度の胸骨および大腿骨（0.01 mg/kg/日の雄 1 例）で骨髄細胞減少が認められた。いずれの病理組織学的変化も休薬後に回復し，0.01 mg/kg/日での血液学的変化およびこれと関連した病理組織学的変化について回復性が示唆された。

以上，タラゾパリブを 0.01 mg/kg/日以下で 28 日間経口投与したとき，忍容性は良好であり，全例が剖検予定日まで生存した。タラゾパリブに関連した一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図検査，剖検所見および臓器重量の変化は認められなかった。0.0015 mg/kg/日では臨床病理学的および病理組織学的変化は認められず，0.005 mg/kg/日でリンパ球数の減少が認められたものの，軽微な変化であり，休薬により回復性がみられた。0.005 mg/kg/日以上では，軽微からごく軽度の病理組織学的変化として，回腸，盲腸および結腸（0.01 mg/kg/日のみ）の GALT でのリンパ球枯渇，リンパ節および脾臓の胚中心におけるリンパ球枯渇ならびに骨髄細胞減少が認められたものの，いずれも休薬により回復した。0.01 mg/kg/日でみられた血液学的変化（赤血球パラメータ，血小板および白血球サブタイプ）は，骨髄での軽微から重度の病理組織学的変化と関連していたものの，いずれも休薬により回復した。当該試験では，精巣の所見は認められなかった。HNSTD（0.01 mg/kg/日）での試験 28 日の C_{max} および AUC_{24} の雌雄合算平均値は，それぞれ 3.48 ng/mL（非結合型：1.27 ng/mL）および 43.46 ng•h/mL（非結合型：15.9 ng•h/mL）であった。HNSTD での非結合型 C_{max} および AUC_{24} の曝露量比は，臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型曝露量のそれぞれ 0.2 倍および 0.3 倍である。NOAEL（0.005 mg/kg/日）での試験 28 日の C_{max} および AUC_{24} の雌雄合算平均値は，それぞれ 1.30 ng/mL（非結合型：0.475 ng/mL）および 24.2 ng•h/mL（非結合型：8.83 ng•h/mL）であった。NOAEL での非結合型 C_{max} および AUC_{24} の曝露量比は，臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型曝露量のそれぞれ 0.1 および 0.2 倍である。

3.8. イヌを用いた 13 週間経口投与毒性および 4 週間回復性試験

報告書番号 8279298，概要表 2.6.7.7F

ビーグル犬（雌雄各 7 匹/群）にタラゾパリブトシル酸塩を 0（溶媒対照：1.877 mg/mL の Prosolve® SMCC HD90 を用いて調製した 0.5% CMC），0.0015，0.005 または 0.01 mg/kg/日の用量で 13 週間 1 日 1 回経口投与（投与容量：0.55 mL/kg ）したときの毒性および曝露量，ならびに 4 週間休薬したときの影響の回復性を評価した。投与量は，イヌを用いた 28 日間経口投与毒性試験（報告書番号 8227532）で認められた忍容性および用量依存的な毒性発現に基づき設定した。すなわち，0.05 mg/kg/日を最高用量とし，以下 0.015 mg/kg/日，0.005 mg/kg/日および溶媒

のみを投与する対照群を設けた。雌雄各 4 匹/群を投与期間終了時に，残りの雌雄各 3 匹/群を休薬期間終了時に安楽殺して剖検した。一般状態観察，体重，摂餌量測定，体温測定，眼科学的検査，心電図検査，臨床病理学的検査（血液学的検査，凝固検査，血液生化学的検査，尿検査），器官重量測定，剖検および病理組織学的検査を評価した。加えて，試験 1，29 および 91 日に採血し，血漿中のタラゾパリブ濃度を測定した。

タラゾパリブの曝露量は用量増加に伴い増加した。試験 1 日の雌を除き，C_{max} および AUC_{24} は概ね用量比例的に増加した。試験 29 日および試験 91 日の曝露量に性差はほとんど認められず（2 倍未満），反復投与による蓄積性が認められた（それぞれ 4.2 倍および 4.1 倍）。試験 91 日における反復投与による平均 T_{max} 値は 1.79～16.29 時間，平均 $t_{½}$値は 60.9～82 時間であった。

タラゾパリブに関連した死亡は認められず，全例が剖検予定日まで生存した。一般状態，体重，体重増加量，摂餌量，体温，心拍数，眼科学的検査および心電図検査（PR，QT，RR 間隔，QRS 時間，QTc 間隔）に，タラゾパリブに関連した変化は認められなかった。

0.005 mg/kg/日以下では，タラゾパリブに関連した臨床病理パラメータの変化は認められなかった。0.01 mg/kg/日では，投与終了時にタラゾパリブに関連する血液学的変化として，赤血球パラメータの減少（赤血球数：22%～33%，ヘモグロビン：19%～32%，ヘマトクリット：16%～26%，MCHC：4%～7%：以下，溶媒対照からの変化率）および MCV の上昇（8%～10%），ならびに雄で白血球数（30%），好中球数（23%），リンパ球数（49%），単球数（27%），大型非染色細胞数（67%）および雌雄で好塩基球数（78%）の減少が認められた。赤血球パラメータ，白血球数および好塩基球数の減少は投与期間（試験 8～92 日）を通して認められ，再生の可能性を示唆する MCV の上昇が雄雌でそれぞれ試験 57 日および 71 日から認められた。休薬後，雄のリンパ球数減少は回復傾向を示し，MCV は軽微な上昇を示し再生が示唆された。赤血球パラメータの回復性は，病理組織学的検査における大腿骨および胸骨の骨髄の回復性と関連していた。

0.005 mg/kg/日以下では，剖検所見および病理組織学的所見は認められなかった。0.01 mg/kg/日では，投与期間終了時のタラゾパリブに関連した器官重量の変化として，雄で精巣重量（絶対重量）の減少（40%：溶媒対照からの変化率）がみられ，関連した病理組織学的毒性所見として精細管の精子形成細胞のごく軽度から重度の変性/萎縮がみられた。この精巣での所見に続発した変化として，精巣上体における軽微から中等度の管腔内精子の減少と管腔内細胞残屑が認められた。0.01 mg/kg/日では，大腿骨（雄）および胸骨の骨髄で M:E 比のごく軽度の増加も認められた。休薬後，精巣および精巣上体における病理組織学的変化の発現率および重症度は低下し，回復傾向が認められたが，雄 1 例では持続していた。赤血球パラメータの減少と関連した大腿骨および胸骨での骨髄の変化については回復性が認められ，また所見の重症度が低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。

以上，ビーグル犬に 0.01 mg/kg/日以下のタラゾパリブを 13 週間投与したときの忍容性は良好であった。一般状態，体重，体温，眼科学的検査，心拍数および心電図検査に，タラゾパリブに関連した変化は認められなかった。0.005 mg/kg/日以下では，タラゾパリブに関連した臨床病理学的および病理組織学的所見は認められなかった。0.01 mg/kg/日では，タラゾパリブに関連した可逆的な臨床病理学的所見として，雌雄で赤血球パラメータ，雄で白血球サブタイプの減少が認められた。赤血球パラメータの変化は，MCV の軽微な上昇および骨髄の M:E 比の可逆的な増

加と相関していた。さらに 0.01 mg/kg/日では精巣重量の減少が認められ，精細管の精子形成細胞の変性/萎縮，ならびに精巣上体の管腔内精子減少および管腔内細胞残屑と関連していたが，回復傾向が認められた。0.01 mg/kg/日で精巣および精巣上体に毒性所見が認められたことから，本試験の NOAEL は 0.005 mg/kg/日と判断した。NOAEL での試験 91 日の C_{max} および AUC_{24} の雌雄合算平均値は，それぞれ 1.15 ng/mL（非結合型：0.42 ng/mL）および 21.5 ng•h/mL（非結合型：7.86 ng•h/mL）であった。NOAEL での非結合型 C_{max} および AUC_{24} の曝露量比は，臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型曝露量のそれぞれ 0.1 倍および 0.2 倍である。HNSTD（0.01 mg/kg/日）での試験 91 日の C_{max} および AUC_{24} の雌雄合算平均値は，それぞれ 2.45 ng/mL（非結合型：0.894 ng/mL） および 43.04 ng•h/mL（非結合型：15.7 ng•h/mL）であった。HNSTD での非結合型 C_{max} および AUC_{24} の曝露量比は，臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型曝露量のそれぞれ 0.2 倍および 0.3 倍である。

4. 遺伝毒性試験

タラゾパリブの遺伝毒性について in vitro 試験および in vivo 試験で検討した。特に記載のない限り，GLP 基準に従って実施した。In vitro 遺伝毒性試験における代謝活性化は，Aroclor 1254 を投与した雄ラットの肝臓 S9 mix の存在下で行った。その他の GLP 非適用の機序に関する試験については 8.4 項に記載し，概要表 2.6.7.17 に要約した（報告書番号 [redacted]GR323）。

4.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 [redacted]，概要表 2.6.7.8A

4 種類の *Salmonella typhimurium* 試験菌株（TA98，TA100，TA1535 および TA1537）および 1 種類の *Escherichia coli* 試験菌株（WP2 *uvrA*）を用いて，タラゾパリブトシル酸塩の復帰突然変異誘発性の有無を評価した。試験はプレート法にて，2 段階で実施した。予備試験（第 1 段階）では本試験の濃度設定を検討し，本試験（第 2 段階）ではタラゾパリブの復帰突然変異誘発性の有無を評価した。溶媒対照にはジメチルスルホキシド（DMSO）を使用した。

予備試験では， 6.7～5000 µg/plate（10 濃度）の濃度範囲で，代謝活性系の存在下（+S9）および非存在下（-S9）で実施した。予備試験では，3333 µg/plate 以上で沈殿が認められたが，代謝活性系の存在下および非存在下にかかわらず細胞毒性は認められなかった。

本試験では，100，333，1000，3333 および 5000 µg/plate で，代謝活性系の存在下および非存在下で実施した。溶媒対照および陽性対照を含むすべての処理培地について 3 連で試験を実施した。本試験では，3333 µg/plate 以上で沈殿が認められたが，代謝活性系の存在下および非存在下にかかわらず，いずれの試験菌株においても変異原性の陽性反応は認められなかった。

以上，タラゾパリブの変異原性は代謝活性化系の有無にかかわらず陰性と判定した。

4.2. 染色体異常試験

報告書番号 [redacted]，概要表 2.6.7.8B

ヒト末梢血リンパ球（HPBL）を用いて，タラゾパリブの染色体数的異常または染色体異常誘発性の有無を in vitro で評価した。試験は 2 段階で実施し，予備試験では濃度設定のために細胞毒性を検討し，本試験では染色体異常誘発性評価のために細胞遺伝学的検査を実施した。いずれの試験でも代謝活性化系の非存在下（-S9）で 4 または 20 時間あるいは代謝活性化系の存在下（+S9）で 4 時間，HPBL 細胞を処理し，処理開始から 20 時間後に細胞を回収して評価した。DMSO を溶媒対照とし，代謝活性化系の非存在下ではマイトマイシン C を，代謝活性化系の存在下ではシクロフォスファミドを陽性対照とした。予備試験（細胞毒性試験）では，代謝活性化系の存在下および非存在下でタラゾパリブの濃度範囲を 0.038 µg/mL（10 nmol/L）～380 µg/mL（1 mmol/L）に設定し，細胞 500 個中の有糸分裂細胞数を有糸分裂指数（MI）として算出し，被験物質の影響を評価するための細胞毒性の指標とした。本試験での最高濃度は，染色体異常試験に関する試験ガイドラインの最高濃度の要件を基準として，予備試験における細胞毒性が 50% ± 5%を示した濃度，または処理期間終了時に培地中に目視可能な沈殿が認められた濃度を設定した。すなわち，4 時間処理では代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれも 10，25，50，100，125，150，200 および 380 µg/mL に設定し，20 時間処理では代謝活性化系の非存在下で 0.25，0.5，2.5，1，5 および 10 µg/mL に設定した。本試験では，MI に加えて細胞分

裂中期の染色体異常（構造異常および数的異常）を測定した。統計解析手法として，被験物質処理による異常細胞比率の溶媒対照との比較には Fisher の正確確率検定を，用量反応性の判定には Cochran-Armitage 検定を用いた。

予備試験では，代謝活性化系の非存在下で 4 時間処置では，設定した濃度範囲（0.038～380 µg/mL）で細胞毒性（溶媒対照の MI と比較して 50%±5%以下）は認められなかった。一方，代謝活性化系の存在下で 4 時間処理では 380 µg/mL で，代謝活性化系の非存在下 20 時間処置では 3.8 µg/mL（0.01 µmol/L）以上で細胞毒性が認められた。

本試験では，代謝活性化系の存在下で 4 時間処置の 125 µg/mL 以上で，代謝活性化系の非存在下で 20 時間処置の 2.5 µg/mL 以上で細胞毒性（溶媒対照の MI と比較して 50%±5%以下）が認められた。本試験の代謝活性化系の非存在下で 4 時間処置では，検討したいずれの濃度でも細胞毒性は認められなかった。代謝活性化系の存在下および非存在下で 4 時間処置，代謝活性化系の非存在下で 20 時間処置のすべての濃度において，統計的に有意かつ用量依存的な染色体の構造異常の増加が認められた（Fisher の正確確率検定：$p \leq 0.01$，Cochran-Armitage 検定：$p \leq 0.05$）。いずれの条件においても染色体の数的異常（倍数性または異数性）の有意な増加は認められなかった（Fisher の正確確率検定および Cochran-Armitage 検定：$p > 0.05$）。本試験での溶媒対照値は背景値の範囲内であり，陽性対照による分裂中期像の異常の割合は有意に増加し（$p \leq 0.01$），試験の成立条件の基準を満たしていた。

以上，HPBL を用いた in vitro 染色体異常試験において，代謝活性化系の存在下および非存在下のいずれにおいてもタラゾパリブは染色体構造異常を誘発したことから，染色体構造異常誘発陽性であると判断した。この所見は，タラゾパリブの薬理作用と符合しており，タラゾパリブによる PARP1/2 酵素活性阻害に起因する可能性が示唆された。HPBL におけるタラゾパリブによる染色体の数的異常（倍数性や異数性）誘発性は陰性と判断した。

4.3. 骨髄細胞の小核試験

報告書番号 [redacted]，概要表 2.6.7.9

ラット骨髄を用いて小核を有する多染性赤血球を測定することで，タラゾパリブの染色体異常誘発能および異数性誘発能の有無を評価した。Sprague Dawley ラット（雌雄 5 匹/群）にタラゾパリブトシル酸塩を単回経口投与（投与容量：20 mL/kg）した。投与後 24 時間または 48 時間に大腿骨から採取した骨髄試料をアクリジンオレンジにより染色し，小核を有する多染性赤血球を蛍光顕微鏡で計数した。24 時間評価ではタラゾパリブを 0［溶媒対照：0.5% CMC］，150，300 または 600 mg/kg，48 時間評価では 0 または 600 mg/kg の用量で投与した。本試験の最高用量は，予備的な用量設定試験の結果に基づき，最大投与可能量（MFD）および骨髄毒性（80%以上の骨髄抑制）に関する MTD のいずれの要件も満たす 600 mg/kg とした。骨髄での染色体異常誘発性の評価として，多染性赤血球（2000 個/個体，10000 個/用量/性）に含まれる小核を有する多染性赤血球の比を算出し，二項分布に基づく Kastenbaum-Bowman の数表により解析した（$p \leq 0.05$）。また，タラゾパリブの細胞毒性の指標として，総赤血球数（評価した総赤血球数：1000 個/個体）に含まれるタラゾパリブ誘発性の多染性赤血球の比を溶媒対照と比較した。シクロホスファミドを陽性対照として用い，ラット（雌雄 5 匹）に 40 mg/kg を単回経口投与（投与容量：10 mL/kg）し，投与 24 時間後に骨髄を採取して小核を有する多染性赤血球を計数した。各動物および投与群について，小核を有する多染性赤血球/多染性赤血球の比および多

染性赤血球/総赤血球の比を求めた。多染性赤血球/総赤血球の比が溶媒対照の 20%未満の場合，細胞毒性ありと判断し，該当する個体は評価から除外した。追加の評価項目として，投与前および投与日から剖検日まで毎日一般状態観察を実施した。

タラゾパリブ投与群では，すべての用量で小核を有する多染性赤血球/多染性赤血球の比は溶媒対照と比較して有意に増加し（用量反応性なし，$p \leq 0.05$），雄で 1.78%～2.22%，雌で 0.71%～1.22%であった。溶媒対照および陽性対照では，小核を有する多染性赤血球/多染性赤血球の比はそれぞれ 0.13%以下および 1.98%以上（2 項分布に基づく Kastenbaum-Bowman の検定，$p \leq 0.05$）であり，試験成立基準を満たした。

以上，タラゾパリブは評価したすべての用量で小核を有する多染性赤血球の発現率を統計学的に有意に増加させたことから，in vivo において小核誘発陽性と判断した。In vivo での染色体異常誘発性は，タラゾパリブの薬理作用と符合しており，タラゾパリブによる PARP1/2 酵素活性阻害に起因する可能性が示唆された。

5. がん原性試験

ICH S9[1] に従い，タラゾパリブを用いたがん原性試験は実施しなかった。

6. 生殖発生毒性試験

6.1. 受胎能及び初期胚発生に関する試験

ICH S9[1] に従い，タラゾパリブを用いた受胎能および初期胚発生に関する試験は実施しなかった。

6.2. 胚・胎児発生に関する試験

報告書番号 20074799，概要表 2.6.7.13

妊娠 Sprague Dawley ラット（雌 25 匹/群）にタラゾパリブトシル酸塩を 0（溶媒対照：1.867 mg/mL Prosolv® SMCC HD90 を含む 0.5% CMC），0.015，0.05 および 0.15 mg/kg/日を妊娠 6 日から妊娠 17 日まで 1 日 1 回経口投与し（投与容量：8.3 mL/kg），着床期から硬口蓋閉鎖まで（妊娠 6～17 日）の器官形成期における母動物および胚・胎児発生に対する影響および母動物の曝露量を評価した。本試験の投与用量は，雌雄 Sprague Dawley ラットを用いた反復投与毒性試験の結果に基づいて設定した。高用量は，母動物および胚胎児毒性が認められることが予想される用量として設定した。中用量および低用量は，28 日間および 13 週間の反復投与毒性試験の結果から，母動物において毒性が認められ，胚胎児においても毒性が引き起こされる可能性のある用量とした（報告書番号 8227533，8279299）。妊娠 21 日に安楽殺し，剖検した。母動物の生存（1 日 2 回），一般状態観察，体重（妊娠 6～17 日まで毎日），摂餌量測定（妊娠 6，10，14，18 および 21 日），臨床病理学的検査（妊娠 21 日の血液学的検査，凝固検査および血液生化学的検査），および肉眼的剖検所見（妊娠 21 日の母動物および胎児検査）を評価した。加えて，妊娠 6 および 17 日に採血し，血漿中のタラゾパリブ濃度を測定した。

母動物でのタラゾパリブ曝露量（C_{max} および AUC_{24}）は，0.015～0.15 mg/kg/日の範囲で用量増加に伴い増加した。0.015 から 0.05 mg/kg/日での曝露量の増加は，妊娠 6 日および 17 日のいずれにおいても概ね用量比を上回っていたが，0.05 から 0.15 mg/kg/日での曝露量の増加は妊娠 6 日では用量比例的で，妊娠 17 日では用量比を下回っていた。0.015 mg/kg/日で，反復投与後の妊娠 17 日において妊娠 6 日と比してタラゾパリブの蓄積が認められた。0.015，0.05 および 0.15 mg/kg/日の蓄積比は，C_{max} についてはそれぞれ 3.1，1.6 および 1.1，AUC_{24} についてはそれぞれ 3，2 および 1.2 であった。

0.15 mg/kg/日では 25 例中 8 例の母動物が死亡発見または安楽殺された［死亡発見：妊娠 17，19，20 および 21 日（2 例），計 5 例，一般状態の悪化による安楽殺：妊娠 17（2 例）および 18 日，計 3 例］。死亡または一般状態の悪化による安楽殺の前に認められた一般状態の変化として，脱水，円背位，接触時の冷感，自発運動量低下，摂餌量減少（妊娠 10～18 日の間に 40.5%：以下，溶媒対照からの変化率）に起因する削痩，ならびに半眼および眼の蒼白であった。さらに 0.15 mg/kg/日で認められた一般状態の変化として，足の皮膚の蒼白が認められた。0.015，0.05 および 0.15 mg/kg/日では，赤色の膣分泌物が認められ，発現時期はそれぞれ妊娠 20，16 および 14 日と用量増加に伴い早まった。妊娠 21 日に，生存動物で体重抑制が認められ，溶媒対照と比べて 24%（0.015 mg/kg），32%（0.05 mg/kg）および 40%（0.15 mg/kg）低値であった。摂餌量の減少が，0.015 mg/kg/日で妊娠 6～18 日（6%），0.05 mg/kg/日以上で妊娠 6～21 日（0.015 および 0.05 mg/kg/日でそれぞれ 21%および 43%）に認められた。妊娠 15 日には，0.05 mg/kg/日の 25 例中 3 例および 0.15 mg/kg/日の 25 例中 18 例でごく軽度から中等度の脱水が認められ，0.05 mg/kg/日の 25 例中 2 例および 0.15 mg/kg/日の 25 例中 19 例に円背位が認め

られた。剖検時には，いずれの用量の母動物においても，タラゾパリブに関連した肉眼的病変は認められなかった。

妊娠が認められたラットは，いずれの用量においても 24～25 例であった。0.05 mg/kg/日以下では，妊娠母動物の全例が剖検予定日まで生存した。早期死亡が認められたため，0（溶媒対照），0.015，0.05 および 0.15 mg/kg/日で剖検予定日（妊娠 21 日）に評価した妊娠母動物数は，それぞれ 24，25，25 および 17 例であった。0.05 mg/kg/日以上で生存胎児は認められず，0.015 mg/kg/日では同腹児の胎児の 90.7%で吸収がみられた。0.015 mg/kg/日では，胎児体重（雄，雌および全体）の減少が認められた（28%以下：溶媒対照からの変化率）。0.015 mg/kg/日の同腹児の胎児奇形および骨格変異として，眼部隆起の扁平化，小眼球，頬骨弓の変形，胸骨分節の骨化不全，分離または変形，過剰肋骨ならびに頸椎椎弓の骨化不全，癒合または変形が認められた。

0.05 mg/kg/日以下で妊娠 21 日にみられた血液学的変化は，毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。0.15 mg/kg/日では血液学的変化として，赤血球数（59%：以下，溶媒対照との比率），ヘモグロビン（59%）およびヘマトクリット（57%）の減少がみられ，有意ではないものの網状赤血球数（10%）の減少が認められ，非再生性の貧血が示唆された。また単球数（27%），好中球数（5%）および好酸球数（27%）の減少が認められ，骨髄抑制が示唆された。

0.15 mg/kg/日では，妊娠 21 日にみられた血液生化学的変化として，AST（+180%：以下，溶媒対照からの変化率），ALT（+100%），γ グルタミルトランスフェラーゼ（+3000%，0.05 mg/kg/日で+200%），グルコースの増加（+60%，0.015 mg/kg/日で+40%）が認められた。また，コレステロールの減少（-30%）が認められ，摂餌量減少および体重抑制に続発した可能性が考えられた。

以上，母動物にタラゾパリブを 0，0.015，0.05 または 0.15 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から妊娠 17 日まで 1 日 1 回経口投与したところ，0.15 mg/kg/日で死亡が認められた［妊娠 17 日の C_{max}：38.2 ng/mL（非結合型：3.86 ng/mL），AUC_{24}：341 ng•h/mL（非結合型：34.4 ng•h/mL）］。0.015 mg/kg/日以上では，体重および摂餌量の減少を含む一般状態の変化が認められた。0.015 mg/kg/日以上では，タラゾパリブに関連した胚・胎児死亡（0.05 mg/kg/日以上で 100%の胎児死亡），胎児奇形および骨格変異の増加し，胚・胎児発生に対する毒性が認められた。したがって，母動物毒性および発生毒性の NOAEL はいずれも 0.015 mg/kg/日未満［妊娠 17 日の C_{max} および AUC_{24} は 3.93 ng/mL（非結合型：0.397 ng/mL）および 49.2 ng•h/mL（非結合型：4.97 ng•h/mL）］であった。 0.015 mg/kg/日における非結合型 C_{max} および AUC_{24} の曝露量比は，臨床用量である 1 mg/日をヒトに投与したときの非結合型曝露量のそれぞれ 0.07 倍および 0.09 倍であった。

6.3. 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

ICH S9[1] に従い，タラゾパリブを用いた出生前および出生後の発生並びに母体の機能に関する試験は実施しなかった。

7. 局所刺激性試験

タラゾパリブを用いた局所刺激性試験は実施しなかった。

8. その他の毒性試験

8.1. In vitro 光毒性試験

報告書番号 20054208，概要表 2.6.7.17

BALB/c マウス由来の 3T3 線維芽細胞をタラゾパリブで処理し，紫外線照射時（+UV）および紫外線非照射時（-UV）での細胞生存率を比較することで，タラゾパリブの光毒性を評価した。陽性対照としてプロメタジンを用いた。試験は，化学物質のための OECD テストガイドライン 432[12]および ICH S10 ガイドライン[4]に従って実施した。溶媒として Ca^{2+}および Mg^{2+}イオンを添加した Dulbecco リン酸緩衝生理食塩水（DPBS）に溶解した 1% DMSO（pH 7.0～7.3）を用い，タラゾパリブトシル酸塩およびプロメタジンの濃度範囲は溶解度に基づき設定し，それぞれ最大 31.9 および 178 µg/mL であった。予備的な用量設定試験において，タラゾパリブの濃度範囲を 0.032～101 µg/mL に設定して検討した結果，細胞毒性のみられない紫外線照射時（+UV）の IC_{50} 値は 6.163 µg/mL であった。溶解度と用量設定試験で求めた紫外線照射時（+UV）の IC_{50} 値に基づき，本試験でのタラゾパリブの濃度範囲は 0.6～31.9 µg/mL（0.6，1.0，1.8，3.2，5.7，10.1，17.9 および 31.9）に，プロメタジンの濃度範囲は 0.1～178 µg/mL（0.1，0.316，1.00，3.16，10.0，31.6，100 および 178）に設定した。紫外線照射群では，細胞を溶媒または被験物質で 90 分間処理した後，紫外線 A 波（UVA，5 J/cm^2）および紫外線 B 波（UVB，20.2～20.4 mJ/cm^2）を照射した。Photo irritancy factor（PIF）および mean photo effect（MPE）の算出には Phototox ソフトウェアを用いた。細胞毒性の認められない濃度範囲（ニュートラルレッドの取り込みを指標とした細胞生存率が 80%超）で，PIF が 5 超，MPE が 0.15 超である場合は，光毒性を有する可能性ありと判断した。

予備的な用量設定試験における，タラゾパリブの紫外線照射時（+UV）の IC_{50} 値は 6.163 µg/mL であった。本試験（独立したアッセイを 2 回実施）における，タラゾパリブの紫外線照射時（+UV）の IC_{50} 値は，1 回目のアッセイでは 9.389 µg/mL（PIF：3.408 超，MPE：0.345），2 回目のアッセイでは 9.015 µg/mL（PIF：3.540 超，MPE：0.275）であり，紫外線照射による細胞毒性は認められなかった（細胞生存率：90%および 86%）。陽性対照（プロメタジン）の紫外線照射時（+UV）での IC_{50} 値は 0.981 µg/mL（PIF：13.242，MPE：0.252）であり，紫外線照射による細胞毒性は認められなかった（細胞生存率：98%）。なお，タラゾパリブについては紫外線非照射時（-UV）に細胞毒性が認められず PIF を算出できなかったことから，試験に用いたタラゾパリブの最高濃度を用いて PIF 値の下限値を算出した。OECD テストガイドライン 432[12]の基準（細胞生存率および OD_{540}）ならびに試験施設でのプロメタジンの細胞毒性および光毒性に関する基準を満たしたことから，試験の妥当性が示された。

以上，BALB/c マウス由来の 3T3 線維芽細胞に対して紫外線を照射し，タラゾパリブの光毒性を MPE および PIF により評価した結果，タラゾパリブは光毒性を有する可能性が示唆された。

8.2. 有色ラットを用いた反復経口投与光毒性試験

報告書番号 20116618，概要表 2.6.7.17

Long Evans 有色ラット（雌 5 匹/群）にタラゾパリブトシル酸塩を 0（溶媒対照：1.031 mg/mL の Prosolve® SMCC HD90 を用いて調製した 0.5% CMC），0.015 または 0.05 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 3 日間経口投与した後，キセノンランプで UVA，UVB および可視光に曝露し，タラゾパリブの眼および皮膚における光毒性作用を評価した。本 in vivo 試験は，BALB/c マウス由来の 3T3 線維芽細胞を用いた in vitro 試験でタラゾパリブが光毒性を有する可能性が示唆されたことから，さらなる検討のために実施した。本試験の投与用量は，ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験（報告書番号 8227533）で得られた忍容性に基づいて設定した。すなわち，忍容性が認められた 0.05 mg/kg/日を本試験の最高用量とし，以下 0.005 mg/kg/日および溶媒のみを投与する対照群を設けた。投与初日を試験 1 日とし，試験 3 日の投与後約 3 時間に動物に UVA（10.29 J/cm^2）および UVB（145 mJ/cm^2）を照射した。未処置群は，UV を照射した動物と同じ部屋に収容したが，UV 照射は行わなかった。一般状態観察，皮膚反応観察，体重測定，眼科学的検査および眼の病理組織学的検査を実施した。これとは別に，トキシコキネティクス群（雌 3 匹/群）を加え，試験 3 日の投与後 1，3 および 6 時間に採血し，血漿中のタラゾパリブ濃度を測定した。

試験 3 日のタラゾパリブ曝露量（C_{max} および AUC_6）は，0.015 および 0.05 mg/kg/日で用量比を上回って増加した。

タラゾパリブに関連した死亡および一般状態の変化は認められず，全ラットが剖検予定日（試験 6 日，UV 照射後 3 日）まで生存した。タラゾパリブに関連した皮膚反応や眼における光毒性を示唆する肉眼的および病理組織学的所見は認められなかった。0.05 mg/kg/日では，試験 6 日までにタラゾパリブに関連した体重抑制（4%：溶媒対照からの変化率）および体重増加量の軽微な抑制（溶媒対照と比較）が認められたが，毒性学的意義は乏しいと判断した。

以上，最高 0.05 mg/kg/日のタラゾパリブを 3 日間経口投与した後，試験 3 日に UVA および UVB 照射を行ったところ，皮膚反応および病理組織学的所見を含めた眼科学的所見は認められなかったことから，タラゾパリブが光毒性を有する可能性は低いと考えられた。本試験の NOAEL は 0.05 mg/kg/日であり，試験 3 日の C_{max} および AUC_6 の曝露量はそれぞれ 18.5 ng/mL（非結合型：1.87 ng/mL）および 84 ng•h/mL（非結合型：8.48 ng•h/mL）であった。NOAEL における非結合型 C_{max} は，臨床用量（1 mg/日）における非結合型曝露量の 0.34 倍である。本試験の TK 解析は投与後 6 時間までの限定的な結果であり，本試験では AUC_{24} に基づく曝露量比は算出できなかった。

8.3. タラゾパリブによる骨髄抑制機序に関する試験

参考資料 [redacted]LJ085，概要表 2.6.7.17

非臨床毒性試験および臨床試験において，タラゾパリブの用量制限毒性として骨髄抑制に伴う血液学的毒性が認められた。このことから，末梢血単核球（PBMC），骨髄単核球細胞（BMMNC）のヘテロな培養細胞または CD34 陽性骨髄細胞を用いて，タラゾパリブによる骨髄抑制の分子機序，感受性の種差および細胞系統特異的な影響を及ぼす可能性について in vitro で評価した。試験に用いたヒトの PBMC および BMMNC はいずれも健康ドナー由来の細胞を使用

した。また，感受性の種差の検討では，ラットおよびマウスの BMMNC も用いた。細胞は，タラゾパリブ単独処理（0.001～100 µmol/L）あるいはテモゾロミド（0.30，100 および 300 µmol/L）と併用処理した。テモゾロミドは DNA アルキル化剤で，一本鎖 DNA 切断を引き起こし，PARP はこれらの DNA 損傷を修復する。このため，テモゾロミドとの併用処理により，PARP 触媒活性を必要とする損傷が増加し，PARP と DNA の相互作用により生じる PARP-DNA 複合体（DNA にトラッピングされた PARP）の形成が促進されると予想される。すなわち，テモゾロミドはタラゾパリブの活性およびタラゾパリブにより誘発される造血細胞に対する細胞傷害作用を増強することが予想される。

PBMC では，タラゾパリブは 10 µmol/L 未満で処理後 72 時間まで細胞毒性を誘発しなかった。タラゾパリブとテモゾロミドの併用処理では，10 µmol/L 以上でのみ細胞生存率の低下が認められた。CD34 陽性骨髄細胞では，タラゾパリブによる細胞系統特異的な作用は認められなかった。全細胞系列および各細胞系統（赤芽球，骨髄および巨核球）に対するタラゾパリブの IC_{50} 値は，それぞれ 18.2，10.4，25.7 および 10.2 nmol/L であった。ヒト，ラットおよびマウスの BMMNC を評価したところ，タラゾパリブが細胞生存率に及ぼす影響に対してラットの BMMNC が最も高い感受性を示した（ラット，マウスおよびヒトの IC_{50} 値はそれぞれ 2.9，5.4 および 6.9 nmol/L）。ヒト BMMNC をタラゾパリブおよびテモゾロミドで併用処理したところ，アポトーシスの誘導（カスパーゼの活性化を指標として測定）および相乗的な細胞毒性が認められた。タラゾパリブ単独処理ではヒト BMMNC での二本鎖 DNA 切断（γH2AX を指標として測定）は誘発されなかったが，タラゾパリブおよびテモゾロミドの併用処理では，処理後 6 時間という早期に二本鎖 DNA 切断の増加が認められた。患者に 1 mg/日を投与した場合の非結合型タラゾパリブの C_{max} は 14 nmol/L であり，臨床用量での血漿中濃度付近の濃度において，タラゾパリブにより誘発された骨髄細胞毒性は完全に回復したが，タラゾパリブおよびテモゾロミド併用処理により誘発された骨髄細胞毒性は回復傾向を示したのみであった。

以上，タラゾパリブに関連した血液毒性は，骨髄細胞に対するアポトーシスの誘導および増殖抑制作用に起因することが示唆された。タラゾパリブとテモゾロミドの併用により，骨髄における相乗的な細胞毒性が認められ，骨髄細胞の回復が妨げられる可能性が示唆された。

8.4. ヒト DU145 細胞を用いた PARP 阻害薬による DNA 損傷および細胞毒性マーカーの評価

参考資料 [redacted]GR323，概要表 2.6.7.17

多数の DNA 損傷応答（DDR）変異を有する DU145 前立腺癌細胞株を用いて，タラゾパリブ単独またはタラゾパリブとテモゾロミドで併用処理したときの，遺伝毒性の発現機序を検討した。細胞をタラゾパリブ（2.4 x 10^{-6}～20 µmol/L）単独またはタラゾパリブとテモゾロミド（43 または 128 µmol/L，臨床曝露に相当する濃度）併用で 24 時間処理した。二本鎖 DNA 切断は γH2AX，アポトーシスは切断型カスパーゼ 3 を指標に，細胞周期分布は蛍光活性化セルソーティング（FACS）を用いた分析により評価し，ならびに小核形成および細胞増殖は画像解析により評価した。タラゾパリブの類薬である 3 種類の PARP 阻害薬（オラパリブ，rucaparib およびニラパリブ）についても，タラゾパリブと同様の手法で評価した。4 種類の PARP 阻害薬は同様の酵素阻害活性を有することから，未修復の一本鎖 DNA 切断に対する細胞応答は化合物間で類似すると予測される。そのため，化合物間で差異が認められた場合，それは各 PARP 阻害薬の PARP トラッピング能の違いに起因する可能性がある。統計学的な用量反応モデリングによ

り最小有効濃度である ACC（活性濃度のカットオフ値）を算出して，各阻害薬の ACC を比較した。ACC 値は用量反応曲線において反応が認められた最低濃度として定義し，バックグラウンド値より，その中央絶対偏差の 3 倍高い値とした。

テモゾロミドと併用せずに単独で処理した場合，4 種の PARP 阻害薬のうちオラパリブを除く 3 種は溶媒対照と比較して最大 50%の細胞増殖の減少と S 期細胞の蓄積がみられたことから，DNA 損傷の大部分が S 期で生じたことが示唆された。検討した濃度範囲では，オラパリブ単独処理による細胞周期の乱れ，DNA 切断またはアポトーシスはみられず，細胞増殖の減少は最大 30%であった。本試験の用量反応解析において，細胞増殖抑制は最も低い ACC 値を示し，DDR の最も感受性の高い評価項目であった。そのため，単独処理時とテモゾロミド併用処理時の PARP 阻害薬の用量効果は，細胞増殖阻害の ACC 値を指標として比較した。DU145 細胞において，PARP 阻害薬とテモゾロミドの併用処理では，PARP 阻害薬単独処理と比較して低い PARP 阻害薬濃度からすべての DDR 反応誘発がみられた。また併用するテモゾロミドの濃度上昇に伴い，DDR 反応誘発に必要な PARP 阻害薬濃度は低下した。一方，テモゾロミド単独処理では DDR 反応誘発は認められなかった。これらのことから，テモゾロミドは PARP 阻害薬による DDR 反応誘発を増強することが示唆された。タラゾパリブ単独処理での細胞増殖抑制の ACC 値は 0.0005 µmol/L であり，オラパリブ，ニラパリブおよび rucaparib（0.617，3.5 および 10.2 µmol/L）と比較して 3 桁低い濃度から細胞増殖抑制作用が認められた。PARP 阻害薬単独処理および低濃度テモゾロミドとの併用処理では，低濃度域における細胞増殖抑制の用量反応曲線が重なっており，低濃度テモゾロミド併用処理の ACC 値は PARP 阻害薬単独処理の AAC 値よりも高値を示した。しかし，いずれの PARP 阻害薬においても，用量反応曲線はテモゾロミド濃度の上昇により低濃度域へシフトし，低濃度テモゾロミド併用でのタラゾパリブ，ニラパリブ，rucaparib およびオラパリブの ACC 値は，それぞれ 0.002，1.87，3.59 および 10 µmol/L であり，高濃度テモゾロミド併用では，それぞれ 0.0004，0.415，0.471 および 0.943 µmol/L であった。タラゾパリブ，オラパリブおよび rucaparib の PARP 阻害能が同程度[13]（細胞 PAR 化に対する IC_{50} 値は，それぞれ 2.5，3.6 および 4.7 nmol/L）であることから細胞毒性の誘導も同程度であると推測されたが，タラゾパリブの DNA 損傷反応および細胞毒性を誘導する作用は，他の PARP 阻害薬と比較して明らかに強かった。このようなタラゾパリブと他の PARP 阻害薬との細胞毒性の差は，PARP 阻害薬の PARP トラッピング活性の差異に起因すると考えられる[10]。タラゾパリブは DNA の一本鎖切断部位に結合する PARP と結合し，安定な嵩高い PARP-DNA 複合体を形成することで，PARP を阻害することが示唆されている[10]。タラゾパリブ単独処理で認められた細胞の S 期停止および S 期特異的な DNA 二本鎖切断は，内因性に一本鎖切断が生じた部位で嵩高い PARP-DNA 複合体が形成されることにより引き起こされる複製ストレスと符合していた。なお他の PARP 阻害薬の単独処理では，細胞の S 期停止および S 期特異的な DNA 二本鎖切断はより低頻度で認められた。

本試験では，遺伝毒性も評価した。小核は，DNA 損傷によって生じた DNA 断片がいずれの娘核からも排除されて残る場合に形成される。本試験での遺伝毒性評価では，有糸細胞分裂過程で未修復の DNA 損傷が保持された分裂細胞を検出した。小核誘発の ACC 値は，二本鎖 DNA 切断の ACC 値よりも低値であり（3 倍から 1000 倍超の差），細胞増殖阻害の ACC 値と同程度であったことから，DNA 修復欠損の結果として小核が誘発され，それは PARP 阻害薬による PARP の触媒活性阻害作用に起因するものと考えられた。作用機序から，PARP 阻害薬単独処理では，内因性の未修復 DNA 損傷により小核が生じると考えられる。小核誘発，S 期停止および

細胞毒性を引き起こすために必要な PARP 阻害薬の濃度に差異があるという本試験結果から，小核誘発に至る DNA 損傷は，DNA 合成阻害を引き起こす嵩高い DNA 複合体（PARP-DNA 複合体）形成に必要な濃度よりも低濃度の PARP 阻害薬によって生じると考えられる。PARP トラッピングによる毒性発現には，PARP-DNA 複合体形成が複合体の除去および複製再開の閾値に達する必要があり，この閾値に達した細胞は，二本鎖 DNA 切断の増加により，S 期停止および細胞死に至ると考えられる。このように，PARP-DNA 複合体または未修復の一本鎖 DNA 損傷による細胞毒性が細胞複製機構の閾値を超える濃度よりも低濃度で小核が誘発されることから，小核誘発は PARP 阻害薬の毒性の指標となる可能性が高い。テモゾロミド併用処理では，PARP トラッピングの増強により細胞増殖反応を含む DDR 反応評価項目の用量反応曲線が左方へシフトし，小核形成もより低濃度にシフトした。テモゾロミド単独処理では，小核形成は誘導されなかった。

以上，タラゾパリブは他の PARP 阻害薬（オラパリブ，ニラパリブおよび rucaparib）と比較して低濃度から全 DDR 反応を誘発した。低濃度テモゾロミドと併用処理したタラゾパリブの ACC 値は，高濃度テモゾロミドと併用処理した他の PARP 阻害薬の AAC 値と比して低値であった。本試験において，PARP 阻害薬の PARP 触媒作用阻害および PARP トラッピング活性の機能に関連する DDR 反応の評価結果が得られ，それぞれ DNA 切断の誘導および S 期細胞の蓄積に至る嵩高い PARP-DNA 複合体（DNA 損傷部位でトラッピングされた PARP）による DNA 合成阻害と符合していた。DNA 損傷を示唆する小核の誘導は，二本鎖 DNA 切断の誘導および細胞周期停止のシグナルよりも低い濃度で生じた。

9. 考察及び結論

ICH S9[1] ガイドラインに従い，ラットおよびイヌを用いた最長 13 週間の反復投与毒性試験，遺伝毒性試験（in vitro および in vivo），ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験ならびに光毒性試験を実施し，タラゾパリブの非臨床毒性プロファイルを検討した。また安全性薬理試験におけるラットを用いた単回経口投与による呼吸系および中枢神経系パラメータ，イヌを用いた反復投与による心血管系パラメータおよび心電図パラメータに，タラゾパリブによる影響は認められなかった（2.6.2.4 項）。ラットおよびイヌを用いた反復投与試験で眼の所見にタラゾパリブの影響はみられず，in vivo 光毒性試験においてもタラゾパリブによる影響は認められなかった。一連の非臨床試験を実施した結果，ラットおよびイヌにおけるタラゾパリブの主な標的臓器への影響は，リンパ造血器系，雄性生殖器および消化管に関連するものであった。その他の標的臓器における所見として，ラットでは雌性生殖器および肝臓への影響が認められた。ヒト末梢血リンパ球およびがん細胞株を用いた in vitro 試験およびラットを用いた in vivo 試験において，タラゾパリブは染色体異常誘発性を示した。またラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，タラゾパリブによる明らかな胎児毒性が認められた。

タラゾパリブの経口投与による主な非臨床毒性プロファイルは，急速に分裂する細胞に対するタラゾパリブの薬理作用（タラゾパリブの PARP 阻害誘導）およびタラゾパリブが組織へ広範に分布することと概して符合していた。タラゾパリブの作用機序（細胞傷害性）は，PARP1/2 の触媒活性の阻害作用および DNA 損傷部位での PARP トラッピング能によって生じる S 期での二本鎖 DNA 切断と，これに続くアポトーシスまたは細胞死（詳細な考察については 2.6.2 項を参照）である。これまでに得られたタラゾパリブの毒性プロファイルから，臨床曝露量以下で認められたリンパ造血器系および精巣に対する影響，高い曝露量比で認められた消化管，肝臓および卵巣に対する影響ならびに遺伝毒性は，タラゾパリブによる PARP 阻害およびトラッピング活性の組み合わせにより生じたことが示唆された。妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験で認められた明らかな胚・胎児毒性は，タラゾパリブによる染色体異常誘発性および細胞毒性に起因するものと考えられる。

9.1. リンパ造血系

ラットおよびイヌを用いた最長 13 週間の重要な反復投与毒性試験では，骨髄およびリンパ組織に対する毒性が認められた。ラットおよびイヌを用いたすべての重要な試験で認められた所見は，用量依存的な汎血球減少（赤血球パラメータ，白血球数および血小板数の減少）およびこれに関連した軽微から重度の骨髄細胞減少および多数のリンパ組織でのリンパ球減少であった。これらの所見の発現時期，重症度および回復性は用量依存的であった。複数の試験で白血球パラメータの減少を引き起こす骨髄およびリンパ組織の変化が認められており，多数の組織で細菌が検出されたことから，これらの変化により敗血症に罹患しやすくなったと考えられた。5 日間投与試験では，ラットの 1 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：5 倍以上）およびイヌの 0.1 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍）で休薬期間中（ラットでは試験 6～7 日，イヌでは試験 7～8 日）に敗血症に伴う死亡が認められた。5 日間投与試験で生存した休薬群の動物［ラットの 0.3 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍）およびイヌの 0.03 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.1 倍）］では，リンパ造血系組織の所見は休薬後に回復傾向が認められた。また，ラットの 1 mg/kg/日以上では，休薬期間に極めて重度の骨髄過形成が認められた。ラットを用いた 28 日間投与試験では，0.05 mg/kg（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）で

赤血球パラメータおよび白血球数（好中球，リンパ球，単球，大型非染色細胞など）の減少が認められた。これらのリンパ造血器系の変化に関連した胸腺重量の減少，胸腺，脾臓およびリンパ節のリンパ球減少ならびに軽微からごく軽度の骨髄細胞減少は休薬により回復した。イヌを用いた 28 日間投与試験では，0.005 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.2 倍）ではリンパ球数減少が認められ，0.01 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍）では汎血球数減少が認められた。これらのリンパ造血器系の変化は，リンパ組織での軽微からごく軽度のリンパ球減少ならびに胸骨および大腿骨での軽微から重度の骨髄細胞減少と符合していた。13 週間投与試験ではラットの 0.015 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.16 倍以上）およびイヌの 0.01 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.30 倍）でも汎血球減少が認められた。関連した病理組織学的所見としてラットで骨髄細胞減少およびリンパ節のリンパ球減少，イヌで骨髄の M:E 比上昇が認められたが，いずれも休薬後に回復した。また，in vitro 細胞毒性試験（報告書番号 [redacted]LJ085）で評価した動物種のうち，ラットの骨髄細胞がタラゾパリブの細胞毒性に対して最も高い感受性を示し（ラット，マウスおよびヒトの IC_{50} 値はそれぞれ 2.9，5.4 および 6.9 nmol/L），この結果は低い曝露量比で汎血球数減少が認められたことと符合していた。

肝臓および脾臓では代償性の髄外造血が認められた。28 日間および 13 週間投与試験でのリンパ造血器系へのタラゾパリブの影響（骨髄およびリンパ組織の変化）は可逆的であり，休薬後に全細胞系列の再生が認められた。以上より，これらの血液毒性は臨床でモニタリング可能かつ回復性を示すことが示唆された。ラットを用いた 13 週間反復投与試験では，最高用量である 0.05 mg/kg/日で赤血球パラメータの減少による瀕死や死亡が認められたため，投与中断後に 0.04 mg/kg/日まで減量して投与を再開した。このことから，減量によりタラゾパリブの投与が継続可能，すなわち管理可能な毒性であることが裏付けられた。臨床におけるタラゾパリブおよびその他の PARP 阻害薬の用量制限毒性は血液毒性（骨髄抑制）であるが，減量により血液毒性が緩和され，投与の継続が可能であることが報告されている [7]。

9.2. 消化管

消化管毒性がラットおよびイヌを用いた 5 日間および 28 日間投与試験で認められたが，13 週間投与試験では認められなかった。14 日以下の短期間投与試験では，高い曝露量比（AUC_{24} に基づく曝露量比：5 倍以上）において，重症度の高い消化管毒性が認められた。5 日間投与試験では，ラットの 3 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：12.6 倍）およびイヌの 0.1 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：5 倍）で死亡が認められ，敗血症を伴った腸症を示す一般状態変化が認められた。これらの生存例では，その他の消化管毒性である絨毛萎縮または粘膜上皮細胞のアポトーシス増加が消化管全体で認められ，小腸で最も顕著であった。低用量群では，これら所見は休薬後に回復傾向を示した。5 日間投与試験でのラットの 0.3 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.6 倍以上）およびイヌの 0.01 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍以上）ならびに 28 日間投与試験でのラットの 0.05 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.28 倍）およびイヌの 0.005 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.17 倍）で，死亡および腸症を伴わない腺胃および十二指腸でのアポトーシス/壊死の用量依存的な発現頻度の増加，軽微からごく軽度の回腸，盲腸および結腸における GALT の退縮，あるいは腸間膜リンパ節のリンパ球減少が認められ，いずれも休薬後に回復した。13 週間投与試験では，ラットおよびイヌに対するタラゾパリブの総曝露量は長期投与のため増加し，試験終了時の AUC_{24} は他の試験と同程度またはそれ以上であったものの，消化管毒性は認められなかった。臨床では，種々の PARP 阻害薬で消化管毒性が認められており，PARP 阻害薬のクラスエフェクトと考えられた[14]。

9.3. 雄性生殖器

ラットを用いた 5 日間，28 日間および 13 週間投与試験ならびにイヌを用いた 5 日間および 13 週間投与試験において，雄性生殖器に対する毒性が認められた。イヌを用いた 28 日間投与試験では精巣の所見は認められなかった。雄性生殖器の変化として，精巣の精細管の萎縮/変性およびこれに伴う精巣上体の精子減少が認められ，休薬後に回復傾向を示した。精巣上体の精子肉芽腫はラットを用いた 28 日間投与試験の 0.005 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.03 倍）で認められた。これらの精巣の所見の重症度は，用量および投与期間と相関していた。13 週間投与試験では，ラットの 0.05/0.04 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.4 倍以上）およびイヌの 0.01 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍以上）で精巣の毒性所見が認められ，休薬後に回復傾向を示した。以上のように，精巣および精巣上体に所見が認められたことから，男性患者への潜在的リスクが示唆された。なお，ラットおよびイヌの雄性生殖器への影響が認められたことは，添付文書案（1.8.1）にて注意喚起を行っている。

9.4. 肝臓

ラットを用いた 5 日間および 28 日間投与試験では，1 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍以上）および 0.05 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：0.3 倍以上）で肝細胞壊死が認められた。また，ラットを用いた GLP 非適用 14 日間投与試験の 0.3 mg/kg/日（AUC_{24} に基づく曝露量比：1.9 倍）で軽微から軽度の肝細胞の限局性凝固壊死が認められた。しかし，イヌを用いた試験およびラットを用いた 13 週間投与試験で肝細胞壊死は認められなかった。非臨床毒性試験で一貫した肝臓の所見は認められなかったものの，これらの所見に基づき臨床での肝毒性の潜在的リスクが示唆された。

9.5. 雌性生殖器

ラットを用いた 5 日間投与試験では，雌の生殖器官の所見として 1 mg/kg/日以上（AUC_{24} に基づく曝露量比：4.9 倍以上）で卵巣の卵胞閉鎖が認められた。ラットを用いた 28 日間投与試験（曝露量比：0.3 倍以下）および 13 週間投与試験（曝露量比 0.4 倍）では，卵巣での所見は認められなかった。非臨床毒性試験で一貫した卵巣の所見は認められなかったものの，本所見に基づき女性患者への潜在的リスクが示唆された。なお，ラットの雌性生殖器への影響が認められたことは，添付文書案（1.8.1）にて注意喚起を行っている。

9.6. 発生毒性

妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，妊娠ラットに 0.015 mg/kg/日以上を投与したとき（母動物の AUC_{24} に基づく曝露量比：0.09 倍以上）タラゾパリブによる胚・胎児毒性が認められた。母動物に 0.015 mg/kg/日を投与後に生存した胎児に認められた毒性は，胚・胎児の死亡，胎児奇形（眼部隆起の扁平化，小眼球，胸骨分節の分離および頸椎椎弓の癒合）および骨格変異（頬骨弓の変形，胸骨分節の骨化不全または変形，過剰肋骨ならびに頸椎椎弓の骨化不全および変形）の増加であった。以上，これらの所見によりヒト胚・胎児発生の潜在的リスクが示唆された。なお，ラットで胚・胎児発生への影響が認められたことは，添付文書案（1.8.1）にて注意喚起を行っている。

9.7. 遺伝毒性

細菌を用いる復帰突然変異試験では，タラゾパリブは変異原性を示さなかった。しかし健康ドナーから採取したヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 試験では，タラゾパリブは染色体構造異常誘発性を示し，ラットを用いた in vivo 小核試験では 150 mg/kg 以上で小核を有する多染性赤血球の発現頻度が統計学的に有意に増加した。以上，in vitro と in vivo で評価したすべての濃度および用量でタラゾパリブは小核形成を誘発した（2.6.6.4 項参照）。

また DDR 欠損および BRCA2 変異を有する DU145 前立腺癌細胞株を用いてタラゾパリブを評価した。DU145 細胞をタラゾパリブ単独で処理したところ，タラゾパリブは 0.0005 µmol/L から dsDNA 切断，S 期での細胞周期停止および細胞増殖阻害を誘発し，タラゾパリブの DDR への寄与が示唆された。染色体異常誘発性のマーカーである小核誘発は，0.0007 µmol/L から認められた。DDR および染色体異常誘発作用はいずれもテモゾロミド（128 µmol/L）の併用処理によって増強され，細胞増殖の阻害および小核誘発はそれぞれ 0.0004 µmol/L および 0.0001 µmol/L から認められた。テモゾロミド単独処理では，128 µmol/L まで DDR または小核誘発は認められなかった。以上，タラゾパリブが示した染色体構造異常誘発性はタラゾパリブの主な薬理作用（PARP1/2 触媒活性の阻害および PARP トラッピング）によるものであり，クラスエフェクトと考えられた [9,10,11]。なお，遺伝毒性試験において染色体構造異常誘発性および in vivo 小核誘発性が認められたことは，添付文書案（1.8.1）にて注意喚起を行っている。

9.8. 結論

以上，非臨床試験の主な毒性は臨床曝露量以下で認められた骨髄やリンパ組織の細胞減少などのリンパ造血器系の所見であり，これにより汎血球数減少がみられた。これらの血液学的所見は，血液毒性の高感度な初期マーカーであり，NOAEL および HNSTD では休薬後に概して回復性が認められたことから，休薬により回復する可能性が示唆された。休薬後に回復傾向を示した精巣の限局性萎縮および変性ならびに精巣上体の精子減少も臨床曝露量以下で認められ，患者の受胎能への影響や避妊の必要性が示唆された。高い曝露量比で認められたその他の毒性として，反復投与毒性試験で用量依存的な消化管のアポトーシス/壊死，卵巣の卵胞閉鎖および肝細胞壊死が認められた。これらの所見およびタラゾパリブにより認められた遺伝毒性は，概してタラゾパリブの薬理作用と符合していた。タラゾパリブ投与に関連する影響は，臨床的にモニタリング可能であるか，本薬の適応対象である患者への投与に際しては許容できるリスクであると考えられた。

10. 図表

図表は，本文中の該当箇所または毒性概要表（2.6.7 項）に記載し，概要表を参照する場合は，参照箇所を本文中に示した。

11. 参考文献

1 Anonymous. Guidance for industry: S9 Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals. In: International Conference of Harmonisation. 2010:12 pages.

2 Anonymous. Guidance for industry: S2 (R1) Nonclinical evaluation on genotoxicity testing and data interpretations for pharmaceuticals intended for human use. In: International Conference of Harmonisation. 2011:25 pages.

3 Anonymous. Guidance for industry: S5A (R2) Detection of toxicity to reproduction for medicinal products and toxicity to male fertility. In: International Conference of Harmonisation. 2005:21 pages.

4 Anonymous. Guidance for industry: S10 Photosafety evaluation of pharmaceuticals. In: International Conference of Harmonisation. 2013:15 pages.

5 Anonymous. Guidance for industry: S7A Safety Pharmacology studies for human pharmaceuticals. In: International Conference of Harmonisation. 2000:9 pages.

6 Drew Y. The development of PARP inhibitors in ovarian cancer: from bench to bedside. British Journal of Cancer. 2015;113(Suppl 1):S3-S9.

7 Evans T, Matulonis U. PARP inhibitors in ovarian cancer: evidence, experience and clinical potential. Ther Adv Med Oncol. 2017;9(4):253-67.

8 de Bono J, Ramanathan RK, Mina L, et al. Phase I, dose-escalation, two-part trial of the PARP inhibitor talazoparib in patients with advanced germline BRCA1/2 mutations and selected sporadic cancers. Cancer Discov. 2017;7(6):620-9.

9 Lord CJ, Ashworth A. The DNA damage response and cancer therapy. Nature. 2012;481(7381):287-94.

10 Murai J, Huang SY, Renaud A, et al. Stereospecific PARP trapping by BMN 673 and comparison with olaparib and rucaparib. Mol Cancer Ther. 2014;13(2):433-43.

11 Pommier Y, O'Connor MJ, de Bono J. Laying a tap to kill cancer cells: PARP inhibitors and their mechanisms of action. Sci Transl Med. 2016;8(362): 362ps17.

12 OECD guideline for the testing of chemicals. In vitro 3T3 NRU phototoxicity test, No. 432 section 4 Health Effects (Pink pages); adopted April 13, 2004. Organisation for Economic Co-operation and Development.

13 Shen Y, Rehman FL, Feng Y, et al. BMN 673, a novel and highly potent PARP1/2 inhibitor for the treatment of human cancers with DNA repair deficiency. Clin Cancer Res. 2013;19(18):5003-15.

14 Bao Z, Cao C, Geng X, et al. Effectiveness and safety of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors in cancer therapy: A systematic review and meta-analysis. Oncotarget. 2015;7(7):7629-39.

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1. TOXICOLOGY: OVERVIEW 2
2.6.7.2. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES 5
2.6.7.3. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA 6
2.6.7.4. TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE 10
2.6.7.6. REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 11
2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY 15
2.6.7.7B. REPEAT-DOSE TOXICITY 27
2.6.7.7C. REPEAT-DOSE TOXICITY 34
2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY 41
2.6.7.7E. REPEAT-DOSE TOXICITY 51
2.6.7.7F. REPEAT-DOSE TOXICITY 56
2.6.7.8A. GENOTOXICITY: IN VITRO 62
2.6.7.8B. GENOTOXICITY: IN VITRO 64
2.6.7.9. GENOTOXICITY: IN VIVO 66
2.6.7.13. REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 68
2.6.7.17. OTHER TOXICITY STUDIES 72

2.6.7.1. TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06944076

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
Single-Dose Toxicity							
None							
Repeat-Dose Toxicity[b]							
Nonpivotal							
	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	5 and 14 Days	5 Day: 0.3, 3, 10, 30 14 Day: 0, 0.1, 0.3, 1	Non-GLP	[redacted][c]	VQZ00001 (LT_673_TOX_005)
	Dog/Beagle	Oral gavage	5 and 14 Days	5 Day: 0.1, 1 14 Day: 0, 0.01, 0.03, 0.1	Non-GLP	[redacted][c]	VQZ00002 (LT_673_TOX_006)
Pivotal							
	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	5 Days	0, 0.3, 1, 3	GLP	[redacted][d]	8227540 (BMN673-[redacted]-050)
	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	28 Days	0, 0.005, 0.015, 0.05	GLP	[redacted][d]	8227533 (BMN673-[redacted]-048)
	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	13 Weeks	0, 5, 15, 50/40 µg/kg/day[e,f]	GLP	[redacted][g]	8279299 (BMN673-[redacted]-002)
	Dog/Beagle	Oral gavage	5 Days	0, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1	GLP	[redacted][d]	8227539 (BMN673-[redacted]-051)
	Dog/Beagle	Oral gavage	28 Days	0, 0.0005, 0.0015, 0.005, 0.01	GLP	[redacted][d]	8227532 (BMN673-[redacted]-049)
	Dog/Beagle	Oral gavage	13 Weeks	0, 1.5, 5, 10 µg/kg/day	GLP	[redacted][e]	8279298 (BMN673-[redacted]-001)

2.6.7.1. TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06944076

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
Genotoxicity							
Bacterial Reverse Mutation Assay	*S. typhimurium, E. coli*	In Vitro	NA	100-5000 µg/plate (with and without activation	GLP	[redacted][h]	[redacted] (BMN673-[redacted]-040)
In Vitro Chromosome Aberration	Human Peripheral Blood Lymphocytes	In Vitro	NA	10, 25, 50, 100, 125, 150, 200, 380 µg/mL (non-activated and S9-activated 4-hour exposure groups); 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 µg/mL (non-activated 20-hour exposure group)	GLP	[redacted][h]	[redacted] (BMN673-[redacted]-039)
In Vivo Micronucleus	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	Single dose	0, 150, 300, 600 mg/kg	GLP	[redacted][h]	[redacted] (BMN673-[redacted]-038)
Carcinogenicity							
None							
Reproductive and Developmental Toxicity							
Embryofetal Development	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	GD 6-17	0, 0.015, 0.5, 0.15	GLP	[redacted][i]	20074799 (MDV3800P006)
Local Tolerance							
None							

2.6.7.1. TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06944076

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number (Sponsor Reference Number)
Other Toxicity Studies							
Phototoxicity	Mouse/ Balb/c 3T3 Fibroblasts	In Vitro	NA	0.6, 1.0, 1.8, 3.2, 5.7, 10.1, 17.9, 31.9 µg/mL	GLP	[redacted][i]	20054208 (BMN673-[redacted]-058)
Mechanistic Investigation of Bone Marrow Suppression	Peripheral blood mononuclear cells/Human bone marrow mononuclear cells	In Vitro	NA	10 nM to 100 µM	Non-GLP	PWRD	[redacted]LJ085
Assessment of DNA Damage and Cytotoxicity Markers in DU145 Cells Treated With Talazoparib	Human DU145 cells	In Vitro	NA	0 and 2.4 x 10^{-6} to 20.0 µM[j]	Non-GLP	PWRD	[redacted]GR323
Phototoxicity	Rat/Long-Evans	Oral gavage	3 days	0, 0.015, 0.05 mg/kg	GLP	[redacted][i]	20116618 ([redacted]LJ041)

BMN 673fb = Free base; BMN 673ts = Tysolated salt; DNA = Deoxyribonucleic acid; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; NA = Not applicable; PWRD = Pfizer Worldwide Research and Development; SMCC = Silificified Microcrystalline Cellulose; w/w = % weight per weight.

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

b. Unless otherwise indicated, for repeat-dose toxicity studies, the HNSTD (highest non-severely toxic dose) is underlined.

c. [redacted].

d. [redacted].

e. Animals were dosed at 50 µg/kg/day at a dose concentration of 10 µg/mL on Days 1 through 49 and at 40 µg/kg/day at a dose concentration of 8 µg/mL starting on Days 64 through 91.

f. The dose level (µg/kg/day) and dose concentration (µg/mL) were expressed as the active free base entity (BMN 673fb). Concentrations were corrected for salt content using a correction factor of 1.453 when weighing BMN 673ts to prepare dose formulations, and the ratio of weighed BMN 673ts to SMCC in each formulation for Groups 2 through 4 was 1:71 (w/w).

g. [redacted].

h. [redacted].

i. [redacted].

j. When temozolomide, a DNA alkylating agent, was present in the media it was at clinically relevant concentrations of 43 or 128 µM.

2.6.7.2. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES

Test Article: PF-06944076

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)
5-Day Toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 0.3, 1, 3	Yes	8227540 (BMN673-[redacted]-050)
14-Day Toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 0.1, 0.3, 1	No	VQZ00001 (LT_673_TOX_005)
28-Day Toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 0.005, 0.015, 0.05	Yes	8227533 (BMN673-[redacted]-048)
13-Week Toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 5, 15, 50/40 µg/kg/day[b, c]	Yes	8279299 (BMN673-[redacted]-002)
5-Day Toxicity	Dog/Beagle	Oral gavage	0, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1	Yes	8227539 (BMN673-[redacted]-051)
14-Day Toxicity	Dog/Beagle	Oral gavage	0, 0.01, 0.03, 0.1	No	VQZ00002 (LT_673_TOX_006)
28-Day Toxicity	Dog/Beagle	Oral gavage	0, 0.0005, 0.0015, 0.005, 0.01	Yes	8227532 (BMN673-[redacted]-049)
13-Week Toxicity	Dog/Beagle	Oral gavage	0, 1.5, 5, 10 µg/kg/day	Yes	8279298 (BMN673-[redacted]-001)
Embryofetal Development	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 0.015, 0.5, 0.15	Yes	20074799 (MDV3800P006)

BMN 673fb = Free base; BMN 673ts = Tysolated salt; GLP = Good Laboratory Practice; SMCC = Silificified Microcrystalline Cellulose; w/w = % weight per weight.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety.

b. Animals were dosed at 50 µg/kg/day at a dose concentration of 10 µg/mL on Days 1 through 49 and at 40 µg/kg/day at a dose concentration of 8 µg/mL starting on Days 64 through 91.

c. The dose level (µg/kg/day) and dose concentration (µg/mL) were expressed as the active free base entity (BMN 673fb). Concentrations were corrected for salt content using a correction factor of 1.453 when weighing BMN 673ts to prepare dose formulations, and the ratio of weighed BMN 673ts to SMCC in each formulation for drug-treated groups was 1:71 (w/w).

2.6.7.3. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: PF-06944076

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number	Steady State AUC_{24} (pg•h/mL)[b]				
			Rat		Dog		Human
			M	F	M	F	M+F
0.3	5-Day	8227540	916278	797155	-	-	-
1	5-Day	8227540	3246346	1932347	-	-	-
3	5-Day	8227540	7752850	5339225	-	-	-
0.1	14-Day	VQZ00001	229 ng•h/mL[c]	330 ng•h/mL[c]	-	-	-
0.3	14-Day	VQZ00001	930 ng•h/mL[c]	1030 ng•h/mL[c]	-	-	-
1[d]	14-Day	VQZ00001	NA	NA	-	-	-
0.005	28-Day	8227533	13525	17000	-	-	-
0.015	28-Day	8227533	45076	54583	-	-	-
0.05	28-Day	8227533	123745	172233	-	-	-
0.005	13-Week	8279299	25512	29832	-	-	-
0.15	13-Week	8279299	80262	86608	-	-	-
0.050/0.040[e]	13-Week	8279299	179103[f]/199480[g]	209225[f] / 221983 [g]	-	-	-
0.003	5-Day	8227539	-	-	10287	10536	-
0.01	5-Day	8227539	-	-	46124	41075	-
0.03	5-Day	8227539	-	-	168806	153119	-
0.1	5-Day	8227539	-	-	832000	582984	-
0.01	14-Day	VQZ00002	-	-	20.5 ng•h/mL[c]	23.2 ng•h/mL[c]	-
0.03	14-Day	VQZ00002	-	-	168 ng•h/mL[c,]	112 ng•h/mL[c]	-
0.1	14-Day	VQZ00002	-	-	244 ng•h/mL[c]	492 ng•h/mL[c]	-
0.0005	28-Day	8227532	-	-	2210	2371	-
0.0015	28-Day	8227532	-	-	7754	5879	-
0.005	28-Day	8227532	-	-	21838	26519	-
0.01	28-Day	8227532	-	-	42350	44577	-
0.0015	13-Week	8279298	-	-	5556	5746	-
0.005	13-Week	8279298	-	-	19628	23454	-
0.010	13-Week	8279298	-	-	60949	82364	-
0.015	GD17	20074799	NA	49200	-	-	-
0.5	GD17	20074799	NA	201000	-	-	-
0.15	GD17	20074799	NA	341000	-	-	-
1 mg/day[h]	-	PRP-001	-	-	-	-	202 ng•h/mL

2.6.7.3. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: PF-06944076

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number	Steady State AUC_{24} (pg•h/mL)[b]				
			Rat		Dog		Human
			M	F	M	F	M+F

- = No data; AUC = Area under the concentration time curve from zero to 24 hours (1 Day); C_{max} = Maximum observed concentration; GD = Gestation day; F = Female; M = Male; NA = Not applicable.

a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day, with the exception of the human dose, which is expressed as mg of active drug moiety.

b. Unless otherwise indicated.

c. AUC_{last} from Day1

d. Animals were dosed at 50 µg/kg/day at a dose concentration of 10 µg/mL on Days 1 through 49 and at 40 µg/kg/day at a dose concentration of 8 µg/mL starting on Days 64 through 91.

e. Toxicokinetics not determined due to mortality.

f. Value from Day 29.

g. Value from Day 91

h. AUC_{24} from Cycle 1, Day 35. Talazoparib was dosed once daily in Study PRP-001.

2.6.7.3. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: PF-06944076

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number	Steady State C_{max} (pg/mL)[b]				
			Rat		Dog		Human
			M	F	M	F	M+F
0.3	5-Day	8227540	137000	106967	-	-	
1	5-Day	8227540	389333	263667	-	-	
3	5-Day	8227540	868333	529667	-	-	
0.1	14-Day	VQZ00001	40.6 ng/mL	44.4 ng/mL	-	-	
0.3	14-Day	VQZ00001	134 ng/mL	144 ng/mL	-	-	
1[c]	14-Day	VQZ00001	NA	NA	-	-	
0.005	28-Day	8227533	950	1142	-	-	
0.015	28-Day	8227533	5693	5137	-	-	
0.05	28-Day	8227533	19967	23400	-	-	
0.005	13-Week	8279299	1993	2460	-	-	
0.015	13-Week	8279299	8767	8257	-	-	
0.050/0.040[d]	13-Week	8279299	28067[e]/23400[f]	34500 [e] /35033 [f]	-	-	
0.003	5-Day	8227539	-	-	588	526	
0.01	5-Day	8227539	-	-	3327	2571	
0.03	5-Day	8227539	-	-	11584	12350	
0.1	5-Day	8227539	-	-	54643	49971	
0.01	14-Day	VQZ00002	-	-	2.00 ng/mL[g]	2.84 ng/mL[g]	
0.3	14-Day	VQZ00002	-	-	19.2 ng/mL[g]	9.84 ng/mL[g]	
0.1	14-Day	VQZ00002	-	-	27.7 ng/mL[g]	111 ng/mL[g]	
0.0005	28-Day	8227532	-	-	120	135	
0.0015	28-Day	8227532	-	-	455	318	
0.005	28-Day	8227532	-	-	1227	1374	
0.01	28-Day	8227532	-	-	3320	3644	
0.0015	13-Week	8279298	-	-	278	323	
0.005	13-Week	8279298	-	-	1107	1192	
0.010	13-Week	8279298	-	-	2011	2896	
0.015	GD17	20074799	NA	3930	-	-	
0.5	GD17	20074799	NA	18100	-	-	
0.15	GD17	20074799	NA	38200			
1 mg/day[h]	-	PRP-001	-	-	-	-	21 ng/mL

2.6.7.3. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: PF-06944076

Dose[a] (mg/kg/day)	Study Type	Study Number	Steady State C_{max} (pg/mL)[b]				
			Rat		Dog		Human
			M	F	M	F	M+F

- = No data; AUC = Area under the concentration time curve from zero to 24 hours; C_{max} = Maximum observed concentration; GD = Gestation day; F = Female; M = Male; NA = Not applicable.
a. All doses are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day, with the exception of the human dose, which is expressed as mg of active drug moiety.
b. Unless otherwise indicated.
c. Toxicokinetics not determined due to mortality.
d. Animals were dosed at 50 µg/kg/day at a dose concentration of 10 µg/mL on Days 1 through 49 and at 40 µg/kg/day at a dose concentration of 8 µg/mL starting on Days 64 through 91.
e. Value from Day 29.
f. Value from Day 91.
g. Value from Day 1.
h. C_{max} from Cycle 1, Day 35. Talazoparib was dosed once daily in Study PRP-001.

2.6.7.4. TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE

Test Article: PF-06944076

Lot/Batch Number	Purity (%)	Specified Impurities			Study Number (Sponsor Reference Number)	Type of Study
		*不純物C	10	11		
Proposed Specification:	97.0-103.0%	NMT 0.10%	NMT 0.02%	NMT 0.10%		
[redacted]	100	NAV	NAV	NAV	VQZ00001 (LT_673_TOX_005)	14-Day Rat[a]
[redacted]	100	NAV	NAV	NAV	VQZ00002 (LT_673_TOX_006)	14-Day Dog[a]
[redacted]	99.9	0.10%	NR	NR	8227539 (BMN673-[redacted]-051)	5-Day Dog
[redacted]	99.9	0.10%	NR	NR	8227540 (BMN673-[redacted]-050)	5-Day Rat
[redacted]	99.8	NA	0.05%	0.10%	8279299 (BMN673-[redacted]-002)	13-Week Rat
[redacted]	99.9	0.10%	NR	NR	8227533 (BMN673-[redacted]-048)	28-Day Rat
[redacted]	99.9	0.10%	NR	NR	8227532 (BMN673-[redacted]-049)	28-Day Dog
[redacted]	99.8	NA	0.05%	0.10%	8279298 (BMN673-[redacted]-001)	13-Week Dog
[redacted]	99.5	NA	<0.02%	0.04%	[redacted] (BMN673-[redacted]-040)	Bacterial Reverse Mutation Assay
[redacted]	99.5	NA	<0.02%	0.04%	[redacted] (BMN673-[redacted]-039)	In Vitro Micronucleus
[redacted]	100.6	NA	<0.02%	0.05%	[redacted] (BMN673-[redacted]-038)	In Vivo Micronucleus
[redacted]	99.5	NA	<0.02%	0.04%	20054208 (BMN673-[redacted]-058)	Phototoxicity
[redacted]	99.5	NA	<0.02%	0.04%	20074799 (MDV3800P006)	Embryofetal Development
[redacted]	99.7	NA	<0.02%	NR	20116618 ([redacted]LJ041)	Phototoxicity

NA = Not applicable; NAV = Not available; NMT = Not more than; NR = Not reported.
a. Certificates of analysis not available.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.6. REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06944076

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
Rat/ Sprague-Dawley	Oral Gavage, 0.5% Carboxy-methyl-cellulose Lot [redacted]	5 Days (Phase I) 14 Days (Phase II)	0.3, 3, 10, 30 0, 0.1, 0.3, 1	3M; 3F 5M; 5F	ND	In Phase I, administration of PF-06944076 as a single dose once daily for 5 days at dose levels of 3, 10, and 30 mg/kg/day was not tolerated and was associated with early mortality in 2 animals at 30 mg/kg/day along with steady body weight loss that increased in magnitude daily beginning, at all dose levels, on Day 2. There were no macroscopic findings at necropsy, and microscopic tissue evaluation was not performed. These doses were not used in Phase II of the study. In Phase II, administration of PF-06944076 as a single dose once daily for 14 days at 0.1, 0.3, and 1 mg/kg/day was not well tolerated and resulted in the early death or euthanasia of all 1 mg/kg/day animals. Decreases in mean body weight were noted in all treated groups at study termination relative to control and as early as Day 4 in the 1 and 0.3 mg/kg/day groups and as late as Day 13 or 14 in the 0.1 mg/kg/day group. Food consumption was decreased in all PF-06944076–treated groups. Almost all hematology parameters in all PF-06944076–treated groups were significantly decreased, which corresponded with complete depletion of hematopoietic tissue from the bone marrow and from the splenic red pulp along with a small thymus and lymphocytic depletion at 0.3 mg/kg/day. Increases in PT, FIB and/or APTT were noted at 0.3 and 1 mg/kg/day. Decreases in platelet count corresponded with hemorrhage in a variety of tissues at 0.3 mg/kg/day.	VQZ00001 LT_673_TOX_005/ No

2.6.7.6. REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06944076

						Several serum chemistry parameters were also affected at all dose levels. PF-06944076–related organ weight changes included decreases in thymic and splenic weights and an increase in adrenal gland weights at 0.3 mg/kg/day. Macroscopic findings at 0.3 and/or 1 mg/kg/day included small thymus, multiple small foci on the liver, and dark multifocal discoloration of a variety of tissues, which in each case correlated microscopically with hemorrhage. Macroscopic findings at 0.1 mg/kg/day were limited to males and included discolored fat and dark focus in the lungs, and dark accumulation in the kidney pelvis. Microscopic findings at 0.3 mg/kg/day included pronounced lymphocytic depletion of the thymus, complete depletion of hematopoietic tissue from the bone marrow and from the splenic red pulp, and hemorrhage in the lung. Mild lymphocytic depletion and hemorrhage were also observed in the mandibular and mesenteric lymph nodes in several animals. In addition, there were varying degrees of hemorrhage in a variety of tissues, which appeared to be a reaction to systemic toxicity.				
Toxicokinetic Parameters (M/F) Phase II[b]:								
Dose (mg/kg/day)	0		1		0.3		0.1	
Day 14	M	F	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	NA[c]	NA[c]	NA[d]	NA[d]	134	144	40.6	44.4
AUC_{last} (ng•h/mL)	NA[c]	NA[c]	NA[d]	NA[d]	930	1030	229	330

AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to time of last quantifiable concentration; APTT = Activated partial thromboplastin time; C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; ND = Not determined; NOAEL = No observed adverse effect level; PT = Prothrombin time.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety.

b. Both [8S, 9R]-talazoparib (LT-00673) and its enantiomer, LT-00674 ([8R, 9S]-PF-07052027), were measured bioanalytically with a chiral HPLC-MS/MS method and all concentrations of the enantiomer were below the limit of quantitation (0.500 ng/mL) at all time-points, indicating no chiral interconversion took place.

c. All samples below assay limit of quantitation (0.5 ng/mL).

d. Due to mortality and/or early euthanasia of the animals at 1 mg/kg/day, toxicokinetic analysis could not be conducted.

2.6.7.6. REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06944076

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
Dog/Beagle	Oral Gavage, 0.5% Carboxy-methyl-cellulose Lot [redacted]	5 Days (Phase I) 14 Days (Phase II)	0.1, 1.0 0. 0.01, 0.03, 0.1	1M, 1F 1M, 1F	ND	In Phase I, administration of PF-06944076 as a single dose once daily for 5 days at dose levels of 0.1 and 1 mg/kg/day resulted in the moribund euthanasia of animals at 1 mg/kg/day. Findings associated with the early deaths at 1 mg/kg/day included adverse clinical signs with gastrointestinal tract notably affected, low food consumption, decreases in body weight, and changes in clinical pathology parameters (hematology, serum chemistry, and coagulation). Macroscopic findings at 1 mg/kg/day included red discoloration of the stomach, duodenum, ileum, rectum, esophagus, jejunum, and uterus and/or dark discoloration of the lung. Findings were limited to hematologic changes at the 0.1 mg/kg/day dose level. Microscopic evaluation was not performed. The 1 mg/kg/day dose was not used in Phase II of the study. In Phase II, administration of PF-06944076 as a single dose once daily for 14 days at 0.01, 0.03, and 0.1 mg/kg/day resulted in the early death or euthanasia of all animals at 0.03 and 0.1 mg/kg/day. Findings associated with the early deaths at 0.03 and 0.1 mg/kg/day included adverse clinical signs with gastrointestinal tract notably affected, low food consumption, decreases in body weight, and changes in clinical pathology parameters (most notably including decreases in peripheral blood cell	VQZ00002 (LT_673_TOX_006)/ No

2.6.7.6. REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06944076

						counts by Day 7 that progressed through study termination). Microscopic findings at 0.03 and/or 0.1 mg/kg/day included depletion of bone marrow hematopoietic cells; lymphocytic depletion in the thymus, spleen, mesenteric lymph nodes, and intestinal lymphoid follicles; and hemorrhage in the gastrointestinal tract. PF-06944076 effects at 0.01 mg/kg/day were limited to similar, but less severe, decreases in peripheral blood cell counts, as compared to 0.03 and 0.1 mg/kg/day animals, and moderate hypocellularity of hematopoietic cells and minimal erythroid hypocellularity noted by bone marrow smear evaluation.		
Toxicokinetic Parameters (M/F), Phase II:								
Dose (mg/kg/day)	0		0.01		0.03		0.1	
Day 1	M	F	M	F	M	F	M	F
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	NA[b]	2.00	2.84	19.2	9.84	27.7	111
AUC_{last} (ng•h/mL)	NA[b]	NA[b]	20.5	23.2	168	112	244	492
Day 14								
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	NA[b]	8.16	4.38	NA[c]	NA[c]	NA[c]	NA[c]
AUC_{last} (ng•h/mL)	NA[b]	NA[b]	64.3	54.8	NA[c]	NA[c]	NA[c]	NA[c]

AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from zero to time of last quantifiable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; ND = Not determined; NOAEL = No observed adverse effect level.

a. All doses are expressed as mg of active test article moiety.

b. All samples below assay limit of quantitation (0.5 ng/mL) except female 2101 on Day 1 at 4 hours postdose.

c. Due to mortality and/or early euthanasia of the animals at 0.03 mg/kg/day (Group 4) and 0.1 mg/kg/day (Group 5), the toxicokinetic parameters were not determined.

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 5-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study Using Daily Administrations of BMN 673ts in Sprague-Dawley Rats with a 28-Day Recovery Phase

Test Article: PF-06944076 (Tosylate Salt)

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley

Duration of Dosing: 5 Days

Study Number: 8227540 (Sponsor reference BMN673-[redacted]-050)

Initial Age: 7 weeks

Duration of Postdose: 28 Days

Lot Number: [redacted]

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage, QD, 5 mL/kg

GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose (400 to 800 cps) in reverse osmosis water

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level: None reported.

Highest Nonseverely Toxic Dose: 0.3 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.3**		**1**		**3**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	18	18	18	18	18	18	18	18
Toxicokinetics	12	12	12	12	12	12	12	12
Toxicokinetics:								
Day 1								
AUC_{24} (pg•h/mL)	NA	NA	875816	812853	3543897	2366740	8134642	7022125
C_{max} (pg/mL)	NA	NA	109967	91167	430667	307667	1035333	1048667
$t_{1/2}$ (h)[b]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Day 5:								
AUC_{24} (pg•h/mL)	NA	NA	916278	797155	3246346	1932347	7752850	5339225
C_{max} (pg/mL)	NA	NA	137000	106967	389333	263667	868333	529667
$t_{1/2}$ (h)	NA	NA	32.1	37.7	34.3	19.7	NA	NA[c]
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity[d]	0	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g)[e,f]								
Dosing phase Day 5	284	194	0.96	0.96	0.94	0.96	0.88*	0.91*

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Food Consumption (g)[e]								
Dosing phase Day 4	25.5	17.0	0.85*	0.85	0.76*	0.76*	0.33*	0.38*
Clinical Observations								
Rough haircoat	–	–	–	–	1	–	3	–
Hematology/Coagulation – Dosing phase Day 6								
Red blood cell count (10e6/µL)	7.58	7.64	6.55*	6.89*	6.49*	6.90*	6.96*	7.07*
Hemoglobin (g/dL)	15.1	15.1	13.1*	13.7*	13.0*	13.6*	14.0*	13.9*
Hematocrit (%)	46.5	44.7	39.2*	39.9*	39.2*	39.9*	41.6*	40.3*
Absolute reticulocyte count (10e3/µL)	424.1	297.7	3.3*	2.6*	2.0*	2.6*	3.2*	3.9*
White blood count (10e3/µL)	7.41	6.09	4.97*	4.47	4.77*	4.59	5.13*	3.88*
Absolute neutrophil count (10e3/µL)	1.30	0.81	0.56*	0.58*	0.64*	0.46*	0.73*	0.51*
Absolute lymphocyte count (10e3/µL)	5.81	5.06	4.31*	3.77	4.05*	4.04	4.32*	3.31*
Absolute monocyte count (10e3/µL)	0.17	0.10	0.03*	0.02*	0.03*	0.02*	0.04*	0.02*
Large unstained cell count (10e3/µL)	0.06	0.04	0.01*	0.02*	0.01*	0.01*	0.01*	0.01*
Platelet count (10e3/µL)	1212	1146	636*	641*	595*	530*	580*	595*
Clinical Chemistry – Dosing phase Day 6								
Glucose (mg/dL)	66	93	90*	92	89*	101	100*	110*
Albumin (g/dL)	4.3	4.7	4.4	4.5	4.3	4.6	4.1*	4.1*
Potassium (mmol/L)	5.8	5.2	5.1*	4.9	5.2*	4.9	4.9*	5.0
Aspartate aminotransferase (U/L)	167	148	136*	129	134*	122*	122*	130
Alanine aminotransferase (U/L)	40	26	26*	20*	25*	19*	22*	22*
Urinalysis	–	–	–	–	–	–	–	–
Organ Weights[e]								
Terminal body weight (g)	247.2	171.2	0.99	0.97	0.98	0.98	0.92	0.92*
Spleen								
Absolute (g)	0.6652	0.4658	0.79	0.85	0.73*	0.83	0.65*	0.68*
Relative (% to body weight ratio)	0.2665	0.2705	0.80*	0.89*	0.75*	0.85*	0.72*	0.75*
Thymus								
Absolute (g)	0.4605	0.4595	0.33*	0.29*	0.27*	0.25*	0.22*	0.20*
Relative (% to body weight ratio)	0.1862	0.2669	0.34*	0.30*	0.27*	0.25*	0.24*	0.21*

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Gross Pathology	–	–	–	–	–	–	–	–
Number Examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Histopathology								
Number Examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Marrow, femur, hypocellular								
Moderate	–	–	–	1	–	–	–	–
Marked	–	–	7	11	3	8	–	4
Severe	–	–	5	–	9	4	12	8
Marrow, sternum, hypocellular								
Marked	–	–	2	9	–	1	1	–
Severe	–	–	10	3	12	11	11	12
Stomach, glandular, apoptosis increased								
Minimal	–	–	12	12	9	11	6	8
Slight	–	–	–	–	1	–	6	4
Duodenum, apoptosis increased								
Minimal	–	–	12	7	12	11	–	1
Slight	–	–	–	–	–	1	3	11
Moderate	–	–	–	–	–	–	9	–
Duodenum, atrophy, villous								
Minimal	–	–	–	–	–	2	3	2
Slight	–	–	–	–	–	–	5	6
Moderate	–	–	–	–	–	–	2	1
Jejunum, apoptosis increased								
Minimal	–	–	8	6	10	8	–	1
Slight	–	–	–	–	–	–	12	11
Jejunum, atrophy, villous								
Minimal	–	–	–	–	–	–	3	6
Slight	–	–	–	–	–	–	4	4
Moderate	–	–	–	–	–	–	1	–
Ileum, apoptosis increased								
Minimal	–	–	5	8	10	10	1	1
Slight	–	–	–	–	1	1	9	10

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Moderate	–	–	–	–	–	–	1	–
Ileum, atrophy, villous								
Minimal	–	–	–	–	1	4	2	2
Slight	–	–	–	–	–	–	4	8
Moderate	–	–	–	–	–	–	3	2
Cecum, apoptosis increased								
Minimal	–	–	–	–	–	–	3	6
Slight	–	–	–	–	–	–	7	4
Colon, apoptosis increased								
Minimal	–	–	1	–	2	–	1	4
Slight	–	–	–	–	–	–	–	2
Rectum, apoptosis increased								
Minimal	–	–	6	5	10	6	10	8
Slight	–	–	–	–	–	–	–	3
Mandibular lymph node, depletion, germinal center								
Minimal	–	–	–	6	–	7	1	1
Slight	–	–	12	1	11	5	9	10
Mesenteric lymph node, depletion, germinal center								
Minimal	–	–	4	6	–	9	1	1
Slight	–	–	7	–	12	3	8	10
Spleen, depletion, lymphocytes								
Minimal	–	–	–	–	–	–	2	1
Slight	–	–	–	–	–	–	–	2
Thymus, depletion, lymphocytes								
Slight	–	–	–	2	–	–	–	–
Moderate	–	–	12	8	–	1	–	–
Marked	–	–	–	2	12	11	12	12
Ileum, depletion, GALT								
Minimal	–	–	2	1	2	2	–	–
Slight	–	–	–	–	–	–	2	1
Cecum, depletion, GALT								
Minimal	–	–	–	1	3	1	–	4

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Slight	–	–	–	–	–	–	1	2
Colon, depletion, GALT								
Minimal	–	–	–	2	–	–	–	2
Liver, necrosis								
Minimal	–	–	–	–	3	–	–	–
Moderate	–	–	–	–	–	–	–	1
Lung, hypertrophy, alveolar epithelium								
Minimal	–	–	–	–	–	–	–	2
Ovary, atresia, follicle								
Minimal	NA	–	NA	–	NA	3	NA	3
Slight	NA	–	NA	–	NA	4	NA	8
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	6	6	5	6	6	6	6	6
Body Weight (g)[e,f]								
Day 28	434	256	0.87	0.98	NA	NA	NA	NA
Food Consumption (g/animal/day)[e, f]								
Week 4	24.9	16.7	0.93	1.0	NA	NA	NA	NA
Clinical Observations								
Thin appearance	–	–	–	–	1	2	4	5
Hunched posture	–	–	–	–	3	2	2	–
Pale	–	–	–	–	0	1	–	–
Hypoactive	–	–	–	–	2	1	–	–
Red nasal discharge	–	–	–	–	3	4	2	1
Red discharge – eye(s)	–	–	–	–	3	2	–	–
Rough haircoat	–	–	–	–	4	3	5	3
Squinted eyes	–	–	–	–	3	–	–	–
Swollen cranial head or ventral neck area	–	–	–	–	4	1	–	–
Sensitive to touch	–	–	–	–	–	1	–	–
Liquid feces	–	–	–	–	–	–	4	3
Hematology/Coagulation								
Red blood cell count (10e6/µL)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	7.58	7.64	NA	NA	2.74 (2/2)	3.38 (2/2)	6.41 (4/6)	6.43 (4/4)
Recovery Day 7	7.33	7.14	4.34*	4.14*	3.79	3.89	NA	NA
Recovery Day 14	8.27	8.05	7.48*	6.73*	NA	NA	NA	NA

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Recovery Day 21	8.50	8.30	8.10	7.51*	NA	NA	NA	NA
Recovery Day 29	8.59	8.50	8.49	7.87*	NA	NA	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	15.1	15.1	NA	NA	5.6 (2/2)	6.3 (2/2)	13.1 (4/6)	12.4 (4/4)
Recovery Day 7	14.8	14.3	8.3*	7.8*	7.5	7.5	NA	NA
Recovery Day 14	16.3	15.9	14.9*	14.1*	NA	NA	NA	NA
Recovery Day 21	16.4	16.2	16.2	15.7	NA	NA	NA	NA
Hematocrit (%)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	46.5	44.7	NA	NA	16.2 (2/2)	17.9 (2/2)	38.3 (5/6)	33.6 (4/4)
Recovery Day 7	44.6	42.7	25.3*	23.9*	21.6	21.9	NA	NA
Recovery Day 14	48.3	46.4	48.3	43.2*	NA	NA	NA	NA
Recovery Day 21	48.6	46.7	49.4	45.7	NA	NA	NA	NA
Absolute reticulocyte count (10e3/µL)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	424.1	297.7	NA	NA	0.4 (2/2)	0.4 (2/2)	1.8 (6/6)	1.6 (4/4)
Recovery Day 7	556.9	511.0	193.3*	232.2*	6.3	39.6	NA	NA
Recovery Day 14	310.6	217.4	836.0*	506.8*	NA	NA	NA	NA
Recovery Day 21	277.2	205.9	347.7	326.0*	NA	NA	NA	NA
Mean corpuscular volume (fL)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	61.5	58.6	NA	NA	58.8 (2/2)	52.9 (2/2)	57.1 (6/6)	52.2 (4/4)
White blood cell count (10e3/µL)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	7.41	6.09	NA	NA	2.92 (2/2)	1.58 (2/2)	1.60 (6/6)	1.13 (4/4)
Recovery Day 7	11.44	10.42	13.09	12.64	8.33	9.80	NA	NA
Recovery Day 14	13.95	13.24	13.81	11.02	NA	NA	NA	NA
Recovery Day 21	11.07	8.87	9.77	7.66	NA	NA	NA	NA
Absolute neutrophil count (10e3/µL)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	1.30	0.81	NA	NA	0.11 (2/2)	0.07 (2/2)	0.05 (6/6)	0.03 (4/4)
Recovery Day 7	1.82	1.24	0.67*	0.83	0.95	0.57	NA	NA
Recovery Day 14	1.57	2.93	2.75	2.36	NA	NA	NA	NA
Recovery Day 21	1.30	1.07	1.48	0.97	NA	NA	NA	NA
Absolute lymphocyte count (10e3/µL)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	5.81	5.06	NA	NA	2.29 (2/2)	1.41 (2/2)	1.54 (6/6)	1.09 (4/4)
Recovery Day 7	9.21	8.79	11.47	10.89	5.67	7.50	NA	NA
Recovery Day 14	11.81	9.42	10.45	8.22	NA	NA	NA	NA

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Recovery Day 21	9.22	7.38	7.67	6.28	NA	NA	NA	NA
Absolute monocyte count (10e3/µL)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	0.17	0.10	NA	NA	0.01 (2/2)	0.0 (2/2)	0.0 (6/6)	0.0 (4/4)
Recovery Day 7	0.24	0.16	0.35	0.49*	0.17	0.15	NA	NA
Absolute eosinophil count (10e3/µL)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	0.05	0.06	NA	NA	0.0 (2/2)	0.01 (2/2)	0.0 (6/6)	0.0 (4/4)
Absolute basophil count (10e3/µL)								
Unscheduled – recovery Day 2, 3, and 6[g]	0.02	0.02	NA	NA	0.0 (2/2)	0.01 (2/2)	0.0 (6/6)	0.0 (4/4)
Large unstained cell count (10e3/µL)								
Unscheduled – recovery Day 2,3, and 6[g]	0.06	0.04	NA	NA	0.50 (2/2)	0.08 (2/2)	0.01 (6/6)	0.0 (4/4)
Recovery Day 7	0.08	0.09	0.76*	0.47*	1.49	1.53	NA	NA
Recovery Day 14	0.14	0.14	0.20	0.10	NA	NA	NA	NA
Recovery Day 21	0.09	0.09	0.15	0.07	NA	NA	NA	NA
Platelet (10e3/µL)								
Recovery Day 7	1254	1400	2287*	3103*	680	1641	NA	NA
Recovery Day 14	1239	1303	3334*	3070*	NA	NA	NA	NA
Recovery Day 21	1183	1234	800*	915*	NA	NA	NA	NA
Recovery Day 29	1058	1205	759*	757*	NA	NA	NA	NA
Organ Weights[e]								
Terminal body weight (g)	404.9	234.6	0.86*	0.98	NA	NA	NA	NA
Spleen								
Absolute (g)	0.7545	0.5711	1.29*	1.14	NA	NA	NA	NA
Thymus								
Absolute (g)	0.4780	0.3795	0.83	1.23	NA	NA	NA	NA
Mandibular salivary gland								
Absolute (g)	0.7315	0.4770	0.89	1.02	NA	NA	NA	NA
Gross Pathology – unscheduled animals								
Brain, discolored	–	–	–	–	1	–	–	–
Epididymis, discolored	–	NA	–	NA	3	NA	–	NA
Mandibular lymph node, large	–	–	1	–	–	1	–	–
Mandibular salivary gland, abnormal shape	–	–	–	–	5	3	–	–
Mandibular salivary gland, firm	–	–	–	–	5	1	–	–
Testis, mottled	–	NA	–	NA	2	NA	–	NA

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spleen, large	–	–	1	–	–	-	–	–
Histopathology								
Marrow, femur, hypocellular								
Severe	–	–	–	–	–	–	6	6
Marrow, femur, hyperplasia, myeloid								
Minimal	–	–	–	–	1	2	–	–
Slight	–	–	–	–	3	4	–	–
Moderate	–	–	1	–	–	–	–	–
Marrow, sternum, hypocellular								
Severe	–	–	–	–	–	–	6	6
Marrow, sternum, hyperplasia, myeloid								
Minimal	–	–	–	–	1	2	–	–
Slight	–	–	–	–	3	3	–	–
Moderate	–	–	1	–	–	–	–	–
Stomach (glandular), apoptosis increased								
Minimal	–	–	–	–	–	–	2	3
Duodenum, apoptosis increased								
Minimal	–	–	–	–	2	–	2	–
Slight	–	–	–	–	–	–	4	6
Duodenum, atrophy, villous								
Slight	–	–	–	–	–	–	3	–
Moderate	–	–	–	–	–	–	3	3
Marked	–	–	–	–	–	–	–	3
Jejunum, apoptosis increased								
Minimal	–	–	–	–	1	–	5	1
Slight	–	–	–	–	–	–	1	5
Jejunum, atrophy, villous								
Minimal	–	–	–	–	–	–	1	–
Slight	–	–	–	–	–	–	2	1
Moderate	–	–	–	–	–	–	2	3
Marked	–	–	–	–	–	–	–	2
Ileum, apoptosis increased								
Minimal	–	–	–	–	–	–	4	1

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Slight	–	–	–	–	–	–	1	4
Ileum, atrophy, villous								
Slight	–	–	–	–	–	–	4	1
Moderate	–	–	–	–	–	–	2	4
Marked	–	–	–	–	–	–	–	1
Cecum, apoptosis increased								
Minimal	–	–	–	–	–	–	3	–
Slight	–	–	–	–	–	–	3	5
Colon, apoptosis increased								
Minimal	–	–	–	–	–	–	1	3
Rectum, apoptosis increased								
Minimal	–	–	–	–	–	–	5	6
Mandibular lymph node, depletion, germinal center								
Minimal	–	–	–	–	–	2	–	–
Slight	–	–	–	–	1	1	5	5
Moderate	–	–	–	–	–	–	1	–
Mandibular lymph node, inflammation, granulomatous								
Slight	–	–	1	–	1	–	–	–
Mandibular lymph node, inflammation with intralesional bacteria								
Slight	–	–	–	–	–	1	–	–
Moderate	–	–	–	–	3	1	–	–
Marked	–	–	–	–	2	3	–	–
Mesenteric lymph node, depletion, germinal center								
Minimal	–	1	–	–	1	2	–	–
Slight	–	–	–	–	3	2	4	6
Moderate	–	–	–	–	–	–	2	–
Spleen, hematopoiesis, extramedullary increased								
Minimal	–	–	–	–	4	5	–	–
Slight	–	–	–	–	2	–	–	–
Moderate	–	–	1	–	–	–	–	–

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Spleen, depletion, lymphocytes								
Minimal	–	–	–	–	1	4	–	–
Slight	–	–	–	–	2	–	1	3
Moderate	–	–	–	–	–	–	2	–
Spleen, infiltration, histiocytes								
Slight	–	–	–	–	5	5	–	–
Moderate	–	–	–	–	1	–	–	–
Thymus, depletion, lymphocytes								
Minimal	–	–	–	–	1	1	–	–
Slight	–	–	–	–	1	1	–	–
Moderate	–	–	–	–	1	–	–	–
Marked	–	–	–	–	3	1	6	5
Ileum, Depletion, GALT								
Minimal	–	–	–	–	–	–	–	1
Slight	–	–	–	–	2	4	1	2
Cecum, depletion, GALT								
Slight	–	–	–	–	–	1	3	3
Adrenal glands, cortex, extramedullary hematopoiesis								
Minimal	–	–	1	–	1	1	–	–
Brain, hemorrhage with intralesional bacteria								
Moderate	–	–	–	–	2	–	–	–
Heart, inflammation with intralesional bacteria								
Slight	–	–	–	–	1	–	–	–
Kidney, inflammation with intralesional bacteria								
Slight	–	–	–	–	1	–	–	–
Moderate	–	–	–	–	1	–	–	–
Liver, necrosis								
Minimal	–	–	–	–	1	–	–	–
Liver, necrosis, individual hepatocyte with inflammation								
Minimal	–	–	–	–	–	–	–	1
Liver, hematopoiesis, extramedullary								
Minimal	1	1	3	3	3	–	–	–

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Slight	–	–	3	2	2	3	–	–
Mandibular salivary gland, inflammation with intralesional bacteria								
Slight	–	–	–	–	–	1	–	–
Moderate	–	–	–	–	3	–	–	–
Marked	–	–	–	–	–	2	–	–
Mandibular salivary gland, inflammation, acute								
Slight	–	–	–	–	1	–	–	–
Epididymis, hemorrhage								
Slight	–	NA	–	NA	1	NA	–	NA
Moderate	–	NA	–	NA	2	NA	–	NA
Testis, atrophy/degeneration								
Minimal	–	NA	5	NA	–	NA	–	NA
Testis, hemorrhage								
Slight	–	NA	–	NA	2	NA	–	NA
Lung, hypertrophy, alveolar epithelium								
Minimal	–	–	–	–	–	2	–	–
Slight	–	–	–	–	–	2	–	–
Pancreas, inflammation, chronic, peri-islet								
Minimal	–	–	–	–	–	4	–	–
Ovary, atresia, follicle								
Minimal	NA	–	NA	–	NA	–	NA	3

2.6.7.7A. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227540 (continued)

∗ p≤0.05, (Dunnett's test) significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
– = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; cps = Centipoise; E = Exponent; F = Female; GALT = Gut associated lymphoid tissue; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; QD = Once daily.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. Half-life was not determined for Day 1 because the 24 hour collection interval for that day could not support the calculation of the long half-life.
c. Half-life not determined due to early termination.
d. Test article-related death and moribundity resulted in early euthanasia during the recovery phase of Groups 3 (1 mg/kg/day) and 4 (3 mg/kg/day). Animals given 3 mg/kg/day were found dead on Day 1 (1/12 animals or euthanized or found dead on Day 2 (1/12 animals or Day 3 (10/12 animals) of the recovery phase. Animals given 1 mg/kg/day were euthanized on Day 6 (4/12) or euthanized or found dead on Day 7 (8/12 animals) of the recovery phase.
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. End of recovery phase or respective group euthanasia (ie, Day 28, Day 7, and Day 3 of the recovery phase was used for calculation for Groups 2, 3, and 4, respectively.
g. Data value for Groups 3 and 4 represents the average of the animals affected. For comparison purposes the control values from Dosing Day 6 are presented.

2.6.7.7B. REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study Using Daily Administrations of BMN 673ts in Sprague-Dawley Rats With a 28-Day Recovery Phase

Test Article: PF-06944076 (Tosylate Salt)

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley
Initial Age: 9 Weeks

Duration of Dosing: 28 Days
Duration of Postdose: 28 Days

Study Number: 8227533
Sponsor Reference Number: BMN673-[redacted]-048

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage, QD, 5 mL/kg

Lot Number: [redacted]

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Carboxymethylcellulose (400 to 800 cps) in reverse osmosis water/Solution

GLP Compliance: Yes

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level: Not reported.

Highest Nonseverely Toxic Dose : 0.05 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.005**		**0.015**		**0.05**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	18	18	18	18	18	18	18	18
Toxicokinetics	12	12	12	12	12	12	12	12
Toxicokinetics:								
C_{max} (pg/mL)								
Day 1	NA	NA	308	369	1066	1098	8910	7167
Day 15	NA	NA	885	994	3453	3177	13467	18167
Day 28	NA	NA	950	1142	5693	5137	19967	23400
AUC_{24} (pg•h/mL)								
Day 1	NA	NA	5087	5582	17776	17511	85138	91890
Day 15	NA	NA	13783	16567	40470	42095	108849	147162
Day 28	NA	NA	13525	17000	45076	54583	123745	172233
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g)[b]								
Day 28	420	252	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7B. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227533 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.005		0.015		0.05	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Food Consumption (g/animal/day)[b]								
Week 4	25.0	17.1	1.02	0.99	1.00	0.99	0.93	0.91
Clinical Observations								
Red Haircoat, Dorsal Neck	1	0	0	0	0	1	2	3
Red Haircoat, Nose	0	0	0	0	0	0	1	0
Hematology/Coagulation								
Red Blood Cell Count (10e6/µL)								
Day 8	8.20	8.15	8.18	8.24	8.14	8.05	7.24*	7.21*
Day 15	8.39	8.23	8.34	8.26	8.25	8.09	6.26*	6.09*
Day 22	8.60	8.43	8.74	8.44	8.72	8.29	5.65*	5.31*
Day 29	8.43	8.18	8.63	8.39	8.54	8.19	5.25*	4.47*
Hemoglobin (g/dL)								
Day 8	16.1	15.4	15.7	15.5	15.7	15.1	14.1*	13.6*
Day 15	16.2	15.5	15.8	15.5	15.6	15.2	11.9*	11.2*
Day 22	16.2	15.7	16.1	15.8	16.2	15.4	10.8*	9.8*
Day 29	15.5	15.3	15.8	15.6	15.7	15.2	10.9*	8.8*
Hematocrit (%)								
Day 8	48.4	45.4	47.9	45.9	47.6	44.7	42.1*	39.6*
Day 15	50.4	47.6	49.5	47.7	49.1	46.7	37.2*	34.3*
Day 22	49.3	47.2	49.5	47.2	49.7	46.3	33.8*	29.7*
Day 29	48.2	46.4	48.8	47.3	48.5	46.0	34.3*	27.1*
Absolute Reticulocyte Count (10e3/µL)								
Day 8	297.4	227.4	280.9	219.1	293.0	205.8	31.8*	8.8*
Day 29	279.4	-	279.7	-	285.7	-	396.7*	-
Mean Corpuscular Volume (fL)								
Day 29	57.2	-	56.6	-	56.8	-	65.1*	-
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)								
Day 29	18.4	-	18.4	-	18.3	-	20.7*	-
Platelet Count (10e3/µL)								
Day 15	1146	1105	1154	1122	1152	1159	2044*	2282*
Day 22	1158	1179	1074	1137	1147	1191	2550[c]	3094*
Day 29	1265	1223	1220	1179	1293	1195	2686*	2753*

2.6.7.7B. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227533 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.005		0.015		0.05	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
White Blood Cell Count (10e3/µL)								
Day 8	12.15	7.29	10.87	7.35	11.77	6.70	7.08*	4.68*
Day 15	11.48	6.48	10.31	6.80	11.21	6.35	6.95*	4.76*
Day 22	11.28	7.17	9.73	7.00	10.72	6.71	7.05*	5.19*
Day 29	8.05	4.91	8.44	4.91	8.73	4.70	5.45*	3.88
Absolute Neutrophil Count (10e3/µL)								
Day 8	1.55	1.14	1.60	1.00	1.55	0.78*	0.93*	0.54*
Day 15	1.39	0.99	1.59	0.99	1.59	0.88	0.54*	0.31*
Day 22	1.51	1.19	1.61	1.05	1.55	1.00	1.17	0.50*
Day 29	1.43	0.86	1.77	0.87	1.38	0.75	1.01	0.48*
Absolute Lymphocyte Count (10e3/µL)								
Day 8	10.15	5.83	8.33	6.02	9.78	5.67	5.93*	4.01*
Day 15	9.62	5.20	8.26	5.52	9.17	5.18	6.23*	4.36
Day 22	9.24	5.63	7.65	5.63	8.72	5.40	5.57*	4.55
Day 29	6.28	3.84	6.29	3.83	7.00	3.75	4.17*	3.25
Absolute Monocyte Count (10e3/µL)								
Day 8	0.21	0.14	0.23	0.12	0.21	0.10	0.07*	0.03*
Day 15	0.23	0.14	0.24	0.12	0.24	0.15	0.06*	0.03*
Day 22	0.29	0.17	0.24	0.14	0.23	0.16	0.12*	0.05*
Day 29	0.16	0.10	0.18	0.09	0.16	0.09	0.08*	0.03*
Absolute Eosinophil Count (10e3/µL)								
Day 15	0.11	0.08	0.11	0.09	0.10	0.07	0.07*	0.04*
Absolute Basophil Count (10e3/µL)								
Day 8	0.04	0.02	0.03*	0.02	0.03	0.02	0.02*	0.01*
Day 15	0.08	0.03	0.06	0.04	0.07	0.03	0.03*	0.01*
Day 22	0.07	0.04	0.06	0.04	0.07	0.04	0.03*	0.02*
Day 29	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01*	0.01
Absolute Large Unstained Cell Count (10e3/µL)								
Day 8	0.10	0.06	0.07	0.06	0.08	0.05	0.03*	0.02*
Day 15	0.06	0.04	0.05	0.04	0.05	0.03	0.03*	0.02*
Day 22	0.06	0.04	0.05	0.04	0.05	0.03	0.04	0.02*
Day 29	0.07	0.04	0.06	0.04	0.06	0.04	0.03*	0.02*

2.6.7.7B. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227533 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.005		0.015		0.05	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Fibrinogen (mg/dL)								
Day 29	281	-	293	-	279	-	261*	-
Clinical Chemistry – Day 29								
Glucose (mg/dL)	90	88	96	94	93	98	103*	113*
Urea Nitrogen (mg/dL)	-	14	-	16*	-	16*	-	18*
Globulin (g/dL)	2.4	2.3	2.5	2.4	2.4	2.5*	2.2*	2.1*
Albumin/Globulin Ratio	1.9	2.3	1.8	2.3	1.9	2.1*	2.1*	2.6*
Alkaline Phosphatase (U/L)	152	-	147	-	142	-	122*	-
Gamma Glutamyltransferase (U/L)	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	BDL	6[c]	10[c]
Inorganic Phosphorus (mg/dL)	9.2	-	9.1	-	9.2	-	9.9*	-
Potassium (mmol/L)	5.8	5.3	5.9	5.3	5.9	5.2	6.3*	6.2*
Chloride (mmol/L)	103	103	103	103	104	104*	105*	105*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[b]								
Testes								
Absolute (g)	3.3114	NA	0.95	NA	1.01	NA	0.88*	NA
Thymus								
Absolute (g)	0.4423	0.3728	0.99	0.87	0.98	0.98	0.64*	0.83
Heart								
Absolute (g)	1.4381	0.9888	0.97	0.96	1.02	0.93	1.05	1.10
Gross Pathology								
Number Examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Focal, Tan Discoloration of the Epididymis	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Histopathology								
Number Examined	12	12	12	12	12	12	12	12
Marrow, Femur: Hypocellular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	12	9
Marrow, Sternum: Hypocellular								
Minimal	0	0	0	0	0	1	12	7
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2
Stomach, Glandular: Apoptosis, increased								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	3
Duodenum: Apoptosis, increased								

2.6.7.7B. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227533 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.005		0.015		0.05	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	1
Liver: Necrosis, individual hepatocyte								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2
Testis: Atrophy/Degeneration								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	8	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Epididymis: Sperm Granuloma								
Slight	0	NA	0	NA	1	NA	3	NA
Moderate	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Lymph Node, Mandibular: Depletion, Germinal Center								
Minimal	0	0	1	0	0	0	9	1
Lymph Node, Mesenteric: Depletion, Germinal Center								
Minimal	1	0	0	0	0	0	9	5
Spleen: Depletion, Lymphocytes, Marginal Zone								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Thymus: Depletion, Lymphocytes								
Minimal	0	0	0	0	0	0	4	1
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7B. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227533 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.005		0.015		0.05	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Postdose Evaluation Number Evaluated	6	6	6	6	6	6	6	6
Hematology/Coagulation								
Red Blood Cell Count (10e6/µL)								
Day 7	8.20	7.35	8.35	7.66	8.31	7.44	6.07*	5.06*
Day 14	8.87	8.02	9.06	8.26	8.95	8.09	7.81*	7.16*
Day 21	8.85	8.19	8.99	8.25	8.99	8.31	8.14	7.55
Day 29	8.85	8.32	8.89	8.37	8.80	8.35	8.16*	7.90
Hemoglobin (g/dL)								
Day 7	15.2	14.1	15.3	14.5	15.2	14.1	13.2*	10.9
Hematocrit (%)								
Day 7	46.7	42.9	47.6	44.4	47.5	43.4	44.2	36.6
Absolute Reticulocyte Count (10e3/µL)								
Day 7	441.5	547.3	454.5	463.6	480.6	477.3	1207.1	1227.3*
Mean Corpuscular Volume (fL)								
Day 7	56.9	58.5	57.0	58.1	57.2	58.4	73.6*	74.2*
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)								
Day 7	18.5	19.2	18.3	18.9	18.3	19.0	21.8*	21.7*
Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (g/dL)								
Day 7	32.6	32.7	32.1	32.5	32.1*	32.5	29.7*	29.4*
Day 14	33.5	34.3	33.4	33.9	32.8*	34.0	32.7*	33.2*
Platelet Count (10e3/µL)								
Day 7	1200	1336	1318	1198	1269	1295	1887*	1864*
Day 14	1136	1097	1202	1039	1148	1139	759*	917
Histopathology								
Testes: Atrophy/Degeneration								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA

2.6.7.7B. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227533 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.005		0.015		0.05	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Epididymis: Sperm Granuloma								
Minimal	0	NA	1	NA	1	NA	0	NA
Slight	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Epididymis: Debris, Cellular, Lumen								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	6	NA
Organ Weights[b]								
Testes								
Absolute (g)	3.5936	NA	0.90	NA	0.92	NA	0.59∗	NA
Epididymis								
Absolute (g)	1.4153	NA	0.97	NA	0.98	NA	0.80∗	NA
Seminal Vesicle								
Absolute (g)	1.5878	NA	1.05	NA	1.09	NA	1.18	NA
Heart								
Absolute (g)	-	0.9524	-	1.04	-	1.00	-	1.12

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

- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours (1 day); BDL = Below Detectable Limit; cps = Centipoise; C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; QD = Once daily.

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

b. 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.

c. Group excluded from analysis.

2.6.7.7C. REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study Using Once-Daily Administrations of BMN 673ts in Rats With a 4-Week Recovery Phase

Test Article: PF-06944076 (Tosylate Salt)

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Age at First Dose: 9 to 10 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 13 Weeks[a]
Duration of Postdose: 4 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 5 mL/kg

Study Number: 8279299
Sponsor Reference Number: BMN673-[redacted]-002
Lot Number: [redacted]
Batch [redacted]
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Carboxymethylcellulose in reverse osmosis water / Control article: 1.031 mg/mL SMCC prepared in vehicle / Excipient: Prosolv® SMCC HD90 (Silicified Microcrystalline Cellulose, NF)
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 15 µg/kg/day
Highest Non-Severely Toxic Dose: 15 µg/kg/day

Dose[b] (µg/kg/day)	**0 (Control)**		**5**		**15**		**50/40[a]**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	18	18	18	18	18	18	18	18
Toxicokinetics	4	4	12	12	12	12	12	12
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (pg/mL)								
Day 1	NA[c]		475		1790		15783	
Day 29	NA[c]		1006		5432		31133	
Day 91	NA[c]		2095		8088		29227	
AUC_{last} (pg•h/mL)								
Day 1	NA[c]		6978		23839		141332	
Day 29	NA[c]		15926		59362		194164	
Day 91	NA[c]		51416		121997		258664	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	1[d]	0	0	4[e]	2[d,e]
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	1[e]	0
Body Weight (g)[f]								
Day 91	649	354	1.04	1.04	0.92*	1.01	0.91*	0.97

2.6.7.7C. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279299 (continued)

Dose[b] (µg/kg/day)	0 (Control)		5		15		50/40[a]	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Food Consumption (g/animal/day)[f]								
Days 84-91	29	19	1.07	1.00	0.90*	1.00	0.93	0.95
Clinical Observations								
Pale eyes	0	0	0	0	0	0	2	2
Pale ears	0	0	0	0	0	0	1	0
Pale feet[g]	0	0	0	0	0	0	9	8
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Red Blood Cell Count (10e6/µL)								
Day 8	7.80	7.48	7.71	7.62	7.88	7.68	6.90*	6.92*
Day 92	9.30	8.25	8.90	8.26	8.73*	7.84*	5.68*	5.06*
Hemoglobin (g/dL)								
Day 8	16.0	15.1	15.7	15.4	16.2	15.6	14.3*	14.1*
Day 92	16.5	15.4	16.0	15.5	15.9	15.1	12.2*	10.7*
Hematocrit (%)								
Day 8	51.3	47.4	50.6	47.8	52.0	48.5	45.3*	42.9*
Day 92	52.1	47.0	50.0	47.6	50.4	46.9	37.8*	32.6*
Mean Corpuscular Volume (fL)								
Day 8	65.7	63.4	65.7	62.7	66.1	63.2	65.6	62.1
Day 85	55.6	57.4	56.2	57.0	57.6*	58.3	65.7*	64.3*
Day 92	56.0	57.0	56.3	57.6	57.8	59.8*	66.5*	64.3*
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)								
Day 8	20.5	20.2	20.4	20.2	20.6	20.3	20.8	20.4
Day 85	17.8	18.9	18.2	18.8	18.5*	19.1	21.0*	20.9*
Day 92	17.7	18.7	18.0	18.7	18.2	19.3*	21.5*	21.1*
Absolute Reticulocyte Count (10e3/µL)								
Day 8	276.9	204.8	295.7	203.8	258.0	166.6*	11.7*	4.9*
Day 92	175.7	162.5	224.1	161.2	187.5	161.2	153.7	99.8*
White Blood Cell Count (10e3/µL)								
Day 8	9.95	7.05	9.62	7.40	9.93	6.98	5.35*	4.84*
Day 92	7.99	4.40	7.57	4.68	7.01	4.00	4.04*	2.85*

2.6.7.7C. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279299 (continued)

Dose[b] (µg/kg/day)	0 (Control)		5		15		50/40[a]	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Absolute Neutrophils (10e3/µL)								
Day 8	2.08	1.16	1.80	1.29	1.50*	0.87*	0.52*	0.50*
Day 92	1.72	0.82	1.60	0.91	1.36	0.63	0.79*	0.53
Absolute Lymphocytes (10e3/µL)								
Day 8	7.40	5.52	7.35	5.76	7.96	5.74	4.71*	4.19*
Day 92	5.74	3.30	5.51	3.44	5.16	3.09	2.94*	2.20*
Absolute Monocytes (10e3/µL)								
Day 8	0.26	0.19	0.26	0.19	0.24	0.18	0.03*	0.03*
Day 92	0.31	0.14	0.25	0.16	0.27	0.15	0.13	0.03*
Absolute Basophils (10e3/µL)								
Day 8	0.05	0.03	0.05	0.03	0.05	0.03	0.01*	0.01*
Day 92	0.04	0.02	0.04	0.02	0.03	0.02	0.01*	0.00
Absolute Large Unstained Cells (10e3/µL)								
Day 8	0.07	0.05	0.07	0.04	0.07	0.05	0.02*	0.02*
Day 92	0.05	0.03	0.06	0.04	0.06	0.04	0.02*	0.01
Platelet count (10e3/µL)								
Day 92	1177	1087	1191	1098	1234	1158	1628*	1573*
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis Day 92								
Urine volume	14.8	4.1	13.9	6.1	10.8	10.5*	14.1	13.3*
Specific gravity	1.024	1.041	1.026	1.032	1.025	1.025*	1.033	1.027*
Organ Weights[f]								
Spleen								
Absolute (g)	1.0138	-	1.14	-	0.91	-	1.25*	-
Relative (g/100 g body weight)	0.1663	-	1.08	-	0.97	-	1.37*	-
Relative (g/g brain weight)	44.2375	-	1.12	-	0.92	-	1.21*	-
Thymus								
Absolute (g)	-	0.2532	-	0.95	-	1	-	0.65*
Relative (g/100 g body weight)	-	0.0723	-	0.94	-	1	-	0.71*
Relative (g/g brain weight)	-	12.2079	-	0.97	-	1	-	0.67*
Testis								
Absolute (g)	3.9583	NA	1.04	NA	0.95	NA	0.69*	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.6495	NA	0.99	NA	1.02	NA	0.75*	NA

2.6.7.7C. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279299 (continued)

Dose[b] (µg/kg/day)	0 (Control)		5		15		50/40[a]	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Relative (g/g brain weight)	172.8723	NA	1.03	NA	0.96	NA	0.67*	NA
Epididymis								
Absolute (g)	1.5899	NA	1.03	NA	0.96	NA	0.71*	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.2619	NA	0.97	NA	1.03	NA	0.77*	NA
Relative (g/g brain weight)	69.3639	NA	1.01	NA	0.98	NA	0.69*	NA
Gross Pathology[h]								
Number Examined	12	12	12	13	12	12	13	13
Lung, discolored	0	0	0	0	0	0	2	1
Pancreas, discolored	0	0	0	0	1	0	5	2
Pituitary gland, discolored	0	0	0	0	0	0	4	0
Histopathology[h]								
Number Examined	12	12	12	13	12	12	13	13
Epididymis								
Cell debris, luminal								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	5	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	6	NA
Reduced sperm, luminal								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	5	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA
Vacuolation, ductal epithelium								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Bone marrow, femur								
Hypocellular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	8
Slight	0	0	0	0	0	0	6	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Increased Myeloid/Erythroid Ratio								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Slight	0	0	0	0	0	0	3	5
Infiltrate, Mast Cell								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	2
Slight	0	0	0	0	0	0	1	1

2.6.7.7C. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279299 (continued)

Dose[b] (µg/kg/day)	0 (Control)		5		15		50/40[a]	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Bone marrow, sternum								
Hypocellular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	5
Slight	0	0	0	0	0	0	3	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1
Increased Myeloid/Erythroid Ratio								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Slight	0	0	0	0	0	0	5	4
Infiltrate, Mast Cell								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen, hematopoiesis, extramedullary, increased								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	1
Slight	0	0	0	0	0	0	4	0
Testis, degeneration/atrophy, seminiferous epithelium								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA
Thymus, lymphocytes, decreased								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	2
Slight	0	0	0	0	0	0	2	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Mesenteric lymph node, lymphocytes, decreased								
Minimal	0	1	0	0	2	4	12	7

2.6.7.7C. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279299 (continued)

Dose[b] (mg/kg/day)	0 (Control)		5		15		50/40[a]	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Postdose Evaluation (Recovery Phase)								
Number Evaluated	6	6	6	5	6	6	5	5
Hematology – Recovery Day 29								
Red Blood Cell Count (10e6/µL)	9.46	8.35	8.94	8.17	8.94	8.40	8.41*	7.36*
Lymphocytes (10e6/µL)	5.46	-	4.58	-	4.67	-	3.67*	-
Monocytes (10e3/µL)	0.48	-	0.34	-	0.27*	-	0.21*	-
Organ Weights								
Testis								
Absolute (g)	4.1447	NA	0.94	NA	0.94	NA	0.61*	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.6089	NA	0.92	NA	1.04	NA	0.67*	NA
Relative (g/g brain weight)	180.3955	NA	0.91	NA	0.93	NA	0.58*	NA
Epididymis								
Absolute (g)	1.6156	NA	0.89	NA	0.94	NA	0.65*	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.2385	NA	0.88	NA	1.03	NA	0.70*	NA
Relative (g/g brain weight)	70.2090	NA	0.87	NA	0.93	NA	0.62*	NA
Histopathology								
Epididymis								
Cell debris, luminal								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA
Reduced sperm, luminal								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Testis, degeneration/atrophy, seminiferous epithelium								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA

2.6.7.7C. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279299 (continued)

* p ≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{last} = Area under concentration-time curve from 0 to time t when t can have a numerical value; C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; NF = National Formulary; QD = Once daily; SMCC = Silicified microcrystalline cellulose.
a. Animals in Group 4 were not dosed from Day 50 through Day 63 of the dosing phase based on reductions in red blood cell mass noted on Day 43 of the dosing phase. Animals were dosed at 50 µg/kg/day on Days 1 through 49 and at 40 µg/kg/day starting on Day 64 through Day 91.
b. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day. The ratio of weighed BMN 673ts to SMCC in each formulation for Groups 2 through 4 was 1:71 (w/w). The concentration of SMCC in the control article formulation was equivalent to the concentration in the 50/40 µg/kg/day formulation.
c. All samples below assay limit of quantitation (10.0 pg/mL).
d. Two toxicity females, one given 5 µg/kg/day and one given 50 µg/kg/day, died of accidental causes related to blood sampling on Day 43 of the dosing phase.
e. Five males (4 toxicity animals and 1 toxicokinetic animal) and 1 toxicity female administered 50 µg/kg/day, were euthanized in moribund condition on Day 49 of the dosing phase. One or more of the moribund animals had findings of lower body weight between Day 42 and Day 49 of the dosing phase; pale ears, eyes, or feet; and hypoactivity on Day 49 of the dosing phase. These animals had marked to severe decreases in red cell mass (ie, red blood cell count, hemoglobin, and hematocrit) and absolute reticulocyte count, and mild to moderate decreases in white blood cell counts with a generalized decrease in all leukocytes, except eosinophils. Microscopic changes in the toxicity animals were similar to those observed at the terminal euthanasia; therefore, these changes are included with the dosing phase euthanasia.
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. The finding of pale feet included observations for all feet, front feet, and/or hind feet.
h. Includes unscheduled deaths.

2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 5-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study Using Daily Administrations of BMN 673ts in Dogs With a 28-Day Recovery Phase

Test Article: PF-06944076 (Tosylate salt)

Species/Strain: Dog/ Beagle
Age at First Dose: 10.7 to 12.6 Months

Duration of Dosing: 5 Days
Duration of Postdose: 28 Days

Study Number: 8227539
Sponsor Reference Number: BMN673-[redacted]-051

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage, QD, 0.5 mL/kg

Lot Number: [redacted]

Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose (400 to 800 cps) in reverse osmosis water/solution

GLP Compliance: Yes

Special Features: None

Highest Nonseverely Toxic Dose (HNSTD): 0.03 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.003**		**0.01**		**0.03**		**0.1**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Toxicokinetics:										
AUC_{24} (pg•h/mL)										
Day 1	NA[b]	NA[b]	3537	2999	15282	12432	78352	59464	413603	272474
Day 5	NA[b]	NA[b]	10287	10536	46124	41075	168806	153119	832000	582984
C_{max} (pg/mL)										
Day 1	NA[b]	NA[b]	283	195	1195	846	8419	4697	48271	25743
Day 5	NA[b]	NA[b]	588	526	3327	2571	11584	12350	54643	49971
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	3[c]	3[c]
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Temperature	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiogram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation										

2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227539 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.003		0.01		0.03		0.1	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Reticulocytes (10e3/µL)										
Day 6	48.9	40.6	48.4	57.6	29.4	28.0	9.7*	6.3*	6.8*	6.9*
White Blood Cells (10e3/µL)										
Day 6	10.66	8.57	9.21	8.08	6.81*	6.12	7.30*	6.45	5.07*	5.51
Absolute Neutrophils (10e3/µL)										
Day 6	7.42	5.58	5.96	5.48	4.30	3.80	5.56	4.97	3.82*	4.30
Red Blood Cell Count (10e6/µL)										
Day 6	6.21	6.15	5.97	6.14	6.11	5.85	5.73	5.40*	5.65*	5.40*
Platelets (10e3/µL)										
Day 6	291	280	294	332	311	304	264	293	274	224
Absolute Lymphocytes (10e3/µL)										
Day 6	2.30	2.23	2.38	2.07	1.88	1.75	1.46*	1.25*	1.08*	1.03*
Absolute Eosinophils (10e3/µL)										
Day 6	0.22	0.18	0.27	0.14	0.16	0.16	0.16	0.15	0.13	0.14
Hemoglobin (g/dL)										
Day 6	13.6	13.9	13.4	13.8	13.9	13.3	13.0	12.1*	12.6	12.4*
Hematocrit (%)										
Day 6	42.1	42.5	41.6	42.6	42.8	40.5	39.8	36.9*	38.8*	37.5*
Absolute Monocytes (10e3/µL)										
Day 6	0.63	0.49	0.53	0.34	0.44*	0.36	0.10*	0.08*	0.02*	0.04*
Absolute Basophils (10e3/µL)										
Day 6	0.07	0.07	0.05	0.04	0.02*	0.02*	0.01*	0.01*	0.00*	0.01*
Absolute Large Unstained Cells (10e3/µL)										
Day 6	0.03	0.03	0.03	0.01	0.01*	0.01	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*
Clinical Chemistry Day 6										
Albumin (g/dL)	3.5	3.5	3.5	3.4	3.5	3.6	3.5	3.4	3.5	3.4
Calcium (mg/dL)	10.5	10.4	10.6	10.4	10.5	10.4	10.3	10.2	10.3	10.3
Phosphorus (mg/dL)	5.0	4.9	5.3	4.9	5.3	4.5	5.3	4.6	5.0	4.5
Cholesterol (mg/dL)	170	153	149	149	162	163	150	172	135	148
Alkaline phosphatase (µL)	38	28	30	34	38	34	32	31	35	31
Sodium (mmol/L)	146	146	146	146	146	146	147	146	147	146
Potassium (mmol/L)	4.4	4.4	4.4	4.6	4.7	4.5	4.4	4.4	4.4	4.2

2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227539 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.003		0.01		0.03		0.1	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Triglycerides (mg/dL)	27	31	29	26	25	27	22	25	18*	22*
Bilirubin (mg/dL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2*	0.2	0.2	0.2*	0.2*
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Histopathology										
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Cecum										
Increased Apoptosis										
Minimal	0	0	0	0	1	1	1	2	4	4
Depletion of GALT										
Minimal	0	0	0	0	3	4	4	4	4	3
Colon										
Increased Apoptosis										
Minimal	0	0	0	0	1	1	3	4	3	4
Depletion of GALT										
Minimal	0	0	0	0	1	2	2	4	2	1
Duodenum										
Increased Apoptosis										
Minimal	0	0	0	0	2	4	3	4	4	4
Ileum										
Depletion of GALT										
Minimal	0	0	0	0	3	4	4	4	3	4
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Increased Apoptosis										
Minimal	0	0	0	0	1	3	2	4	4	4
Jejunum:										
Increased Apoptosis										
Minimal	0	0	0	0	3	1	2	4	4	4
Mesenteric Lymph node										
Germinal Center Depletion										
Minimal	0	0	0	0	4	3	3	4	1	4

2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227539 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.003		0.01		0.03		0.1	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Mandibular Lymph node Germinal Center Depletion										
Minimal	0	0	0	0	2	3	4	4	1	4
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Femur Marrow Hypocellular										
Minimal	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	4	4	4
Sternum Marrow Hypocellular										
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0
Slight	0	0	0	0	0	0	4	3	0	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3
Rectum Increased Apoptosis										
Minimal	0	0	0	0	1	1	1	1	4	4
Spleen Germinal Center Depletion										
Minimal	0	0	0	0	1	1	2	2	4	2
Thymus Depletion of Lymphocytes										
Minimal	0	0	2	1	2	0	3	2	1	3
Slight	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0
Moderate	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0
Marked	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Postdose Evaluation Number Evaluated	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Clinical Observations										
Hypoactive	0	0	0	0	0	0	0	1	3	3
Excessive Salivation	0	0	0	0	0	1	0	0	3	1
Liquid Feces	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0
Mucoid Feces	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2
Discolored Mucoid Feces (Orange)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Discolored Mucoid Feces (Red)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Nonformed Feces	0	0	1	1	3	1	2	0	1	0

2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227539 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.003		0.01		0.03		0.1	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Body Weight Change (kg)[d]										
Days 1-29	0.2	0.4	0.2	0.3	0.5	0.0	0.6	0.0	NA[c]	NA[c]
Food Consumption (g/animal/period)[d]										
Days 1-7	1790	1762	0.94	0.89	1.03	0.92	0.90	0.65	0.62*	0.67
Days 8-14	2041	1824	0.91	0.93*	0.92	0.93*	0.68*	0.53*	NA[c]	NA[c]
Body Temperature (°C)										
Day 8	38.3	38.4	38.4	38.3	38.5	38.6	39.3	39.1	40.1	40.4
Hematology/Coagulation										
Reticulocytes (10e3/µL)										
Day 2	62.2	76.4	60.6	64.4	13.5*	13.7*	5.3*	2.5*	2.9*	3.0*
Day 3	67.7	49.8	68.0	67.9	11.4	16.7	5.3*	5.1*	4.2*	4.4*
Day 4	84.2	54.8	85.5	66.1	15.3	15.3	3.7*	2.2*	3.7*	2.5*
Day 7	73.1	67.2	99.1	84.0	69.2	45.4	5.9	4.9*	4.8	3.6*
White Blood Cells (10e3/µL)										
Day 7	10.75	10.20	11.23	9.98	11.88	9.98	4.07*	3.41*	0.45*	0.29*
Absolute Neutrophils (10e3/µL)										
Day 2	6.67	6.59	6.09	6.72	4.36	3.98	5.56	7.34	4.80	4.71
Day 3	6.11	6.63	6.27	6.21	5.32	4.70	7.57	5.92	4.87	4.23
Day 4	5.44	5.94	6.67	6.46	6.49	4.82	7.64	5.21	3.59	3.59
Day 7	7.23	6.86	7.64	6.87	8.32	6.37	1.73*	1.46*	0.02*	0.02*
Red Blood Cell Count (10e6/µL)										
Day 7	6.62	6.33	6.35	6.41	6.17	6.17	5.47*	4.87*	4.78*	4.84*
Day 14	6.89	6.83	6.49	6.46	6.47	6.41	5.21*	4.53*	NA[c]	NA[c]
Day 29	7.11	6.71	6.58	6.82	6.74	6.52	6.34	5.72*	NA[c]	NA[c]
Platelets (10e3/µL)										
Day 3	269	217	350	339	258	291	177	162	162	167
Day 4	291	316	352	380	239	304	133*	105*	127*	113*
Day 7	317	310	338	364	189*	223	40*	25*	10*	9*
Day 21	327	332	355	388	387	366	635*	557*	NA[c]	NA[c]
Absolute Lymphocytes (10e3/µL)										
Day 2	2.78	2.56	2.77	2.57	2.08	2.23	1.51*	1.35	1.21*	1.06*
Day 3	2.55	2.41	2.49	2.19	1.78	2.34	1.44	1.24*	1.49	1.10*
Day 4	2.88	2.88	2.56	2.39	2.34	2.71	1.58	1.50	1.28*	1.22*

2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227539 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.003		0.01		0.03		0.1	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day 7	2.41	2.44	2.72	2.34	2.63	2.77	1.96	1.50	0.40*	0.24*
Absolute Eosinophils (10e3/µL)										
Day 7	0.36	0.22	0.26	0.21	0.28	0.27	0.27	0.30	0.00*	0.00
Hemoglobin (g/dL)										
Day 7	14.3	14.0	14.4	14.6	14.3	14.1	12.4	11.1*	10.7*	10.8*
Day 14	14.9	15.0	14.7	14.5	15.0	14.5	11.8*	10.3	NA[c]	NA[c]
Day 29	15.4	14.8	15.0	15.7	15.8	15.1	14.4	12.9	NA[c]	NA[c]
Hematocrit (%)										
Day 7	44.1	42.7	44.5	44.7	43.7	42.9	37.6	33.5*	32.1*	32.8*
Day 14	45.6	45.9	45.3	45.2	45.6	44.5	35.4*	31.0*	NA[c]	NA[c]
Day 29	45.9	43.2	44.4	46.3	46.2	44.1	43.0	38.5	NA[c]	NA[c]
Absolute Monocytes (10e3/µL)										
Day 2	0.55	0.47	0.44	0.43	0.38*	0.36	0.09*	0.08	0.04*	0.02*
Day 3	0.56	0.46	0.47	0.46	0.40	0.50	0.08*	0.06	0.03*	0.03
Day 4	0.59	0.45	0.47	0.48	0.49	0.40	0.04*	0.04*	0.03*	0.05*
Day 7	0.61	0.48	0.51	0.46	0.55	0.48	0.06*	0.09*	0.01*	0.01*
Absolute Basophils (10e3/µL)										
Day 2	0.07	0.05	0.04	0.03*	0.01*	0.02*	0.01*	0.01*	0.02*	0.00*
Day 3	0.08	0.09	0.05	0.04*	0.03	0.05	0.01	0.01*	0.02	0.01*
Day 4	0.08	0.10	0.07	0.06	0.05	0.06	0.01	0.03*	0.02	0.02*
Day 7	0.09	0.13	0.07	0.08	0.08	0.07	0.03	0.04*	0.00*	0.01*
Absolute Large Unstained Cells (10e3/µL)										
Day 2	0.04	0.04	0.03*	0.03	0.02	0.02*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*
Day 3	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01*	0.00	0.00*
Day 4	0.03	0.04	0.03	0.02	0.02	0.03	0.01	0.02	0.01	0.01
Day 7	0.03	0.06	0.03	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02*	0.01[e]	0.00*
Clinical Chemistry (Unscheduled euthanasia)[c]										
Albumin (g/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.6	2.5
Organ Weights[d]										
Thymus										
Absolute (g)	5.094	11.402	1.21	0.62	1.76	0.50*	1.19	0.57*	NA[c]	NA[c]

2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227539 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.003		0.01		0.03		0.1	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Gross Pathology (Unscheduled Euthanasia)[c]										
Number Examined	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
Stomach Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	3
Duodenum Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	1
Jejunum Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1
Ileum Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	1
Cecum Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	2
Colon Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	3
Colon Intussusception	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Rectum Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	2
Lymph Nodes Mandibular Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1
Lymph Nodes Mesenteric Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	3
Lymph Nodes Mesenteric Mottled	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Thymus Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Thymus Gelatinous	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Heart Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Lung Discoloration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	2
Adipose Tissue Gelatinous	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Mammary Tissue Gelatinous	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Histopathology (Unscheduled Euthanasia)[c]										
Number Examined	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
Adrenal Cortex Hemorrhage										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	2
Adipose Tissue Hemorrhage with Intralesional Bacteria										
Marked	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Cecum Hemorrhage										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	3
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Depletion of GALT										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	2
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Colon Hemorrhage										

2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227539 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.003		0.01		0.03		0.1	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	1
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Duodenum										
Crypt Dilation with Apoptotic Cell Debris										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	3
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Hemorrhage										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1
Jejunum Hemorrhage										
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	0
Crypt Dilation with Apoptotic Cell Debris										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	2
Kidney Hemorrhage										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	2
Liver Glycogen Depletion										
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	2
Lymph node Mesenteric										
Germinal Center Depletion										
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	0
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	2
Marked	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Hemorrhage										
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	2
Marked	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Lymph node Mandibular										
Germinal Center Depletion										
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	3
Hemorrhage										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1

2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227539 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.003		0.01		0.03		0.1	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	2
Marked	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Lung Hemorrhage with Intralesional Bacteria										
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1
Femur Marrow Hypocellular										
Marked	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Severe	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	3
Sternum Marrow Hypocellular										
Marked	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	2
Severe	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	1
Rectum										
Hemorrhage										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	0
Hemorrhage with Intralesional Bacteria										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	2
Spleen Germinal Center Depletion										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	3
Stomach Mucosal Hemorrhage										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	3
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	0
Testis										
Hemorrhage										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Tubular Degeneration										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Slight	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Thymus										
Lymphocyte Depletion										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1

2.6.7.7D. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227539 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.003		0.01		0.03		0.1	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Marked	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	2
Hemorrhage										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	2
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Heart Hemorrhage										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	2
Ileum Depletion of GALT										
Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	2

* p ≤0.05; significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours (1 Day); C_{max} = Maximum observed concentration; cps = Centipoise; F = Female; GALT = Gut associated lymphoid tissue; GLP = Good Laboratory Practice; HNSTD = Highest non-severely toxic dose; M = Male; NA = Not applicable; QD = Once daily.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (5 pg/mL) with the exception of 5.25 pg/mL in 1 male at 12 hours postdose on Day 1, and 5.34 to 8.05 pg/mL in 1 male at 48-96 hours postdose on Day 5.
c. All 0.1 mg/kg/day recovery animals were euthanized in a moribund condition on Day 8 of the recovery phase due to hematology findings, coupled with clinical signs (hypoactivity, fecal abnormalities, and/or excessive salivation), decreased food consumption, and elevated body temperatures; these findings were considered test article-related. Organ weights listed for 0, 0.01, and 0.03 mg/kg/day were taken at the recovery necropsy.
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. Group excluded from analysis.

2.6.7.7E. REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study Using Daily Administrations of BMN 673ts in Dogs with a 29-Day Recovery

Test Article: PF-06944076 (Tosylate Salt)

Species/Strain: Dog/Beagle
Age at First Dose: 8.7 to 10.5 Months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of Dosing: 28 Days
Duration of Postdose: 29 Days
Method of Administration: Oral gavage, 6 mL/kg (Day 1) 0.55 mL/kg (Day 2 through end of dosing phase), QD

Study Number: 8227532
Sponsor Reference Number: BMN673-[redacted]-049
Lot Number: [redacted]

Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose (400 to 800 cps) in reverse osmosis water/Solution
GLP Compliance: Yes
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: Not reported
Highest Nonseverely Toxic Dose: 0.01 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.0005		0.0015		0.005		0.01	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals										
Toxicity	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Toxicokinetics:										
C_{max} (pg/mL)										
Day 1	NA[b]	NA[b]	19	28.8	118	101	365	287	820	907
Day 15	NA[b]	NA[b]	82.3	100	318	325	1384	1262	2156	2394
Day 28	NA[b]	NA[b]	120	135	455	318	1227	1374	3320	3644
AUC_{24} (pg•h/mL)										
Day 1	NA[b]	NA[b]	349	451	1447	1157	4806	4674	11657	11089
Day 15	NA[b]	NA[b]	1487	1900	5445	6055	20281	19766	29527	33137
Day 28	NA[b]	NA[b]	2210	2371	7754	5879	21838	26519	42350	44577
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight Change	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7E. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227532 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.0005		0.0015		0.005		0.01	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Body Temperature	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation										
Red Blood Cell Count (10e6/µL)										
Day 15	-	6.21	-	6.04	-	6.42	-	6.16	-	5.26*
Day 20	-	6.63	-	6.35	-	6.85	-	6.33	-	5.32*
Day 28	6.23	6.48	6.41	6.23	6.61	6.65	5.71	6.24	5.22*	4.74*
Hemoglobin (g/dL)										
Day 15	-	14.2	-	13.9	-	14.3	-	13.6	-	12.0*
Day 20	-	15.1	-	14.4	-	15.2	-	13.9	-	12.1*
Day 28	14.1	14.8	14.6	14.2	15.1	14.8	13.0	13.9	11.9*	10.8*
Hematocrit (%)										
Day 15	-	41.1	-	40.0	-	41.9	-	39.7	-	34.8*
Day 20	-	46.1	-	44.3	-	46.9	-	42.9	-	36.5*
Day 28	41.2	43.1	42.4	41.6	44.0	43.3	37.9	40.6	34.4*	31.0*
Absolute Reticulocyte Count (10e3/µL)										
Day 8	37.7	33.2	40.7	43.1	51.4	41.3	41.5	27.3	8.4*	8.5*
Day 15	38.0	29.9	37.0	50.3*	43.8	32.8	26.1	24.2	14.3*	7.1*
Day 20	60.5	69.2	77.2	94.8	90.3*	68.0	58.6	65.4	39.5	20.1*
Day 28	47.1	41.6	48.2	63.5	51.9	31.1	43.1	54.4	34.6	26.5
Platelet Count (10e3/µL)										
Day 15	348	344	305	372	344	361	311	311	165*	172*
Day 20	314	341	292	341	323	326	279	289*	203	174*
Day 28	378	382	280	391	359	360	345	341	277	247*
White Blood Cells (10e3/µL)										
Day 8	9.07	9.90	9.70	10.30	10.87	9.54	9.23	7.32*	7.62	6.39*
Day 15	8.45	9.93	8.26	10.44	9.64	9.73	8.52	8.10	7.42	6.20*
Day 20	8.86	10.76	9.59	10.74	11.34*	9.54	9.62	7.55	6.77*	5.29*
Day 28	8.48	11.18	9.26	9.97	10.35*	10.14	9.06	8.84	7.01	6.43
Absolute Neutrophils (10e3/µL)										
Day 8	-	6.04	-	6.77	-	6.06	-	4.44*	-	3.85*
Day 15	-	6.31	-	6.97	-	6.30	-	5.19	-	3.85*
Day 20	-	7.01	-	7.32	-	5.94	-	4.79	-	3.15*
Day 28	-	7.37	-	6.53	-	6.55	-	5.92	-	4.17

2.6.7.7E. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227532 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.0005		0.0015		0.005		0.01	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Absolute Lymphocytes (10e3/µL)										
Day 8	2.74	2.92	2.63	2.73	2.84	2.68	2.35	2.28	1.83*	1.94*
Day 15	2.53	2.85	2.45	2.71	2.46	2.68	2.00*	2.25	1.74*	1.83
Day 20	2.55	2.75	2.58	2.52	2.85	2.77	2.21	2.10	1.80*	1.67
Day 28	2.63	2.73	2.58	2.66	2.68	2.76	2.11	2.15	1.54*	1.72*
Absolute Basophils (10e3/µL)										
Day 8	0.04	0.05	0.05	0.04	0.05	0.05	0.02*	0.03	0.02*	0.02*
Day 15	0.03	0.05	0.03	0.05	0.04	0.05	0.01*	0.03	0.01*	0.01*
Day 20	0.06	0.08	0.06	0.08	0.07	0.09	0.03*	0.04*	0.03*	0.02*
Day 28	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.02*	0.04	0.01*	0.02*
Absolute Monocytes (10e3/µL)										
Day 15	0.48	0.42	0.49	0.46	0.41	0.42	0.57	0.39	0.36	0.23*
Day 20	0.57	0.57	0.59	0.54	0.57	0.42	0.61	0.36*	0.36*	0.22*
Day 28	0.50	0.59	0.54	0.42	0.45	0.45	0.52	0.45	0.37	0.31*
Absolute Large Unstained Cells (10e3/µL)										
Day 8	0.03	0.04	0.04	0.03	0.04	0.04	0.02	0.02	0.01*	0.02*
Day 15	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03	0.04	0.02*	0.02	0.02	0.01*
Day 20	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.02	0.02	0.02	0.01*
Day 28	0.03	0.04	0.03	0.04	0.05	0.05	0.02	0.03	0.02	0.02
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Histopathology										
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Ileum GALT depletion										
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	2	2	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3
Cecum GALT depletion										

2.6.7.7E. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227532 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)		0.0005		0.0015		0.005		0.01	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Colon GALT depletion										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Duodenum Increased apoptosis										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1
Lymph Node Mandibular Germinal center depletion										
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymph Node Mesenteric Germinal center depletion										
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	1	3	3
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Spleen Germinal center depletion										
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2
Slight	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Bone marrow femur hypocellularity										
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Bone marrow sternum hypocellularity										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Postdose Evaluation										
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Hematology/Coagulation										
Recovery Day 7										
Red Blood Cell Count (10e6/µL)	6.25	6.42	6.75	5.83	6.38	6.53	5.66	6.31	5.39*	4.82*
Hemoglobin (g/dL)	14.1	14.8	15.3*	13.6	14.5	14.9	12.7	14.1	12.3*	11.2*
Hematocrit (%)	41.1	42.9	44.5*	39.6	42.0	42.9	37.2*	41.1	36.2*	33.0*
Absolute Reticulocyte Count (10e3/µL)	46.5	47.2	70.0*	66.4	57.3	52.2	99.2*	85.8	181.2*	152.9*
Recovery Day 14										
Absolute Reticulocyte Count (10e3/µL)	37.2	-	49.6	-	55.8	-	91.0*	-	105.1*	-
Platelet Count (10e3/µL)	375	383	314	399	352	382	412	444	567*	579

2.6.7.7E. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8227532 (continued)

∗ p ≤0.05; significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours (1 Day); C_{max} = Maximum observed concentration; CPS = Centipoise; F = Female; GALT = Gut associated lymphoid tissue; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA = Not applicable; QD = Once daily.
a. All doses are expressed as mg of active test article moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (5.00 to 10.00 pg/mL, dependent on dilution) with 2 exceptions, (19.1 and 12.9 pg/mL) on Days 1 and 15, respectively.

2.6.7.7F. REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: 13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study using Once-Daily Administrations of BMN 673ts in Dogs With a 4-Week Recovery Phase

Test Article: PF-06944076 (Tosylate Salt)

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

Duration of Dosing: 13 Weeks
Duration of Postdose: 4 Weeks
Method of Administration: Oral gavage, QD, 0.55 mL/kg

Study Number: 8279298
Sponsor Reference Number: BMN673-[redacted]-001
Lot Number: [redacted]

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) Carboxymethylcellulose (400-800 cps) in reverse osmosis water/Control Article: 1.8776 mg/mL SMCC prepared in vehicle / Excipient: Prosolv® SMCC HD90 (Silicified Microcrystalline Cellulose, NF)

GLP Compliance: Yes

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level: 5 µg/kg/day (males), 10 µg/kg/day (females)

Highest Non-Severely Toxic Dose: 10 µg/kg/day

Dose[a] (µg/kg/day)	**0 (Control)**		**1.5**		**5**		**10**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity	7	7	7	7	7	7	7	7
Toxicokinetics:								
C_{max} (pg/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	102	75	402	624	820	1682
Day 29	NA[b]	NA[b]	314	317	970	1256	1826	2633
Day 91	NA[b]	NA[b]	278	323	1107	1192	2011	2896
AUC_{last} (pg•h/mL)								
Day 1	NA[b]	NA[b]	1467	1358	5840	6863	11690	19559
Day 29	NA[b]	NA[b]	5548	6419	14286	24537	28025	41875
Day 91	NA[b]	NA[b]	12943	15444	37139	46630	60949	82364
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	1[c]	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7F. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279298 (continued)

Dose[a] (µg/kg/day)	0 (Control)		1.5		5		10	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation								
Red Blood Cell Count (10e6/µL)								
Day 8	-	6.63	-	6.25	-	6.50	-	6.09*
Day 15	6.29	6.92	6.49	6.52	6.22	6.43	5.70*	6.23
Day 22	6.58	6.98	6.58	6.45*	6.33	6.37*	5.79*	5.75*
Day 29	6.63	6.69	6.49	6.26	6.12	6.17	5.71*	5.46*
Day 36	6.31	6.42	6.26	5.99	5.98	5.96	5.03*	4.91*
Day 43	6.32	6.32	6.32	5.84	5.69*	5.60	5.17*	4.69*
Day 57	6.36	6.68	6.30	6.36	6.26	5.83*	5.09*	4.36*
Day 71	5.94	6.89	6.18	6.46	6.25	6.33	5.17	4.52*
Day 85	5.79	7.00	6.48	6.74	6.17	6.54	5.05	4.87*
Day 92	6.04	6.51	6.05	6.30	5.58*	5.96	4.71*	4.37*
Hemoglobin (g/dL)								
Day 8	-	15.5	-	14.6	-	14.8	-	14.0*
Day 15	14.4	15.9	14.8	15.0	14.3	14.4	13.0*	14.1
Day 22	15.4	16.2	15.3	15.1	14.8	14.5*	13.4*	13.2*
Day 29	15.5	15.6	15.3	14.7	14.4	14.2	13.3*	12.7*
Day 36	14.7	15.0	14.5	14.1	14.1	13.4	11.7*	11.3*
Day 43	14.4	14.4	14.4	13.4	13.2	12.7*	11.8*	10.7*
Day 57	14.9	15.7	14.8	15.2	15.0	13.5*	12.0*	10.2*
Day 71	13.5	15.9	14.1	15.1	14.5	14.3	12.1	10.5*
Day 85	13.2	16.1	14.8	15.7	14.4	14.9	11.9	11.6*
Day 92	13.5	14.9	13.8	14.5	12.9	13.4	10.9*	10.2*
Hematocrit (%)								
Day 8	-	45.2	-	42.7	-	43.2	-	40.9
Day 15	43.8	47.6	44.4	44.9	43.1	43.4	38.8*	42.3
Day 22	46.3	48.6	45.7	44.8	44.4	43.5*	39.9*	39.1*
Day 29	46.4	46.2	44.9	43.4	42.9	41.8	39.2*	36.9*

2.6.7.7F. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279298 (continued)

Dose[a] (µg/kg/day)	0 (Control)		1.5		5		10	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day 36	42.9	43.1	42.1	40.4	40.9	39.5	33.9*	32.4*
Day 43	42.9	42.9	42.5	39.6	39.0	38.0	35.5*	32.0*
Day 57	44.2	46.5	43.5	44.4	44.2	40.5*	36.7*	30.9*
Day 71	40.4	46.5	41.8	44.3	43.2	43.1	37.0	32.8*
Day 85	40.2	47.7	44.3	46.5	43.2	44.9	36.9	36.9*
Day 92	40.3	43.8	40.6	42.7	38.4	40.0	33.7*	32.4*
Absolute Reticulocyte Count (10e3/µL)								
Day 8	44.0	31.3	30.5	25.7	37.2	34.0	10.1*	7.4*
Day 15	50.3	42.7	35.8*	31.2	36.0	31.7	11.0*	6.6*
Day 22	53.4	38.1	41.2	30.6	45.7	30.8	23.8	13.8*
White Blood Cell Count (10e3/µL)								
Day 8	11.75	-	9.61	-	9.38	-	7.44*	-
Day 15	12.21	-	9.95	-	10.47	-	8.31*	-
Day 22	11.6	-	9.34*	-	9.75	-	7.49*	-
Day 29	12.24	-	10.17	-	11.64	-	9.52	-
Day 36	11.64	-	9.69	-	11.24	-	8.42	-
Day 43	10.92	-	8.75	-	8.66	-	8.44	-
Day 57	13.1	-	10.83	-	10.18	-	9.89	-
Day 71	10.97	-	10.31	-	9.82	-	8.35*	-
Day 85	13.32	-	9.82*	-	10.38	-	9.49*	-
Day 92	10.49	-	8.63	-	8.46	-	7.31	-
Absolute Neutrophils (10e3/µL)								
Day 8	7.34	-	5.80	-	5.37*	-	4.61*	-
Day 92	6.93	-	5.47	-	5.39	-	5.34	-
Absolute Lymphocytes (10e3/µL)								
Day 8	3.36	-	2.96	-	3.08	-	1.99*	-
Day 92	2.68	-	2.45	-	2.26	-	1.36*	-
Absolute Monocytes (10e3/µL)								
Day 8	0.63	-	0.48	-	0.57	-	0.51	-
Day 92	0.49	-	0.42	-	0.53	-	0.36	-

2.6.7.7F. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279298 (continued)

Dose[a] (µg/kg/day)	0 (Control)		1.5		5		10	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Absolute Basophils (10e3/µL)								
Day 8	0.10	-	0.07	-	0.07	-	0.04*	-
Day 15	0.08	0.10	0.07	0.08	0.07	0.05	0.03*	0.04*
Day 22	0.13	0.11	0.09*	0.09	0.08*	0.06*	0.04*	0.04*
Day 29	0.09	0.10	0.06*	0.08	0.06*	0.05*	0.04*	0.03*
Day 36	0.11	0.11	0.07*	0.10	0.08	0.05	0.04*	0.04
Day 43	0.10	0.09	0.06*	0.07	0.06*	0.04*	0.03*	0.04*
Day 57	0.10	0.12	0.07	0.11	0.08	0.05*	0.04*	0.02*
Day 71	0.11	0.13	0.06*	0.10	0.08	0.07*	0.04*	0.03*
Day 85	0.13	0.13	0.09*	0.10	0.08*	0.08*	0.04*	0.06*
Day 92	0.09	0.09	0.05*	0.07	0.05*	0.04*	0.02*	0.02*
Absolute Large Unstained Cells (10e3/µL)								
Day 8	0.04	-	0.03	-	0.03	-	0.02*	-
Day 92	0.03	-	0.02	-	0.02*	-	0.01*	-
Platelet Count (10e3/µL) - Day 15	335	277	274	268	276	288	170*	144*
Mean Corpuscular Volume (fL)								
Day 57	69.7	-	69.0	-	70.6	-	72.2	-
Day 71	68.5	67.7	67.6	68.5	69.2	67.9	71.8*	73.0*
Day 92	66.8	67.3	67.2	67.8	68.8	67.1	71.9*	74.3*
Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (g/dL)								
Day 57	33.7	-	34.1	-	33.8	-	32.7*	-
Day 71	33.4	34.1	33.9	34.0	33.5	33.3*	32.5*	31.9*
Day 92	33.5	33.9	33.9	33.9	33.7	33.5	32.3*	31.5*
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[d]								
Number Examined	3	NA	4	NA	4	NA	4	NA
Testes								
Absolute (g)	13.257	NA	1.07	NA	0.89	NA	0.60*	NA
Relative (g/100 g body weight)	0.1389	NA	1.03	NA	0.83	NA	0.59*	NA

2.6.7.7F. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279298 (continued)

Dose[a] (µg/kg/day)	0 (Control)		1.5		5		10	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Relative (g/g brain weight)	16.9122	NA	1.05	NA	0.93	NA	0.61*	NA
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	4[e]	4	4	4	4	4	4	4
Histopathology								
Number Examined	4[e]	4	4	4	4	4	4	4
Epididymis								
Cell debris, luminal								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Reduced sperm, luminal								
Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Bone marrow, femur, increased myeloid:erythroid ratio								
Slight	0	0	0	0	0	0	3	0
Bone marrow, sternum, increased myeloid:erythroid ratio								
Slight	0	0	0	0	0	0	3	1
Postdose Evaluation (Recovery Phase)								
Number Evaluated	3	3	3	3	3	3	3	3
Mean Corpuscular Volume (fL) Day 29	68.4	-	69.5	-	70.4	-	72.0	-
Lymphocytes (10e3/µL) Day 29	2.94	-	2.17*	-	2.43	-	1.64*	-
Epididymis[f]								
Cell debris, luminal								
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Reduced sperm, luminal	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Slight								
Testis, degeneration/atrophy, seminiferous epithelium[f]								
Slight	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA

2.6.7.7F. REPEAT-DOSE TOXICITY

Study Number: 8279298 (continued)

∗ p ≤0.05, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{last} = Area under the concentration -time curve from zero to time t, where t can have a numerical value; C_{max} = Maximum observed concentration; CPS = Centipoise; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NA= Not applicable; NF = National Formulary; QD = Once daily.
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 (5 pg/mL).
c. One control male was euthanized on Day 86 due to hypoactivity, body weight loss, and poor food consumption. This animal had a low hematocrit and a number of correlative microscopic findings, including hypercellularity in the bone marrow, extramedullary hematopoiesis in the liver and spleen, and erythrophagocytosis and pigment in Kupffer cells of the liver. A cause of the moribund condition could not be determined.
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. Includes early euthanasia.
f. One recovery euthanasia male administered 10 µg/kg/day had decreased testis weight parameters (absolute and to body and brain weight ratios) 76%, 90%, and 64%, respectively, of the control mean values for these parameters. Decreased testis weight parameters in this animal correlated with test article-related microscopic findings in the testis and epididymis. No other test article-related organ weight changes were noted in recovery euthanasia animals.

2.6.7.8A. GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay using BMN 673

Test Article: PF-06944076 (Tosylate Salt)

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells

Number of Independent Assays: 1

Species/Strains: *S. typhimurium, E. coli*

Number of Replicate Cultures: 3

Study Number: [redacted]
(Sponsor reference BMN673-[redacted]-040)
Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
S9 Batch Number: [redacted]
S9 Preparation Date: [redacted] 20[redacted]
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9
Vehicles: **For Test Article:** Dimethyl sulfoxide
For Positive Controls: Dimethyl sulfoxide and water (Sodium Azide)
Treatment: Plate incorporation for 48-72 hours with and without metabolic activation.
Cytotoxic Effects: None
Genotoxic Effects: None

Test Article	Dose (µg/plate)	Definitive Assay Revertant TA98 and TA100, TA1535, TA1537 and WP2*uvr*A Colony Counts (Mean ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*E. coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2*uvr*A
Without Metabolic Activation						
DMSO	100 µL/plate	23 ± 3	85 ± 2	10 ± 2	7 ± 3	23 ± 4
PF-06944076	100	26 ± 4	83 ± 4	9 ± 1	7 ± 5	26 ± 6
	333	26 ± 5	79 ± 8	11 ± 1	5 ± 2	24 ± 7
	1000	22 ± 6	78 ± 3	11 ± 1	7 ± 3	27 ± 6
	3333[a]	27 ± 5	82 ± 4	10 ± 3	6 ± 2	25 ± 2
	5000[a]	26 ± 3	87 ± 4	8 ± 3	4 ± 1	20 ± 5
Positive Controls						
2-nitrofluorene	1.0	127 ± 17	NT	NT	NT	NT
Sodium azide	1.0	NT	526 ± 40	531 ± 52	NT	NT
9-Aminoacridine	75	NT	NT	NT	266 ± 52	NT
Methyl methanesulfonate	1000	NT	NT	NT	NT	285 ± 39

2.6.7.8A. GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted]

Test Article	Dose (µg/plate)	Definitive Assay Revertant TA98 and TA100, TA1535, TA1537 and WP2*uvr*A Colony Counts (Mean ± SD)				
		Salmonella typhimurium				*E. coli*
		TA 98	TA 100	TA 1535	TA 1537	WP2*uvr*A
With Metabolic Activation						
DMSO	100 µL/plate	28 ± 6	88 ± 1	10 ± 1	11 ± 2	29 ± 5
PF-06944076	100	34 ± 1	90 ± 8	11 ± 5	11 ± 2	27 ± 6
	333	23 ± 6	86 ± 3	8 ± 2	8 ± 4	27 ± 2
	1000	17 ± 3	91 ± 8	10 ± 2	10 ± 2	32 ± 3
	3333 [a]	29 ± 1	79 ± 7	11 ± 1	9 ± 4	33 ± 7
	5000 [a]	28 ± 1	82 ± 2	13 ± 4	7 ± 1	31 ± 3
Positive Controls						
2-Aminothracene	1.0	267 ± 40	NT	80 ± 17	NT	NT
2-Aminothracene	2.0	NT	526 ± 21	NT	118 ± 5	NT
2-Aminothracene	15	NT	NT	NT	NT	325 ± 77

Criteria for significance: 3-fold (TA1535 and TA1537) and 2-fold (TA98, TA100 and WP2*uvr*A) over controls.
DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; NT = Not tested; S9 = Postmitochondrial supernatant; SD = Standard deviation.
a. Precipitate was observed.

2.6.7.8B. GENOTOXICITY: IN VITRO

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL) using BMN 673

Test Article: PF-06944076 (Tosylate Salt)

Test for Induction of: Chromosome aberrations
Strains: Human peripheral blood lymphocytes
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9

Number of Independent Assays: 1
Number of Replicate Cultures: 2
Number of Cells Analyzed/Culture: 50 for structural, 100 for numerical
Positive controls: 50 for structural, 100 for numerical
Vehicle controls: 100 for structural, 100 for numerical

Study Number: [redacted]
Sponsor Reference Number: BMN673-[redacted]-039
Lot Number: [redacted]
S9 Batch Number: [redacted] and [redacted]

Vehicles for: **Test Article:** DMSO **Positive Controls:** Sterile distilled water

Treatment: 20 hour without S9; 4 hour with 16 hr recovery period with and without S9

GLP Compliance: Yes
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted] (Definitive Assay)

Cytotoxic Effects: ≥50% Reduction in mitotic index at concentrations >114 µg/mL for the 4-hour treatment with metabolic activation, ≥3.8 µg/mL for the 20-hour treatment without metabolic activation and 50% mitotic reduction was not achieved in 4-hour treatment without metabolic activation based on preliminary toxicity test.

Genotoxic Effects: Positive for the induction of structural chromosome aberrations and negative for the induction of numerical chromosome aberrations in both non-activated and S9-activated test systems.

Metabolic Activation	Test Article	Concentration µg/mL	Cytotoxicity[a] (% of Control)	Aberrant Cells		Aberrations per Cell [b,d]	Total Polyploid Cells
				Structural (Mean %)[b]	Numerical (Mean %)[c]	Mean ± SD	(Mean %)[e]
20-hour Treatment without Activation							
	DMSO	NA	NA	1.5	0.0	0.015 ± 0.122	0.0
	PF-06944076	0.5	10	18.0**	0.0	0.210 ± 0.478	0.0
	PF-06944076	1	32	15.0**	0.0	0.210 ± 0.556	0.0
	PF-06944076	2.5	45	26.0**	0.0	0.310 ± 0.581	0.0
	MMC	0.3	32	37.0**	0.5	0.530 ± 0.834	0.5
4-hour Treatment with 16-Hour Recovery without Activation							
	DMSO	NA	NA	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
	PF-06944076	50	26	14.0**	0.5	0.170 ± 0.473	0.5
	PF-06944076	100	18	23.0**	0.0	0.240 ± 0.452	0.0
	PF-06944076	200[f]	31	25.0**	0.0	0.340 ± 0.670	0.0
	MMC	0.6	31	44.0**	0.0	0.640 ± 0.847	0.0

2.6.7.8B. GENOTOXICITY: IN VITRO

Study Number: [redacted]

Metabolic Activation	Test Article	Concentration µg/mL	Cytotoxicity[a] (% of Control)	Aberrant Cells		Aberrations per Cell[b,d] Mean ± SD	Total Polyploid Cells (Mean %)[e]
				Structural (Mean %)[b]	Numerical (Mean %)[c]		
4-Hour Treatment with 16-Hour Recovery With Activation							
	DMSO	NA	NA	0.5	0.0	0.005 ± 0.071	0.0
	PF-06944076	50	4	18.0**	0.0	0.230 ± 0.529	0.0
	PF-06944076	100	36	18.0**	0.0	0.210 ± 0.498	0.0
	PF-06944076	125	49	23.0**	0.0	0.270 ± 0.529	0.0
	CP	5	53	30.0**	0.0	0.450 ± 0.770	0.0

∗ $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$ 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.
CP = Cyclophosphamide; DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; MMC = Mitomycin C; NA = Not applicable; S9 = Postmitochondrial supernatant; SD = Standard Deviation.
a. Based on mitotic inhibition relative to solvent control. Cytotoxicity = [1-(%mitotic index in treated/%mitotic index vehicle control)]x100.
b. Does not include cells with only gaps.
c. Includes polyploid and endoreduplicated cells.
d. Severely damaged cells counted as 10 aberrations.
e. Does not include endoreduplicated cells.
f. Visible precipitate was observed in the treatment medium at the conclusion of the treatment period.

2.6.7.9. GENOTOXICITY: IN VIVO

Report Title: Definitive Micronucleus Assay with BMN 673 Following Single Oral Doses to Rats

Test Article: PF-06944076 (Tosylate Salt)

Test for Induction of: Bone marrow micronuclei

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley

Age: 7 weeks old

Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes

Treatment Schedule: 1 Dose

Sample Time: 24 & 48 hours post-dose

Method of Administration: Oral gavage, 20 mL/kg

Vehicle/Formulation: Aqueous 0.5% (w/v) sodium carboxymethylcellulose (CMC; 400-800 cps), Sterile water for injection/Cyclophosphamide

Study Number: [redacted]

Sponsor reference Number: BMN673-[redacted]-038

Lot Number: [redacted]

GLP Compliance: Yes

Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Number of Cells Analyzed/Animal: 2000 PCE/animal

Special Features: Dose Formulation Analysis

Toxic/Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: Statistically significant increases in the micronucleated polychromatic erythrocytes were observed in animals at 24 and 48 hours after treatment with 150, 300, and 600 mg/kg relative to the vehicle control ($p < 0.05$, Kastenbaum-Bowman tables). The positive control induced a statistically significant increase in the incidence of MnPCEs ($p < 0.05$, Kastenbaum-Bowman tables). The number of MnPCEs in the vehicle control groups did not exceed the historical control range.

Evidence of Exposure: NA

Sampling Time	Controls/Test Articles	Dose Level mg/kg[a]	Sex/Number of Animals/Group	PCE/ Total Erythrocyte (Mean ± SD)	Number MnPCE/PCE scored
24 hours post-dose	Vehicle[b]	0	5M	0.549 ± 0.02	13/10000
		0	5F	0.543 ± 0.02	10/10000
	PF-06944076	150	5M	0.490 ± 0.05	206*/10000
		150	5F	0.499 ± 0.04	122*/10000
		300	5M	0.531 ± 0.04	222*/10000
		300	5F	0.442 ± 0.03	94*/10000
		600	5M	0.475 ± 0.02	178*/10000
		600	5F	0.491 ± 0.04	71*/10000
	Cyclophosphamide	40	5M	0.520 ± 0.02	434*/10000
		40	5F	0.482 ± 0.03	198*/10000

2.6.7.9. GENOTOXICITY: IN VIVO

Study Number: [redacted]

Sampling Time	Controls/Test Articles	Dose Level mg/kg[a]	Sex/Number of Animals/Group	PCE/ Total Erythrocyte (Mean ± SD)	Number MnPCE/PCE scored
48 hours post-dose	Vehicle[b]	0	5M	0.532 ± 0.02	16/10000
		0	5F	0.534 ± 0.02	9/10000
	PF-06944076	600	5M	0.411 ± 0.04	212*/10000
		600	5F	0.286 ± 0.06	112*/10000

* $p \leq 0.05$, statistically 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.
CPS = Centipoise; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; MnPCE = Micronucleated Polychromatic Erythrocytes PCE; NA = Not applicable; PCE = Polychromatic Erythrocytes; SD = Standard deviation.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. Aqueous 0.5% (w/v) sodium carboxymethylcellulose (CMC; 400-800 cps).

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

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study of BMN 673 by Oral Gavage in Rats

Test Article: PF-06944076 (Tosylate Salt)

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley

Dosing Period: GD 6-17
Day of Mating: GD 0

Study Number: 20074799
Sponsor Reference Number: MDV3800P006

Initial Age: 75 days
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Day of Cesarean Section: GD 21
Method of Administration: Oral Gavage, QD, 8.3 mL/kg

Lot Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Vehicle/Formulation: 0.5% (w/v) carboxymethylcellulose (CMC 400 to 800 cps) in reverse osmosis (RO) water. Aqueous solution PROSOLV® SMCC HD90 (Silicified Microcrystalline Cellulose, NF; also known as SMCC).

Special Features: Hematology, clinical chemistry
No Observed Adverse Effect Level:
Maternal Females: <0.015 mg/kg/day
Fetuses: <0.015 mg/kg/day

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.015**	**0.05**	**0.15**
Maternal Females				
Number of Animals				
Toxicity	25	25	25	25
Toxicokinetics	3	6	6	6
Toxicokinetics – GD 17:				
C_{max} (pg/mL)	NA[b]	3930	18100	38200
AUC_{24} (pg•hr/mL)	NA[b]	49200	201000	341000
Number Died or Euthanized Moribund				
Toxicity	0	0	0	8[c]
Toxicokinetics	0	0	0	3
Number Pregnant (Toxicity)	24	25	25	24
Number Aborted or With Total Resorption of Litter	0	20	25	24

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

Study Number: 20074799

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	0.015	0.05	0.15
Clinical Observations[d]				
Activity Decreased	0	0	0	5
Cold to Touch	0	0	0	2
Dehydrated Suspected	0	0	3	18
Hunched Posture	0	0	2	19
Swollen Soft	0	0	0	4
Thin	0	0	0	3
Skin, Pale	0	0	0	7
Eye, partially closed	0	0	0	3
Eyeball, pale	0	0	0	4
Vagina, discharge liquid	0	3	2	13
Body Weight (g)[e] GD 21	384.4	0.76**	0.68**	0.60**
Body Weight Change (g) GD 6-21	149.7	62.0**	27.9**	0.3**
Food Consumption (g/animal/day)[e] GD 6-21	23.12	0.90	0.79	0.57
Hematology/Coagulation- GD 21				
Erythrocytes (10e6/µL)	5.62	6.10*	5.58	3.34*
Hemoglobin (g/dL)	10.9	12.0*	11.0	6.4*
Hematocrit (%)	33.1	36.6*	33.6	18.8*
Absolute Reticulocytes (10e9/L)	90.1	305.1*	305.6*	9.3
Platelets (10e3/µL)	1170	1110	1758*	948
Red Cell Distribution Width (%)	13.3	13.5	17.5*	11.9*
Activated Prothrombin Time (sec)	21.5	20.8	17.9*	17.4*
Leukocytes (10e3/µL)	10.69	14.10*	13.79*	6.35*
Absolute Lymphocytes (10e3/µL)	6.51	9.28*	10.42*	5.92
Absolute Monocytes (10e3/µL)	0.37	0.39	0.31	0.10*
Absolute Segmented Neutrophils (10e3/µL)	3.59	4.18	2.76	0.17*
Absolute Eosinophils (10e3/µL)	0.11	0.13	0.15	0.03*
Absolute Basophils (10e3/µL)	0.03	0.04	0.06*	0.01
Clinical Chemistry – GD21				
AST (IU/L)	79	72	73	225
ALT (IU/L)	56	48*	41*	112*
GGT (IU/L)	0.18	0.14	0.38*	5.61*
Cholesterol (mg/dL)	63	61	58	42*
Glucose (mg/dL)	95	135*	155*	156*

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

Study Number: 20074799

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**0.015**	**0.05**	**0.15**
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated	24	25	25	17
Mean Number Corpora Lutea	13.2	13.7	12.6	12.0
Mean Number Implantations	12.5	13.3	12.4	11.8
Mean % Preimplantation Loss	5.08	2.34	1.73	1.49
Mean % Postimplantation Loss	2.68	90.68**	100**	100**
Fetuses				
Number Fetuses/Litters Evaluated	290/24	32/5	0/0	0/0
Mean Number Live Fetuses	12.1	1.3**	0**	0**
Mean Number Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean Fetal Body Weight (g)	6.04	4.33**	-	-
Sex Ratios (% males)	51.0	65.5	-	-
Fetal Observations				
Number Fetuses/Litters Evaluated	290/24	32/5	0/0	0/0
External Observations				
Eye, Depressed Bulge				
No. Fetuses (%)	1 (0.3)	6 (18.8)	-	-
No. Litters (%)	1 (4.2)	3 (60.0)	-	-
Visceral Observations				
Eye, Small				
No. Fetuses (%)	1 (0.7)	2 (13.3)	-	-
No. Litters (%)	1 (4.2)	2 (50.0)	-	-
Skeletal Malformations				
Vertebrae, Cervical Arch Fused				
No. Fetuses (%)	0 (0)	9 (52.9)	-	-
No. Litters (%)	0 (0)	5 (100)	-	-
Sternebrae, Split				
No. Fetuses (%)	0 (0)	4 (23.5)	-	-
No. Litters (%)	0 (0)	3 (60.0)	-	-

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

Study Number: 20074799

Dose[a] (mg/kg/day)	0 (Control)	0.015	0.05	0.15
Skeletal Variations				
Sternebrae, Incomplete Ossification				
No. Fetuses (%)	0 (0)	6 (35.3)	-	-
No. Litters (%)	0 (0)	4 (80.0)	-	-
Zygomatic arch, misshapen				
No. Fetuses (%)	0 (0)	4 (23.5)	-	-
No. Litters (%)	0 (0)	3 (60.0)	-	-
Sternebrae, misshapen				
No. Fetuses (%)	0 (0)	4 (23.5)	-	-
No. Litters (%)	0 (0)	2 (40.0)	-	-
Ribs, supernumerary, cervical, short				
No. Fetuses (%)	0 (0)	4 (23.5)	-	-
No. Litters (%)	0 (0)	2 (40.0)	-	-
Cervical Arch, incomplete ossification				
No. Fetuses (%)	0 (0)	8 (47.1)	-	-
No. Litters (%)	0 (0)	5 (100.0)	-	-
Cervical Arch, misshapen				
No. Fetuses (%)	0 (0)	3 (17.6)	-	-
No. Litters (%)	0 (0)	2 (40.0)	-	-

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, significantly different from control based on appropriate pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration -time curve from time zero to 24 hours (1 day); C_{max} = Maximum observed concentration; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonization.
a. All dose levels are expressed as mg of active drug moiety per kg of body weight per day.
b. All samples below assay limit of quantitation (< 10.0 pg/mL).
c. Rats did not survive to scheduled euthanasia on Day 21. Three rats were euthanized due to adverse clinical observations on GD 17 (2 rats) and GD 18, respectively and 5 rats were found dead on GD 17, 19, 20 and 21 (2 rats), respectively.
d. Numbers correspond to number of affected animals and not number of observations.
e. Group means are shown for controls. Changes from control, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

2.6.7.17. OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06944076

In Vitro

Type of Test	Test Cells/Tissues (Test Article Lot Number)	Concentration or Dose (µg/mL)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Phototoxicity	Mouse/Balb/c 3T3 Fibroblasts (Lot [redacted])	Assay #1 & 2: 0.6, 1.0, 1.8, 3.2, 5.7, 10.1, 17.9, and 31.9 µg/mL	A PF-06944076 cytotoxicity IC_{50} was not achieved in the assay. The phototoxicity IC_{50} values were 9.389 µg/mL and 9.015 µg/mL in Definitive Assays 1 and 2, respectively. The Photoirritancy Factor values were >3.408 and >3.540 and the Mean Photo Effect values were 0.345 and 0.275 in Definitive Assays 1 and 2, respectively. PF-06944076 in 1% DMSO in DPBS demonstrated phototoxic potential by the PIF and MPE criteria.	20054208 (BMN673-[redacted]-058)/Yes
Mechanistic Investigation of Bone Marrow Suppression	Peripheral blood mononuclear cells/Human, rat or mouse bone marrow mononuclear cells (Lot [redacted])	10 nM to 100 µM	Talazoparib induces hematological toxicities through induction of apoptosis and inhibition of cell proliferation in the bone marrow mononuclear and stem cells without lineage-specific effects, but not in peripheral blood mononuclear cells. Rodent bone marrow cells appear to be more sensitive to talazoparib treatment than that of human. talazoparib, when combined with TMZ, caused synergistic toxicity in the hbmmncs and increased induction of apoptosis (caspase activation). Talazoparib alone did not induce double strand DNA (dsDNA) break measured by γH2AX staining in hBMMNCs, while talazoparib plus TMZ caused increased dsDNA break as early as 6 hours postdose. Talazoparib-induced BM cytotoxicity was fully reversible, while talazoparib plus TMZ-induced BM cytotoxicity was only partially reversible at clinically relevant concentration.	[redacted]LJ085/No

2.6.7.17. OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06944076

Type of Test	Test Cells/Tissues (Test Article Lot Number)	Concentration or Dose (µg/mL)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
In Vitro				
Assessment of DNA Damage and Cytotoxicity Markers in DU145 Cells Treated With Talazoparib	Human DU145 cells (Lot [redacted])	0 and 2.4 x 10^{-6} to 20.0 µM[a]	Talazoparib is the most potent of the PARPi tested in this study because it induced all DDR endpoints at a lower concentration than niraparib, olaparib and rucaparib. Tala co-treated with the low dose of TMZ is more potent than the other PARPi co-treated with the high dose of TMZ. the DDR endpoints measured in this study provided a functional measurement of PARP catalytic inhibition and PARP trapping activity of PARPi. the DDR response was consistent with DNA synthesis inhibition that would result from a bulky DNA adduct (PARP trapped at the site of DNA damage) leading to induction of DNA breaks and accumulation of cells in S-phase. Micronucleus induction occurred at lower concentrations than double strand breaks, suggesting that micronucleus induction occurs at concentrations where PARPi induce DNA damage without overwhelming the cell's ability to cope with the damage.	[redacted]GR323/No
In Vivo				
Phototoxicity	Rat/Long-Evans (Lot [redacted])	0, 0.015, 0.05 mg/kg/day	Three daily administrations of PF-06944076 at 0.015, 0.05 mg/kg/day followed by UVR exposure approximately three hours after the final administration by a single exposure to 10.29 j/cm^2 of UVA and 145 mj/cm^2 of UVB resulted in no cutaneous reactions or ophthalmologic findings (confirmed by histopathology) indicative of phototoxicity.	20116618 ([redacted]LJ041)/Yes

BM = Bone Marrow; DDR = DNA damage response; DMSO = Dimethyl sulfoxide; DNA = Deoxyribonucleic acid; DPBS = Dulbecca's Phosphate-buffered saline; dsDNA = Double stranded DNA; hBMMNC = Human bone marrow mononuclear cells; IC_{50} = Half maximal inhibitory concentration; GLP = Good Laboratory Practice; PARP = Poly (ADP-ribose) polymerase; PARPi = Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor; UVA = Ultra violet A; UVR = Ultra violet radiation; TMZ = Temzolomide.

a. When temozolomide, a DNA alkylating agent, was present in the media it was at clinically relevant concentrations of 43 or 128 µM.